

**UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA - IZTAPALAPA**  
**Ciencias Biológicas y de la Salud**

---



**Casa abierta al tiempo**

**DIGESTION ANAEROBIA DE LACTOSA:  
EFECTO DEL POTENCIAL DE AMORTIGUAMIENTO  
Y COMPARACION CON UN MODELO CINETICO**



**COORDINACION DE SERVICIOS  
DOCUMENTALES - BIBLIOTECA**

**T E S I S**  
Para obtener el grado de  
**MAESTRO EN BIOTECNOLOGIA**  
p r e s e n t a

**FLOR DE MARIA CUERVO LOPEZ**

**Junio de 1995**

222253

Con todo mi amor para David y  
Mariana, quienes son la ilusión y  
motivación de mi existencia

Para mi querida  
María Antonia,  
quien guió mis  
pasos por esta  
vida

**Con mi gratitud para:**

**M. en C. Oscar Monroy Hermosillo,  
Dr. Jorge Gómez Hernández;  
M. en C Rosa Obdulia González;  
Dr. José Alvarez;  
Por la dirección y asesoría de este trabajo**

**Ing. David Zamora Rivera;  
Por su gran apoyo, estímulo,  
paciencia y comprensión**

**Ing. Mario Bayardo T.,  
M. en B. Beatriz Pérez A.,  
Ing. Patricia Olguín L.,  
Ing. Héctor Escalona B.  
Por su amistad y apoyo.**

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Microbiología Ambiental del Departamento de Biotecnología de la UAM - Iztapalapa

# INDICE

---

	Página
RESUMEN	1
OBJETIVOS	3
METAS	3
1. INTRODUCCION	5
1.1 Antecedentes	5
1.1.1 La digestión anaerobia en el tratamiento de aguas residuales	..5
1.1.2 Microbiología y bioquímica de la digestión anaerobia	6
1.1.2.1 Primera etapa: hidrólisis y acidogénesis	7
1.1.2.2 Segunda etapa: acetogénesis	8
1.1.2.2.1 Bacterias acetogénicas OHPA	10
1.1.2.2.2 Bacterias homoacetogénicas	11
1.1.2.2.3 Bacterias sulfatorreductoras	12
1.1.2.3 Tercera etapa: metanogénesis	14
1.1.2.3.1 Bacterias metanogénicas acetoclásticas	16
1.1.2.3.2 Bacterias metanogénicas hidrogenofílicas	16
1.1.3 Equilibrio químico de la digestión anaerobia y potencial de amortiguamiento	17
1.1.4 Digestión anaerobia de lactosa	19
1.4.1.1 Microbiología de la digestión anaerobia de lactosa	22
1.1.5 Reactores anaerobios tipo UASB	23
1.1.6 Modelamiento de la digestión anaerobia	23
1.1.6.1 Descripción del modelo matemático para la digestión anaerobia	26
1.1.7 Estrategias de control automático de la digestión anaerobia	29
2. MATERIALES Y METODOS	31
2.1 Materiales	31
2.1.1 Reactor UASB	31
2.1.2 Inóculo	31

	Página
5. APENDICES	91
5.1 Curvas estándar	91
5.2 Cálculo de constantes de afinidad	91
5.3 Balance de materiales	92
5.4 Datos estadísticos	94
5.4.1 Anovas de regresión	94
5.4.1.1 anovas para metano	94
5.4.1.2 anovas para eficiencia de remoción	95
5.4.1.3 anovas para potencial de amortiguamiento	96
5.4.1.4 anovas para pH	97
5.4.2 Anovas de paralelismo	98
5.4.2.1 anovas para metano	98
5.4.2.2 anovas para eficiencia de remoción	99
5.4.2.3 anovas para potencial de amortiguamiento	99
5.4.3 Construcción de F	100
5.4.3.1 F para metano	100
5.4.3.2 F para eficiencia de remoción	100
5.4.3.3 F para potencial de amortiguamiento	101
5.4.3.4 F para pH	101
6. REFERENCIAS	103

## RESUMEN

---

La digestión anaerobia es un proceso aplicable al tratamiento de aguas residuales. Debido a las características de los microorganismos involucrados en ella, la digestión anaerobia es susceptible a los cambios de las condiciones ambientales. Un modelo matemático podría predecir el comportamiento de la digestión anaerobia, así como los cambios que pudieran presentarse, por lo que sería un método de control del reactor.

En el presente trabajo se estudió la digestión anaerobia de la lactosa en un reactor tipo UASB de 1.5 l de volumen de trabajo. Se encontró necesario un periodo de adaptación de los microorganismos. Asimismo, se encontró que cuando el reactor fue alimentado con una velocidad de carga orgánica de 7.02 g lactosa / l d y alcanzó el estado estacionario, se logró obtener una eficiencia de eliminación de sustrato del 95%. Se obtuvo también una producción volumétrica promedio de metano de 80% del teórico esperado. La estabilidad fisicoquímica del reactor se logró con una relación AGV/alcalinidad de 4.24 y un potencial de amortiguamiento de 1.2 meq/l.

Con un modelo matemático, se simuló la digestión anaerobia de la lactosa. El modelo matemático utilizado, consistió en un conjunto de 5 ecuaciones diferenciales y 4 algebraicas, que incluyeron una purga parcial periódica. Posteriormente, utilizando pruebas de homogeneidad de coeficientes, se llevó a cabo una comparación estadística entre los resultados experimentales y los simulados. Los resultados estadísticos (0.01 de nivel de significancia), mostraron que el comportamiento experimental y simulado, resultó el mismo para el caso de la producción volumétrica de metano y la eficiencia de eliminación de sustrato, mientras que resultaron paralelos para el caso del potencial de amortiguamiento y del pH.

Finalmente, utilizando los resultados experimentales del consumo de sustrato, la producción volumétrica de metano y la ecuación de balance de sustrato en el estado transitorio, se estimó el coeficiente  $\alpha$  [mg AGV / l CH<sub>4</sub>] para el sistema biológico del reactor. La tendencia de los estimadores de  $\alpha$ , señaló la existencia de un periodo de adaptación, y que una vez lograda, el reactor permaneció dinámicamente estable durante la experimentación. Los resultados del balance dinámico, podrían utilizarse como antecedente para aplicar un método de control adaptable al sistema, utilizando como variable de control a la tasa de dilución.

## OBJETIVOS

---

### Objetivo general

Estudiar y evaluar la digestión anaerobia a diferentes velocidades de carga orgánica de lactosa en un reactor tipo UASB, de una sola fase, a temperatura y pH constantes, y comparar con un modelo cinético.

### Objetivos particulares.

1. Estabilizar un lodo metanogénico a diferentes relaciones de lactosa y acetato en régimen estacionario.
2. Estudiar y evaluar la digestión anaerobia de diferentes velocidades de carga orgánica de lactosa, a temperatura y pH constantes, utilizando el potencial de amortiguamiento como criterio de estabilidad y control del proceso. Como variables de respuesta.
3. Simular y evaluar el modelo cinético para la digestión anaerobia en función del tiempo, en un reactor tipo UASB de una sola fase, utilizando los valores experimentales de concentración de sustrato como iniciales.
4. Comparar y discutir los resultados de la simulación con los experimentales, utilizando como variable independiente a la velocidad de carga orgánica volumétrica y como variables de respuesta a la producción volumétrica de metano, la eficiencia de remoción del sustrato, el potencial de amortiguamiento y el pH.

### Metas

1. Estabilizar un lodo metanogénico a diferentes relaciones de lactosa (66%, 83% y 100%) y acetato (34% y 27%), correspondientes a una velocidad de carga orgánica de 0.33 g DQO / ld, en régimen estacionario.
2. Estudiar la digestión anaerobia de lactosa a temperatura y pH constantes, utilizando seis velocidades carga orgánica (g DQO / ld, 0.192, 0.517, 1.052, 1.87, 4.39 y 7.02), teniendo como variables de respuesta el consumo de sustrato, la producción volumétrica de metano y el pH y alcalinidad dentro del reactor.

3. De acuerdo al arreglo experimental y utilizando el modelo matemático propuesto, simular en computadora la digestión anaerobia de lactosa en función del tiempo.
4. Mediante el análisis estadístico de pruebas de homogeneidad de coeficientes, comparar los resultados de la simulación con los experimentales, utilizando como variable independiente a la velocidad de carga orgánica volumétrica y como variables de respuesta a la producción volumétrica de metano, la eficiencia de remoción del sustrato, el potencial de amortiguamiento y el pH..
5. Mediante un balance de materiales dinámico basado en el sustrato y la producción volumétrica de metano, estimar el coeficiente  $\alpha$  [mg AGV / l CH<sub>4</sub>] para el sistema biológico del reactor.

# 1. INTRODUCCION

---

## 1.1 Antecedentes

**1.1.1 La Digestión anaerobia en el tratamiento de aguas residuales.** El tratamiento de aguas residuales implica cuatro fases de tratamiento: uno preliminar, consistente en eliminar mediante operaciones físicas, sólidos de gran tamaño y densidad; uno primario, que elimina por sedimentación, al 30% de la materia orgánica contenida; un tratamiento secundario, que por lo general es biológico, en el que se elimina la materia orgánica disuelta o suspendida; y, por último, un tratamiento terciario, que consiste en remover los nutrientes nitrogenados y fosforados con la finalidad de evitar el crecimiento de formas de vida indeseables en los lugares donde se descarga el agua tratada. Esta última fase también se puede realizar mediante procedimientos biológicos. Al final de estas cuatro fases de tratamiento, es posible obtener agua lo suficientemente tratada para incorporarla al ciclo natural del agua.

Existen dos clases de tratamiento secundario biológico: anaerobio y aerobio. El aerobio es capaz de eliminar eficientemente la materia orgánica y entregar aguas con muy bajas concentraciones de materia orgánica (20 mg DQO/l), aunque no es posible utilizar este proceso en aguas con alta concentración de materia orgánica debido a problemas en la transferencia de oxígeno, además de que la generación de lodo aumenta sensiblemente los costos.

La digestión anaerobia de la materia orgánica, genera como productos finales al metano y bióxido de carbono ( $\text{CH}_4$  y  $\text{CO}_2$ ). Debido al metabolismo de los microorganismos implicados, se genera muy poca cantidad de biomasa en comparación con la mayoría de los tratamientos aerobios, ya que menos del 10% de la energía de los sustratos consumidos es destinado a la síntesis celular. Con esta tecnología se puede degradar concentraciones altas de materia orgánica, aunque es muy sensible a los cambios en las condiciones ambientales, como pH, temperatura, entre otras.

La formación biológica del metano, tiene lugar de manera natural, en todos los ambientes anaerobios en los que la materia orgánica se está descomponiendo: como los pantanos, los sedimento de los lagos y tracto digestivo, entre otros. Ocurre en intervalos de temperatura mesofílicos (20 - 40 °C) o termofílicos (45 - 65 °C) y con valores de pH de entre 6.7 y 7.8.

La aplicación de la digestión anaerobia al tratamiento de aguas residuales comenzó con el uso de fosas sépticas, que son los antecesores de los actuales digestores anaerobios. Para que estos últimos funcionen correctamente, se requiere cumplir con dos condiciones básicas: I) un medio ambiente que permita la mejor actividad de la biomasa, lo cual implica: i) condiciones de anaerobiosis estrictas; ii) condiciones reductoras rigurosas; y iii) ausencia, o bien, cantidades muy limitadas de sulfatos y nitratos que pudieran competir como aceptores finales de electrones y favorecer otras vías metabólicas en competencia con la metanogénesis; y II) un adecuado tiempo de retención de células dentro del reactor.

En la última década, se han desarrollado sistemas de reactores anaerobios que permiten retener a la biomasa activa y asegurar un buen contacto entre ésta y la materia orgánica presente en el agua residual. Este avance ha traído como consecuencia, que el tratamiento anaerobio de aguas residuales se haya convertido en una tecnología aceptada para tratar las aguas residuales de una amplia variedad de industrias [Weiland y Rozzi, 1991; Noyola, 1992].

**1.1.2. Microbiología y Bioquímica de la Digestión anaerobia.** En la digestión anaerobia están implicadas una serie de reacciones, por medio de las cuales, las sustancias orgánicas complejas se convierten en metano. Este proceso implica la participación de un gran número de bacterias, que si bien actúan de manera sinérgica, lo hacen a diferentes velocidades. Es posible hablar de cuatro grupos microbianos principales: A) bacterias hidrolíticas que hidrolizan y fermentan polímeros biológicos; B) bacterias acetogénicas productoras obligadas de hidrógeno y acetato, capaces de catabolizar ciertos ácidos grasos y productos finales neutros de la etapa anterior; C) bacterias homoacetogénicas, que producen acetato a partir de glucosa, fructosa o de la mezcla de hidrógeno/bióxido de carbono y D) bacterias metanogénicas, que catabolizan el acetato o compuestos unicarbonados a metano [García, 1982]. La actividad coordinada de estos grupos microbianos, asegura que el proceso de la digestión anaerobia sea estable.

En un inicio, se pensaba que la digestión anaerobia consistía sólo de dos etapas: hidrólisis-fermentación y metanogénesis [Barker, 1941], y no fue sino hasta que posteriormente, se identificó la existencia de una sintrofia entre las bacterias participantes, cuando se planteó el esquema de la digestión anaerobia en tres etapas: i) hidrólisis y acidogénesis, ii) acetogénesis y iii) metanogénesis [Mc Inerney y Bryant, 1981].

**1.1.2.1. Primera etapa: hidrólisis y acidogénesis.** Esta etapa implica la hidrólisis de polímeros naturales de alto peso molecular tales como proteínas y carbohidratos, y, compuestos de menor peso molecular como son lípidos, a azúcares, ácidos grasos, aminoácidos y, la posterior fermentación de estos azúcares en alcoholes, ácidos grasos volátiles (ácidos entre uno y cinco átomos de carbono), bióxido de carbono e hidrógeno.

La primera etapa, se puede convertir en la limitante de la digestión anaerobia cuando los polímeros a hidrolizar y fermentar son poco solubles, tóxicos, o de difícil biodegradación. Por el contrario, si los sustratos son solubles y fácilmente hidrolizables y fermentables, la primera etapa ocurre sin mayor problema, dado su carácter termodinámicamente exergónico (Tabla 1.1) . En este caso en particular, será necesario evitar una sobrecarga de sustratos, y por tanto, una sobreproducción de ácidos grasos que pudieran disminuir el pH del sistema a niveles inhibitorios para la microflora. Cuando hay una sobrecarga en un digestor anaerobio, la acumulación de ácidos grasos volátiles puede inducir un pH menor a 6.2, el cual, resulta inhibitorio para la población metanogénica. Es necesario hacer notar que la acidogénesis no se detiene a estos valores de pH y que las bacterias fermentativas siguen produciendo ácidos activamente aún a un pH entre 4.5 y 5. Es recomendable controlar un digestor por medio de la adición de álcali cuando el pH disminuye a 6.6. [García, 1982; Guyot, 1992; Monroy, 1992].

Otra razón por la que debe evitarse la sobrecarga en un reactor anaerobio, es que, además de generarse una gran cantidad de ácidos, la concentración de hidrógeno aumenta en exceso. La composición de la mezcla de ácidos grasos generados durante la fermentación, está determinada entre otros factores, por la concentración de hidrógeno en el medio. Cuando la concentración de hidrógeno aumenta, disminuye la proporción de ácido acético formado y se incrementa la proporción de ácidos con más de dos átomos de carbono, ésto es, se generan mezclas de acético, propiónico y butírico, debido al aumento en el poder reductor y por ser más exergónicas las reacciones de formación de propiónico y butírico (Tabla 1.1). Por el contrario, cuando la concentración de hidrógeno es muy baja (5 - 50 ppm), existe una preferencia por la generación de acético [Mosey, 1983], lo cual representa una ventaja para todo el sistema, dado que el acetato es el precursor principal de metano en los digestores anaerobios [Smith y Mah, 1966; Chartrain y Zeikus, 1986].

**Tabla 1.1.** Cambios de  $\Delta G^\circ$  por la hidrólisis y fermentación de sustratos durante la digestión anaerobia ( $\Delta G^\circ$ , referido a condiciones fisiológicas: 25 °C y pH 7)

Reacción	$\Delta G^\circ$ (KJ/mol)
Glucosa $\longrightarrow$ acetato + bióxido de carbono	-206.3
Glucosa $\longrightarrow$ propionato	-358.1
Glucosa $\longrightarrow$ butirato + bióxido de carbono	-254.6

[Monroy, 1991]

Los microorganismos que realizan la primera etapa de la digestión anaerobia son muy diversos, entre ellos se encuentran una gran cantidad de bacterias. Las bacterias participantes son quimioheterótrofas hidrolíticas y fermentativas, que bien pueden ser anaerobias estrictas o facultativas, todas ellas de crecimiento rápido con tiempos de duplicación alrededor de 30 minutos. La cantidad, tipos y especies que conformen este grupo, dependerá de la composición cuantitativa y cualitativa del influente alimentado al digester [Hobson y Shaw, 1974], así, será posible encontrar microorganismos celulolíticos, proteolíticos y lipolíticos. En general, entre los microorganismos anaerobios facultativos, se puede hablar de los géneros *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Corynebacterium* y los pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae*, entre otros. Entre los anaerobios estrictos se puede hablar de los géneros de *Clostridium*, *Micrococcus*, *Propionibacterium*, *Bacteroides*, entre otros. En la Tabla 1.2 se muestran algunas de las bacterias hidrolíticas y fermentativas que participan en la digestión anaerobia, así como los sustratos que hidrolizan y fermentan.

**1.1.2.2 Segunda etapa: acetogénesis.** Durante la acetogénesis, etapa que se puede describir como una deshidrogenación acetogénica [Moreno, 1991], los productos generados en la primera etapa hidrolítica son fermentados a acetato, bióxido de carbono e hidrógeno, productos precursores del metano. Los principales sustratos utilizados son los alcoholes y los ácidos grasos volátiles como propionato y butirato. La acetogénesis es una etapa crítica, puesto que con ella se evita la acumulación de ácidos grasos volátiles, los cuales en concentraciones altas, pueden inhibir la metanogénesis.

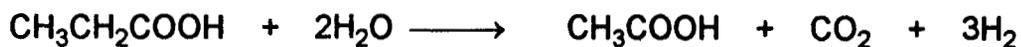
Tabla 1.2. Bacterias hidrolíticas y fermentativas de la digestión anaerobia

Género	Sustrato hidrolizado	Enzimas hidrolíticas	Sustrato fermentado
<i>Clostridium</i>	Proteínas Carbohidratos  Lípidos	Proteasas Celulasas, amilasas, xilanasas, hemicelulasas Lipasas, fosfolipasas	Aminoácidos Azúcares  Acidos grasos, alcoholes
<i>Bacillus</i>	Proteínas	Proteasas	Aminoácidos Azúcares
<i>Bacteroides</i>	Carbohidratos  Proteínas	Celulasas, amilasas, xilanasas, hemicelulasas Proteasas	Azúcares  Aminoácidos
<i>Micrococcus</i>	Lípidos	Lipasas, fosfolipasas	Aminoácidos Azúcares
<i>Staphylococcus</i>	Carbohidratos  Proteínas Lípidos	Celulasas, amilasas, xilanasas, hemicelulasas Proteasas Lipasas, fosfolipasas	Azúcares  Aminoácidos
<i>Peptococcus</i> <i>Proteus</i> <i>Vibrio</i>	Proteínas	Proteasas	
<i>Acetovibrio</i>	Carbohidratos	Celulasas, amilasas, xilanasas, hemicelulasas	
<i>Clostridium</i> <i>Klebsiella</i> <i>Leuconostoc</i> <i>Lactobacillus</i> <i>Escherichia</i>	LACTOSA	$\beta$ - galactosidasas	Azúcares
<i>Desulfobacter</i> <i>Desulfovibrio</i> <i>Desulfuromonas</i> <i>Eubacterium</i> <i>Pseudomonas</i> <i>Selenomonas</i> <i>Streptococcus</i> <i>Veillonella</i> <i>Zymomonas</i>			Aminoácidos, azúcares

[Moreno, 1991; Chartrain y Zeikus, 1986]

Básicamente existen tres vías y por tanto tres grupos microbianos, que pueden generar acetato: i) bacterias acetogénicas OHPA, ii) bacterias homoacetogénicas y iii) bacterias sulfatorreductoras (BSR). Todas las bacterias implicadas a partir de la segunda etapa de la digestión anaerobia, son anaerobias estrictas.

**1.1.2.2.1 Bacterias acetogénicas OHPA.** Las bacterias acetogénicas productoras obligadas de hidrógeno (OHPA: "obligate hydrogen producing acetogen"), pertenecen a un grupo especializado de bacterias cuyo descubrimiento permitió plantear el esquema de tres etapas de la digestión anaerobia y poner de manifiesto la importancia de las asociaciones bacterianas que pueden establecerse durante ésta [Mc Inerney y Bryant, 1981]. Estas bacterias, al transformar los ácidos grasos en acetato y bióxido de carbono, producen obligadamente hidrógeno según la siguiente reacción:



Tienen la peculiaridad, de que las reacciones que llevan a cabo se ven inhibidas por el hidrógeno que generan, por lo que es necesario que éste no se acumule en el medio. De hecho, se presenta una inhibición cuando las presiones de hidrógeno son mayores de 0.3 mm Hg [Monroy, 1991]. Debido a esta situación, las bacterias OHPA son incapaces de crecer en un cultivo puro, ya que en condiciones estándares, sus reacciones son energéticamente desfavorables ( $\Delta G^\circ$  positivo). Como consecuencia, las bacterias OHPA deben desarrollar una relación sintrófica con las bacterias hidrogenofílicas que remueven el hidrógeno, denominada "transferencia de hidrógeno interespecies", ya que a muy bajas presiones parciales de hidrógeno, las reacciones se vuelven posibles al desplazarse el equilibrio hacia la derecha (Tabla 1.3).

Por lo general, las bacterias hidrogenofílicas son metanogénicas, aunque si en el medio existen sulfatos, las bacterias sulfatorreductoras pueden competir y sustituir a las metanogénicas. Sin embargo, cuando el medio no contiene sulfatos, ciertos grupos de BSR, también pueden establecer una relación sintrófica con bacterias metanogénicas hidrogenofílicas [Guyot, 1992], como se ilustra en la Tabla 1.3.

En la actualidad se han aislado muy pocas bacterias OHPA. El hecho de que presentan tiempos de generación muy largos de entre 90 y 160 hrs, [Boone y Bryant, 1980] y la necesidad de crecerlas en co-cultivo con bacterias hidrogenofílicas, han limitado tanto su aislamiento como su estudio fisiológico. En la Tabla 1.4 se muestran

las bacterias OHPA conocidas, entre las cuales se encuentra una capaz de oxidar al benzoato.

**Tabla 1.3.** Cambios de  $\Delta G^\circ$  de las reacciones realizadas por bacterias OHPA sin y con simtrofia con bacterias hidrogenoflicas

Reacción	$\Delta G^\circ$ (KJ/mol)
Reacción efectuada por la bacteria OHPA:	
Etanol $\longrightarrow$ acetato + hidrógeno	+9.6
Propionato $\longrightarrow$ acetato + hidrógeno + bióxido de carbono	+76.1
Reacción de bacteria OHPA en simtrofia con hidrogenoflica:	
Etanol $\longrightarrow$ acetato + metano	-57.9
Propionato $\longrightarrow$ acetato + metano + bióxido de carbono	-102.4
Reacción efectuada por la bacteria sulfatorreductora:	
Lactato $\longrightarrow$ acetato + hidrógeno + bióxido de carbono	+8.0
Reacción de bacteria sulfatorreductora en simtrofia con metanogénica:	
Lactato $\longrightarrow$ acetato + metano + bióxido de carbono	-123.0

[Guyot, 1992]

**Tabla 1.4.** Bacterias OHPA de la digestión anaerobia

Microorganismo	Sustrato	Producto generado	$\Delta G^\circ$ de reacción
Organismo "S"	Etanol	Acetato, agua	+9.6
<i>Syntrophobacter wolinii</i>	Propionato	Acetato, CO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub>	+76.1
<i>Syntrophomonas wolfei</i>	Butirato	Acetato, H <sub>2</sub>	+48.1
<i>Syntrophus buswellii</i>	Benzoato	Acetato, CO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub>	+53.0

[Guyot, 1992]

**1.1.2.2 Bacterias homoacetogénicas.** Estas bacterias tienen como característica principal producir exclusivamente acetato. Se dividen en dos grupos, dependiendo de cómo lo hacen: i) las bacterias que a partir de algunos sacáridos, como glucosa y fructosa, generan acetato al reducir el bióxido de carbono generado

durante la fermentación; y ii) las bacterias encargadas de llevar a cabo la oxidación del hidrógeno y la reducción del bióxido de carbono (Tabla 1.5).

Tabla 1.5. Bacterias homoacetogénicas de la digestión anaerobia

Grupo 1: $H^+ + CO_2 \longrightarrow$ acetato
<i>Clostridium formicoaceticum</i>
<i>Peptococcus glycinophilus</i>
Grupo 2: $H_2 + CO_2 \longrightarrow$ acetato
<i>Clostridium aceticum</i>
<i>C. thermoautotrophicum</i>
<i>Acetobacterium woodii</i>
<i>Acetogenium kivui</i>

[Garcia, 1982]

**1.1.2.2.3 Bacterias sulfatorreductoras (BSR).** Estas bacterias anaerobias estrictas, están presentes en los digestores anaerobios y son capaces de reducir los grupos sulfatos al utilizarlos como aceptores finales de electrones y convertirlos a sulfuro de hidrógeno, usando al acetato y al hidrógeno como donadores de electrones. El efecto de las bacterias sulfatorreductoras en la digestión anaerobia, dependerá de la disponibilidad de sulfato en el influente alimentado, así, en ausencia de sulfato, ciertas BSR pueden establecer una relación sintrófica con las bacterias metanogénicas y realizar una transferencia de hidrógeno interespecies, promoviendo de esta forma, la generación de metano.

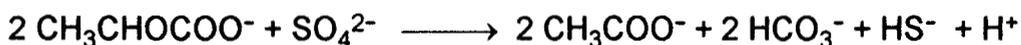
Por otro lado, en presencia de sulfato, la metanogénesis es afectada negativamente debido a diferentes factores: i) un aumento en el potencial redox (Eh) como resultado de la presencia de formas de oxígeno tales como  $NO_3$ ,  $SO_4$ ,  $O_2$  [Mc Gregor y Keeney, 1973], ii) competencia de las bacterias metanogénicas y sulfatorreductoras por el acetato y el hidrógeno [Abram y Nedwell, 1978; Winfrey y Zeykus, 1977], iii) disminución de la concentración de hidrógeno por debajo de 5 a 10 M, nivel inferior al mínimo necesario para la generación de metano [Bryant *et al.*, 1977; Brock, 1987] y iv) la toxicidad que representa para las bacterias metanogénicas el sulfuro de hidrógeno generado por las bacterias sulfatorreductoras [Guyot *et al.*, 1985].

Los valores publicados, a partir de los cuales se presenta inhibición de la metanogénesis por toxicidad, son muy variables, dependiendo del proceso utilizado y de la cantidad de compuestos en el influente capaces de precipitar los sulfuros

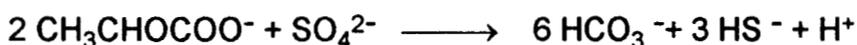
formados. Se puede presentar desde concentraciones de sulfatos de 50 hasta 1000 ppm [Stronach *et al.*, 1986].

Aunque las bacterias sulfatorreductoras son capaces de utilizar como fuentes de carbono y energía a algunos compuestos aromáticos y al acetato, en general, pueden considerarse al lactato y al piruvato como sus principales sustratos. Dependiendo de su metabolismo, pueden dividirse en dos grupos: i) grupo (a), las que oxidan de manera incompleta sus sustratos hasta acetato y que agrupa, entre otros, al género *Desulfovibrio*. Cabe mencionar que a este grupo pertenecen también las bacterias capaces de establecer una transferencia de hidrógeno con las bacterias metanogénicas; y ii) grupo (b), las que oxidan completamente los sustratos, incluyendo al acetato, hasta bióxido de carbono (Tabla 1.6). En este grupo se encuentran los géneros *Desulfococcus* y *Desulfosarcina*. Las reacciones que llevan a cabo se muestran a continuación:

grupo (a):



grupo (b):



**Tabla 1.6.** Géneros de bacterias sulfatorreductoras

Grupo (a)
<i>Desulfovibrio</i>
<i>Desulfotomaculum</i>
<i>Desulfobulbus</i>
Grupo (b)
<i>Desulfobacter</i>
<i>Desulfococcus</i>
<i>Desulfobulbus</i>
<i>Desulfosarcina</i>
<i>Desulfonema</i>

[García, 1982]

**1.1.2.3 Tercera etapa: metanogénesis.** La metanogénesis corresponde a la parte final de la digestión anaerobia de la materia orgánica. En ella, los compuestos simples que han sido generados en las dos etapas anteriores, son transformados por medio de las bacterias metanogénicas en bióxido de carbono y metano. Estas bacterias se encuentran en la naturaleza en ausencia total de oxígeno.

La mayoría de las bacterias metanogénicas sólo pueden crecer en un intervalo de pH de 6.0 a 8.0. Son fisiológicamente más activas a pH entre 7.0 a 7.8, observándose mayor actividad a un valor de 7.5. Valores de pH menores a 6.0 causan disminución en la velocidad de producción de metano, hasta que ésta llega a valores cercanos a cero, cuando el pH baja a valores entre 4.75 y 4.8 [Attal *et al.*, 1988]. Cuando el pH disminuye, la concentración de las formas no disociadas de los ácidos grasos se incrementa rápidamente, las cuales son incorporadas a la célula por difusión [Henderson, 1971]. Una vez dentro, los ácidos se disocian, ocasionando la acidificación del citoplasma. De esta manera, el efecto inhibitorio de las formas no disociadas de los ácidos grasos es la acidificación del citoplasma [Kroeker *et al.*, 1979; Anderson *et al.*, 1982; Duarte y Anderson, 1982] y la pérdida del gradiente de protones necesario para la generación de ATP [Montfort, 1978].

Las bacterias metanogénicas han evolucionado poco y pertenecen al reino de las arqueobacterias [Woese, 1977; Balch *et al.*, 1979; Woese y Wolfe, 1985], por lo cual presentan características distintivas como son:

La capacidad de generar metano utilizando un número reducido de sustratos, como son hidrógeno, monóxido de carbono, formato, metanol, metilaminas, hidrógeno/bióxido de carbono, acetato, etanol, propanol, entre otros.

La constitución química de su pared celular que no contiene mureína y contiene lípidos neutros e hidrocarburos isoprenoides.

La presencia de coenzimas particulares, entre ellas el  $F_{420}$ , que hace fluorescer a las bacterias de un color azul-verde a una longitud de onda de 420 nm.

Su composición inorgánica, que en comparación con el resto de los microorganismos, muestra mayor cantidad de micronutrientes tales como níquel, fierro y cobalto.

Las bacterias metanogénicas, además se diferencian del resto de los procariontes, porque presentan seis coenzimas únicas especializadas en la metanogénesis (Rouviere y Wolfe, 1988; Wolfe, 1990): i) coenzima M o HS-CoM, que actúa como transportador del grupo metil; ii) el cofactor  $F_{420}$ , que actúa como transportador de electrones; iii) la metanopterina (MPT) o factor  $F_{342}$ , que actúa como transportador de moléculas monocarbonadas; iv) el metanofurano, coenzima

involucrada en el primer paso de la fijación del bióxido de carbono; v) el factor F<sub>430</sub>, que interviene en la demetilación reductora del metil-coenzima M para producir metano; y vi) el componente B, el cual actúa como donador de electrones en la demetilación reductiva del metil-coenzima M.

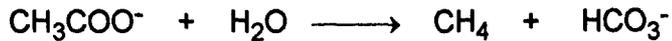
Dependiendo de sus afinidades tróficas, las bacterias metanogénicas se pueden dividir principalmente en dos grupos: i) bacterias metanogénicas acetoclásticas y ii) bacterias metanogénicas hidrogenofílicas. Ambos grupos son descritos a continuación y se muestran en la Tabla 1.7.

**Tabla 1.7. Bacterias metanogénicas en la digestión anaerobia**

Género	Especie	Sustratos	Intervalo de crecimiento
<b>Bacterias metanogénicas hidrogenofílicas</b>			
<i>Methanobacterium</i>	<i>formicum</i>	HCOOH, H <sub>2</sub> + CO <sub>2</sub>	mesofílica
	<i>bryantii</i>	H <sub>2</sub> + CO <sub>2</sub>	mesofílica
	<i>thermoautotrophicum</i>	H <sub>2</sub> + CO <sub>2</sub>	termofílica
<i>Methanobrevibacter</i>	<i>ruminantium</i>	HCOOH, H <sub>2</sub> + CO <sub>2</sub>	mesofílica
	<i>arboriphilus</i>	H <sub>2</sub> + CO <sub>2</sub>	mesofílica
	<i>smithii</i>	HCOOH, H <sub>2</sub> + CO <sub>2</sub>	mesofílica
<i>Methanothermus</i>	<i>fervidus</i>	H <sub>2</sub> + CO <sub>2</sub>	termofílica
<i>Methanoplanus</i>	<i>limicola</i>	HCOOH, H <sub>2</sub> + CO <sub>2</sub>	mesofílica
<i>Methanococcus</i>	<i>vanniellii</i>	HCOOH, H <sub>2</sub> + CO <sub>2</sub>	mesofílica
	<i>voltae</i>	HCOOH, H <sub>2</sub> + CO <sub>2</sub>	mesofílica
	<i>thermolithotrophicus</i>	HCOOH, H <sub>2</sub> + CO <sub>2</sub>	termofílica
<i>Methanomicrobium</i>	<i>mobile</i>	HCOOH, H <sub>2</sub> + CO <sub>2</sub>	mesofílica
<i>Methanogenium</i>	<i>cariaci</i>	HCOOH, H <sub>2</sub> + CO <sub>2</sub>	mesofílica
	<i>marisnigri</i>	HCOOH, H <sub>2</sub> + CO <sub>2</sub>	mesofílica
	<i>tindarius</i>	CH <sub>3</sub> OH, CH <sub>3</sub> NH <sub>2</sub>	mesofílica
<i>Methanospirillum</i>	<i>hungatei</i>	HCOOH, H <sub>2</sub> + CO <sub>2</sub>	mesofílica
<b>Bacterias metanogénicas acetoclásticas</b>			
<i>Methanosarcina</i>	<i>barkeri</i>	CH <sub>3</sub> COOH, CH <sub>3</sub> OH, CH <sub>3</sub> NH <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> + CO <sub>2</sub>	mesofílica
<i>Methanosaeta</i> ( <i>Methanotherix</i> )	<i>soehngenii</i>	CH <sub>3</sub> COOH	mesofílica

[Schoberth, 1982]

**1.1.2.3.1 Bacterias metanogénicas acetoclásticas.** Son las bacterias metanogénicas que generan metano a partir del grupo metilo del ácido acético según la siguiente reacción:



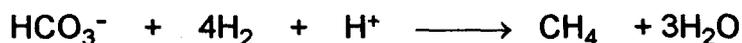
En un digestor anaerobio, ésta es la reacción más importante para la generación de metano, ya que por un lado, aproximadamente el 70% del metano producido proviene del acetato, y por el otro, estas bacterias ayudan a controlar el pH del medio al consumir el acetato generado en las etapas anteriores, y, al producir una solución amortiguadora de bicarbonatos con el bióxido de carbono solubilizado.

A pesar de ser las principales productoras de metano en un digestor, son muy pocas bacterias de este grupo las que se han podido aislar. Son dos los géneros que pertenecen a este grupo: *Methanosarcina* y *Methanosaeta* (*Methanothrix*).

Las bacterias del género de *Methanosarcina*, son pseudosarcinas que tienen tiempos de crecimiento prolongados, de treinta horas al crecerlas en acetato, en comparación con las de otros géneros. Son capaces de utilizar las metilaminas y el metanol además del acetato como fuente de carbono y energía, y pueden ser inhibidas por hidrógeno y formato [Guyot y Ramírez, 1989].

Las del género de *Methanothrix* son bacilos que forman filamentos largos y presentan crecimiento más lento, con un tiempo de duplicación de entre 65 y 70 horas. Estas bacterias son incapaces de utilizar otros sustratos diferentes al acetato para generar metano y no son inhibidas por hidrógeno ni formato [Zehnder *et al.*, 1980].

**1.1.2.3.2 Bacterias metanogénicas hidrogenofílicas.** Estas bacterias son las que obtienen su energía de la oxidación del hidrógeno y utilizan al bióxido de carbono como aceptor final de electrones. Pueden utilizar al acetato como fuente de carbono, pero no como fuente de energía. La mayoría de ellas, también pueden utilizar al formato. La reacción característica de las bacterias hidrogenofílicas es la siguiente:



Estas bacterias juegan un papel muy importante dentro de la digestión anaerobia, ya que además de generar el producto final de ésta, actúan como control sobre el potencial redox de la fermentación al eliminar el hidrógeno y permitir la

actividad de las bacterias OHPA formadoras de acetato. Presentan como característica un crecimiento relativamente rápido de hasta seis horas de tiempo de duplicación.

**1.1.3 Equilibrio químico de la digestión anaerobia y potencial de amortiguamiento.** Además del equilibrio en función de la transferencia de hidrógeno, en la digestión anaerobia existe el equilibrio químico, el cual se ve afectado por la concentración de los ácidos grasos producidos, bajo sus formas no disociadas y el bióxido de carbono generado, el cual también se ve reflejado por el pH del medio. En el interior de un reactor suceden varias reacciones ilustradas en la Tabla 1.8 y descritas a continuación.

- i. Los ácidos grasos volátiles en su forma protonada (AGVH) resultan potencialmente tóxicos para las bacterias encargadas de la metanogénesis, pero no así su forma disociada (AGV<sup>-</sup>). La disociación de los AGVH tiene un pK<sub>a</sub> de 4.87, correspondiente a un valor promedio entre el ácido acético, propiónico y butírico, que comúnmente son los ácidos producidos. Si un reactor anaerobio se mantiene a un pH superior a este valor, habrá una mayor concentración de las formas no tóxicas de los AGV<sup>-</sup> y se evitará así un posible daño celular por acidificación.
- ii. El bióxido de carbono, también formado durante la acidogénesis, presenta dos reacciones de equilibrio, una a un pK<sub>a</sub> de 6.35 correspondiente a la formación de bicarbonato y otro más a un pK<sub>a</sub> de 10.25, cuando sucede la formación de carbonato. En el reactor, la reacción de equilibrio más importante de estas dos es la formación de bicarbonato, debido al valor de pH en el que se presenta y porque permite amortiguar el pH al neutralizar una forma de ácido no disociada (AGVH). Esta reacción de equilibrio, constituye una manera de mantener el pH en el reactor en valores adecuados para la metanogénesis, cercanos a 7.

De esta forma, en la digestión anaerobia, el equilibrio ácido - base se mantiene con los AGV generados por el metabolismo de las bacterias acidogénicas, el consumo de éstos por las bacterias metanogénicas y por el bióxido de carbono que ambos grupos microbianos producen y que actúa como amortiguador. En resumen, de la estabilidad de este equilibrio depende el éxito del sistema biológico.

Cabe mencionar que este equilibrio se presenta entre la fase líquida y gaseosa del reactor, un resumen se muestra en la Tabla 1.9.



balance (en términos de equivalentes) entre la alcalinidad del bicarbonato y la concentración de los ácidos grasos volátiles, para que la digestión anaerobia se lleve a cabo en forma adecuada. Encontró que, sólo se presentan variaciones apreciables en el pH, cuando las variaciones en la relación AGV/alcalinidad son grandes. Posteriormente [Rozzi *et al.*, 1985], señala la importancia del ión bicarbonato como una variable importante para controlar el proceso de la digestión anaerobia, puesto que, mientras la alimentación de un digestor anaerobio se mantenga libre de ácidos o bases fuertes, la disminución en la alcalinidad de bicarbonato será igual al incremento en la concentración de los AGV.

Con todo esto, un concepto que surge del equilibrio químico, es el del potencial de amortiguamiento (PA), definido como la diferencia en un reactor anaerobio entre la concentración de bicarbonato y los ácidos grasos volátiles no ionizados [Colin, 1984]. Mientras la concentración de bicarbonatos sea mayor que la de AGVH, se asegura que el sistema tiene la capacidad amortiguadora suficiente para controlar la acidificación, es decir que el potencial de amortiguamiento sea mayor que cero. El potencial de amortiguamiento puede calcularse y expresarse de la siguiente manera:

$$PA = (\text{equivalentes bicarbonato/l} - \text{equivalentes HAGV/l})$$

**1.1.4 Digestión anaerobia de lactosa.** La lactosa, el carbohidrato encontrado sólo en la leche, es un disacárido constituido por una molécula de glucosa y otra de galactosa unidas entre sí mediante un enlace  $\beta$  - 1,4 (Figura 1.1). El residuo de glucosa presenta un carbón anomérico libre, razón por la cual deja libre un grupo aldehído que puede ser oxidado por la solución de Fehling, situación que no se presenta en el residuo de la galactosa. Como consecuencia, la lactosa es un azúcar reductor debido al residuo reductor de la glucosa. La lactosa puede ser hidrolizada por la enzima  $\beta$ - galactosidasa presente en el tracto digestivo del hombre, o bien por lactasas de origen bacteriano. Algunas de las bacterias del grupo entérico, al igual que las del grupo del ácido láctico, presentan la enzima  $\beta$ - galactosidasa y un complejo enzimático que les permite convertir los azúcares liberados a ácido láctico y otros productos. La lactosa, también se encuentra presente en el suero de leche, siendo el componente responsable de la alta DBO que éste genera, ya que constituye aproximadamente el 74% de sus sólidos [García, 1984; Nodetec, 1987].

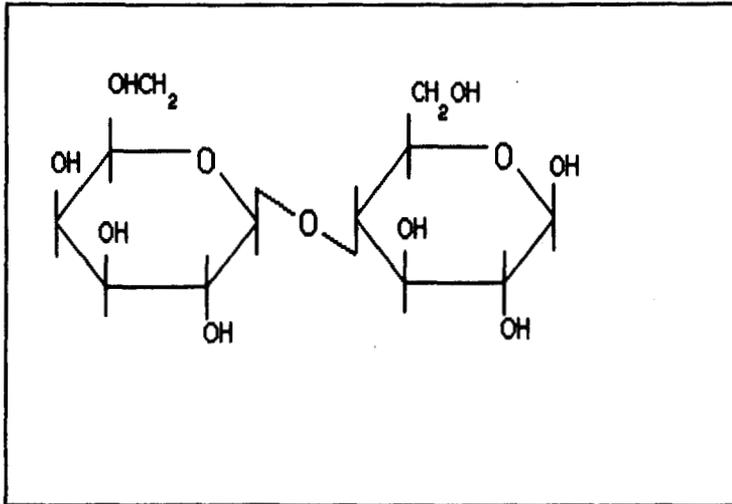
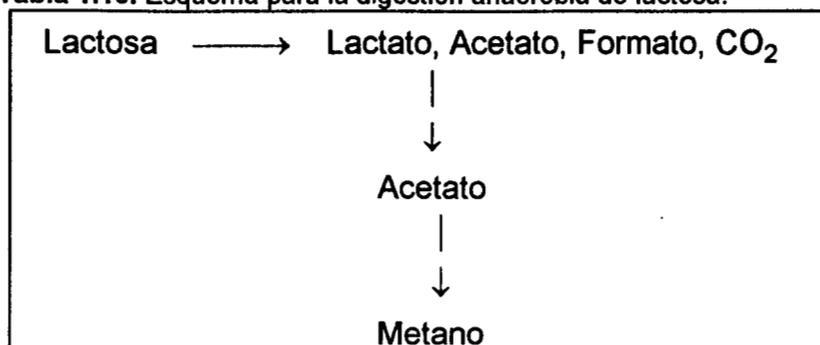


Figura 1.1 Estructura de la lactosa.

Dada la alta concentración de lactosa en el suero de leche, y que puede ser utilizada como fuente de carbono, se ha estudiado su hidrólisis y conversión a metano por medio de la digestión anaerobia.

Se ha demostrado [Chartrain y Zeikus, 1986], que es posible llevar a cabo la digestión anaerobia de la lactosa utilizando un quimiostato con pH controlado a 7.1 como reactor de una sola fase, en el cual se presentan, tanto la hidrólisis y acidogénesis, como la metanogénesis. Estos autores encontraron que, a un tiempo de retención hidráulico (TRH) de 4.16 días, con 1.875 g de lactosa / ld, el 98% de ésta es transformada a bióxido de carbono, metano y células. Demostraron también que la biometanación ocurre en tres fases diferentes: hidrólisis, en donde la lactosa es fermentada principalmente a lactato, y una proporción pequeña de etanol, acetato, formato y bióxido de carbono. Estos metabolitos, en la segunda fase o acetogénesis, son transformados a acetato, bióxido de carbono e hidrógeno. Finalmente estos son transformados a metano por las bacterias metanogénicas, en donde el 81% del metano proviene del acetato. Utilizando trazadores radioactivos encontraron que propusieron el esquema para la digestión anaeróbica de la lactosa mostrado en la Tabla 1.10.

**Tabla 1.10.** Esquema para la digestión anaerobia de lactosa.

[Chartrain y Zeikus, 1986]

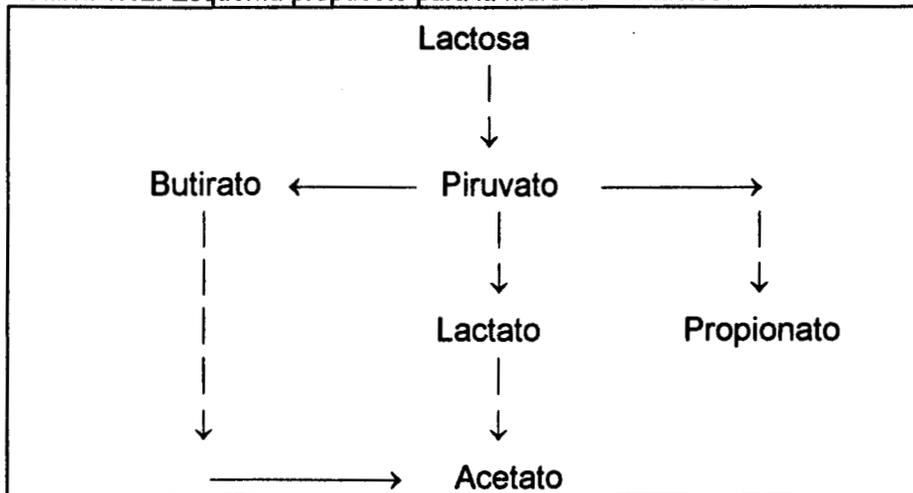
La hidrólisis de la lactosa, es decir, la primera fase de la digestión anaerobia, también ha sido demostrada [Kisaalita *et al.*, 1989]. Los autores utilizaron un quimiostato con pH controlado a 6.0 y con 10.5 g/l de lactosa alimentada. Observaron que según el TRH ensayado, la lactosa se hidrolizaba y fermentaba totalmente produciendo diferentes ácidos grasos volátiles (AGV). Encontraron que TRH mayores a 0.27 días son adecuados para fermentar totalmente la lactosa a acetato, a diferencia de TRH menores a 0.1 días, en los cuales se presentó lavado de células (Tabla 1.11). Asimismo, utilizando trazadores radiactivos, propusieron el esquema de la hidrólisis de lactosa presentado en la Tabla 1.12

**Tabla 1.11.** TRH de ensayo y productos obtenidos de la hidrólisis de lactosa

TRH ensayado (días)	Productos de hidrólisis
TRH > 0.27	Lactato y butirato. Ambos a acetato
0.27 > TRH > 0.1	Aumento de lactato y disminución de acetato
TRH < 0.1	Disminución de AGV y lavado parcial

[Kisaalita *et al.*, 1989]

**Tabla 1.12.** Esquema propuesto para la hidrólisis de lactosa



[Kissalita *et al.*, 1989]

**1.1.4.1 Microbiología de la digestión anaerobia de lactosa.** La microflora bacteriana asociada a la biometanación de lactosa fue estudiada en un quimiostato alimentado con suero de leche [Chartrain y Zeikus, 1986]. Los autores encontraron la existencia, entre otros, de cuatro grupos bacterianos, como se ilustra en la Tabla 1.13: bacterias hidrolíticas, acetogénicas, metanogénicas y sulfatorreductoras en sintrofia con las metanogénicas.

**Tabla 1.13.** Grupos bacterianos implicados en la digestión anaerobia de lactosa

Grupo bacteriano	Especie	Producto generado
Hidrolíticas: consumidoras de lactosa	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	Lactato, acetato, etanol, hidrógeno, bióxido de carbono
	<i>Clostridium butyricum</i>	Lactato, acetato, etanol, butirato, hidrógeno, bióxido de carbono
	<i>Klebsiella oxitoca</i>	Lactato, acetato, etanol, formato, acetoína, hidrógeno, bióxido de carbono
Acetogénicas	<i>Clostridium propionicum</i>	Acetato, propionato, bióxido de carbono, hidrógeno,
	<i>Desulfovibrio vulgaris</i>	Acetato, etanol, bióxido de carbono, hidrógeno, ác. sulfhídrico
Metanogénicas	<i>Methanobacterium formicicum</i>	Metano
	<i>Methanosarcina barkeri</i>	
	<i>Methanotherix soehngenii</i>	

[Chartrain y Zeikus, 1986]

**1.1.5 Reactores anaerobios tipo UASB.** El reactor anaerobio de lecho de lodos con flujo ascendente (UASB: Upflow Anaerobic Sludge Blanket) es el que ha tenido mayor aceptación mundial, debido a su facilidad de operación, instalaciones compactas y menor costo. Este tipo de reactor es fundamentalmente aplicado para tratar aguas residuales industriales con velocidad de carga orgánica media y elevada, sin embargo, también puede utilizarse en el tratamiento de aguas residuales diluídas como las del tipo doméstico en climas cálidos y semicálidos.

El sistema UASB pertenece a la llamada "segunda generación". Su funcionamiento se basa en la formación de un lecho de lodo biológico, constituido por los microorganismos responsables de realizar la digestión anaerobia, aglomerados en forma de gránulos o flóculos que permanecen dentro del reactor. La forma granular del lodo, evita que los microorganismos sean evacuados del reactor por el flujo ascendente del agua (Figura 2.1 de Materiales y Métodos). Esta característica permite desligar el tiempo de retención hidráulico (TRH), del tiempo de retención celular (TRC), por lo que es posible diseñar reactores de menor volumen y operarlos con TRH pequeños.

Un reactor UASB puede ser considerado en tres secciones: i) cama de lodos, ii) zona de sedimentación y iii) zona de separación.

- i. La alimentación de agua residual al reactor es por su parte inferior, siendo distribuida por toda la base del reactor con la finalidad de promover cierto mezclado y evitar la formación de zonas muertas. La materia orgánica que entra en el agua, se adhiere a los lodos y es transformada en energía, nuevos microorganismos y biogás. Las burbujas de biogás, provocan una turbulencia en la cama de lodos que contribuye a mejorar la distribución del agua alimentada y la transferencia de masa entre el medio líquido y los lodos.
- ii. El agua llega a una cámara de separación, libre de turbulencia, en donde las partículas en suspensión que han sido arrastradas por el líquido y las burbujas de gas, regresan al lecho de lodos por sedimentación.
- iii. Por último, en la tercera parte, el biogás formado es captado por medio de un sistema de campanas localizado en la parte superior del reactor. También por la parte superior se obtiene el agua tratada.

**1.1.6 Modelamiento de la digestión anaerobia.** En la digestión anaerobia ocurren varias reacciones bioquímicas, cada una con velocidades diferentes. Asimismo, aunque el metabolismo de las bacterias anaerobias les permite hidrolizar

mayores cantidades de materia orgánica sin generar una gran cantidad de biomasa, también las hace más sensibles a las condiciones ambientales, como son el pH y la temperatura; a los cambios en la composición del influente, que incluyen la presencia de sustancias nuevas, tóxicas o recalcitrantes y a los aumentos bruscos en la materia orgánica, que ocasionan la acidificación del medio. Así, puede resultar afectado el metabolismo de la población microbiana de un digestor anaerobio. Según el daño ocasionado al sistema biológico, se pueden presentar desde periodos de baja eficiencia, cuyo tiempo de reestablecimiento dependerá de la magnitud del daño ocasionado, hasta la pérdida total de la actividad biológica del reactor.

Un sistema de tratamiento adecuado, tiene como objetivo lograr que todas las reacciones bioquímicas ocurran simultáneamente a una velocidad aceptable, además de detectar los pasos limitantes en una situación dada, según las características del influente. Dada la complejidad del proceso de la digestión anaerobia y que la velocidad de crecimiento de las bacterias limitantes es lenta, sería necesario invertir una gran cantidad de tiempo a la experimentación con la finalidad de estudiar exhaustivamente el comportamiento de los digestores anaerobios. El desarrollo de modelos matemáticos ha permitido obtener información del proceso y evaluar estrategias de control [Rozzi, *et al.*, 1985].

El primer modelo que describe verbalmente la digestión anaerobia fue publicado por Mc Carty (1964), en él se definen las características importantes y las interacciones entre la fase líquida y gaseosa, además del papel del bicarbonato para mantener el sistema en condiciones estables. El primer modelo matemático fue establecido por Andrews (1968) y Graef y Andrews (1974). En él se asume la hidrólisis y la acidificación como pasos no limitantes y sólo se considera la formación de metano a partir de acetato. Define también las ecuaciones que describen la interacción entre las fases líquida y gaseosa del  $\text{CO}_2$ , y fue el primero en considerar dentro del modelo la inhibición por sustrato y los efectos tóxicos.

Hasta el comienzo de los ochentas, la mayoría de los modelos de la digestión anaerobia consideraban solamente a las bacterias metanogénicas acetoclásticas, debido a que su actividad en la degradación de la materia orgánica es la etapa limitante. Estos modelos resultaron adecuados para estudiar las interacciones entre las variables físicas y químicas, pero no permitían explicar el comportamiento bioquímico del proceso [Rozzi *et al.*, 1985].

El descubrimiento de las bacterias OHPA como intermediarios entre la hidrólisis y la metanogénesis, la dependencia de dichas bacterias de la presión parcial de hidrógeno, y el hecho de que a partir de la reducción del  $\text{CO}_2$  con  $\text{H}_2$  también se

generaba metano, permitieron el desarrollo de modelos matemáticos más realistas en los que ya se consideraba al menos a cuatro poblaciones bacterianas: la acidogénica, la acetogénica, la metanogénica acetoclástica y la metanogénica hidrogenofílica.

Hill (1982), presentó un modelo matemático con estas cuatro poblaciones en el que consideraba un efecto tóxico de los AGV para todas las bacterias, pero no mostraba un efecto inhibitorio por concentraciones altas de hidrógeno. Esta última consideración es incorrecta, ya que termodinámicamente, la generación de acetato presenta un cambio de energía libre positivo a presiones parciales de hidrógeno relativamente bajas.

Mosey (1983), presentó un modelo matemático en el que consideraba el efecto de la concentración de hidrógeno sobre las bacterias acidogénicas y bacterias OHPA, encontrando que cuando la concentración de hidrógeno producido es muy baja, se favorece la formación de acético, y que el metabolismo bacteriano se ve inhibido por concentraciones elevadas de hidrógeno.

Palms *et al.* (1990), desarrolló un modelo matemático para la digestión anaerobia de carbohidratos en un reactor tipo UASB. Consideró dentro del modelo la actividad biológica de las cuatro poblaciones microbianas: bacterias acidogénicas, acetogénicas, metanogénicas acetoclásticas y metanogénicas hidrogenofílicas. El modelo que propone resultó adecuado para simular la demanda química de oxígeno (DQO), y la generación de acetato y propionato. Sin embargo, al suponer un valor constante en la alcalinidad de bicarbonato, el modelo no considera cambios en el pH. Aunado a esto, el modelo tampoco considera el crecimiento microbiano.

Van Breusegem *et al.* (1990), propuso un modelo dinámico para la digestión anaerobia. En este modelo sólo considera la actividad biológica de dos poblaciones: bacterias hidrolíticas-acidogénicas y bacterias metanogénicas. El modelo consta de un balance de biomasa, un balance de sustrato, un balance para la producción de gases: metano y bióxido de carbono y por último, para describir la fase fisico-química, un balance de bicarbonato, de ácidos grasos en sus formas ionizadas y no ionizadas y del bióxido de carbono disuelto. Con esto, logró una buena descripción, predicción y simulación del proceso.

Costello *et al.* (1991), basándose en el modelo matemático propuesto por Mosey (1983), desarrolló uno mucho más complejo que incluye: las cuatro poblaciones microbianas; la inhibición por hidrógeno, que permite simular la acumulación de ácidos orgánicos dentro del reactor; una inhibición por producto para las bacterias acidogénicas y acetogénicas y, una inhibición por pH para cada grupo trófico. Finalmente, incluye un modelo fisico-químico basado en el balance de masa y el

equilibrio ácido-base de cada ácido orgánico, el bióxido de carbono disuelto y un balance dinámico para cada componente. Esto permite calcular el pH y otras especies iónicas dentro del reactor.

Posteriormente, Alvarez *et al.* (1992), utilizaron como base el modelo propuesto por Van Breusegem *et al.* (1990). Considerando un reactor tipo UASB, le incluyen al modelo propuesto por dichos autores, una purga periódica de células en la producción de biomasa.

**1.1.6.1 Descripción del modelo matemático para la digestión anaerobia.** El modelo matemático utilizado en el presente trabajo para describir la cinética de la digestión anaerobia, es el propuesto por Van Breusegem *et al.* (1990) y por Alvarez *et al.* (1992).

El modelo considera a la microflora implicada en la digestión anaerobia como a dos grandes poblaciones: (1) la acidogénica y (2) la metanogénica. Describe el comportamiento dinámico para cada una de estas poblaciones de la siguiente forma:

- i. con un balance para la generación de biomasa ( $X_1$ ,  $X_2$ ), que considera para las dos poblaciones, un término que representa una purga celular ( $P$ ). La purga es realizada cuando los lodos exceden un valor mayor al 30% del volumen del reactor;
- ii. con el consumo de sustrato, que para la población acidogénica está representado en forma de polímeros ( $S$ ), y para la población metanogénica, por los ácidos grasos volátiles ( $a$ ). El modelo cuenta con un balance de materiales en base al carbono alimentado, considerando que el sustrato a hidrolizar es lactosa;
- iii. con la producción de gases, en donde se considera la generación de  $H_2$ ,  $CO_2$  y  $CH_4$  como resultado del crecimiento de cada grupo bacteriano;
- iv. con un balance de bicarbonato ( $b$ );
- v. con una ecuación algebraica basada en el equilibrio de bicarbonato y  $CO_2$  para conocer el pH dentro del reactor.

La velocidad específica de crecimiento ( $\mu_1$ ,  $\mu_2$ ), para cada población, está definida de la siguiente forma. Para la población acidogénica, corresponde al tipo Monod, incluyendo un coeficiente de muerte celular ( $ba$ ). Por su parte, la de la población metanogénica, está representada como una función del pH, de forma tal, que la velocidad específica de crecimiento, es igual a cero cuando el pH presenta valores menores que 6 o mayores que 8. Al igual que el caso anterior, también incluye un coeficiente de muerte celular ( $bm$ ). Los modelos se muestran en la Tabla 1.14.

Tabla 1.14. Modelo cinético para la digestión anaerobia

◆ Velocidad de crecimiento específica

- Bacterias acidogénicas:  $\mu_1 = \mu_{\text{máx}_1} S / K_{s_1} + S - b_a$
- Bacterias metanogénicas:

$$\mu_2 = \frac{\mu_{\text{máx}_2} R(\text{pH})}{1 + \frac{K_{s_2}}{a c} + \frac{a c}{K_i}} - b_m$$

donde:

$$R(\text{pH}) = -1 (\text{pH}^2 - 14) (\text{pH} - 48)$$

$$c = [1 + 10 (\text{pKa} - \text{pH})]^{-1}$$

◆ Ecuaciones de crecimiento de la biomasa

- Bacterias acidogénicas ( $X_1$ ):  $dX/dt = \mu_1 X_1 - P_1$
- Bacterias metanogénicas ( $X_2$ ):  $dX/dt = \mu_2 X_2 - P_2$

Definición de purga celular (P): Si  $X_1 + X_2 > 30$

$$\text{Entonces } P_1 = 2/5 (X_1 / dt)$$

$$P_2 = 2/5 (X_2 / dt)$$

De otra forma  $P_1$  and  $P_2 = 0$

◆ Ecuaciones de consumo de sustrato

- Consumo de lactosa (S):  $dS/dt = D (S_0 - S) - \mu_1 X_1 / Y_1$
- Consumo de ácidos (a):

$$da/dt = D (a_0 - a_1) + \mu_1 X_1 / Y_3 - \mu_2 X_2 / Y_2$$

◆ Ecuación de velocidad de bicarbonato (b):

$$db/dt = D (b_0 - b_1 - (a_1 / PM (1-c))) - \mu_1 X_1 / Y_3 PM + \mu_2 X_2 / Y_2 PM$$

- Perfil de pH:  $\text{pH} = \text{pka} + \log b_1 / \text{CO}_2$

◆ Ecuaciones de producción de biogás

- Producción de hidrógeno:  $Q_{H_2} = \mu_1 X_1 / Y_7$
- Producción de metano:  $Q_{CH_4} = \mu_2 X_2 / Y_4 + Q_H k_8$
- Producción de bióxido de carbono:

$$Q_{CO_2} = \mu_1 X_1 / Y_5 + \mu_2 X_2 / Y_6 - Q_{H_2} k_9$$

◆ Balance de Carbono

$$dC / dt = D(S_o - S) - D(a) - Q_{CH_4} - Q_{CO_2} = 0$$

[Van Breusegem *et al.*, 1990; Alvarez *et al.*, 1992]

Donde:

$X_1$ , biomasa de población acidogénica

$X_2$ , biomasa de población metanogénica

$\mu_{max 1}$ , velocidad máxima de crecimiento población acidogénica

$\mu_{max 2}$ , velocidad máxima de crecimiento población metanogénica

$ks_1$ , constante de saturación de población acidogénica

$ks_2$ , constante de saturación de población metanogénica

$b_a$ , coeficiente de muerte celular de población acidogénica

$b_m$ , coeficiente de muerte celular de población metanogénica

$R(pH)$ , función de pH que afecta a la velocidad de crecimiento de población metanogénica

$a_o$ , ácidos grasos volátiles a la entrada del reactor

$a$ , ácidos grasos volátiles a la salida del reactor

$K_i$ , constante de inhibición de los ácidos grasos volátiles

$P$ , purga de células

$S_o$ , sustrato a la entrada del reactor

$S$ , sustrato a la salida del reactor

$b_o$ , bicarbonatos a la entrada del reactor

$b$ , bicarbonatos a la salida del reactor

$PM$ , peso molecular promedio de ácidos grasos volátiles

$pKa$ , logaritmo negativo de la constante de equilibrio del bicarbonato

$Y_1$ , g  $X_1$  / g S

$Y_2$  g  $X_2$  / g AGV

$Y_3$  g  $X_1$  / g AGV

$Y_4$  g  $X_2$  / l  $CH_4$

$Y_5$  g  $X_1$  / l  $CO_2$

$$Y_6 \text{ g } X_2 / \text{ l CO}_2$$

$$Y_7 \text{ g } X_1 / \text{ l H}_2$$

$$K_8 \text{ l CO}_2 / \text{ l H}_2$$

$$K_9, \text{ l CH}_4 / \text{ l H}_2$$

**1.1.7. Estrategias de control automático de la digestión anaerobia.** El objetivo del control de la digestión anaerobia, es mantener la concentración de materia orgánica a la salida del reactor en un valor preestablecido, sin importar las fluctuaciones a las que el sistema esté sometido.

La dinámica de los reactores biológicos, puede ser descrita mediante ecuaciones diferenciales ordinarias basadas en balances de materia, bien sea sobre los sustratos, los microorganismos, o las enzimas. Debido a que los parámetros cinéticos que describen los procesos biológicos son variables con el tiempo y con las condiciones ambientales, los modelos implicados en la dinámica de estos procesos se vuelven no lineales y no estacionarios [Chen *et al.*, 1991; Weiland y Rozzi, 1991]. Por esta razón, los métodos de control clásico no han sido efectivos con dichos procesos. Sin embargo, las técnicas de control adaptable no lineal, consisten en generar estimadores que se adapten a los parámetros biológicos y variables de estado cambiantes con el tiempo y difíciles de medir en línea (velocidades de crecimiento, coeficientes de rendimiento, concentraciones de sustratos y productos), por lo cual resultan muy adecuados para ellos [Chen *et al.*, 1991].

Existen pocos ejemplos de la aplicación de procesos de control a la digestión anaerobia, además, resulta difícil compararlos entre sí debido al uso de diferentes tipos de reactores y aguas de desecho. El control automático adaptable no lineal, se ha aplicado a los digestores anaerobios en tres formas principalmente:

- i. Con base en la concentración del sustrato [Dochain *et al.*, 1988]. Sin embargo, los costos altos que implica el tener un dispositivo para cuantificar en línea la concentración del sustrato, le restan aplicación práctica a esta opción. La estrategia de control está basada en la tasa de dilución.
- ii. Con base en la concentración de bicarbonato [Dochain *et al.*, 1988; Van Breusegem *et al.*, 1990], puesto que se ha probado que su monitoreo puede ser usado efectivamente para el control de los digestores [Rozzi *et al.*, 1985]. Además este parámetro resulta más fácil de medir en línea en comparación con el consumo de sustrato. La estrategia de control está basada en la tasa de

- dilución y la adición de bicarbonato al digestor [Van Breusegem *et al.*, 1990], o bien, solamente actuando sobre la tasa de dilución [Dochain *et al.*, 1988].
- iii. Con base en la concentración del hidrógeno producido, considerando que en algunos casos más del 30% del metano producido proviene del hidrógeno y que resulta más fácil medir en línea la concentración de hidrógeno, que la de los ácidos grasos volátiles [Dochain *et al.*, 1988]. Sin embargo, habría que considerar que la adición de una nueva variable (la producción de hidrógeno) vuelve más complejo el modelo dinámico y por tanto el de control. Al igual que en el caso de la concentración de sustrato, la estrategia de control está basada en la tasa de dilución.

## 2. MATERIALES Y METODOS

---

### 2.1 Materiales

**2.1.1 Reactor UASB.** La experimentación se llevó a cabo en un reactor anaerobio de flujo ascendente (UASB) alimentado en continuo. Las características del reactor son: 1.476 l de volumen de operación (50 cm de altura y 7 cm de diámetro interno). La parte superior del reactor presenta un estrechamiento de 2 cm de altura a 5 cm de diámetro interno, que ayuda a dirigir las burbujas de gas generado hacia la campana separadora de líquido-biogás-biomasa. El biogás producido ( $\text{CO}_2$  y  $\text{CH}_4$ ), se recolectó en una columna por desplazamiento con una solución salina saturada preparada con 300 g NaCl/l en agua destilada (Figura 2.1). Para disminuir la solubilización de los gases, la solución salina se ajustó a un pH menor que 5. El reactor se mantuvo en un cuarto de temperatura controlada a 35 °C y en continuo durante 9 meses.

**2.1.2 Inóculo.** En este trabajo se empleó un inóculo mixto conformado por lodos anaerobios provenientes del reactor UASB de la Planta Piloto de Tratamiento de aguas residuales de la Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa (PPTA). La concentración de sólidos de los lodos se muestra en la Tabla 2.1.

Tabla 2.1. Concentración de lodos de la PPTA.

Sólidos suspendidos	g/l
Volátiles (SSV)	15.395
Fijos (SSF)	24.118
Totales (SST)	39.515
Volumen del lodo (l)	0.42

222253

**2.1.3 Medio de cultivo.** Se utilizó el medio mineral de RAMM [Shelton y Tiedje, 1984] (Tabla 2.2) suplementado con diferentes concentraciones de lactosa como fuente de carbono y energía por ser un disacárido con el cual se pueden representar las tres etapas de la digestión anaerobia: hidrólisis-fermentación, acidogénesis y metanogénesis. El medio de cultivo se preparó con agua destilada en botellas de 5 l de capacidad. Se ajustó el pH a 7.0 con NaOH 3N y se esterilizó en autoclave a 1.1 kg/cm<sup>2</sup> durante 20 minutos.

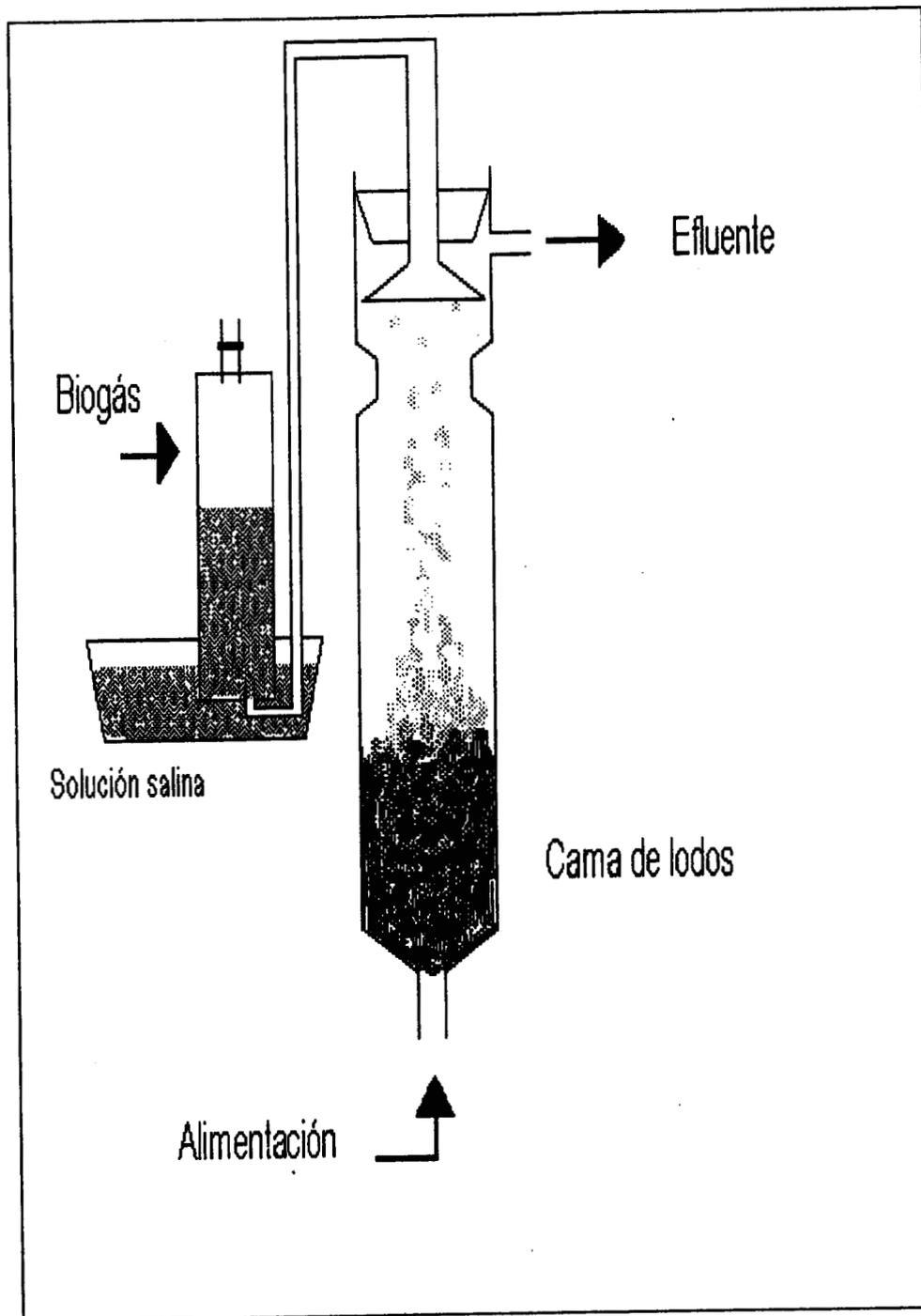


Figura 2.1. Reactor experimental tipo UASB

Tabla 2.2. Composición del medio RAMM

Compuesto	Concentración (g/l)
Solución 1	
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	7.0
Solución 2	
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	5.4
NH <sub>4</sub> Cl	10.6
CaCl <sub>2</sub> 2H <sub>2</sub> O	1.5
MgCl <sub>2</sub> 6H <sub>2</sub> O	2.0
Solución 3	
FeCl <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O	2.0
Solución 4	
MnCl <sub>2</sub> 4H <sub>2</sub> O	0.5
ZnCl <sub>2</sub>	0.05
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0.05
CuCl <sub>2</sub>	0.03
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> 2H <sub>2</sub> O	0.01
NiCl <sub>2</sub> 6H <sub>2</sub> O	0.05
Na <sub>2</sub> SeO <sub>4</sub>	0.05
CoCl <sub>2</sub> 6H <sub>2</sub> O	0.05

[Shelton y Tiedje, 1984]

Un litro de medio RAMM se prepara de la siguiente manera:

	ml/l
Sol. mineral 1	50.0
Sol. mineral 2	50.0
Sol. mineral 3	10.0
Sol. mineral 4	1.0
	mg/l
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	61.23

**2.2 Métodos.** La metodología empleada en este trabajo consistió en la realización de una primera etapa experimental de laboratorio, en la que se llevó a cabo

la puesta en marcha del reactor, y la medida del consumo y formación de productos. La segunda etapa consistió en ajustar el modelo matemático y simular la digestión anaerobia en computadora, para posteriormente comparar los resultados simulados con los experimentales. Las dos etapas son: 1) Experimental y 2) Modelo matemático.

## **2.2.1 Experimentales**

**2.2.1.1 Técnicas analíticas.** El consumo de lactosa se cuantificó por medio de la demanda química de oxígeno (DQO). Se utilizó esta técnica debido a su reproducibilidad y a la rapidez en su ejecución. Consiste en la digestión de la materia orgánica con dicromato de potasio y ácido sulfúrico para, posteriormente, con sulfato ferroso amoniacal, titular el dicromato remanente [APHA, 1989]. La digestión de la DQO se realizó con el método de reflujo cerrado en el horno de microondas [Jardim y Rohwedder, 1989]. La Figura 5.1 del Apéndice, muestra una de las curvas estándares utilizadas para DQO.

Tomando como base la DQO teórica de los AGV (DQO para acético, propiónico y butírico) y la concentración de los ácidos grasos volátiles totales (AGVt) de la alícuota, medida por titulación [Powell y Archer, 1989], se calculó la DQO de los AGV en el reactor. Esto a fin de diferenciar la DQO de los AGV de la DQO de la lactosa ( $DQO_{total} = DQO_{lactosa} + DQO_{AGV}$ ).

Se analizó una muestra del biogás para determinarle la composición por medio de un cromatógrafo de gases Gow-Mac con detector de conductividad térmica. Se usó una columna de acero inoxidable de 2 m de longitud empacada con Carbosphere. Se utilizó helio como gas acarreador con un flujo de 30 ml/min. El volumen de inyección de muestra fue de 50 µl. La temperatura del detector fue de 190 °C, la del inyector de 170 °C y de la columna de 140 °C. Una de las curvas estándares de metano utilizadas se muestra en la Figura 5.2 del Apéndice.

Los sólidos suspendidos totales (SST) se cuantificaron por evaporación de la muestra y secado durante una hora a 110 °C. Los sólidos resultantes del secado se calcinaron durante una hora a 550 °C para obtener los sólidos suspendidos fijos (SSF). Por diferencia entre los SST y SSF, se obtuvieron los sólidos suspendidos volátiles (SSV) [APHA, 1989]. La cantidad de SSV se consideró como la biomasa presente en el lodo analizado.

Las concentraciones de carbonato, bicarbonato y ácidos grasos volátiles totales (AGV<sub>t</sub>), presentes en una alícuota, se cuantificaron mediante la titulación y

retrotitulación de la muestra con NaOH y H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.1N [Powell y Archer, 1989]. Una vez conocida la concentración de bicarbonatos y de ácidos grasos volátiles totales protonados (AGVH) presentes en el reactor, se calculó el potencial de amortiguamiento (PA), que corresponde a la diferencia entre bicarbonato y AGVH [Colin, 1984].

**2.2.1.2 Toma de muestras.** Al alcanzar el estado estacionario con cada velocidad de carga orgánica volumétrica (COv, g/l/d), se experimentó al menos dos veces el TRH. Al comenzar la experimentación con cada una de las COv, se tomó una muestra de lodos para cuantificar el contenido de sólidos.

Diariamente se tomó una alícuota del medio de cultivo alimentado al reactor (influyente) y del medio agotado a la salida del reactor (efluente). A estas muestras se les midió el pH, la lactosa presente, la concentración de bicarbonatos, carbonatos y ácidos grasos volátiles (AGV) totales.

Todos los días, se tomó una muestra del biogás producido para cuantificar el metano.

**2.2.1.3 Inoculación.** El reactor se inoculó con 420 ml de lodos anaerobios. Una vez inoculado, se completó el volumen de trabajo con medio de cultivo conteniendo 0.5 g/l de lactosa, se dejó que el lodo sedimentara y posteriormente, el reactor se mantuvo alimentado en continuo con 2 días de tiempo de retención hidráulico (TRH). La COv fue de 0.25 g DQO / ld, mientras que la carga orgánica másica específica (COM) fue de 0.038 g DQO / g SSV d.

**2.2.1.4 Estabilización de los lodos.** Para lograr la estabilización del flóculo, el reactor se mantuvo en flujo continuo con recirculación con 2.5 días de TRH y una velocidad ascensional de 0.7 m/h. El flujo de recirculación (FR) se calculó en base a la siguiente relación:  $(F + FR)/A = 0.7 \text{ m/hr}$ , donde F es el flujo de alimentación (correspondiente a un TRH de 2.5 d) y A es el área transversal del reactor. Se utilizó un matraz Erlenmeyer de 250 ml como tanque de mezclado para la recirculación. La biomasa que no sedimentaba dentro del reactor y era arrastrada al matraz de mezclado se desechaba. Asimismo, los lodos fueron alimentados con una COv 0.3 g/l/d. El sustrato alimentado estuvo compuesto por una mezcla de lactosa y acetato de sodio como co-sustrato para estimular el crecimiento de las bacterias metanogénicas, en proporciones diferentes, según se ilustra en la Tabla 2.3. El consumo de DQO y la eficiencia de eliminación de la materia orgánica soluble, fueron las variables de

respuesta utilizadas. El periodo de estabilización y adaptación al sustrato fue aproximadamente de seis semanas, al cabo de las cuales, se obtuvo una eficiencia de eliminación de 88%.

**Tabla 2.3.** Relación de sustratos utilizada para la estabilización y adaptación.

Experimento No.	Sustrato alimentado		Sustrato total g/l
	Lactosa	Acetato	
	g/l		
1	0.5	0.25	0.75
2	0.625	0.125	0.75
3	0.75	0.0	0.75

**2.2.1.5 Arreglo experimental.** Para llevar a cabo la digestión anaerobia de la lactosa en el UASB, se planteó un arreglo experimental en el cual se ensayaron seis COv diferentes, obtenidas al utilizar cinco TRH diferentes y cuatro concentraciones diferentes de sustrato. El arreglo experimental se muestra en la Tabla 2.4.

**Tabla 2.4.** Arreglo experimental.

Lactosa (g/l)	TRH (días)	COv (g/l/d)
0.5	2.60	0.192
1.5	2.90	0.517
2.0	1.90	1.052
2.0	1.07	1.87
4.0	0.91	4.39
4.0	0.57	7.02

Las variables de respuesta utilizadas en el arreglo experimental fueron el consumo de lactosa, aumento del lodo, potencial de amortiguamiento, producción de biogás y composición de metano.

**2.2.1.6 Criterio de control.** Cuando se presenta una sobrecarga en un reactor anaerobio, se ha observado que la alcalinidad debida al bicarbonato, es uno de los parámetros que se ven afectados en primer lugar, [Iza, 1989]. Asimismo, se ha

señalado que la capacidad amortiguadora debida al bicarbonato, es el factor fisico-químico más importante para mantener estables las condiciones de la digestión anaerobia [Weiland y Rozzi, 1991]. Considerando ésto, se utilizó el PA como criterio de control y estabilidad del proceso. El PA se medía diariamente y se adicionaba al reactor la cantidad de bicarbonatos necesaria mas un 35% para mantenerlo en valores  $\geq 1$  meq/l, según el siguiente criterio:

$$\text{equivalentes de bicarbonato añadido} = (\text{eq/l PA} \times 1.35) V_r$$

donde  $V_r$  corresponde al volumen de operación del reactor.

## **2.2.2 Modelo matemático**

**2.2.2.1 Simulación de la digestión anaerobia.** Para el presente trabajo, se tomó como antecedente el programa de computación escrito en Turbo Pascal [Ruiz y Monroy, México, 1991], el cual, utilizando las ecuaciones de velocidad para la digestión anaerobia descrito en la Sección 1.1.6.1, simula la digestión anaerobia como un proceso en dos fases, es decir, la etapa acidogénica se encuentra físicamente separada de la metanogénica. Dicho programa fue ajustado para simular la digestión anaerobia en un reactor de una sola fase, en el cual, ocurrieran las etapas ácido y metanogénicas simultáneamente. El programa requiere de valores iniciales para predecir el punto siguiente y simular el comportamiento integral del reactor. Utiliza para ello, el método numérico de Runge-Kutta de cuarto orden [McCracken y Dorn, 1982] y las ecuaciones del modelo matemático de la digestión anaerobia (Tabla 1.14).

En el presente trabajo, la simulación de la digestión anaerobia se realizó en dos etapas: Una primera en la que se llevó a cabo un ajuste de los coeficientes cinéticos y de rendimiento del modelo, y una segunda etapa, en la que utilizando el modeo matemático y los coeficientes ajustados, se realizó la simulación del arreglo experimental.

**2.2.2.1.1 Ajuste del modelo.** En esta etapa, se procedió a ajustar los coeficientes cinéticos y estequiométricos del modelo propuesto en la Sección 1.1.6.1.

Los coeficientes cinéticos y estequiométricos utilizados como punto de partida, fueron tomados de la literatura [Cohen *et al.*, 1980; Van Breusegem *et al.*, 1990; Pavlostathis *et al.*, 1991]. Están referidos a poblaciones mixtas en cultivo continuo y

36°C y corresponden, para la fase acidogénica, a la hidrólisis de glucosa, mientras que para la metanogénica, a la metanación de acetato.

Los coeficientes estequiométricos  $Y_4$ ,  $Y_5$  y  $Y_6$  (Sección 1.1.6.1) fueron ajustados por ensayo y error tomando como base el balance de carbono (Sección 5.3 del Apéndice). Igualmente, los coeficientes de muerte celular fueron ajustados por ensayo y error. Asimismo, a partir de las constantes de afinidad ( $K_s$ ) publicadas para la etapa acidogénica y metanogénica [Cohen *et al.*, 1980], se calcularon las constantes de afinidad aparentes ( $K_{s1}$ ,  $K_{s2}$ ), para la lactosa y el acetato. Dichas constantes calculadas, consideran los problemas de difusión del sustrato a través de los gránulos de microorganismos [Levenspiel, 1986], .

Dicho cálculo se realizó de la siguiente forma: utilizando el módulo de Thiele, el factor de efectividad y como modelo, los coeficientes de difusión para la sacarosa y el acetato respectivamente [Bailey y Ollis, 1977], se calculó un coeficiente de corrección para cada  $K_s$  publicado. Con el coeficiente de corrección encontrado y los valores de  $K_s$  publicados [Cohen *et al.*, 1980], se calculó la constante de afinidad aparente para cada sustrato. Los datos para el cálculo de las constantes de afinidad se muestran en la Sección 5.2 del Apéndice. En la Tabla 2.5, se muestran las constantes cinéticas ajustadas.

**Tabla 2.5.** Constantes cinéticas obtenidas durante el ajuste del modelo y utilizadas para la simulación del arreglo experimental

Constantes cinéticas	
$\mu_{max 1} = 30.0 \text{ d}^{-1}$	$Y_4^{**} = 0.0255 \text{ g } X_2 / \text{ l } \text{CH}_4$
$\mu_{max 2} = 0.357 \text{ d}^{-1}$	$Y_5^{**} = 1.1695 \text{ g } X_1 / \text{ l } \text{CO}_2$
$K_{s1}^* = 2.924 \text{ g S/l}$	$Y_6^{**} = 0.0255 \text{ g } X_2 / \text{ l } \text{CO}_2$
$K_{s2}^* = 0.547 \text{ g AGV / l}$	$Y_7 = 0.765 \text{ g } X_1 / \text{ l } \text{H}_2$
$Y_1 = 0.15 \text{ g } X_1 / \text{ g S}$	$K_8 = 0.25 \text{ l } \text{CO}_2 / \text{ l } \text{H}_2$
$Y_2 = 0.041 \text{ g } X_2 / \text{ g AGV}$	$K_9 = 0.25 \text{ l } \text{CH}_4 / \text{ l } \text{H}_2$
$Y_3 = 0.7513 \text{ g } X_1 / \text{ g AGV}$	pH = 7
$ba^{**} = 1.09 \text{ d}^{-1}$	$bm^{**} = 0.0025 \text{ d}^{-1}$

[Cohen *et al.*, 1980; Van Breusegem *et al.*, 1990; Pavlostathis *et al.*, 1991].

\* Calculadas considerando como base corrección por difusión (Apéndice 5.2)

\*\* Calculadas por ensayo y error

**2.2.2.1.2 Simulación del arreglo experimental.** Una vez ajustados los coeficientes del modelo matemático, se simuló el arreglo experimental. Se realizaron seis simulaciones (corridas), en las que las variantes, fueron la concentración de

sustrato inicial, la concentración de biomasa acidogénica y metanogénica y la tasa de dilución. Estos parámetros fueron los correspondientes a las condiciones experimentales para cada ensayo. En cuanto a las condiciones iniciales, para todos los casos, se estableció lo siguiente:  $S_0 = S$ ,  $B_0 = b_1$ ,  $a_0 = 0.0$  y  $a_1 = 0.0038$ . Asimismo, la cantidad de microorganismos acidogénicos y metanogénicos, se consideró como el 70 y 30%, respectivamente, de la población total cuantificada por SSV en cada ensayo. Los coeficientes cinéticos y estequiométricos utilizados, se mantuvieron constantes para las seis corridas realizadas. El paso de integración se mantuvo constante en 0.001 días. Las condiciones iniciales utilizadas se muestran en la Tabla 2.6.

**Tabla 2.6.** Condiciones iniciales utilizadas para la simulación del arreglo experimental

$S_0$ (g/l)	$X_1$ (g/l)	$X_2$ (g/l)	D (d <sup>-1</sup> )	$b_0$ (eq/l)
0.3415	2.2175	0.9504	0.3774	0.0124
1.4313	5.341	2.289	0.3448	0.0124
1.5530	3.066	1.314	0.5291	0.0124
1.6218	4.788	2.052	0.9302	0.0124
4.0688	5.2465	2.2485	1.1001	0.0194
3.6576	5.2465	2.2485	1.7544	0.0194

donde:

- $\mu_{max 1}$ , velocidad máxima de crecimiento población acidogénica
- $\mu_{max 2}$ , velocidad máxima de crecimiento población metanogénica
- $K_{s1}$ , constante de saturación de población acidogénica
- $K_{s2}$ , constante de saturación de población metanogénica
- $Y_1, Y_2, Y_3, Y_4, Y_5, Y_6, Y_7, K_8, K_9$ , coeficientes de rendimiento
- $S_0$ , concentración del sustrato inicial
- $S$ , concentración del sustrato final
- $a_0$ , concentración inicial de ácidos grasos volátiles
- $a_1$ , concentración final de ácidos grasos volátiles
- D, tasa de dilución
- $b_0$ , concentración inicial de bicarbonatos
- $b_1$ , concentración final de bicarbonatos

**2.2.2.2 Comparación de la simulación del arreglo experimental con la experimentación.** Los resultados del arreglo experimental y los obtenidos mediante la simulación con el modelo matemático, se compararon entre sí utilizando las pruebas estadísticas conocidas como pruebas de homogeneidad de coeficientes en modelos de regresión. Las pruebas estadísticas se realizaron utilizando el paquete estadístico "Statistical Analysis System" [SAS Institute Cary, Carolina del Norte, USA, 1986]. Las variables de respuesta utilizadas fueron los valores de la producción volumétrica de metano, la eficiencia de eliminación del sustrato alimentado, el potencial de amortiguamiento y el pH, todos ellos evaluados a las diferentes cargas orgánicas volumétricas ensayadas. Con este propósito, los datos utilizados en la parte experimental, fueron los correspondientes al proceso cuando alcanzó el estacionario. En el caso de la simulación, se tomaron los datos generados después de 50 días.

**2.2.2.2.1 Metodología estadística.** Los análisis estadísticos realizados fueron pruebas sobre coeficientes de dos modelos de regresión [Martínez y Castillo, 1987]. Estas pruebas son llamadas pruebas de homogeneidad de coeficientes, dado que bajo la hipótesis nula se prueba que los coeficientes correspondientes de dos modelos lineales, que representan la misma función, son iguales. Por ejemplo, si los modelos son:

$$\begin{aligned} \text{modelo 1): } Y &= \alpha_1 + \beta_1 X \\ \text{modelo 2): } Y &= \alpha_2 + \beta_2 X \quad \dots\dots\dots I \end{aligned}$$

Una prueba sería que los coeficientes de la variable independiente son iguales, correspondiente al siguiente contraste de hipótesis:

$$H_0: \beta_1 = \beta_2 \quad \text{contra } H_a: \beta_1 \neq \beta_2$$

Otra sería probar que los dos coeficientes, el del término independiente y la ordenada al origen, coinciden en ambos modelos, es decir:

$$\begin{aligned} H_0: \alpha_1 = \alpha_2 \quad \text{contra } H_a: \alpha_1 \neq \alpha_2 \quad \dots\dots\dots II \\ \beta_1 = \beta_2 \quad \beta_1 \neq \beta_2 \end{aligned}$$

En esta última, se estará probando bajo  $H_0$ , que el modelo 1 no difiere del modelo 2. Por lo cual, si se han hecho ajustes en dos condiciones distintas, lo que se está probando es que bajo esas condiciones los modelos no difieren.

En el presente trabajo, realizar una prueba como la II, para los modelos que ajustan la variable eficiencia de eliminación de sustrato (%E) a través de la velocidad de carga orgánica, significa probar bajo  $H_0$ , que los modelos correspondientes al %E experimental y %E simulado, no difieren. Mientras que realizar una prueba como la I, significa probar bajo  $H_0$ , que los modelos que describen el comportamiento de %E experimental y simulada son paralelos. Lo mismo se aplica para el resto de las variables de respuesta analizadas.

Es importante aclarar, que la metodología de pruebas de homogeneidad se aplica no sólo para la recta, sino para cualquier modelo lineal. En este trabajo se realizaron ajustes de los siguientes modelos:

$$Y = \alpha + \beta X + \varepsilon$$

$$Y = \alpha + \beta \ln X + \varepsilon$$

$$Y = \alpha + \beta(1/X) + \varepsilon$$

para las distintas variables de respuesta y se han usado pruebas de homogeneidad de coeficientes para los casos de simulación y experimental.

#### Método de prueba para las hipótesis I.

Hipótesis I:  $H_0: \beta_1 = \beta_2$  contra  $H_a: \beta_1 \neq \beta_2$  donde  $\beta_1$  y  $\beta_2$  son los coeficientes de X en los modelos 1) y 2) que fueron ajustados respectivamente para  $n_1$  y  $n_2$  observaciones apareadas de la forma  $(X_i, Y_i)$ .

Supóngase que el modelo

$$Y_i = \alpha_1 + \beta_1 X_i + \varepsilon_i$$

se ajustó para los  $n_1$  datos experimentales, donde  $i = 1, 2, \dots, n_1$

y el modelo

$$Y_i = \alpha_2 + \beta_2 X_i + \varepsilon_i$$

se ajustó para los  $n_2$  datos simulados, donde  $i = n_1 + 1, n_1 + 2, \dots, n_1 + n_2 = n$ .

Si se definen los intervalos de las variables:

$$X_{i_1} = 1 \text{ si } i \leq n_1$$

0 de otro modo

$$X_{i_2} = 1 \text{ si } i > n_1 \Leftrightarrow n_1 + 1 \leq i \leq n_1 + n_2$$

0 de otro modo

222253

$$X_{i3} = X_i \text{ si } i \leq n_1$$

0 de otro modo

$$X_{i4} = X_i \text{ si } i > n_1 \Leftrightarrow n_1 + 1 \leq X_i \leq n_1 + n_2$$

0 de otro modo

Los valores de las variables se presentan como se muestra en la Tabla 2.7.

**Tabla 2.7.** Arreglo matricial para pruebas de homogeneidad

i	$X_{i1}$	$X_{i2}$	$X_{i3}$	$X_{i4}$	$Y_i$
1	1	0	$X_1$	0	$Y_1$
2	1	0	$X_2$	0	$Y$
.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.
$n_1$	1	0	$X_{n_1}$	0	$Y_{n_1}$
$n_1 + 1$	0	1	0	$X_{n_1 + 1}$	$Y_{n_1 + 1}$
$n_1 + 2$	0	1	0	$X_{n_1 + 2}$	$Y_{n_1 + 2}$
.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.
$n = n_1 + n_2$	0	1	0	$X_{n_1 + n_2}$	$Y_{n_1 + n_2}$

[Martínez y Castillo, 1987]

Entonces el modelo:

$$Y_i = \alpha_1 X_{i1} + \alpha_2 X_{i2} + \beta_1 X_{i3} + \beta_2 X_{i4} + \epsilon_i \quad \text{.....Modelo MC}$$

donde  $i = 1, 2, \dots, n$   
para  $n = n_1 + n_2$

expresa el comportamiento de Y en función de X tanto para el caso experimental como el simulado, por lo cual se llama modelo completo (MC). Bajo  $H_0$  cierta,  $\beta_1 = \beta_2 = \beta$ , es decir, el modelo MC toma la forma:

$$Y_i = \alpha_1 X_{i1} + \alpha_2 X_{i2} + \beta(X_{i3} + X_{i4}) + E_i \quad \text{.....Modelo MBHI}$$

donde  $i = 1, 2, \dots, n$   
para  $n = n_1 + n_2$

que llamamos modelo bajo la hipótesis I (MBHI).

De los ANOVAS generados al ajustar los modelos MC y MBHI (Sección 6.4.3), se obtuvo la información para construir el estadístico de F, al que llamamos el valor calculado de F para la hipótesis I (F<sub>cl</sub>), con el cual se prueba la homogeneidad de coeficientes de la forma que sigue:

$$F_{cl} = [(SCR(MC) - SCR(MBHI))/glrMC - glrMBHI] / CMEMC$$

$$= CM(Hi_1) / CME$$

donde SCR(MC), es la suma de cuadrados de regresión del modelo MC

glrMC, corresponde a los grados de libertad para regresión en MC

SCR(MBHI), es la suma de cuadrados de regresión del modelo bajo la hipótesis

glrMBHI, son los grados de libertad de regresión en el modelo MBHI

CMEMC, corresponde al cuadrado medio del error del modelo MC.

Ahora bien, el numerador de la F, o diferencia de la suma de cuadrados de regresión de los modelos MC y MBHI, entre la diferencia de los respectivos grados de libertad, es precisamente, el cuadrado medio de la hipótesis I, que es lo que se desea probar y se denota como CM(Hi<sub>1</sub>).

Los supuestos teóricos de esta prueba son: i) los  $\epsilon_i$  son independientes e idénticamente distribuidos, y ii) normal con media cero y varianza desconocida  $\sigma^2$ . La regla de decisión es: Rechazar  $H_0$  de la hipótesis I si  $F_c$  es mayor que la F tabular con (glrMC - glrMBHI) en el numerador y glrMC en el denominador.

Método de prueba para la hipótesis II.

$$\text{Hipótesis II: } H_0: \alpha_1 = \alpha_2 \quad \text{contra } H_a: \alpha_1 \neq \alpha_2$$

$$\beta_1 = \beta_2 \quad \beta_1 \neq \beta_2$$

Se define aquí el modelo completo i igual que el MC del caso anterior. El modelo bajo la hipótesis  $H_0$  cierta, ésto es, donde  $\alpha_1 = \alpha_2 = \alpha$ , y  $\beta_1 = \beta_2 = \beta$ , se expresa como:

$$Y_i = \alpha(X_{i_1} + X_{i_2}) + \beta(X_{i_3} + X_{i_4}) + E_i \quad \dots\dots\dots \text{Modelo MBHII}$$

conocido como modelo bajo la hipótesis II (MBHII).

En forma semejante al caso anterior se construye el estadístico de F, al que llamamos el valor calculado de F para la hipótesis II ( $F_{cII}$ ):

$$F_{cII} = [(SCR(MC) - SCR(MBHII))/glrMC - glrMBHII] / CME(MC)$$
$$= CM(HipII)/CME(MC)$$

donde ahora los nuevos términos son: SCR(MBHII) y glrMBHII, respectivamente la suma de cuadrados de regresión al ajustar el modelo bajo la hipótesis II y los grados de libertad de regresión del mismo modelo, usando un nivel de significancia de  $\alpha \leq 0.05$ .

La regla de decisión para rechazar  $H_0$  de la hipótesis II es cuando el valor de la  $F_{cII}$  resulta mayor al tabular de F con (glrMC - glrMBHII) grados de libertad en el numerador y (gleMC) en el denominador, usando un nivel de significancia de  $\alpha \leq 0.05$ .

**2.2.2.3. Balance de sustrato en el estado transitorio.** Arreglando las ecuaciones de velocidad para la digestión anaerobia (Tabla 1.14), se obtuvo otra ecuación dinámica en base al sustrato (Ec. I). Esta ecuación, presenta como característica, agrupar en un término común denominado  $\alpha$ , a los coeficientes de rendimiento que son desconocidos y variables a través del tiempo, debido a los cambios en la concentración de sustrato, por lo cual puede ser empleada como algoritmo de control adaptable [Dochain *et al.* 1988]. En esta sección, se utilizó el balance de materiales dinámico para el sustrato y la producción volumétrica de metano en el reactor anaerobio, junto con los resultados experimentales obtenidos, para estimar el término  $\alpha$  implicado en la digestión anaerobia de lactosa. La ecuación dinámica utilizada para describir al reactor en función del sustrato, quedó representada de la siguiente forma [Dochain *et al.* 1988]:

$$S_{t+1} = S_t - \alpha T Q_{CH_4t} + TD_t(S_0 - S_t) \quad \dots\dots\dots I$$

donde

- $\alpha = \rho (K_2 K_5 - (K_3 K_6)) / K_5 K_4$
- $\rho = g \text{ AGV} / \text{mol}$
- $K = 1/Y$ , coeficientes de rendimiento
- $D = \text{tasa de dilución}$
- $T = \text{tiempo de muestreo}$

t = tiempo

Debido a que el parámetro  $\alpha$  es desconocido, sus valores con respecto al tiempo se estimaron (se obtuvo el  $\alpha$ ) vía un algoritmo de adaptación de parámetros. Esto se realizó mediante un programa de computación que utilizó las siguientes ecuaciones [Dochain *et al.* 1988]:

estimación del error ( $e_{t+1}$ ):

$$e_{t+1}^{\wedge} = S_{o\ t+1} - S_t + T[\alpha_{t+1}^{\wedge} Q_{CH4t} - D(S_o - S_t)] \quad \dots II$$

estimación de  $\alpha_{t+1}^{\wedge}$ :

$$\alpha_{t+1}^{\wedge} = \alpha_t - P_t T Q_{CH4t} e_{t+1} \quad \dots III$$

estimación de  $P_t$

$$P_t = (P_{t-1} / \gamma) [1 - (P_{t-1} T^2 Q_{CH4t}^2) / (\gamma + P_{t-1} T^2 Q_{CH4t}^2)] \quad \dots IV$$

donde los valores iniciales fueron:

P, ganancia del estimador = 1.0

$\gamma$ , factor de olvido = 0.6

$\alpha_t = 0.0$



## **3. RESULTADOS Y DISCUSION**

---

### **3.1 Experimentales**

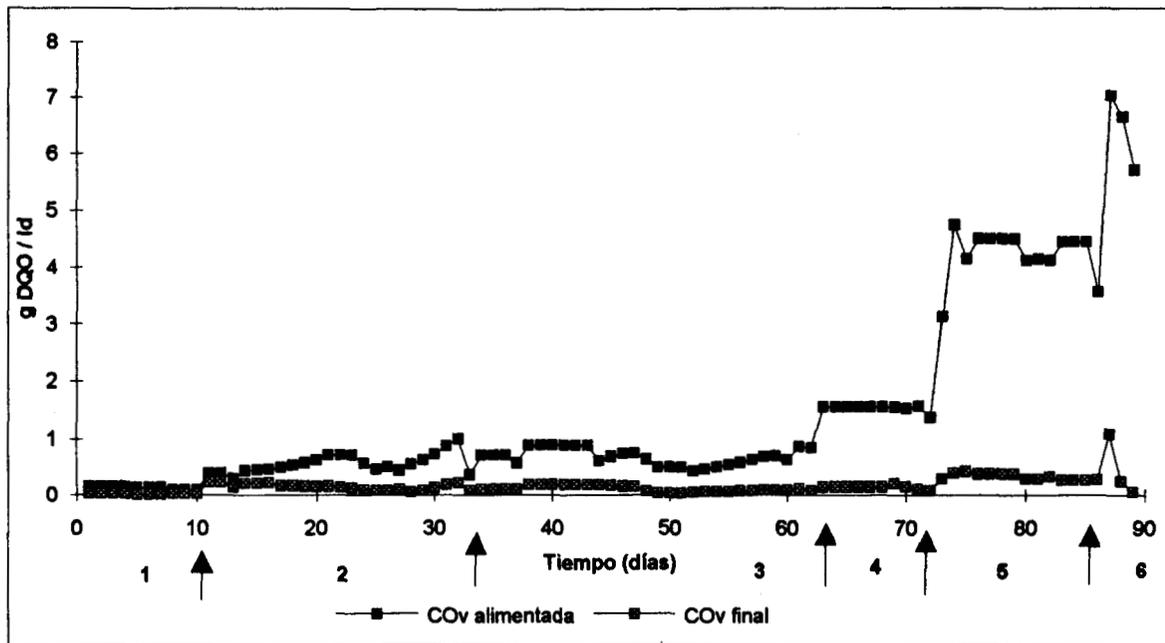
**3.1.1 Inoculación.** Los lodos sedimentaron en el fondo del reactor después de 2 semanas de haber inoculado. Durante este periodo, la agitación de los lodos con una varilla de vidrio, promovió la sedimentación y la eliminación de burbujas que estaban atrapadas entre ellos. La sedimentación de los lodos se logró a una velocidad ascensional de 0.1 m/hr.

**3.1.2 Estabilización de los lodos.** La estabilización de los lodos fue establecida en función de la sedimentación del flóculo, consumo de sustrato y eficiencia de eliminación de la materia orgánica soluble. Se alcanzó aproximadamente en seis semanas, al cabo de las cuales, se obtuvo una eficiencia de eliminación del sustrato de 88%.

**3.1.3 Arreglo experimental.** Una vez que se encontró que los lodos utilizaron a la lactosa como fuente de carbono, se procedió a ensayar el arreglo experimental ilustrado en la Tabla 2.4 de Materiales y Métodos, en el cual se observan las concentraciones de sustrato alimentado y el TRH ensayado. Este arreglo experimental propone iniciar la alimentación del reactor con una concentración de DQO baja y un TRH alto, para aumentar paulatinamente la concentración de sustrato alimentado y disminuir el TRH, de forma tal que la velocidad de carga orgánica (COv) vaya siempre en aumento. Las variables de respuesta fueron el consumo de lactosa (medido como DQO), la producción volumétrica de biogás, composición de metano en el biogás generado, potencial de amortiguamiento (PA) y pH dentro del reactor. Los resultados obtenidos son los siguientes.

El sustrato alimentado y el final, se describe en términos de velocidad de carga orgánica, la cual representa en base a la DQO, la concentración de sustrato por día [g DQO / ld]. La COv inicial y final se muestra en la Figura 3.1, que incluye las seis COv ensayadas a lo largo de toda la experimentación. En ella se puede observar que la lactosa alimentada en el reactor fue consumida por los microorganismos, puesto que la COv a la salida del reactor es casi nula, sin embargo, los resultados mostraron que fue consumida con diferentes eficiencias. Asimismo, se encontró que aunque los microorganismos consumieron el sustrato alimentado, fue necesario un cierto periodo de estabilización para que fuera utilizado eficientemente, dado que durante las dos

primeras COv, el consumo del sustrato alimentado fue menor en comparación con el consumido en las COv restantes.



**Figura 3.1.** COv de entrada y salida durante la experimentación. Las flechas y los números indican los periodos de experimentación. 1 = 0.192 g/l/d; 2 = 0.517 g/l/d; 3 = 1.052 g/l/d; 4 = 1.87 g/l/d; 5 = 4.4 g/l/d; 6 = 7.02 g/l/d

Los resultados experimentales mostraron que la lactosa consumida fue canalizada hacia la generación del producto final de la digestión anaerobia: el biogás. La producción volumétrica de biogás a lo largo de la experimentación con las seis cargas orgánicas alimentadas se ilustra en la Figura 3.2, donde se incluye la producción volumétrica total y la producción volumétrica de metano.

La producción volumétrica promedio total, de metano y teórica de metano esperada, para cada COv ensayada, se muestra en la Figura 3.3. En todos los casos, se encontró que la producción de biogás aumentó conforme se incrementó la COv alimentada.

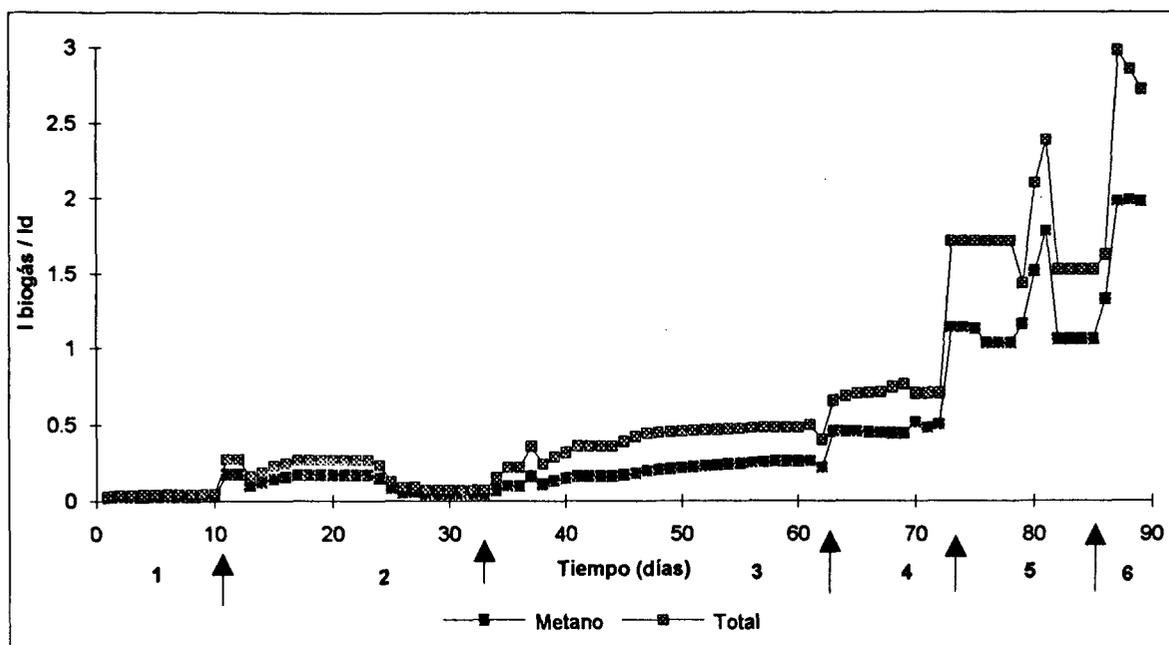


Figura 3.2. Producción volumétrica de biogás obtenida durante la experimentación a seis diferentes COv alimentadas. Las flechas y los números indican cada una de las cargas ensayadas. 1 = 0.192 g/ld; 2 = 0.517 g/ld; 3 = 1.052 g/ld; 4 = 1.87 g/ld; 5 = 4.4 g/ld; 6 = 7.02 g/ld

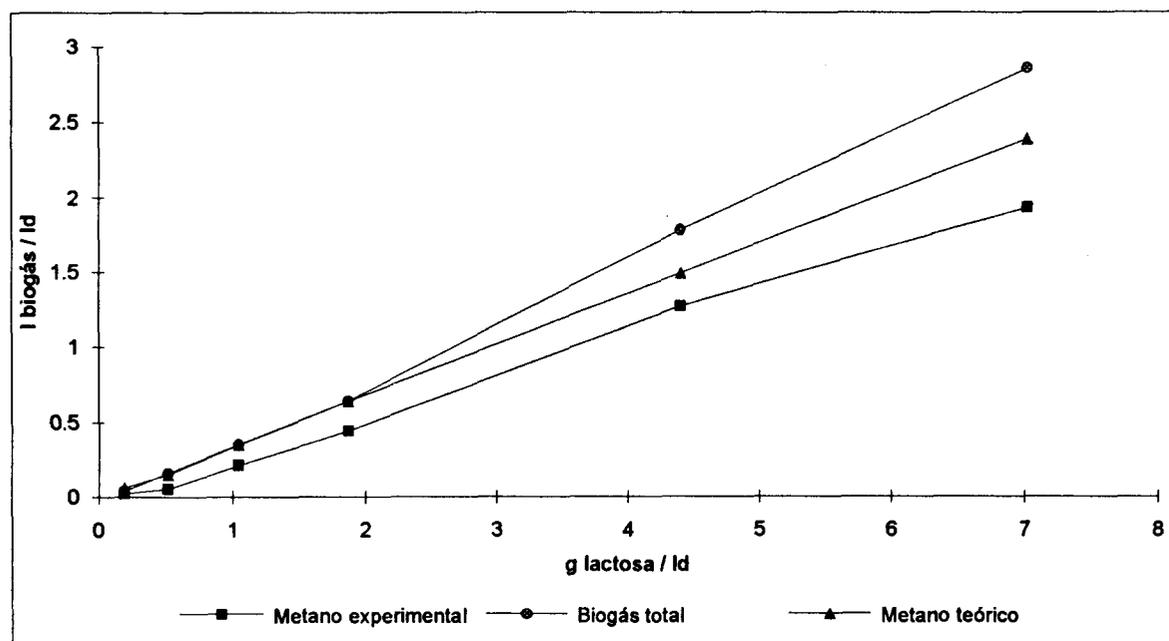


Figura 3.3. Producción volumétrica promedio de biogás obtenida en cada COv alimentada.

La concentración de metano en el biogás generado, así como su producción volumétrica promedio y teórica esperada para cada COv ensayada, se muestran en la Tabla 3.1.

**Tabla 3.1.** Producción volumétrica promedio de metano teórica y experimental.

COv (g / ld)	%CH <sub>4</sub>	CH <sub>4</sub> (l / ld)	
		EXPERIMENTAL	TEORICA
0.192	60.0	0.022	0.061
0.517	64.17	0.053	0.150
1.052	44.83	0.211	0.347
1.87	69.06	0.442	0.644
4.39	70.58	1.270	1.492
7.02	69.52	1.927	2.385

Considerando el sustrato consumido y a excepción de las dos primeras COv ensayadas (donde se presentaron problemas operacionales en la recolección del biogás), la producción volumétrica experimental, correspondió aproximadamente al 74% de la producción teórica calculada. Este porcentaje es semejante al obtenido en otros trabajos ya publicados. Por ejemplo, Hwang *et al.* (1992), durante la digestión anaerobia de suero de leche filtrado, con COv alimentadas entre 2.1 y 10.28 g DQO/ld, alcanzaron entre un 68 y 76% de la producción teórica, mientras que Paula y Foresti (1992), con COv de glucosa entre 2.83 y 8.47 g DQO/ld, obtuvieron un 80% del teórico esperado.

En cuanto al metano, las referencias sobre la composición promedio de metano en el biogás producido a partir de diferentes sustratos, se encuentran en un intervalo de entre 45 y 80%. A este respecto, Lequerica (1982), durante la digestión anaerobia de un efluente de frutas cítricas, con COv alimentadas entre 0.85 y 2.35 g DQO/ld, obtuvo una composición de metano entre 42 y 46%, encontró también, que conforme se disminuye el TRH de ensayo (o bien se aumenta la velocidad de carga orgánica alimentada), la producción volumétrica de biogás aumenta, y, que la composición del metano presenta una cierta tendencia a disminuir. Paula y Foresti (1992), al alimentar glucosa con COv de entre 2.83 y 8.47 g DQO/ld, encontraron también un aumento en la producción volumétrica de biogás al aumentar la COv de entrada así como una disminución en la composición de metano de un 69% para la COv menor a un 56% con la COv mayor. En el intervalo de COv ensayadas en este trabajo, también se encontró que la producción volumétrica de biogás aumentó conforme se incrementó la COv del

influyente, sin embargo, la composición de metano en el gas, a excepción del obtenido en la COv de 1.052 g / ld, se mantuvo entre 69 y 70%, sin mostrar tendencia a la disminución. Esto podría indicar que el sistema biológico es capaz de soportar COv mayores.

El equilibrio ácido-base de un reactor, puede describirse mediante el concepto del potencial de amortiguamiento (PA) [Colin, 1984], por tanto, la estabilidad de un reactor anaerobio estará determinada fuertemente por el PA que éste presente. A lo largo de la experimentación en el presente trabajo, se observó que el equilibrio ácido-base resultaba afectado cuando se disminuía el TRH o se aumentaba la concentración del sustrato. En general, ésto sucedió con los aumentos en la COv de alimentación. Fue posible lograr un equilibrio ácido-base adecuado adicionando los equivalentes de bicarbonato requeridos para neutralizar los AGVH producidos y mantener el PA en valores positivos. De esta manera, se evitó la acumulación de AGVH, una posible acidificación y se permitió una rápida reestabilización del equilibrio ácido-base del reactor. La Figura 3.4, muestra el comportamiento del potencial de amortiguamiento obtenido a lo largo de las seis velocidades de carga orgánica ensayadas, así como el bicarbonato que fue necesario adicionar.

222253

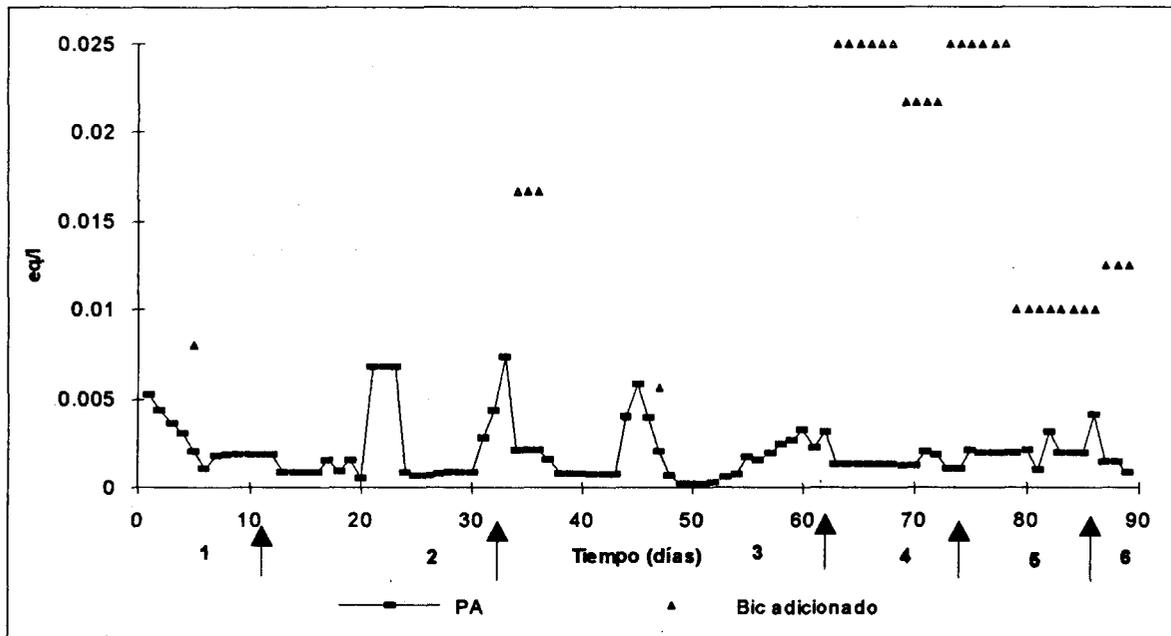


Figura 3.4. Bicarbonato adicionado y potencial de amortiguamiento obtenido durante la experimentación a seis diferentes COv alimentadas. Las flechas y los números indican cada COv ensayada. 1 = 0.192 g/ld; 2 = 0.517 g/ld; 3 = 1.052 g/ld; 4 = 1.87 g/ld; 5 = 4.4 g/ld; 6 = 7.02 g/ld

Como se puede observar, durante los primeros días de experimentación con COv bajas y durante la transición de régimen, fue necesario adicionar bicarbonato al reactor para reestablecer la caída en el PA provocada por el aumento en la COv. Una vez que el reactor se adaptó a la nueva carga alimentada, ya no fue necesario adicionar más bicarbonato, puesto que el sistema biológico del reactor superó la perturbación por sí solo. Sin embargo, se encontró que al ensayar COv mayores (4.4 y 7.02 g DQO / ld), fue necesario seguir adicionando bicarbonato a fin de mantener el PA en valores positivos.

Se han publicado resultados semejantes, principalmente durante la etapa de arranque, en los que se señala la necesidad de adicionar bicarbonato al medio a fin de evitar una acidificación. También se ha mencionado que uno de los inconvenientes de la digestión anaerobia de carbohidratos, es que aún a valores de pH cercanos a la neutralidad, promueven fácilmente la acidificación del medio [Weiland y Rozzi, 1991]. Se ha mencionado, que la capacidad amortiguadora debida al bicarbonato (medida como mg CaCO<sub>3</sub>/l), es el factor fisicoquímico más importante que permite mantener estables las condiciones de la digestión anaerobia [Rozzi *et al.*, 1985; Weiland y Rozzi, 1991]. A este respecto, Mc Carty (1964) sugirió que para evitar una caída del pH a valores indeseables, se mantuviera la alcalinidad del reactor en valores mayores a los 1000 mg CaCO<sub>3</sub>/l. Basándose en este criterio, Hwang *et al.* (1992) al experimentar con un reactor UASB alimentado con suero de leche filtrado y COv entre 2.1 y 10.28 g DQO/ld, menciona que adicionaba al medio de cultivo entre 1 y 2.5 g/l de bicarbonato para mantener el pH arriba de 6.7, sin embargo, no reporta datos sobre la alcalinidad lograda. Por otra parte, García *et al.* (1991) al estudiar la digestión anaerobia de suero de leche en un reactor UASB de una sola fase, encontraron que la limitante es la baja capacidad amortiguadora que presenta el suero, ya que cuando alimentaron COv mayores de 5 g DQO/ld, obtuvieron un comportamiento inestable y con tendencia a la acidificación, la cual evitaron con la adición de bicarbonato. Cuando alimentaron COv mayores a 8 g DQO/ld, fue necesaria la adición de más de 1 g/l de bicarbonato al influente. Este problema persistió aún cuando el proceso lo llevaron a un reactor UASB de dos etapas, ya que siempre tuvieron que adicionar bicarbonato para lograr una alcalinidad mayor de 1000 mg CaCO<sub>3</sub>/l.

Los resultados obtenidos en este trabajo, indicaron que si bien fue necesaria la adición de bicarbonato a fin de mantener estable el equilibrio ácido-base, el valor de 1000 mg CaCO<sub>3</sub>/l resulta sobrado. La Figura 3.5, fue construída con el PA promedio obtenido en cada COv ensayada. El PA presentó valores entre los 3.5 y 1.5 meq/l, correspondientes a 59.5 y 174 mg CaCO<sub>3</sub>/l respectivamente. El comportamiento del

PA se puede dividir en dos regiones, una primera, con una tendencia a disminuir rápidamente al tiempo que se aumentó la COv, y la segunda, en la que el PA tendió a mantenerse casi en valores constantes no obstante que la carga alimentada siguió aumentándose. Esta segunda región, podría considerarse como una propia adaptación del lodo activo del reactor. Es importante notar que a pesar de que los valores del PA se obtuvieron del orden de mequivalentes, fueron suficientes para mantener la estabilidad química del reactor, sin dejar de considerar que las características hidráulicas del reactor (casi cero de sustrato en el reactor) y la eficacia de eliminación del C por medio del metano, impidieron la acumulación de metabolitos.

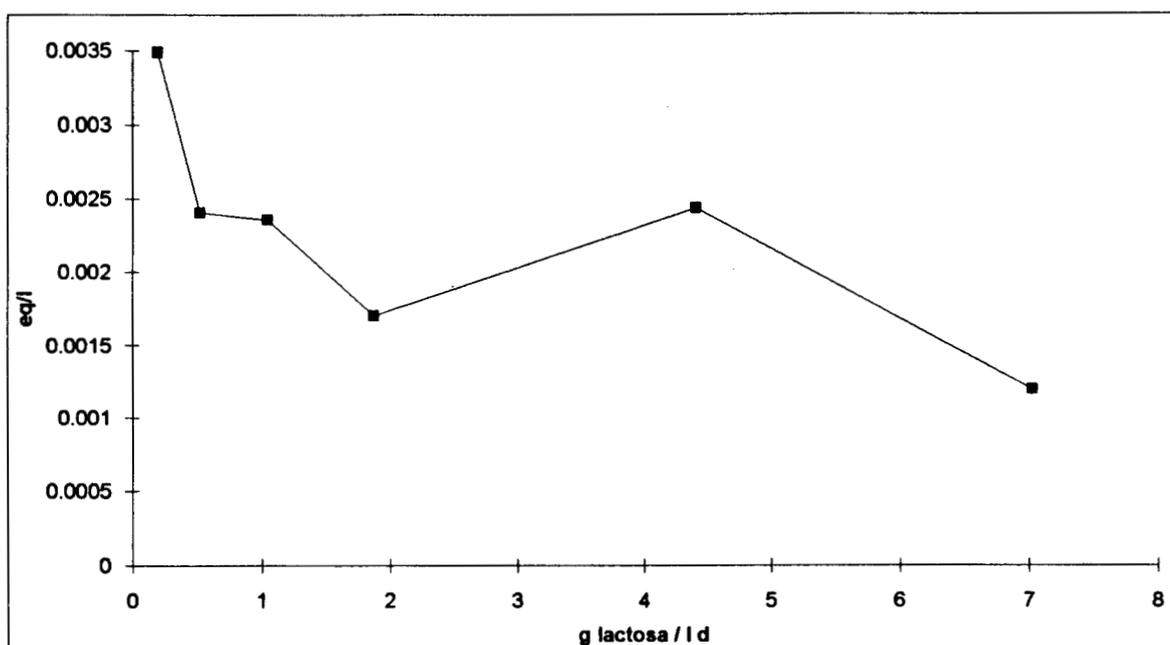


Figura 3.5. PA promedio obtenido por COv ensayada

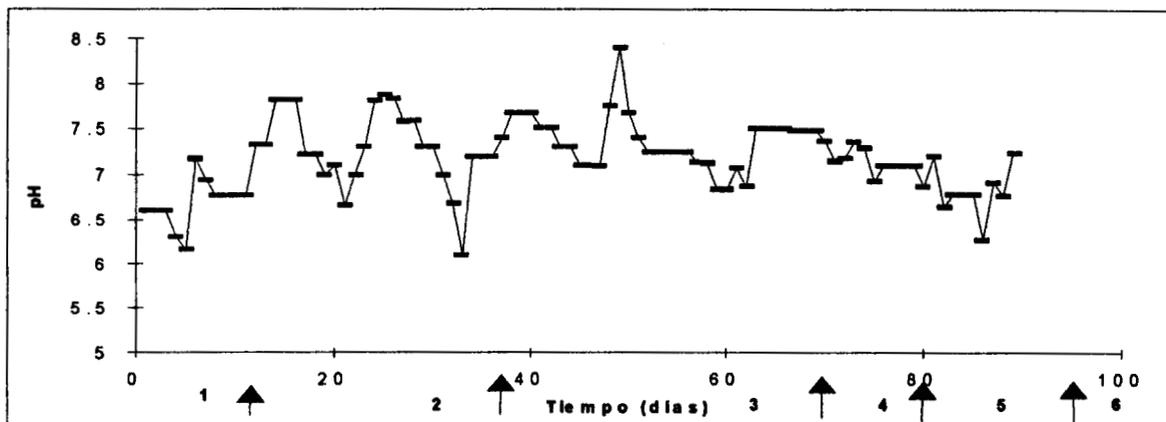
Otro de los criterios más utilizados para conocer la estabilidad de un reactor anaerobio, está dado por la relación entre los AGV generados y la alcalinidad producida por el bicarbonato (AGV/Alcalinidad bicarbonato.). A este respecto, el Manual of practice de la Water Pollution Control Federation (WPCF, 1967), al igual que Iza (1989), sugieren que para evitar un fallo inminente del reactor por acidificación, se mantenga una relación AGV/Alcalinidad mayor a 0.4. En la Tabla 3.2, se muestran los valores promedio de PA, la alcalinidad debida al bicarbonato, y la relación AGV/Alcalinidad obtenida para cada COv alimentada. En este trabajo, se

encontró que la alcalinidad presentó valores entre los 66 y 140 mg CaCO<sub>3</sub>/l, valor muy por debajo de los 1000 mg CaCO<sub>3</sub>/l sugeridos [Mc Carty, 1964]. También se obtuvieron relaciones AGV/Alcalinidad entre 1.55 y 4.24. Sin embargo, a pesar de que las relaciones AGV/Alcalinidad logradas fueron mucho mayores a las publicadas, y la alcalinidad mucho menor a la sugerida, el reactor se mantuvo en un equilibrio ácido-base adecuado.

**Tabla 3.2.** Potencial de amortiguamiento y relación AGV/Alc promedio

COv alimentada g lactosa / ld	Alcalinidad mg CaCO <sub>3</sub> /l	PA meq/l	AGV / Alc	Eficiencia de eliminación %
0.192	140.25	3.49	1.55	77.29
0.517	99.89	2.41	3.28	79.21
1.052	94.2	2.36	2.72	87.56
1.87	74.35	1.7	1.86	91.94
4.39	106.45	2.44	3.16	93.11
7.02	66.3	1.19	4.24	95.84

Por otra parte, los valores obtenidos del pH en el reactor, se muestran en la Figura 3.6. Como puede observarse, a lo largo de toda la experimentación, los valores del pH cayeron, en promedio, en el intervalo de 6.7 a 7.3, manteniendo este comportamiento independientemente de la COv alimentada, pero dependiente de bicarbonato.



**Figura 3.6.** Valores de pH obtenidos durante la experimentación. Las flechas y los números indican cada COv ensayada. 1 = 0.192 g/ld; 2 = 0.517 g/ld; 3 = 1.052 g/ld; 4 = 1.87 g/ld; 5 = 4.4 g/ld; 6 = 7.02 g/ld

Existen algunas publicaciones acerca de la producción de metano en función del pH. Por ejemplo, en cultivo en lote, Attal *et al.* (1988), estudiaron el efecto del pH sobre la población acetogénica, hidrogenofílica y acetoclástica. Ensayaron un intervalo de pH de 4.75 a 7.2, encontrando que en la zona neutra (6.7 a 7.2), la producción de metano era la misma, y que ésta disminuía en un 25% aproximadamente al ensayar un pH de 5.4. Por otra parte, para una población acetoclástica Duarte y Anderson (1982), encontraron que la producción de metano fue máxima en el intervalo de pH de 7.0 a 7.2, observando el 50% de disminución a pH de 5.5 y 8.0. Por su parte, Zinder y Mah (1979) indican que un intervalo adecuado es de 6.0 a 7.0, mientras que Huser *et al.* (1982), mencionan un pH de 7.5 como el mejor. Todas estas referencias coinciden en que con pH menores a 6.0 o mayores a 8.0, la producción de metano disminuye notablemente hasta hacerse nula. Asimismo, corroboran que los valores de pH obtenidos en este trabajo, fueron adecuados para que se llevara a cabo la hidrólisis y fermentación de la lactosa, así como su posterior conversión a metano.

Por otra parte, Hwang *et al.* (1992), durante la digestión anaerobia de suero de leche, con COv similares a las aquí ensayadas (2.1 - 5.2 g DQO/l) y adicionando entre 1.0 y 2.5 g/l de bicarbonato, obtuvieron valores de pH en el intervalo de la neutralidad: 7.2 y 7.4. Mientras que Paula y Foresti (1992), con un UASB alimentado con glucosa, COv entre 2.73 y 8.47 g DQO/l y adicionando 2.0 g/l de bicarbonato, obtuvieron valores de pH entre 7.2 y 7.4. Al igual que el presente trabajo, estos reportes muestran tanto la independencia del pH respecto de la COv alimentada, como la dependencia del bicarbonato.

Finalmente, en la Figura 3.7, se muestran las eficiencias de eliminación promedio obtenidas al ensayar cada una de las cargas orgánicas volumétricas. El porcentaje máximo de eliminación, de 95%, se encontró cuando el reactor se alimentó con una COv de 7.02 g lactosa / l, que también fue la mayor ensayada. Los resultados indican que las seis condiciones ensayadas se pueden separar en dos etapas. Una primera que corresponde a COv bajas, en las que el máximo de eliminación obtenido después de cinco semanas de experimentación, alcanzó un 85% aproximadamente y que representaría el periodo de adaptación de los microorganismos del lodo a los incrementos en el sustrato alimentado. Una segunda etapa estaría representada por COv mayores, en las que la eficiencia de eliminación adquirió valores hasta de 95%, correspondiendo a la región en que el sistema biológico se encontró muy activo.

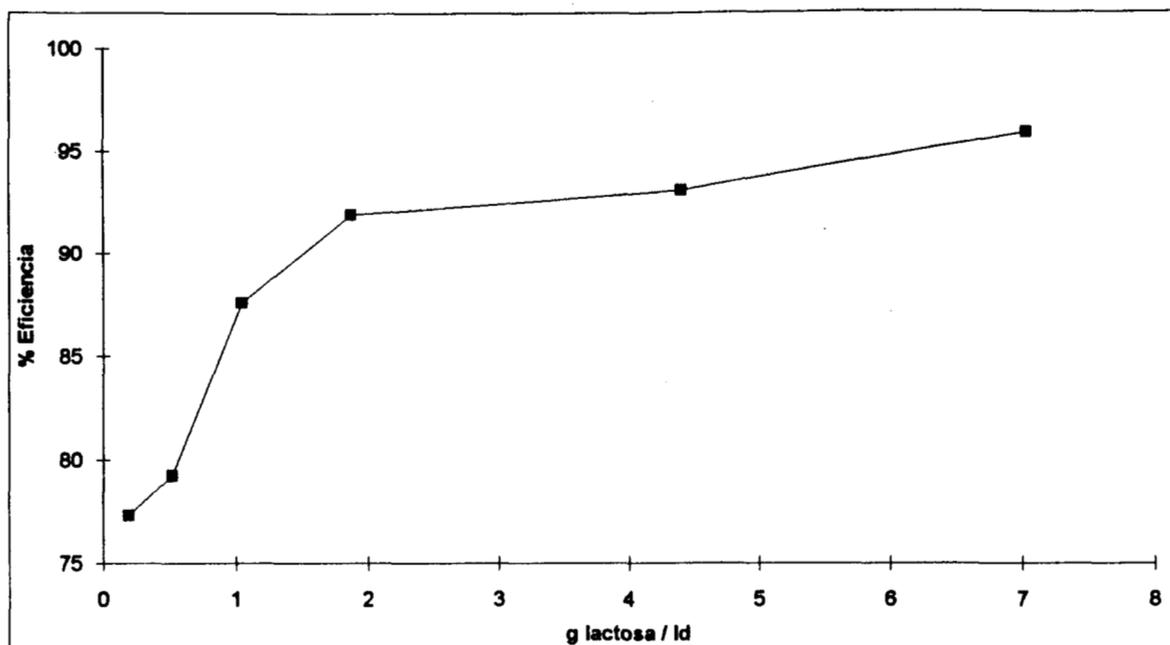


Figura 3.7. Eficiencia de eliminación promedio por COv ensayada.

Un resumen de los resultados obtenidos para cada COv ensayada se muestran en la Tabla 3.3.

Tabla 3.3. Comportamiento del reactor UASB a diferentes cargas de lactosa

TRH (días)	COv g DQO/ld	COM g DQO/g SSV.d	Eficiencia de eliminación (%)	Gas total l / ld	Metano l / ld	pH	PA eq/l
2.6	0.192	0.061	77.29	0.040	0.022	6.76	0.00349
2.9	0.517	0.067	79.21	0.158	0.053	7.11	0.00241
1.9	1.052	0.24	87.56	0.350	0.211	7.17	0.00236
1.07	1.87	0.273	91.94	0.640	0.442	7.27	0.0017
0.909	4.40	0.587	93.11	1.780	1.270	6.82	0.00244
0.57	7.02	0.936	95.84	2.855	1.927	7.01	0.00119

### 3.2 Modelo matemático.

**3.2.1 Simulación del arreglo experimental.** Utilizando las condiciones experimentales como valores iniciales (Tabla 3.4), las constantes cinéticas mostradas en la Tabla 2.4 de Materiales y Métodos, y el modelo matemático (Tabla 1.14), se realizaron seis simulaciones (corridas). En cada corrida, para las dos poblaciones implicadas (1) acidogénica y (2) metanogénica, se simuló: A) la producción de biomasa ( $X_1$  y  $X_2$ ); B) el consumo de sustrato en forma de polímeros (S); C) el consumo de sustrato metanogénico (ácidos grasos volátiles, (a)); D) la producción de biogás ( $\text{CO}_2$  y  $\text{CH}_4$ ); E) el equilibrio de bicarbonato (b) y F) el comportamiento del pH dentro del reactor. Para todos los casos como condiciones iniciales, se consideró que:  $S_0 = S$ ,  $b_0 = b_1$ ,  $a_0 = 0.0$  y  $a_1 = 0.0038$ .

**Tabla 3.4.** Condiciones iniciales para la simulación

$S_0$ (g/l)	$X_1$ (g/l)	$X_2$ (g/l)	D ( $\text{d}^{-1}$ )	$b_0$ (eq/l)
0.3415	2.2175	0.9504	0.3774	0.0124
1.4313	5.3410	2.2890	0.3448	0.0124
1.5530	3.0660	1.3140	0.5291	0.0124
1.6218	4.7880	2.0520	0.9302	0.0124
4.0688	5.2465	2.2485	1.1001	0.0194
3.6576	5.2465	2.2485	1.7544	0.0194

Las ecuaciones de velocidad específica de crecimiento ( $\mu$ ), se definieron, para el caso de la población acidogénica, como tipo Monod incluyendo un término de muerte celular ( $b_a$ ). Para el caso de la población metanogénica se describió en base a una inhibición por pH, que implica que si el pH adquiere valores menores que 6 o mayores que 8, la velocidad específica de crecimiento será cero. Igualmente se consideró un coeficiente de muerte celular ( $b_m$ ). El modelo de crecimiento celular consideró una purga periódica de lodos.

Asimismo, se incorporó al modelo, una ecuación algebraica que calculó el balance de materiales en base al carbono.

Durante la simulación, el modelo sólo realizó purgas celulares en los dos últimos casos, correspondientes a la mayor concentración de sustrato alimentado en el influente y menores tiempos de retención ensayados. En general, cabe mencionar que cuando se realizaron las purgas celulares, resultó afectado el comportamiento de los

otros parámetros de respuesta (consumo de sustrato, generación de biogás, producción de biomasa, consumo de ácidos grasos volátiles, potencial de amortiguamiento). A continuación se describen los resultados generados durante la simulación de las seis corridas.

La ecuación algebraica que se utilizó para describir el balance de materiales dentro del reactor, se hizo en base al carbono, considerando solamente, la cantidad de sustrato consumido, la formación de acetato, de bióxido de carbono y de metano, debido a que éstos representan los productos principales de la digestión anaerobia. Los resultados del balance de carbono, fueron tomados como la variable de respuesta durante el ajuste del modelo.

Los resultados de las seis simulaciones mostraron que el balance de carbono siempre fue correcto, puesto que se obtuvieron números positivos y cercanos a cero, mismos que se mantuvieron constantes en el transcurso del tiempo. En las corridas 5 y 6, se presentaron cambios en el comportamiento del balance de carbono que coincidieron con las purgas celulares, siendo más notorios en la corrida 6.

Según el balance de carbono, para cada corrida, se calculó el porcentaje de carbono que se consumió, pero que no se canalizó hacia alguno de los tres productos: acetato, bióxido de carbono o metano. Esto se muestra en la Tabla 3.5.

**Tabla 3.5.** Balance de carbono obtenido en la simulación del arreglo experimental

Velocidad de carga en la entrada g C / ld	Carbono consumido para generar productos g / ld	Carbono consumido no utilizado para generar productos %
0.2077	0.1917	5.67
0.3459	0.3211	3.98
0.6351	0.5914	8.11
1.8844	1.6672	8.67
2.7015	2.6175	12.38

Como puede observarse, el carbono no utilizado para generar producto presentó valores entre el 4 y 12%. Dado que el balance sólo consideró la generación de los productos antes citados, éste porcentaje de carbono podría considerarse como el canalizado hacia dos destinos: i) para la generación de otros metabolitos, tales

como el lactato o etanol, los cuales, durante la biometanación de lactosa en un quimiostato, se han detectado cerca del 2% [Chartrain y Zeikus, 1986]; ii) para la generación de biomasa, la cual como se ha publicado, implica la utilización de aproximadamente el 10% del sustrato consumido [Chartrain y Zeikus, 1986].

En base a los resultados obtenidos se podría decir que, en cuanto al balance de carbono, el modelo simuló adecuadamente las corridas experimentales.

El consumo del sustrato se muestra en la Figura 3.8. El sustrato alimentado al reactor, se mantuvo constante a lo largo de cada simulación ( $So_1$  [g/l] = 0.34,  $So_2$  = 1.43,  $So_3$  = 1.55,  $So_4$  = 1.62,  $So_5$  = 4.06 y  $So_6$  = 3.65). Se observó que a concentraciones altas de sustrato alimentado, la velocidad de consumo fue mayor que a concentraciones de sustrato menores, lo cual era de esperarse, puesto que a mayor concentración de sustrato en el influente, se obtendría una velocidad de crecimiento específica mayor. Asimismo, durante la simulación de las corridas 5 y 6, la concentración del sustrato a la salida se vió afectada por las purgas celulares. A mayor concentración de sustrato alimentada, cada purga realizada provocó que la velocidad en el consumo de sustrato aumentara un poco, dada la disminución de lodos ocasionada por la purga. Para todos los casos, la concentración del sustrato en el efluente alcanzó rápidamente su estado estacionario, excepto en las corridas en las que se presentó la purga, la cual ocasionó escalones en el comportamiento del reactor. Estos fueron más notorios en la última corrida, correspondiente a la mayor concentración de sustrato en el influente.

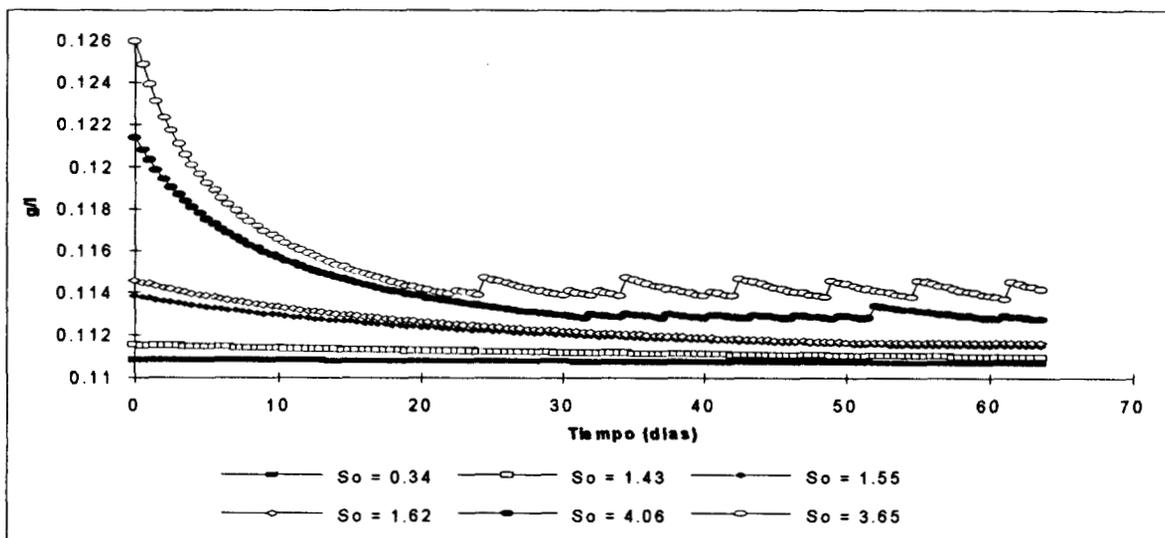


Figura 3.8. Simulación del sustrato a la salida, corridas 1 a la 6

Es notorio que el sustrato no se consumió en la misma magnitud en todas las simulaciones. Así pues, se observó que durante la primera corrida, el consumo del sustrato no alcanzó al 70% de eliminación, mientras que para las siguientes simulaciones, como se muestra en la Figura 3.9, las eficiencias de eliminación logradas, rebasaron el 90%.

Dado que la ecuación de velocidad específica de crecimiento ( $\mu_1$ ) se modeló según Monod, el menor porcentaje en la eficiencia de eliminación, obtenida a la concentración de sustrato más baja, fue de esperarse, ya que a concentraciones de sustrato pequeñas, se convierte en una ecuación de primer orden ( $S \ll K_s$ ) [Soto *et al.*, 1993]. Asimismo, a cargas orgánicas bajas, el coeficiente de muerte celular, también provoca una disminución drástica en la eficiencia de eliminación en el sustrato. Esto sugiere la necesidad de incorporar un término al coeficiente de muerte que permita una disminución suavizada en la eficiencia de eliminación del sustrato.

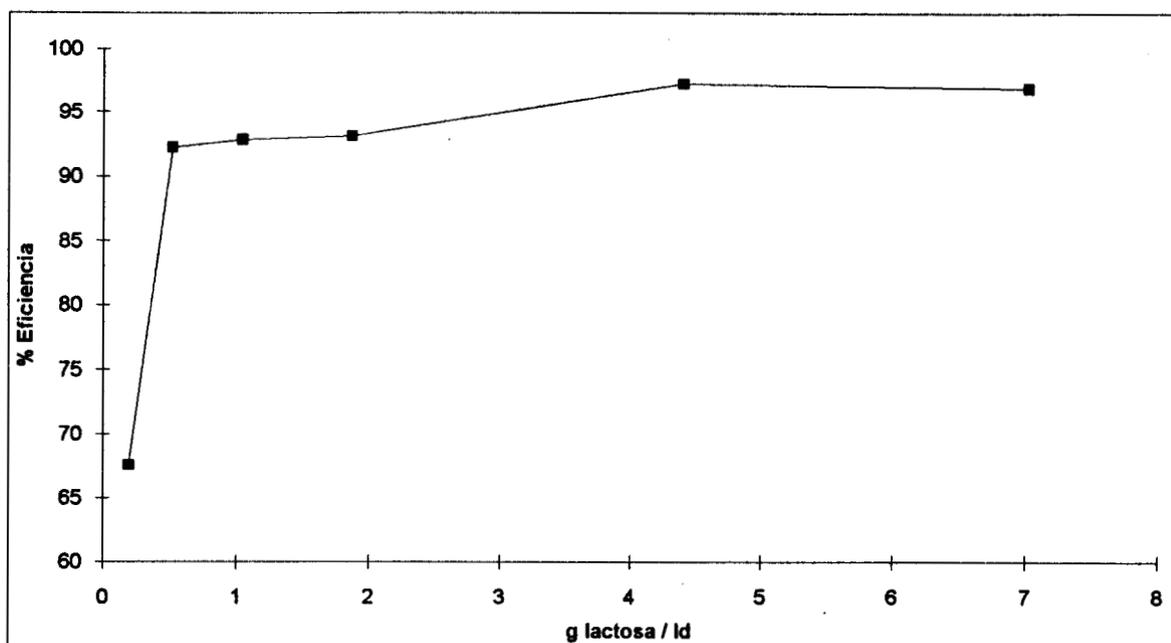


Figura 3.9. Eficiencias de eliminación de sustrato obtenidas en la simulación de las corridas experimentales

La generación total de biomasa (suma de la biomasa acidogénica mas la metanogénica:  $X_T = X_1 + X_2$ ), con respecto al tiempo, se presenta en la Figura 3.10, en donde se muestra la simulación de las corridas (desde la una a la seis). La concentración total máxima de células dentro del reactor se mantuvo fija en 30 g/l.

Los resultados obtenidos indicaron que para todos los casos, la población microbiana presentó una tendencia a aumentar de manera directamente proporcional al tiempo de operación transcurrido. Se encontró también, que el modelo matemático sólo realizó purgas celulares en las dos últimas corridas (5 y 6). Este comportamiento puede ser atribuido a que en dichas corridas, la concentración inicial de células y la carga de sustrato alimentado, fueron mayores. Asimismo, estos resultados correspondieron a los menores tiempos de retención ensayados. Así, una mayor carga de sustrato alimentado, permitió que se alcanzaran velocidades de crecimiento específicas más altas y por tanto, una mayor generación de biomasa. Por otro lado, el efecto del coeficiente de decaimiento sobre la velocidad específica de crecimiento tiene menor importancia que en las simulaciones con menor concentración de sustrato.

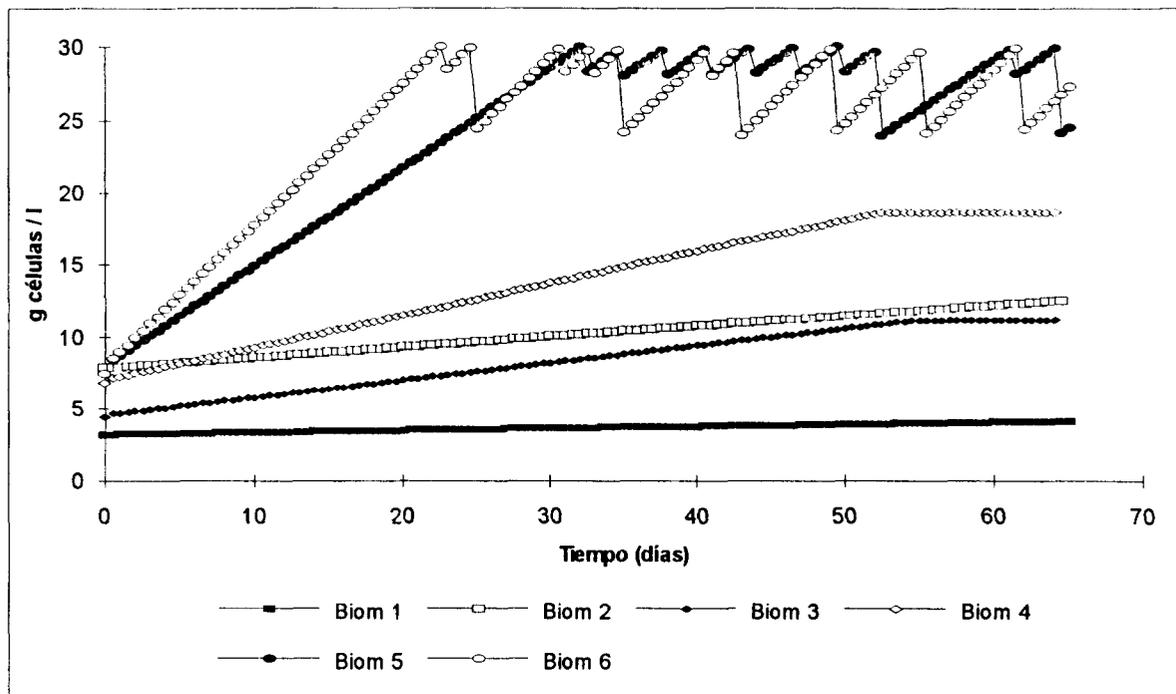


Figura 3.10. Generación de biomasa total durante la simulación de las corridas 1a la 6

En las Figuras 3.11 y 3.12, además de ilustrarse la generación total de biomasa, se desglosa la biomasa acidogénica ( $X_1$ ) y la metanogénica ( $X_2$ ). Para estos dos casos, correspondientes a la simulación de las corridas 5 y 6, se observó que la biomasa total y acidogénica creció de forma exponencial aunque posteriormente se presentaron escalones, debidos a las purgas celulares realizadas por el modelo. Debido a la escala utilizada, parecería que la población metanogénica permaneció

constante a lo largo del tiempo, sin embargo, al cambiar de escala y sólo graficar a la población  $X_2$  (Figuras 3.13 y 3.14), es posible observar que esta población también creció primero de forma exponencial y que después de 25 días aproximadamente, cuando el modelo realizó purgas celulares, se presentaron escalones. Asimismo, a partir de las purgas, se observa una tendencia a la disminución en la concentración celular. En efecto, en la corrida 5, se observó una disminución en las bacterias metanogénicas de aproximadamente 20% en relación a su biomasa inicial, mientras que en la corrida 6, la disminución fue de 40% aproximadamente al final de la simulación (después de 65 días de operación del reactor).

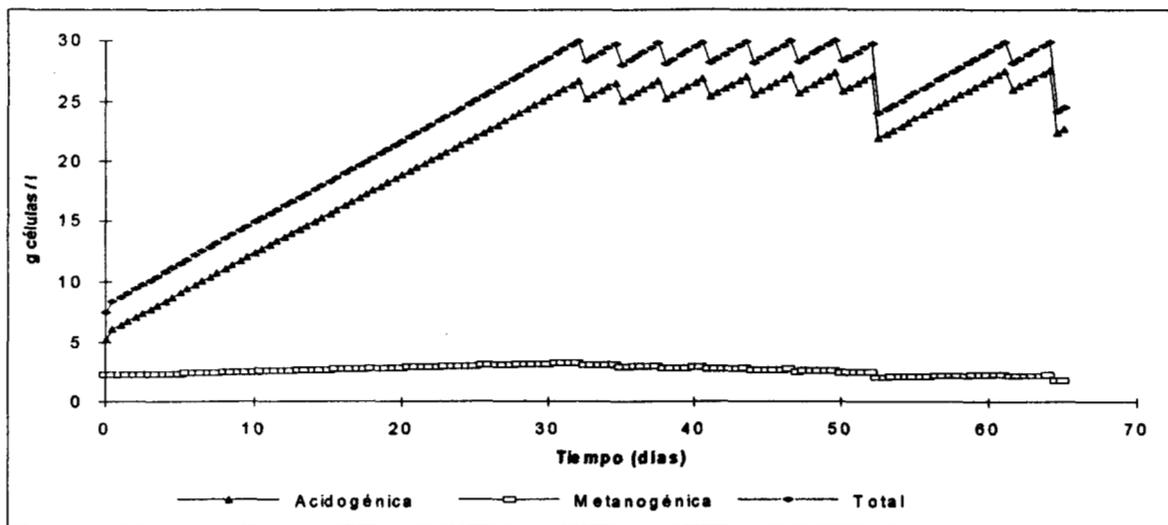


Figura 3.11. Generación de biomasa total, acidogénica y metanogénica en la corrida 5

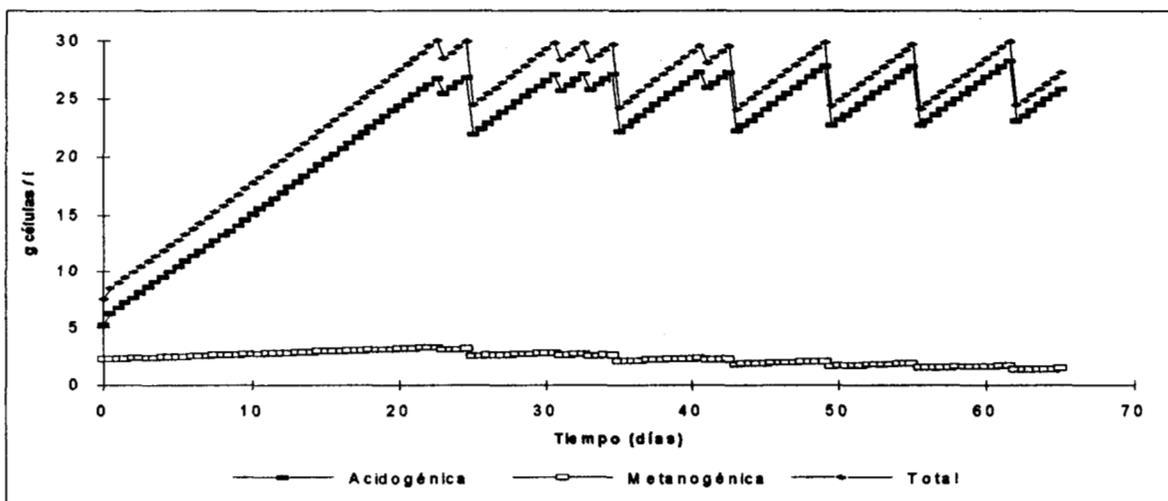


Figura 3.12. Generación de biomasa total, acidogénica y metanogénica en la corrida 6

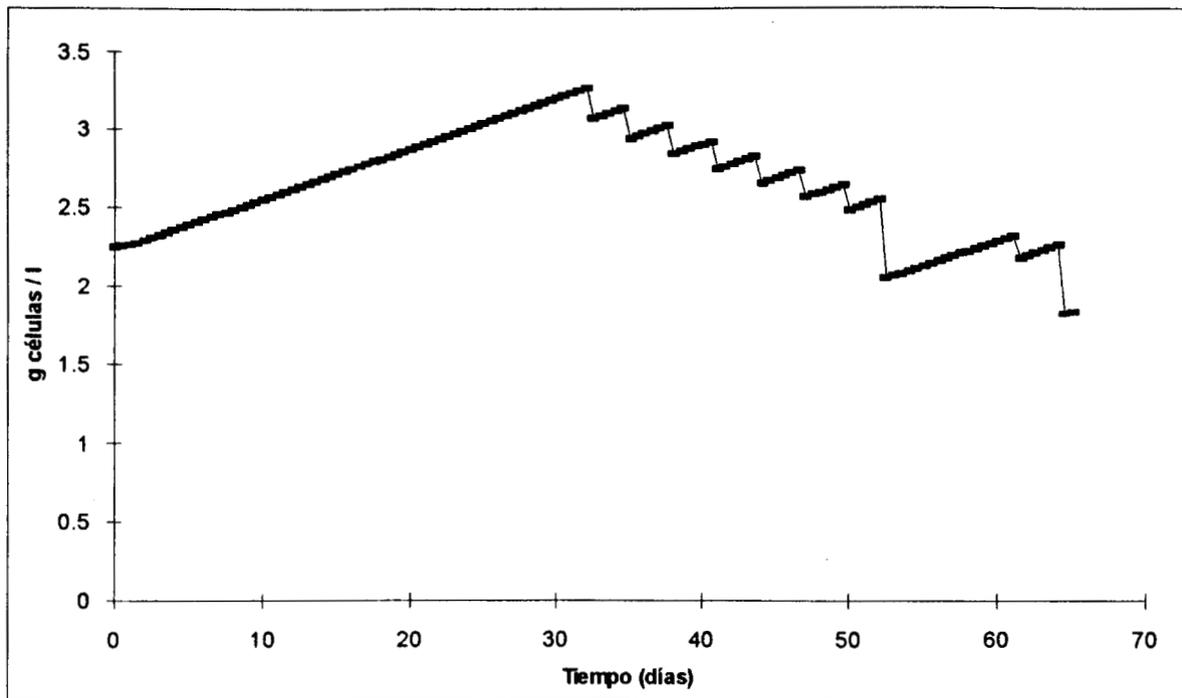


Figura 3.13. Generación de biomasa metanogénica en la corrida 5

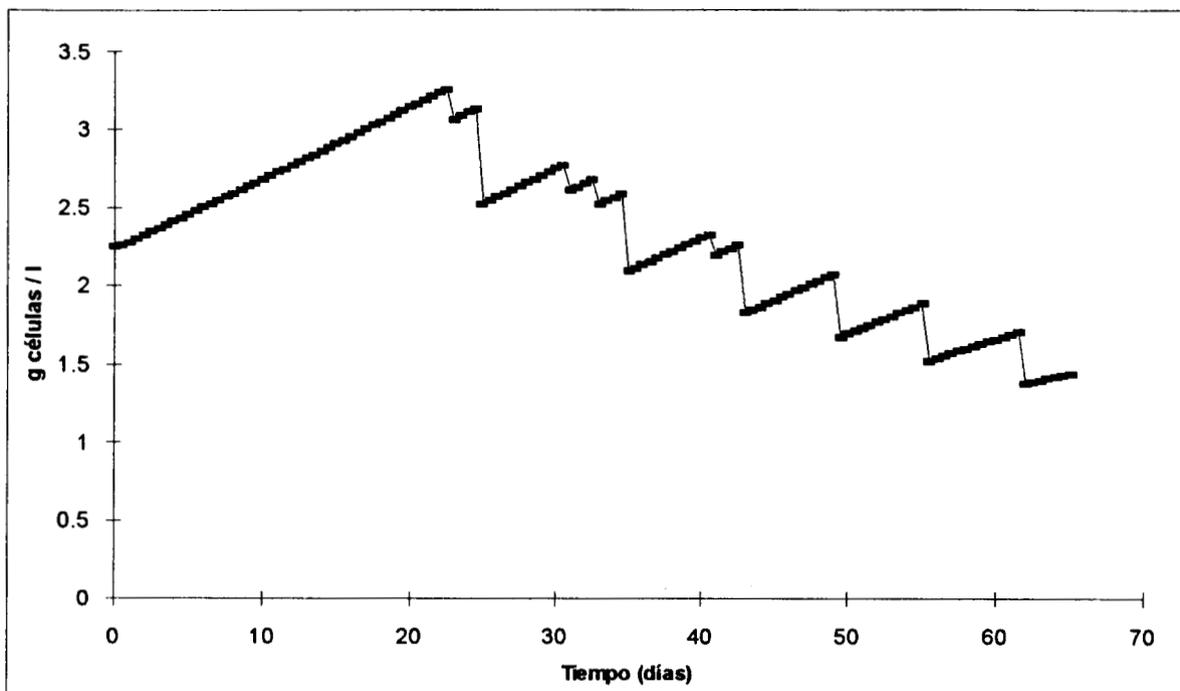


Figura 3.14. Generación de biomasa metanogénica en la corrida 6

Recordando que la  $\mu_{\text{máx}_1}$  es mucho más alta que la  $\mu_{\text{máx}_2}$ , era de esperarse un incremento más rápido de  $X_1$  en relación a  $X_2$ , es decir, dado que la población metanogénica creció a menor velocidad, generó menor cantidad de células.

Por otro lado, la tendencia de la población metanogénica a la disminución podría ser atribuida tanto a la realización de la purga de lodos, como a una posible pérdida de células por lavado, dada su menor velocidad de crecimiento y la mayor tasa de dilución utilizada en estas corridas. De esta forma, la población acidogénica, que presentó una velocidad de crecimiento mayor, fue capaz de reestablecer rápidamente su concentración celular, a diferencia de la población metanogénica.

Esto indicaría que, aunque el modelo realiza purgas en la misma proporción para ambas poblaciones, la metanogénica resulta más afectada. Ciertamente, la proporción inicial de células fue de 30% para las metanogénicas y 70% para las acidogénicas. Cuando se realizó la primera purga, la proporción fue de 14 - 86%, mientras que al final de la simulación fue de 6 - 94% para cada población, respectivamente. La explicación a estos resultados podría ser la siguiente.

Es bien sabido que en la digestión anaerobia, los microorganismos presentes en los reactores UASB se encuentran como comunidades heterogéneas con interdependencia mutua, dando lugar a un consorcio o gránulo, de forma tal que en su mayoría, el centro del gránulo está constituido por bacterias metanogénicas, mientras que la parte externa, aunque también presenta bacterias metanogénicas, la mayor parte está constituida por bacterias acidogénicas [Guiot, 1992]. También se ha encontrado que las bacterias metanogénicas, a diferencia de las acidogénicas, se encuentran en los gránulos en mayores proporciones que en suspensión libre [Murray, 1984; Dolfing *et al.*, 1985; Guiot *et al.*, 1986], debido probablemente a que al estar las metanogénicas en el espacio interior del gránulo, se encuentran más protegidas de los desprendimientos [Guiot, 1992].

Por otro lado, se ha encontrado que en un reactor alimentado con carbohidratos, los microorganismos acidogénicos fermentadores de azúcares se aglutinan formando solamente flóculos pequeños [Dobourguier, 1988], en los que existe un número limitado de metanogénicas. Esta situación se corrobora con el hecho de que los flóculos pequeños siempre tienen una relación de actividad acetogénica mayor que acetoclástica en comparación a la de los gránulos grandes, en donde la población metanogénica es mucho mayor [Guiot *et al.*, 1988; Guiot *et al.*, 1991].

Considerando que las partículas más pesadas del lodo serían retenidas en el reactor, mientras que las suspendidas o pobremente floculantes, serían lavadas continuamente, resulta claro que las bacterias acidogénicas, que o bien forman

flóculos pequeños o se encuentran en suspensión libre, son las que en su mayoría se estarían perdiendo del reactor por lavado.

Bajo este razonamiento, significaría que para el modelo matemático, la población acidogénica no requeriría de purga, puesto que siempre se presentaría una pérdida natural de bacterias acidogénicas por lavado. Por otro lado, dado que la población metanogénica tiene una velocidad de crecimiento menor, probablemente tampoco requeriría de purga.

Si los resultados obtenidos en la producción de biomasa indican que a partir de la realización de las purgas hubo una disminución en las bacterias metanogénicas, no así para las acidogénicas, se podría deber a que el modelo tiene dos deficiencias. En primer lugar, el modelo no considera que los lodos se encuentran dentro del reactor formando flóculos o gránulos, y en segundo lugar, tampoco considera que las bacterias acidogénicas se pierden del reactor por lavado. Sin embargo, esta situación se podría corregir si la purga del modelo de producción de biomasa acidogénica es reemplazada por un término que considere la pérdida por lavado. Por ejemplo,  $DX_{1e}$ , donde  $X_{1e}$  sería la cantidad de células acidogénicas en el efluente y  $D$  la tasa de dilución. De esta forma, se podría mantener la proporción original de bacterias acidogénicas dentro del reactor. Asimismo, en caso necesario, la purga de lodos se podría plantear en función de  $X_2$ , de forma tal que se realicen purgas celulares sólo cuando la población metanogénica rebase el 30% con respecto a la población total.

La calibración de la producción volumétrica de biogás se realizó en base a los coeficientes de rendimiento  $Y_4$  (g  $X_2$  / l  $CH_4$ ),  $Y_5$  (g  $X_1$  / l  $CO_2$ ) y  $Y_6$  (g  $X_2$  / l  $CO_2$ ), dado que entre otros coeficientes cinéticos involucrados en el modelo, son los principales responsables de la producción de biogás [Marsilli-Libelli y Nardini 1985]. Por otro lado, el calcular por separado a  $\mu$  y a  $Y$  permitía establecer con un criterio estequiométrico, los valores iniciales.

Los resultados de la producción volumétrica de biogás se muestran en las Figuras 3.15 y 3.16, en las que se ilustra la producción de metano y de bióxido de carbono respectivamente. En ambos casos, se puede observar que la producción volumétrica de biogás a excepción de las corridas 5 y 6, alcanzó el estado estacionario rápidamente. Asimismo, se puede observar que conforme se incrementó la velocidad de carga orgánica en el influente del reactor, también lo hizo la producción volumétrica de biogás.

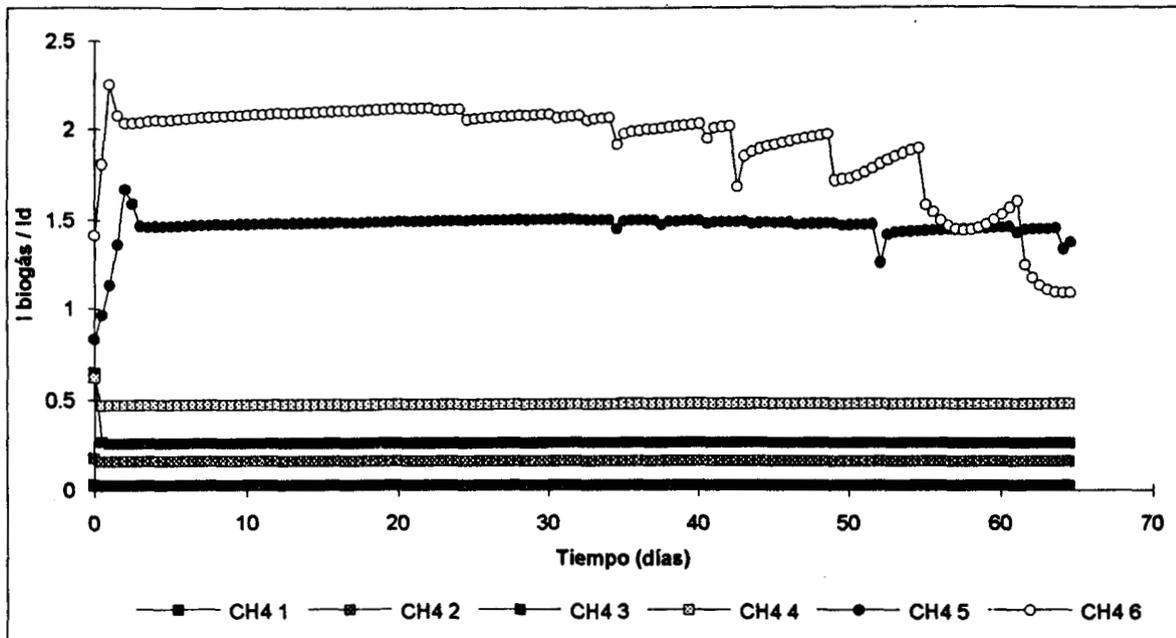


Figura 3.15. Producción volumétrica de metano obtenida en la simulación de las corridas 1 a 6

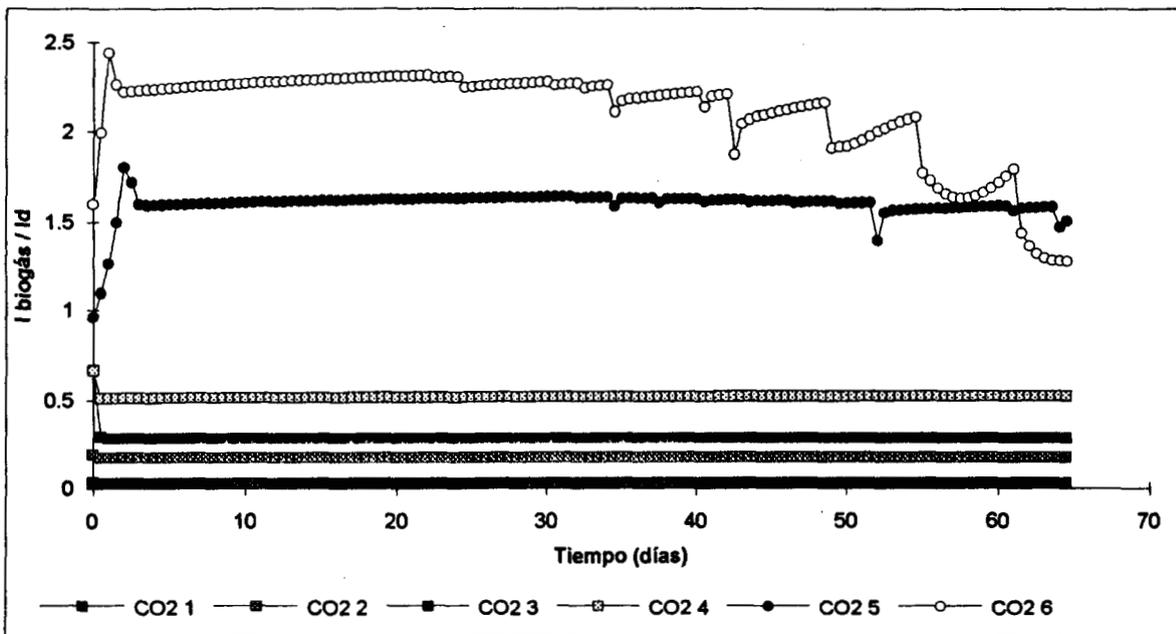


Figura 3.16. Producción volumétrica de bióxido de carbono obtenida en la simulación de las corridas 1 a 6

Se observó que, a diferencia de las corridas 1 a la 4, en la simulación de la 5 y la 6, se presentó una vez más el efecto de la purga celular, aunque de forma más

evidente en la corrida 6. En ambos casos, durante los primeros días de simulación, la producción volumétrica de biogás se mantuvo en estado estacionario. Conforme se presentaron las purgas celulares, se originaron pequeños escalones, siendo en la corrida 5 con una ligera tendencia a la disminución. En la corrida 6, tanto los escalones en la producción de biogás, como la tendencia a la disminución, se observaron más pronunciados.

La explicación a este comportamiento podría darse en los siguientes términos. Recordando que durante las purgas celulares fue disminuyendo la población de bacterias metanogénicas (Figura 3.13 y 3.14), a diferencia de las bacterias acidogénicas, que sí fueron capaces de recuperar su población, resulta clara la disminución en la producción de metano. Por su parte, la producción de bióxido de carbono está determinada por la actividad de las bacterias acidogénicas junto con la de las metanogénicas, por lo que al descender la población de estas últimas, también se reduce su contribución en la generación de bióxido de carbono, dando como resultado total, una disminución en el flujo generado de dicho gas.

El modelo simuló la producción de ambos gases, indicando que se comportó adecuadamente como un digestor anaerobio de una sola fase. Un balance de materiales indicó que la producción de gases podría considerarse equimolar en todas las corridas simuladas, como se muestra en las Figuras 3.15 y 3.16 y resumido en la Tabla 3.6.

**Tabla 3.6.** Composición simulada del biogás producido a diferentes velocidades de carga

No. de corrida	% de CH <sub>4</sub>	% de CO <sub>2</sub>
1	47.55	52.45
2	47.94	52.06
3	47.87	52.13
4	47.87	52.13
5	47.85	52.15
6	47.25	52.75

Un balance de materiales en base al sustrato consumido, indicó que la producción de biogás alcanzó en promedio el 90% de la producción teórica esperada. En la Tabla 3.7, se muestra el error del modelo con respecto a los valores teóricos. Se

encontró que el error fue mayor para la producción de bióxido de carbono, donde casi alcanzó el 18% en la corrida 1, mientras que para el metano, éste no fue más allá del 15%. En el resto de las corridas simuladas, el error obtenido para ambos casos, fluctuó entre el 4 y el 12%. Esto significa que el modelo predice entre un 80 y 95% de la producción volumétrica que se generará en un sistema de digestión anaerobia. Estos valores resultan muy adecuados si se comparan con los resultados experimentales obtenidos en este trabajo y con los que se reportan en la literatura [Lequerica, 1988; Hwang *et al.*, 1991; Hawkes *et al.*, 1992; Cao *et al.*, 1992; Paula y Foresti, 1992], puesto que en los mejores casos, las producciones volumétricas de biogás obtenidas, no rebasan el 80% de la producción teórica esperada.

Estos resultados podrían indicar que los coeficientes de rendimiento (implicados en la generación de biogás  $Y_4$  (g  $X_2$  / l  $CH_4$ ),  $Y_5$  (g  $X_1$  / l  $CO_2$ ) y  $Y_6$  (g  $X_2$  / l  $CO_2$ )) utilizados en la simulación de las corridas experimentales, fueron adecuados.

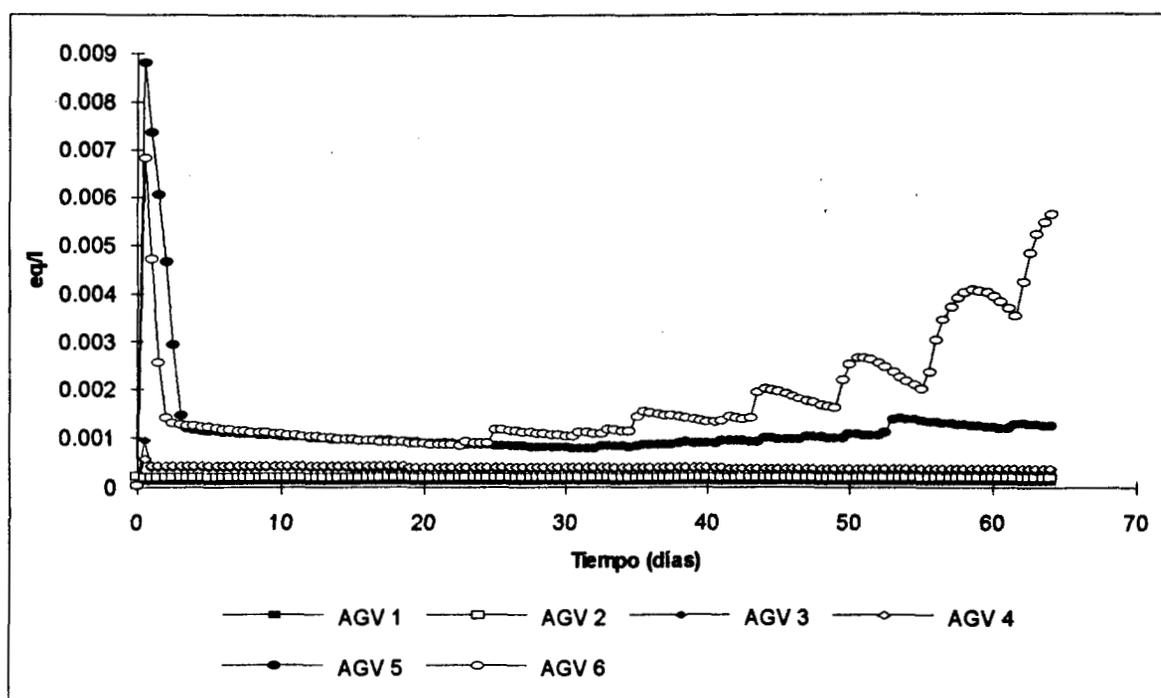
Tabla 3.7. Producción volumétrica de biogás teórica y simulada

Velocidad de carga g/l/d	Gas producido	Teórica l/l/d	Modelo l/l/d	Error respecto al valor teórico %
0.192	CO <sub>2</sub>	0.0363	0.0300	17.40
	CH <sub>4</sub>	0.0320	0.0272	15.13
0.517	CO <sub>2</sub>	0.1898	0.1739	8.38
	CH <sub>4</sub>	0.1675	0.1602	4.36
1.052	CO <sub>2</sub>	0.3180	0.2837	10.80
	CH <sub>4</sub>	0.2807	0.2606	7.15
1.870	CO <sub>2</sub>	0.5858	0.5190	11.39
	CH <sub>4</sub>	0.5170	0.4766	7.80
4.40	CO <sub>2</sub>	1.8148	1.6004	11.82
	CH <sub>4</sub>	1.6016	1.4689	8.28
7.020	CO <sub>2</sub>	2.5926	2.1589	16.73
	CH <sub>4</sub>	2.2880	1.9710	13.85

El modelo simuló la concentración de ácidos grasos volátiles totales ( $AGV_t$ ), a la salida del reactor, que se muestra en la Figura 3.17. Este término agrupó tanto a los ácidos disociados como a los no disociados ( $AGV_t = AGV^- + AGV^H$ ). Durante los primeros tres o cuatro días de simulación y en todos los casos, se presentó un súbito aumento en la cantidad de  $AGV_t$  a la salida del reactor, siendo más notorio este aumento en las corridas 5 y 6. En general este comportamiento es atribuible al resultado de la actividad hidrolítica-fermentativa de las bacterias acidogénicas. Considerando que en las corridas 5 y 6 la velocidad de carga orgánica del influente fue más alta, era de esperarse, que la velocidad de producción de  $AGV_t$  también lo fuera. Sin embargo, la acumulación de  $AGV_t$  sólo se presentó por un periodo muy corto, puesto que su concentración comenzó a descender rápidamente. Este descenso estaría representando la actividad metabólica de las bacterias metanogénicas, al consumir los  $AGV_t$  generados y convertirlos a biogás. Efectivamente, durante los primeros días de simulación, el descenso de los  $AGV_t$  se encontró ligado al aumento en la producción de  $CO_2$  y  $CH_4$  (Figuras 3.15 y 3.16).

Posteriormente a este evento, en las corridas 1 a la 5, se observó que la concentración de  $AGV_t$  alcanzó rápidamente el estado estacionario. Estos resultados indicarían que, puesto que no se presentó acumulación, existió un consumo continuo de los  $AGV_t$  generados durante la primera etapa de la digestión anaerobia.

En la corrida 6, el comportamiento obtenido de los  $AGV_t$  fue diferente. Aunque después de haberse corregido el ascenso en los  $AGV_t$  se logró el estado estacionario, luego de aproximadamente veinte días, se presentaron escalones en el comportamiento, que una vez más, coincidieron con las purgas celulares. A partir de este momento, se pudo observar una tendencia a acumular  $AGV_t$ , debido posiblemente, a la fuerte disminución de la población metanogénica como consecuencia de la purga.



**Figura 3.17.** Concentración de  $AGV_t$  a la salida del reactor encontrada en la simulación de las corridas 1 a la 6

En efecto, en la digestión anaerobia, los  $AGV_t$  son metabolitos utilizados como sustrato para la metanogénesis. La acumulación de éstos en un reactor anaerobio se debe a que no están siendo transformados a bióxido de carbono y metano, que son los productos finales, o bien, que la velocidad de producción de los  $AGV_t$  es mayor que la velocidad de su consumo. Las bacterias metanogénicas son las encargadas de llevar a cabo dicha etapa metabólica. Como se mostró en las Figuras 3.13 y 3.14, durante las corridas 5 y 6, se presentó una disminución en la población metanogénica, lo cual trajo como consecuencia, una menor capacidad para transformar los  $AGV_t$  a los productos finales (ésto es, la velocidad de consumo fue menor a la velocidad de producción), y por tanto, hubo acumulación. La acumulación de  $AGV_t$  en la corrida 5 no fue tan drástica como en la 6, porque la disminución de las bacterias metanogénicas en el primer caso fue de aproximadamente 20% en relación a la biomasa metanogénica inicial, mientras que para el segundo caso, fue de 40% aproximadamente al final de la simulación (después de 65 días de operación del reactor).

Por otra parte, recordando, que en estos ensayos, las velocidades máximas de crecimiento  $\mu_{max_1}$  y  $\mu_{max_2}$  utilizadas, difieren entre sí por dos órdenes de magnitud ( $\mu_{max_1} = 30.0 \text{ d}^{-1}$ ,  $\mu_{max_2} = 0.357 \text{ d}^{-1}$ ), y según indicaron los resultados obtenidos, a pesar de ésto y de la disminución en la población bacteriana metanogénica, podría

decirse que la simulación de la digestión anaerobia se presentó cinéticamente acoplada.

La concentración de  $AGV_t$  presentes en un reactor también determinará el comportamiento del potencial de amortiguamiento (PA) o capacidad amortiguadora que éste presente. Para todos los casos simulados, independientemente de la COv alimentada, el potencial de amortiguamiento (Figura 3.18), siempre se mantuvo en valores positivos, indicando que existió una mayor concentración de bicarbonato que de  $AGV_t$  y que el bicarbonato permaneció disponible para la neutralización.

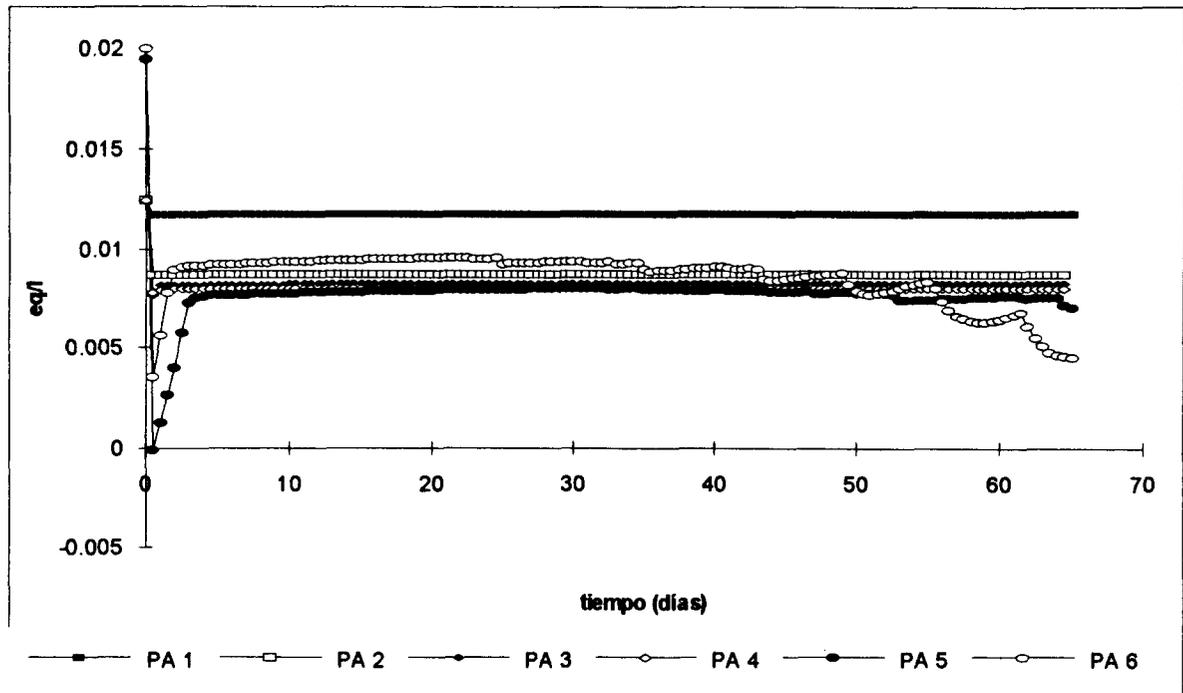


Figura 3.18. Comportamiento del potencial de amortiguamiento obtenido en la simulación de las corridas 1 a la 6

En la Figura 3.18, se observa una fuerte disminución del PA durante los primeros días de la simulación, situación atribuible al aumento en los  $AGV_t$  generados durante este periodo. Posteriormente, el comportamiento del PA alcanzó el estado estacionario.

Asimismo, es posible observar que a partir de la simulación de la corrida 2, el PA presentó valores menores en comparación con los de la corrida 1. Puesto que conforme aumentó la COv del influente, aumentó la velocidad de producción de  $AGV_t$ , estos resultados eran de esperarse, dado que una mayor concentración de  $AGV_t$

implicaría un mayor consumo de bicarbonato para la neutralización. Como consecuencia final, se presentaría una disminución en la concentración de bicarbonato y por tanto en la del PA. Sin embargo, a pesar de los incrementos en la COV alimentada, la disminución en su valor en las corridas 2 a la 5, fue pequeña. Así pues, en las cinco primeras corridas, a excepción de los puntos en los primeros días, el PA presentó valores positivos y constantes a lo largo del tiempo.

En la corrida 6, a partir de la realización de la purga celular, se presentó una tendencia notoria del PA a disminuir. La disminución estuvo ligada a la tendencia a la acumulación de los  $AGV_t$  dentro del reactor. Sin embargo, el PA nunca alcanzó valores negativos puesto que la concentración de bicarbonato dentro del reactor fue mayor que la de los  $AGV_t$  acumulados, gracias a ésto, el equilibrio ácido-base se mantuvo adecuadamente.

El modelo utilizado para la predicción del pH, considera el equilibrio entre el bicarbonato y el  $CO_2$  (Tabla 1.14). En un digestor anaerobio, la concentración de bicarbonato es un reflejo de la concentración de AGV dentro del mismo, ya que si la alimentación se mantiene libre de ácidos o bases fuertes, la disminución en la concentración de bicarbonato será igual al incremento en la concentración de los AGV [Rozzi *et al.*, 1985]. El comportamiento del pH se ilustra en la Figura 3.19. En ella se observa que el pH obtenido en la corrida 1 fue ligeramente más alto que para el resto de las corridas, en las que se presentaron valores entre 6.2 y 6.3. Para todos los casos, durante los primeros días, se presentó una disminución en el valor del pH en comparación con el inicial. Esta disminución se encontró ligada al aumento en la concentración de  $AGV_t$  (Figura 3.17). Dado que la velocidad de producción de los ácidos fue mayor que la de su consumo, la acumulación de éstos ocasionó un aumento en la concentración de  $AGV_H$  dentro del reactor y por tanto, que el pH disminuyera. La posterior estabilización del pH, también se encontró relacionada con el consumo constante de los  $AGV_t$  generados.

En las corridas 1 a la 5, se alcanzó el estado estacionario rápidamente. Sin embargo, en la corrida 6, se observó una vez más el efecto de la purga celular. Efectivamente, después de aproximadamente 40 días de simulación, el pH presentó escalones en su comportamiento, que coincidieron con la purga, además de una ligera tendencia a la disminución. Durante este periodo y también por la purga celular, se presentó acumulación de  $AGV_t$  (Figura 3.17), razón por la cual el pH presentó la tendencia a la disminución.

El hecho de que el pH no se viera afectado por los incrementos en la CO<sub>v</sub> podría indicar que: i) la concentración de bicarbonato fue suficiente para neutralizar los AGV<sub>t</sub> generados durante la acidogénesis, ii) que la digestión anaerobia se encontró cinéticamente acoplada (con excepción de la corrida 6), es decir, la velocidad de producción de AGV<sub>t</sub> fue semejante a su velocidad de consumo.

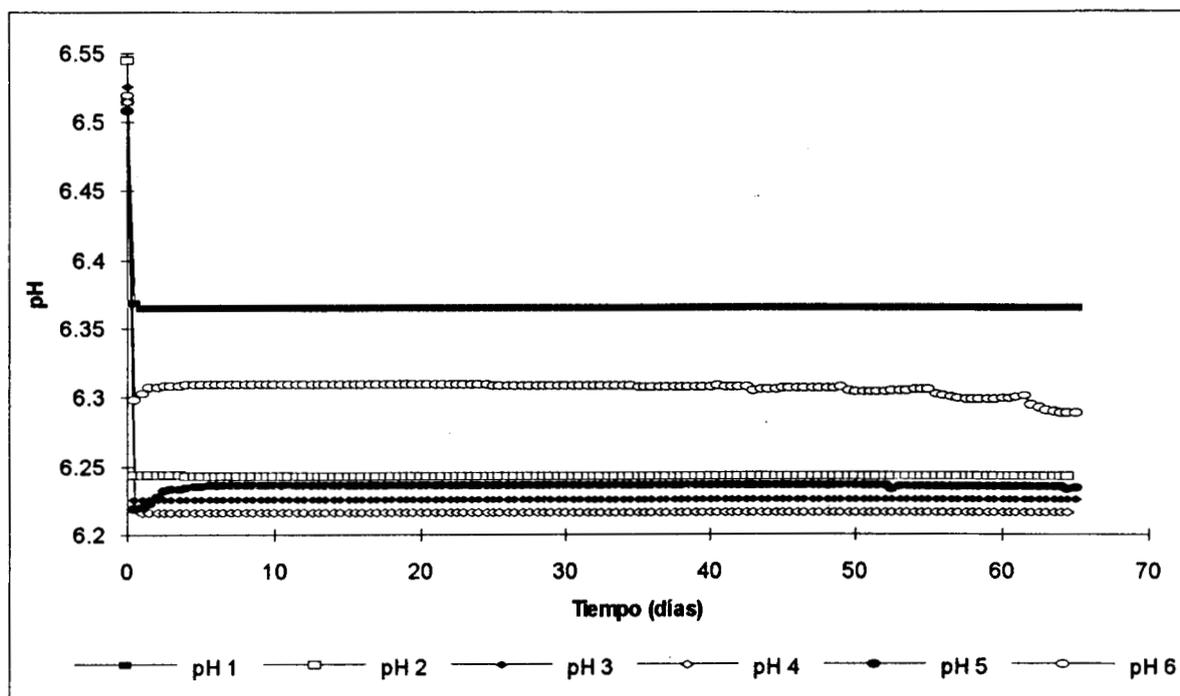


Figura 3.19. Comportamiento del pH obtenido en la simulación de las corridas 1 a la 6

**3.2.2 Comparación y ajuste del modelo con las corridas experimentales.** La finalidad en esta etapa fue comparar y ajustar el comportamiento obtenido en la simulación con el obtenido en la experimentación. Así pues, los resultados simulados, se compararon estadísticamente con los experimentales. Para todas las corridas, los datos simulados se tomaron cuando se alcanzaron los 49.5 días de simulación.

Considerando a la velocidad de carga orgánica volumétrica (COv) como la variable independiente y común para los dos casos (simulado y experimental), fueron cuatro las variables de respuesta que se compararon: producción volumétrica de metano, eficiencia de eliminación de sustrato, potencial de amortiguamiento y pH. En cuanto a los resultados de la producción de biomasa, no se realizó comparación entre ellos dado que durante los ensayos experimentales, no hubo necesidad de realizar purgas celulares, sin embargo, éstas sí se presentaron durante la simulación de las corridas con COv mayores de 4 g DQO/l.d. Los resultados del ajuste, la comparación e interpretación estadística se describen a continuación.

Las purgas celulares constituyeron la gran diferencia que se presentó entre los comportamientos experimental y simulado. En efecto, durante los ensayos experimentales, no hubo necesidad de realizar purgas celulares, mientras que durante la simulación de las corridas con COv mayores que 4 g DQO/l.d, éstas sí se presentaron.

La realización de purgas durante la simulación, se puede atribuir al aumento en la velocidad de crecimiento, y por tanto, de producción de biomasa, debido al aumento en la COv alimentada. En cuanto a la experimentación, se sabe que normalmente en un reactor anaerobio tipo UASB [Guiot *et al.*, 1991; Guiot *et al.*, 1992], se presenta una cierta pérdida de lodos debida a lavado. Aunque en este trabajo no se contó con datos experimentales suficientes para mostrar dicho evento, sí podría hablarse de una pérdida de lodos que pudiera en un momento dado, hacer las veces de una purga celular.

**3.2.2.1 Producción volumétrica de metano.** Con los resultados obtenidos de la producción volumétrica de metano, se construyó el diagrama de dispersión mostrado en la Figura 3.20, en la que se graficaron los datos generados en la experimentación y simulación contra la velocidad de carga orgánica volumétrica. En ella se observa, que tanto la producción volumétrica de metano experimental como la de simulación presentaron la misma tendencia a aumentar conforme la COv alimentada creció. Asimismo, es notorio que las diferencias entre ambos resultados para cada velocidad de carga orgánica resultaron ser muy pequeñas.

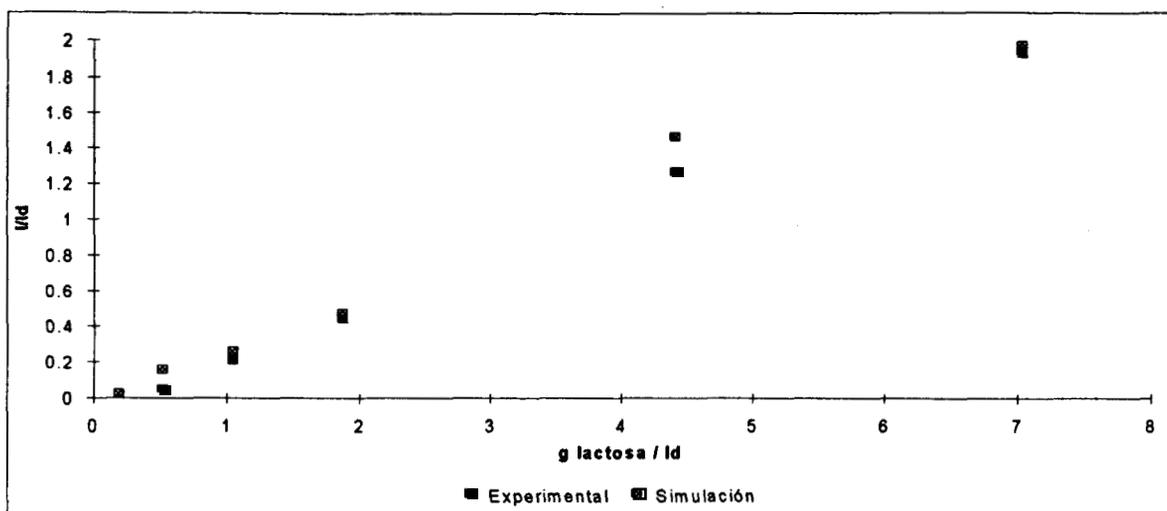


Figura 3.20. Diagrama de dispersión de la producción volumétrica de metano a diferentes velocidades de carga orgánica obtenida durante la simulación y la experimentación

Los resultados generados con la simulación del modelo matemático fueron muy semejantes a los obtenidos durante la experimentación, ya que ambos presentan el mismo comportamiento. Después de ensayar algunos modelos de producción de metano para diferentes velocidades de carga orgánica volumétrica (COv), tanto para el caso experimental como simulado, se eligió a la recta, modelo con un ajuste de 0.997 en el caso experimental y de 0.985 en el simulado, como el mejor. Los modelos ajustados respectivamente son:

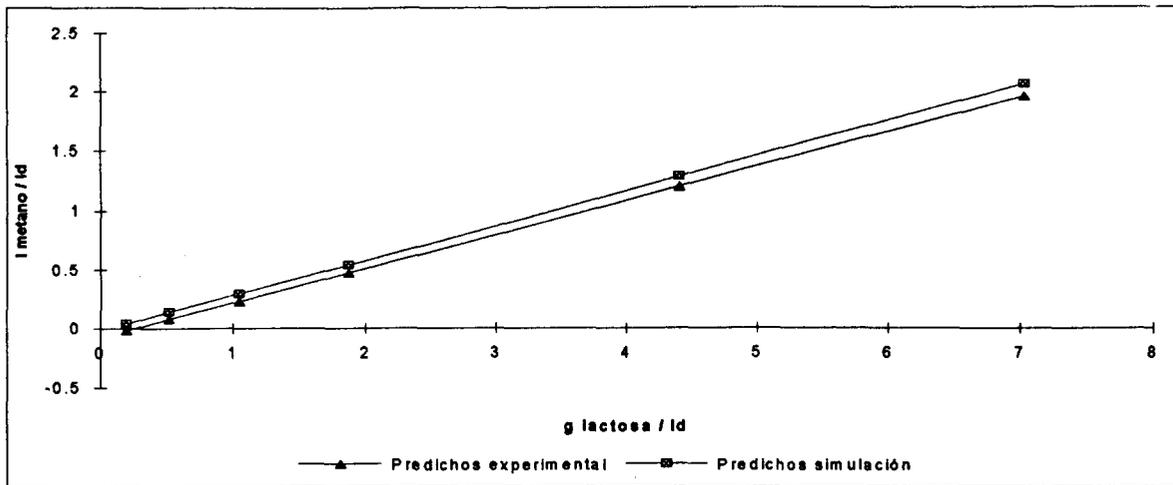
$$\text{Metano}^{\wedge}_{\text{experimental}} = -0.07 + 0.289 \text{ COv}$$

y

$$\text{Metano}^{\wedge}_{\text{simulación}} = -0.015 + 0.296 \text{ COv}$$

Utilizando estos modelos y de acuerdo a la metodología explicada, se procedió a realizar una prueba de paralelismo de curvas y de igualdad de ordenadas al origen, obteniéndose con cualquier nivel de significancia ( $\alpha$ ) bueno: 0.05 ó 0.01, una F calculada de 1.2205, la cual es menor que una F con 2 y 8 grados de libertad (Apéndice 5.4.1). Esto es un indicador de que tanto las ordenadas al origen como las pendientes de los dos modelos, no difieren, es decir, es la misma curva la que describe el comportamiento de la producción volumétrica de metano a lo largo de las diferentes velocidades de carga orgánica, tanto para el caso experimental como el simulado.

La igualdad de pendientes y de ordenadas al origen, se puede apreciar claramente en la Figura 3.21, la cual se construyó con los valores predichos de producción de metano experimentales y de simulación a las diferentes COv, ambos obtenidos con los modelos ajustados, y en la que se observa la gran similitud entre dichos puntos.



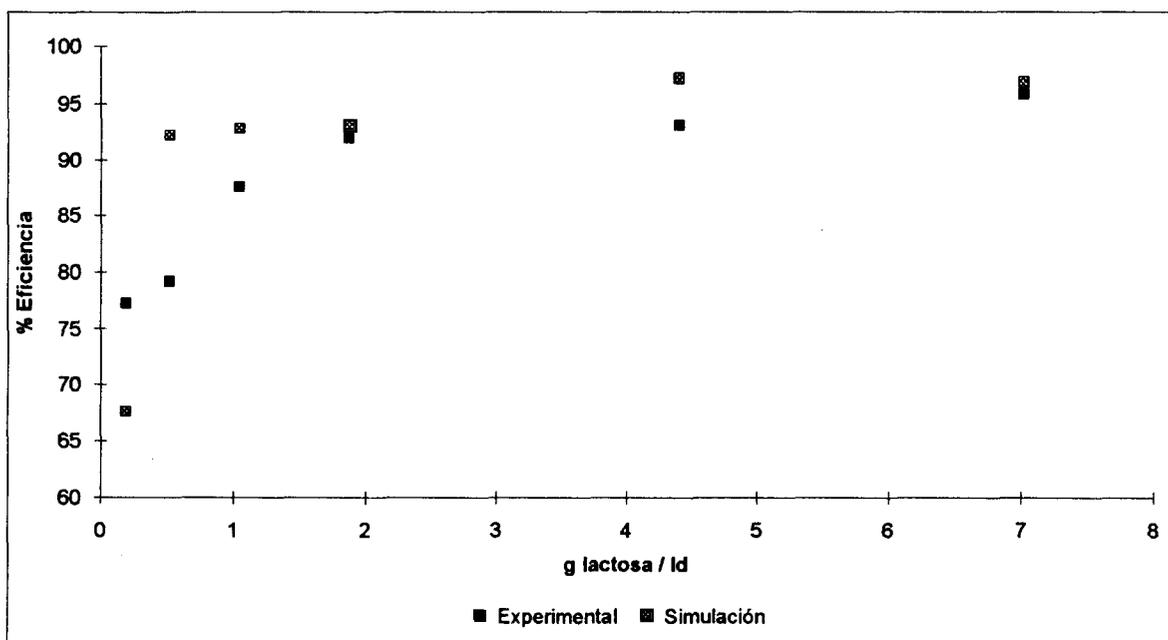
**Figura 3.21.** Valores predichos de producción volumétrica de metano para la simulación y la experimentación obtenidos con los modelos ajustados.

Estos resultados podrían indicar que los coeficientes cinéticos y de rendimiento (mostrados en la Tabla 3.8) que se utilizaron para la simulación de las corridas experimentales, permitieron obtener para la producción volumétrica de metano, un comportamiento simulado igual al experimental. Asimismo, fueron los coeficientes de rendimiento  $Y_4$  (g  $X_2$  / l  $CH_4$ ),  $Y_5$  (g  $X_1$  / l  $CO_2$ ) y  $Y_6$  (g  $X_2$  / l  $CO_2$ ) los que se utilizaron para ajustar el comportamiento simulado de la producción volumétrica de metano.

**Tabla 3.8.** Coeficientes cinéticos utilizados en el modelo matemático

Constantes cinéticas	
$\mu_{max_1} = 30.0 \text{ d}^{-1}$	$Y_4 = 0.0255 \text{ g } X_2 / \text{l } CH_4$
$\mu_{max_2} = 0.357 \text{ d}^{-1}$	$Y_5 = 1.1695 \text{ g } X_1 / \text{l } CO_2$
$K_{s1} = 2.924 \text{ g S / l}$	$Y_6 = 0.0255 \text{ g } X_2 / \text{l } CO_2$
$K_{s2} = 0.547 \text{ g AGV / l}$	$Y_7 = 0.765 \text{ g } X_1 / \text{l } H_2$
$Y_1 = 0.15 \text{ g } X_1 / \text{g S}$	$K_8 = 0.25 \text{ l } CO_2 / \text{l } H_2$
$Y_2 = 0.041 \text{ g } X_2 / \text{g AGV}$	$K_9 = 0.25 \text{ l } CH_4 / \text{l } H_2$
$Y_3 = 0.7513 \text{ g } X_1 / \text{g AGV}$	$ba = 1.09 \text{ d}^{-1}$
$bm = 0.0025 \text{ d}^{-1}$	

**3.2.2.2 Eficiencia de eliminación de sustrato.** Para realizar la comparación de éstos resultados, se construyó el diagrama de dispersión mostrado en la Figura 3.22, en la que se graficaron contra la COv, los datos generados en la simulación y en la experimentación. Se observa que para el caso experimental, la eficiencia de eliminación fue aumentando gradualmente conforme lo hizo la COv, pudiéndose dividir en dos regiones: una primera en que a COv bajas ( $< 1$  g/l/d), la eficiencia de eliminación aumentó paulatinamente hasta alcanzar valores mayores a 85%, y, una segunda en la cual a COv altas, la eficiencia de eliminación presentó una ligera tendencia al aumento. En cuanto al caso simulado, si bien también existió un aumento en la eficiencia de eliminación, éste no fue gradual en relación al aumento de la COv alimentada, ya que aún a COv bajas ( $< 1$  g/l/d), se alcanzaron eficiencias de eliminación mayores al 90%. Para este caso, el coeficiente de muerte celular presentó un efecto importante sobre la eficiencia de eliminación del sustrato (Tabla 3.8), sin embargo, no permitió modelar una disminución suavizada en la eficiencia de eliminación del sustrato, como la obtenida en la experimentación.



**Figura 3.22.** Diagrama de dispersión de la eficiencia de eliminación de sustrato a diferentes velocidades de carga orgánica obtenida durante la simulación y la experimentación

A primera vista, estos resultados podrían indicar que sólo al utilizar COv altas, se obtienen comportamientos similares entre la simulación con el modelo matemático y

la experimentación, sin embargo, no fue posible mostrar estadísticamente una diferencia significativa entre ambos comportamientos. En este caso, fueron muchos los modelos que se ensayaron y el problema siempre fué que los ajustes fueron excelentes para el caso experimental, pero malos para el simulado, de tal manera que ningún ajuste fue "muy bueno" para este último. Se procedió entonces a elegir un modelo que no fuera tan malo para la simulación y que fuera bueno para el experimental. Dicho modelo resultó ser el siguiente:

$$\text{Eficiencia de eliminación} = \alpha + \beta \ln \text{COv} + \varepsilon$$

Los modelos ajustados fueron:

$$\text{Eficiencia}^{\wedge}_{\text{experimental}} = 85.849 + 5.51 \ln \text{COv}$$

y

$$\text{Eficiencia}^{\wedge}_{\text{simulación}} = 87.936 + 6.85 \ln \text{COv}$$

En la Figura 3.23 se graficaron los modelos ajustados, mostrando los datos predichos para ambos casos: experimental y simulado, en la que se observa la similitud entre ambos comportamientos.

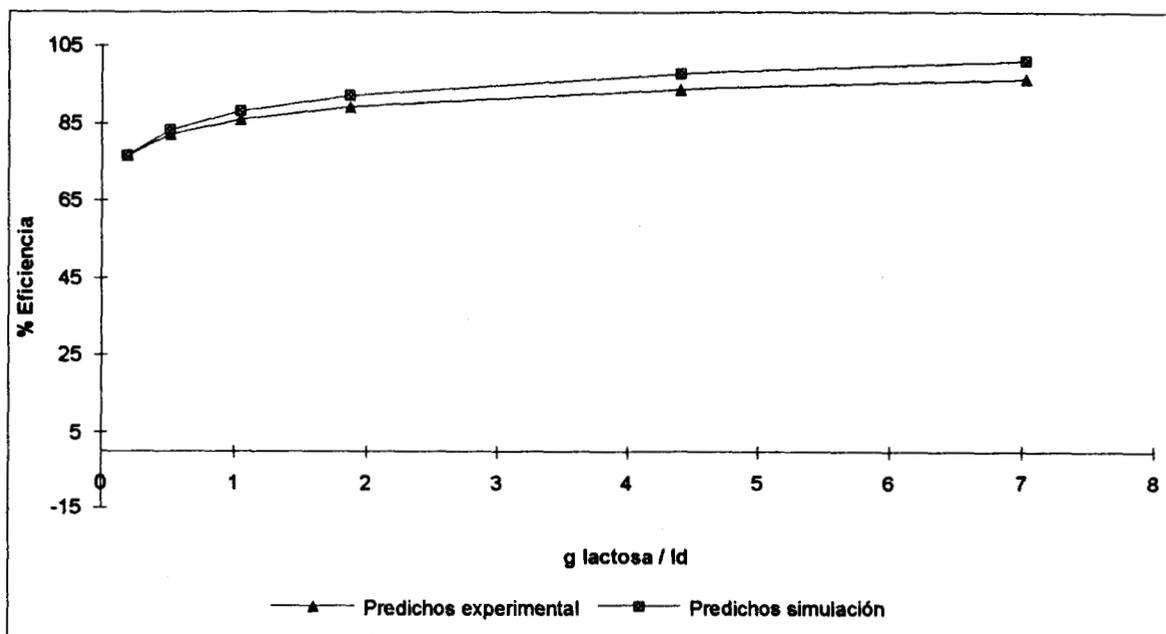
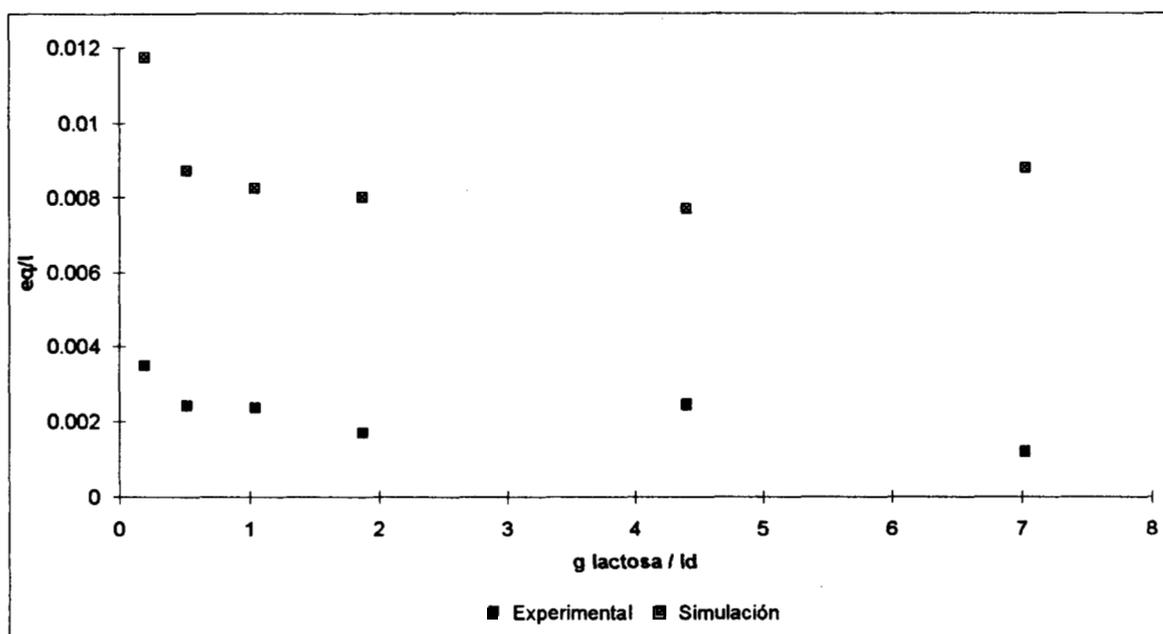


Figura 3.23. Valores predichos de eficiencia de eliminación de sustrato para la simulación y la experimentación obtenidos con los modelos ajustados

El caso experimental se ajustó en un 93.23%, mientras que el simulado sólo en un 67.7%, dada la mayor dispersión de los datos (Sección 5.4.1.2 del Apéndice). Aceptando estos ajustes como buenos, las pruebas de paralelismo y ordenadas al origen mostraron con una F calculada de 0.48 que los modelos coinciden, es decir, además de ser paralelos, tienen la misma ordenada al origen, por lo que los comportamientos simulado y experimental no difieren entre sí y son explicados por la misma curva.

**3.2.2.3 Potencial de amortiguamiento.** La Figura 3.24 muestra el diagrama de dispersión del potencial de amortiguamiento obtenido en la simulación y el obtenido en la experimentación contra la COv. En ambos casos se presentó la tendencia del potencial de amortiguamiento, primero a disminuir cuando aumentó la COv alimentada y posteriormente, aunque la COv siguió aumentando, a permanecer estable y estacionario sin mostrar ningún cambio, situación atribuible a que la concentración de bicarbonato que se utilizó tanto en la experimentación como en la simulación fue suficientemente alta. También es notorio que para el caso simulado, siempre se obtuvieron valores de potencial de amortiguamiento mayores que los del caso experimental, por lo que se puede decir que ambos casos presentaron la misma tendencia, pero difirieron entre sí en magnitud.



**Figura 3.24.** Diagrama de dispersión del potencial de amortiguamiento a diferentes velocidades de carga orgánica obtenido durante la simulación y la experimentación

En el caso del potencial de amortiguamiento (PA) en función de la velocidad de carga orgánica volumétrica, se eligió el modelo lineal

$$PA = \alpha + \beta(1/COv) + \varepsilon$$

por ser aquél que mejor ajustaba para los dos casos: experimental y simulado. Es necesario hacer la aclaración que hubo modelos de mejor ajuste para el caso experimental, pero muy malos para el simulado y viceversa. Los ajustes obtenidos fueron de 71.7 y 89.16% para el caso experimental y simulado, respectivamente.

Los modelos que se ajustaron fueron:

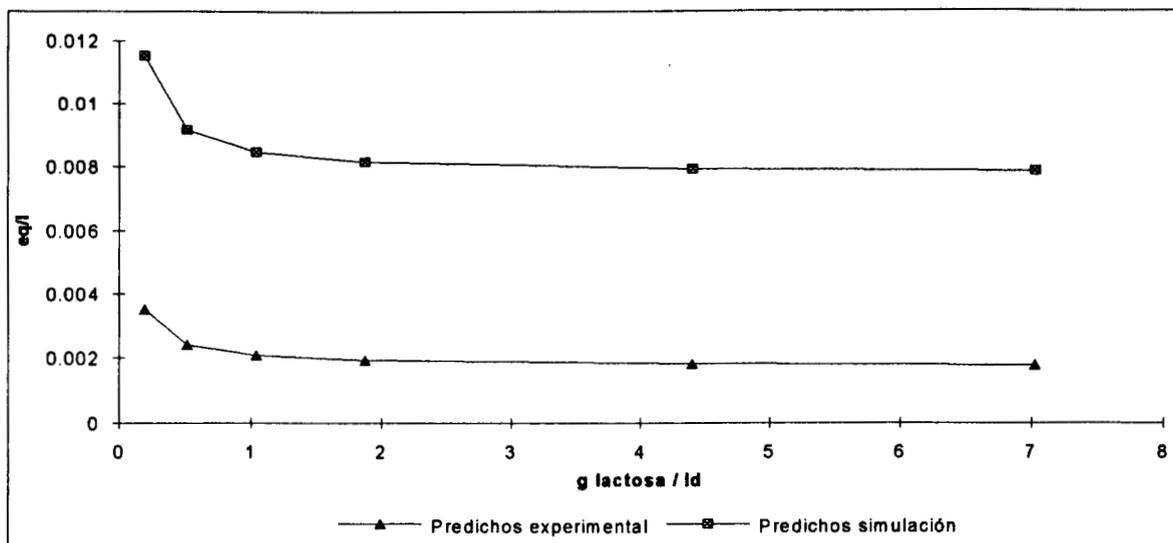
$$PA^{\wedge}_{\text{experimental}} = 0.0017 + 0.0003381(1/COv)$$

y

$$PA^{\wedge}_{\text{simulación}} = 0.0077 + 0.000719(1/COv)$$

En las pruebas de paralelismo y de ordenadas al origen, se encontró que las dos curvas son paralelas, pero que no tienen la misma ordenada. La F calculada de la prueba de paralelismo fue de 5.19, la cual no es mayor que la F con 1 y 8 grados de libertad al 0.01 (11.25), mientras que para la prueba doble de ordenadas y coeficientes, la F calculada dió un valor de 500, valor con el cual es obvio el rechazo de la hipótesis nula con una buena  $\alpha$ .

Al ser estas dos curvas paralelas, pero no iguales, una de ellas va por encima de la otra como se muestra en la Figura 3.25, construida con los datos predichos por los modelos ajustados. Si se observan las ordenadas al origen de los modelos que se ajustaron, se puede ver que la del caso simulado es mayor que la del experimental, es decir, para cualquier COv elegida, el PA simulado está una constante por encima del PA experimental. Es importante notar que la distancia que hay entre estas curvas es de  $6.024 \times 10^{-3}$  equivalentes/l, es decir, la diferencia que existe entre el comportamiento simulado y el experimental es de sólo 6 meq/l.



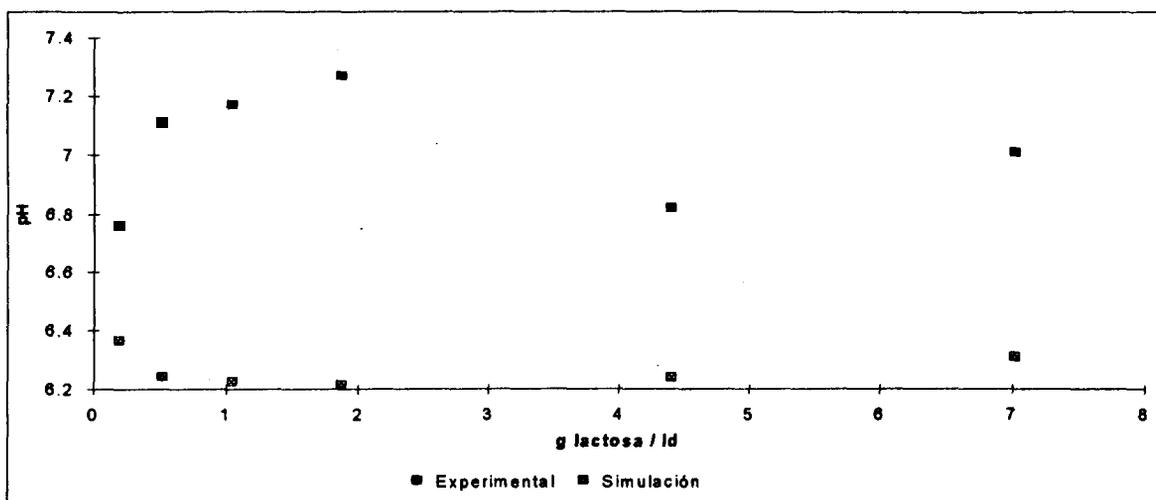
**Figura 3.25.** Valores predichos de potencial de amortiguamiento para la simulación y la experimentación obtenidos con los modelos ajustados

La explicación de estos resultados podría ser la siguiente. Los parámetros del modelo que determinan el PA en el reactor son la concentración de ácidos (AGV) y de bicarbonato. Sin embargo, la concentración inicial de bicarbonato tuvo mayor influencia sobre el comportamiento simulado. Durante los primeros 3 ó 4 días de las simulaciones, se encontró que la concentración de AGV generados aumentó de forma considerable debido seguramente al metabolismo de la población acidogénica, aunque después, como resultado de la actividad metabólica de la población metanogénica, disminuyó y se estabilizó. Debido al aumento en los AGV, y si la concentración inicial de bicarbonato es menor que 0.012 eq/l, esta última disminuye notablemente, ocasionando que también el pH presente valores menores que 6, con la consecuente pérdida de la actividad metanogénica (recordando que el pH debe tener valores mayores que 6 y menores que 8 para que la metanogénesis se lleve a cabo). A pesar de que posteriormente la concentración de AGV disminuye y alcanza el estado estacionario, no se recupera ni la concentración de bicarbonato ni el pH. Si la concentración inicial de bicarbonato es mayor a 0.012 eq/l, lo anterior no sucede, sin embargo, conforme transcurre la simulación y dado que la concentración de AGV es pequeña y estacionaria, la concentración de bicarbonato resulta mucho mayor. Esto ocasiona que el PA simulado sea mayor al experimental.

Una forma de corregir estos resultados y acercar más el comportamiento simulado al experimental, sería incluir en el modelo de bicarbonato, el flujo de  $\text{CO}_2$  producido y su porcentaje de solubilidad.

**4.2.3.4 Comportamiento de pH.** La Figura 3.26 muestra el diagrama de dispersión de los resultados obtenidos en la simulación y en la experimentación graficados contra la COv. Se puede apreciar que aunque existió una diferencia en magnitud entre ambos, no existió diferencia en cuanto a la tendencia obtenida, ya que en ambos casos, el comportamiento del pH fue independiente de la COv alimentada, pero dependiente de bicarbonato, es decir, tanto en la simulación como en la experimentación, no tuvo efecto el incremento en la COv alimentada sobre el pH dentro del reactor.

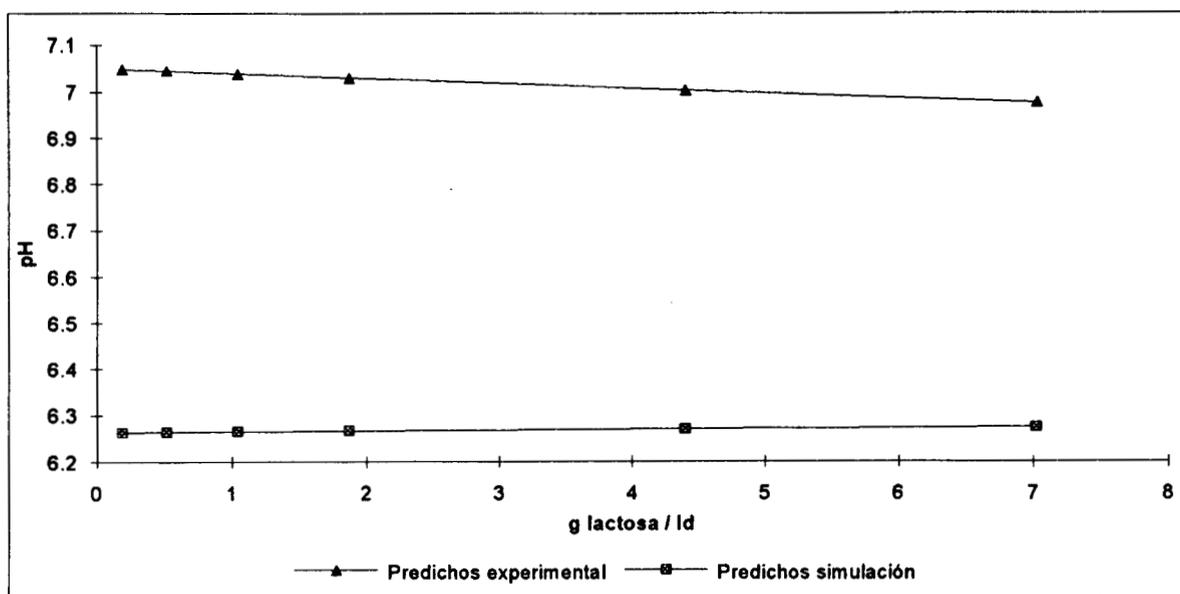
El hecho de que para ambos casos el pH no se viera afectado por los incrementos en la COv podría indicar que: i) la concentración de bicarbonato fue suficiente para neutralizar los  $AGV_t$  generados durante la acidogénesis, ii) que la digestión anaerobia se encontró cinéticamente acoplada, es decir, la velocidad de producción de  $AGV_t$  fue semejante a su velocidad de consumo.



**Figura 3.26.** Diagrama de dispersión de los valores de pH a diferentes velocidades de carga orgánica obtenidos durante la simulación y la experimentación

Los anovas de los modelos ajustados (sección 5.4.1.4), indicaron que ni en el caso experimental ni en el simulado existió regresión, ésto es, el incremento en la COv alimentada al reactor no tuvo ningún efecto sobre el comportamiento del pH para ambos casos. Lo anterior indica que las rectas en ambos casos son horizontales, y, por tanto, tienen pendiente cero. Partiendo de ésto, no hubo necesidad de realizar pruebas de paralelismo, ya que si las dos rectas tienen pendiente cero, es obvio que son paralelas y que para cualquier COv ensayada, una va por encima de la otra, como lo muestra la Figura 3.27, construída con los valores predichos.

En este caso, es el pH experimental el que va por encima del simulado para cualquier COv. Es notorio que la diferencia entre una curva y otra fue de 0.78 unidades de pH.



**Figura 3.27.** Valores predichos de pH para la simulación y la experimentación obtenidos con los modelos ajustados

La diferencia entre estos resultados podría ser explicada dado que el modelo para la predicción del pH sólo contempla el equilibrio del  $\text{CO}_2$  y del bicarbonato, sin considerar otros iones (ácidos orgánicos) que están presentes en el reactor y que presentan efecto sobre el pH. A fin de acercar más el comportamiento simulado al experimental, sería adecuado incluir en el modelo, todos los iones que pudieran participar en el equilibrio químico y que son aquellos que normalmente se forman, o bien aquél que usualmente predomina, durante la etapa acidogénica.

**3.2.3 Balance de sustrato en estado transitorio.** Se utilizó la ecuación dinámica que describe el consumo del sustrato y la producción volumétrica de metano (Ecuación I, Sección 2.2.2.5), junto con los resultados experimentales generados durante el ensayo experimental ( Figuras 3.1 y 3.2), para estimar el coeficiente  $\alpha$ . Los valores estimados de  $\alpha$  a lo largo del tiempo, se obtuvieron mediante las Ecuaciones II, III y IV mostradas en la Sección 2.2.2.5 y se muestran en la Figura 3.28.

Los resultados experimentales (Figuras 3.1, 3.2, 3.7), podrían indicar que el comportamiento del reactor se puede dividir en dos etapas. La primera, cuando se

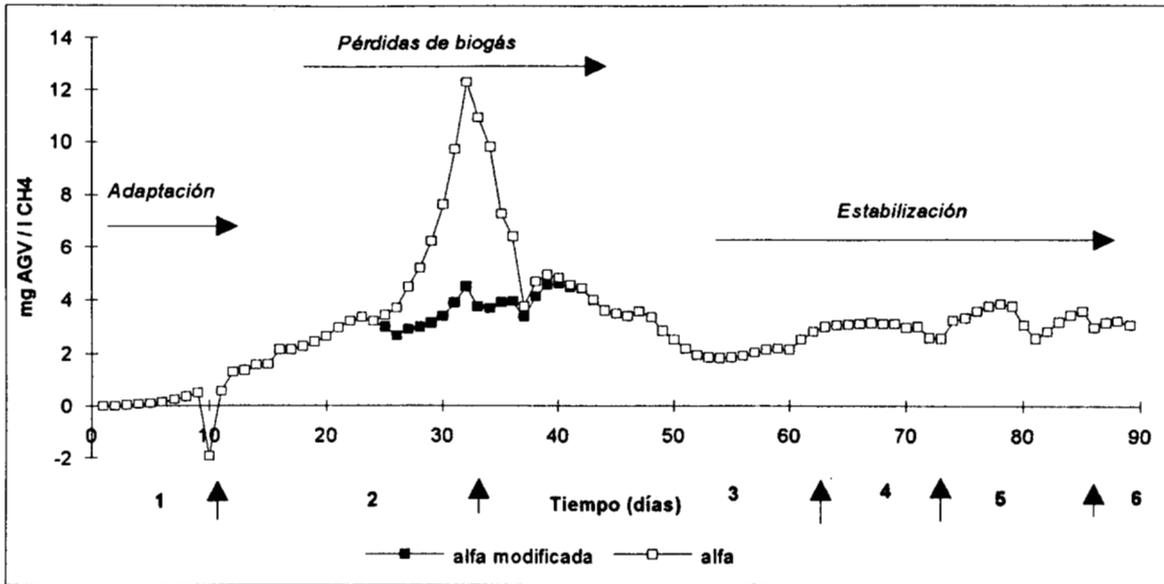
ensayaron COv bajas (periodos 1 y 2 marcados en las Figuras) y que correspondió a un periodo de adaptación de los microorganismos, tanto al sustrato alimentado como a los incrementos en la COv alimentada, y una segunda parte, en la que el reactor estuvo completamente adaptado al sustrato y que respondió adecuadamente a los incrementos en la COv alimentada.

Los valores estimados de  $\alpha$  obtenidos a lo largo del tiempo, se muestran en la Figura 3.28. El término  $\alpha$ , agrupa los valores de rendimiento que son desconocidos:  $Y_1$ ,  $Y_3$ ,  $Y_4$  y  $Y_5$  (Sección 1.1.6.1), todos ellos involucrados, ya sea en el consumo de sustrato o bien en la producción de metano. Dado que  $\alpha$  se estimó utilizando como base una ecuación dinámica, la tendencia de los estimadores de  $\alpha$  indicaría el comportamiento dinámico del reactor, así como el estado metabólico de los microorganismos. Por tanto, podría ser un indicador de la estabilidad global del reactor, dado que independientemente de las variaciones de los coeficientes cinéticos individuales, que además ocurren constantemente, el efecto global quedaría reflejado en  $\alpha$ . Si éste varía, indicaría que existe un cambio en el rendimiento global de la reacción.

Los resultados obtenidos indican valores positivos para las estimaciones de  $\alpha$  a lo largo de toda la experimentación (con excepción del punto obtenido en el día 10). El incremento en los valores de  $\alpha$  durante el intervalo de 0 a 10 días (representados por la línea de cuadros), así como su caída a números negativos, representa tanto el periodo de estabilización del modelo dinámico como el del sistema biológico del reactor. Una vez transcurrido este periodo, los estimadores de  $\alpha$  mostraron un comportamiento estable.

Los resultados mostraron la presencia de otro pico entre los días 27 y 35. Este pico corresponde a un intervalo de la experimentación durante el cual, se presentaron algunos problemas operacionales en la recolección del biogás, por lo que los valores de producción volumétrica de metano no coincidieron con el balance de materiales esperado. Una vez corregido el mecanismo de captura y medición del caudal del biogás, el comportamiento de  $\alpha$  regresó a la estabilidad.

La línea de cuadrados llenos en la base del pico, muestra el evento obtenido si se corrigen los datos de producción de metano de acuerdo al balance de materiales, éste es, los valores de  $\alpha$  seguirían un comportamiento más estable. Esto significa que el balance dinámico también podría utilizarse para detectar posibles fallas en el análisis de las variables de control del reactor.



**Figura 3.28.** Valores estimados y corregidos de  $\alpha$  obtenidos a lo largo de la experimentación. Las flechas y los números indican las diferentes COv alimentadas. 1 = 0.192 g/l; 2 = 0.517 g/l; 3 = 1.052 g/l; 4 = 1.87 g/l; 5 = 4.4 g/l; 6 = 7.02 g/l



## 4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

---

**4.1 Conclusiones.** En base a los resultados experimentales se concluye lo siguiente.

1. El periodo de estabilización del flóculo en el reactor UASB comprendió seis semanas de experimentación, al final de las cuales, los microorganismos del lodo pudieron ser alimentados con una velocidad de carga de lactosa de 0.3 g DQO / ld, con una eficiencia de eliminación en promedio de 88%.

2. Se encontró que el comportamiento del lodo se puede dividir en dos periodos. Uno en el que los microorganismos necesitaron una adaptación a los incrementos en la velocidad de carga orgánica volumétrica de alimentación. Otro en el que el sistema biológico se adaptó a los incrementos en la carga orgánica alimentada y alcanzó el régimen estacionario.

3. Con el lodo estabilizado, se logró obtener una eficiencia de eliminación del sustrato del 95%, cuando la COv alimentada fue de 7.01 g lactosa / ld. Con estas condiciones, se obtuvo el 80% de la producción volumétrica de metano, con respecto al valor teórico esperado.

4. Cuando se ensayaron COv mayores de 4 g lactosa / ld fue necesario adicionar hasta 1.5 g/l de bicarbonato a fin de que el potencial de amortiguamiento presentara valores positivos.

5. El reactor UASB estuvo operando en forma estable a lo largo de la experimentación, obteniéndose valores de alcalinidad (mg CaCO<sub>3</sub>/l) entre 94 y 140, valores inferiores a los publicados. Asimismo, las relaciones de AGV/alcalinidad, con valores entre 1.5 y hasta 4.2 como máximo, resultaron muy superiores a las sugeridas en la literatura.

6. El valor mínimo del potencial de amortiguamiento adecuado fue de 1.2 meq/l. El máximo valor alcanzando fue de 3.5 meq/l.

7. Utilizando al potencial de amortiguamiento como criterio de estabilidad, fue posible reestablecer el equilibrio ácido-base del reactor ante cambios en el TRH y COv alimentada.

8. Es posible llevar a cabo la digestión anaerobia de lactosa utilizando un reactor tipo UASB con ayuda de un sistema de control del pH y potencial de amortiguamiento basado en la adición de bicarbonato.

Según la simulación de la digestión anaerobia de lactosa, se concluye lo siguiente.

1. En un intervalo de COv de 0.2 a 7.01 g DQO / ld, se encontró que el modelo cinético propuesto para la digestión anaerobia, resultó adecuado para simular la digestión anaerobia de lactosa en un reactor de una sola fase.

2. Para ajustar el modelo cinético y realizar la simulación, fue necesario calibrar los coeficientes cinéticos y de rendimiento publicados en la literatura

3. El modelo cinético simuló en forma adecuada el consumo de sustrato alimentado, la generación y consumo de ácidos grasos volátiles, la producción volumétrica de biogás, el potencial de amortiguamiento y el pH del reactor.

4. El modelo cinético sólo realizó purgas celulares a partir de las simulaciones con COv alimentadas de 4.39 g DQO / ld.

5. La purga periódica de células implicada en el modelo de producción de biomasa ocasionó una disminución del 40% en la población de bacterias metanogénicas con respecto a su valor inicial, pero no así en el caso de la población acidogénica.

Basándose en los resultados obtenidos en la comparación de los resultados experimentales con los simulados se concluye lo siguiente.

1. Durante la experimentación, aún con COv altas, no fue necesario realizar purgas celulares, mientras que durante la simulación, el modelo las realizó cuando las COv del influente fueron mayores o iguales que 4.39 g DQO / ld.

2. El comportamiento simulado y experimental de la producción volumétrica de metano resultó ser igual entre sí. Los parámetros que más influencia tuvieron sobre la producción de biogás, fueron los coeficientes de rendimiento  $Y_4$ ,  $Y_5$  y  $Y_6$ .

3. No fue posible mostrar una diferencia estadística entre el comportamiento experimental y simulado de la eficiencia de eliminación del sustrato alimentado.

4. En el caso del potencial de amortiguamiento y los valores de pH dentro del reactor, los comportamientos resultaron ser paralelos, pero diferenciados entre sí por una constante, que para el caso del PA fue de  $6.024 \times 10^{-3}$  eq/l y de 0.78 unidades para el pH. En ambos casos, fue la concentración de bicarbonato la que más afectó los comportamientos.

5. Tanto los resultados experimentales como los simulados, corroboran que la alcalinidad de un reactor debida al bicarbonato es el factor fisicoquímico más importante para mantener estables las condiciones de digestión.

6. La producción de metano y el balance de sustrato en el estado transitorio, corroboraron que una vez que el sistema biológico del reactor estuvo adaptado al sustrato y a los incrementos en la carga orgánica volumétrica alimentada, el reactor permaneció cinética y dinámicamente estable.

7. Los estimadores de  $\alpha$  pueden ser utilizados como antecedente para el control del proceso de la digestión anaerobia en una sola etapa.

#### **4.2 Recomendaciones de operación para un reactor de una sola fase.**

1. Mantener el potencial de amortiguamiento (PA) del reactor anaerobio en valores positivos. Un PA de 1.2 meq/l es suficiente para lograr un equilibrio ácido-base adecuado para la digestión anaerobia de 7.02 g lactosa / ld

2. Adicionar entre 0.5 y 1.3 g/l de bicarbonato al reactor cuando se alimenten cargas orgánicas de carbohidratos mayores de 2.0 g DQO / ld, a fin de evitar una posible acidificación, así como para disminuir el tiempo de estabilización que los microorganismos requieren ante una disminución en el TRH o un incremento en la carga orgánica alimentada.

3. Una relación AGV/Alcalinidad de 1.5 y hasta de 4.2 como máximo, permite operar al reactor en forma estable durante la digestión de lactosa en un intervalo de carga orgánica de 0.2 hasta 7.02 g DQO / ld. Estas relaciones resultan superiores a las sugeridas por el Manual of Practice de la Water Pollution Control Federation (WPCF, 1967), que son de 0.3 a 0.4.

4. En un intervalo de carga orgánica de 0.2 hasta 7.02 g lactosa / ld, y con los coeficientes cinéticos utilizados en este trabajo, el modelo cinético es recomendable para predecir la producción volumétrica de metano.

#### **4.3 Recomendaciones para trabajos futuros.**

1. Para tener una mejor predicción en la producción de biomasa, sería adecuado reemplazarle al modelo para la población acidogénica, la purga celular por un término que contemple la pérdida de células por lavado. Así como realizar la purga periódica de células en base a la población metanogénica, que es la que crece a menor velocidad. Por ejemplo, realizar las purgas celulares sólo cuando la población metanogénica rebase el 30% de la población total.

2. A fin de tener mayor información sobre la digestión anaerobia de lactosa, sería adecuado experimentar con cargas orgánicas mayores a los 7 g DQO / ld. Asimismo, también sería adecuado probar el modelo con estas nuevas cargas y compararlo con la experimentación.

3. El coeficiente  $\alpha$  [mg AGV / l CH<sub>4</sub>], estimado a partir de un modelo dinámico, es útil para representar el periodo de adaptación y estabilidad del reactor anaerobio. Asimismo es un buen indicador de una posible falla en el monitoreo del reactor.

4. En la medida de lo posible, y para probar ya sea un modelo cinético o uno dinámico, medir las variables de respuesta del proceso de la digestión anaerobia en continuo (por ejemplo CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, potencial de amortiguamiento, AGV).

## 5. APENDICES

### 5.1 Curvas estándar.

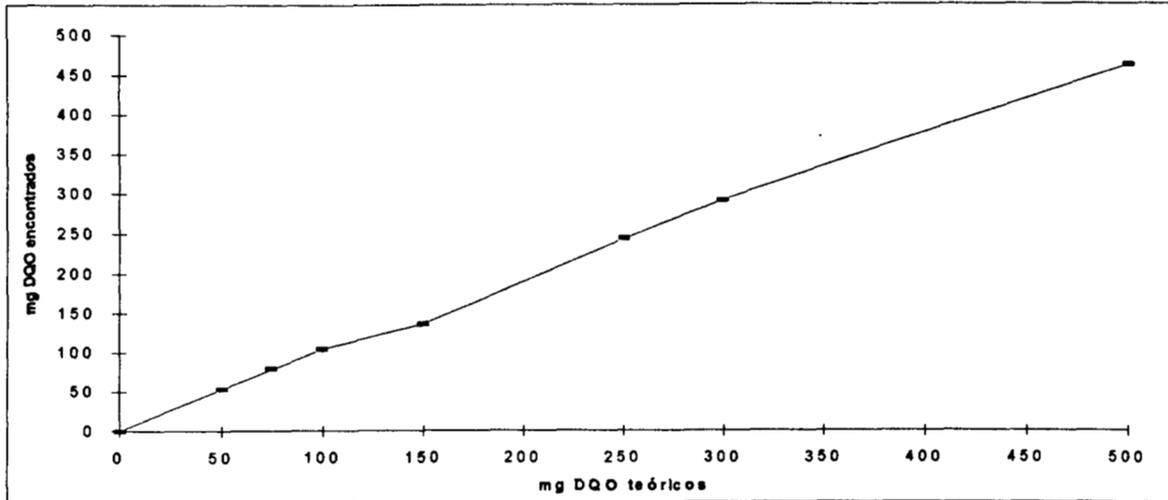


Figura 5.1 Curva estándar de demanda química de oxígeno (DQO). Coeficiente de correlación  $r = 0.999$ ,  $m = 0.9148$ ,  $b = 8.558$ .

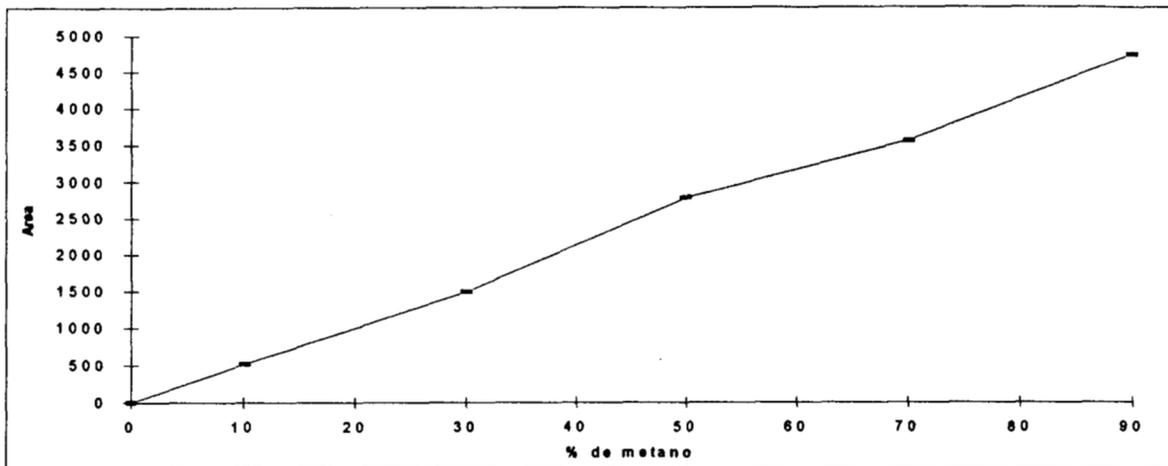


Figura 5.2 Curva estándar de metano. Coeficiente de correlación  $r = 0.998$ ,  $m = 52.51$ ,  $b = -5.77$ .

### 5.2 Cálculo de constantes de afinidad.

El cálculo para las constantes de afinidad aparentes que consideraron los problemas en la transferencia de masa, se realizó mediante el módulo de Thiele [Levenspiel, 1986]. Se calcularon las constantes para la fase acidogénica y metanogénica utilizando como modelo

los valores de difusividad ( $\delta$ ) reportados para la sacarosa y el acetato respectivamente [Bailey and Ollis, 1977].

Para cada una de las dos poblaciones (acidogénica y metanogénica) se realizó lo siguiente:

1. Calcular  $\phi^2$

$$\phi^2 = \frac{R^2 (\mu_{\max} / Y_p) \rho_w}{K_s \delta}$$

donde  $R = 0.25$  mm

$\rho =$  agua ( $\text{g/cm}^3$ )

2. Calcular  $\beta = S / K_s$

3. Utilizando gráfica [Bailey and Ollis, 1977], encontrar  $\eta = q / q_{st}$

donde

$$q = \frac{q_m S}{K_s (F_c) + S} \quad \text{Considera problemas de transferencia}$$

$$q_{st} = \frac{q_m S}{K_s + S} \quad \text{Sin problemas de transferencia}$$

4. Calcular  $F_c$ , que corresponde al factor de corrección para el  $K_s$

5. Calcular el valor de  $K_s$  aparente que ya considera los problemas de transferencia de masa.

Para el cálculo de la  $K_s$  aparente correspondiente a la población acidogénica, los valores utilizados fueron:

$$\mu_{\max} = 2.0 \text{ d}^{-1}$$

$$K_s = 0.2 \text{ g/l}$$

$$Y = 0.15 \text{ g/l}$$

$$S = 0.3252 \text{ g/l}$$

$$\delta_{\text{sacarosa}} = 6.97 \times 10^{-10} \text{ cm}^2/\text{seg}$$

Para el cálculo del Ks aparente correspondiente a la población metanogénica, los valores utilizados fueron:

$$\begin{aligned} \mu \text{ máx} &= 0.792 \text{ d}^{-1} \\ K_s &= 0.05 \text{ g/l} \\ Y &= 0.03 \text{ g/l} \\ S &= 7.4166 \times 10^{-3} \text{ g/l} \\ \beta \text{ acetato} &= 1.2 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{seg} \end{aligned}$$

Los valores encontrados para el Ks aparente en el gránulo se muestran en la Tabla 5.1.

**Tabla 5.1.** Valores calculados de Ks para el gránulo

	Ks (g/l)	Factor de corrección (Fc)	Ks aparente (g/l)
Acidogénesis	0.2	5.549	1.109
Metanogénesis	0.05	3.316	0.0995

### 5.3 Balance de materiales.

**5.3.1. Producción de metano teórica.** Utilizando la ecuación de Buswell [Shelton y Tiedje, 1984], se calculó el volumen de metano y de bióxido de carbono producido a partir de la lactosa, que resultó ser:

$$0.368 \text{ l CH}_4 / \text{g lactosa consumida}$$

$$0.417 \text{ l CO}_2 / \text{g lactosa consumida}$$

El balance de materiales resultó ser:

$$\text{Metano teórico [l/l.d]} = D (\text{So} * \text{Efic. de remoción} * 0.368)$$

$$\text{Bióxido de carbono teórico [l/l.d]} = D (\text{So} * \text{Efic. de remoción} * 0.417)$$

**5.3.2. Balance de carbono en el modelo de la digestión anaerobia.** Se realizó en base al carbono, según los resultados de la simulación y considerando que el sustrato alimentado fue lactosa.

$$[\text{g C / l.d}], \quad D(\text{So} - S) - D(a) - Q_{\text{CH}_4} - Q_{\text{CO}_2} = 0$$

## 5.4 Datos estadísticos

**5.4.1 Anovas de regresión.** En esta sección, se muestran los anovas de regresión de los modelos que mejor se ajustaron a los datos, tanto experimentales como a los simulados respectivamente. En todos los casos, los resultados se muestran por variable dependiente analizada, presentándose en primer lugar, el caso experimental y en segundo, el simulado.

### 5.4.1.1 Anovas para metano.

#### 1) Caso experimental.

Dependent Variable: MET

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	1	2.99409596	2.99409596	1347.38	0.0001
Error	4	0.00888864	0.00222216		
Corrected Total	5	3.00298460			

R-Square	C.V.	Root MSE	MET Mean
0.997040	7.207826	0.047140	0.65400833

Dependent Variable: MET

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CO	1	2.99409596	2.99409596	1347.38	0.0001
Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CO	1	2.99409596	2.99409596	1347.38	0.0001

Parameter	Estimate	T for H0: Parameter=0	Pr >  T	Std Error of Estimate
INTERCEPT	-.0707342620	-2.57	0.0623	0.02757157
CO	0.2891068129	36.71	0.0001	0.00787613

#### 2) Caso simulado

Dependent Variable: MET

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	1	3.14207829	3.14207829	267.40	0.0001
Error	4	0.04700115	0.01175029		
Corrected Total	5	3.18907943			

R-Square	C.V.	Root MSE	MET Mean
0.985262	14.90212	0.108399	0.72740500

Dependent Variable: MET

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CO	1	3.14207829	3.14207829	267.40	0.0001
Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CO	1	3.14207829	3.14207829	267.40	0.0001

Parameter	Estimate	T for H0: Parameter=0	Pr >  T	Std Error of Estimate
INTERCEPT	-.0150316967	-0.24	0.8242	0.06340130
CO	0.2961651606	16.35	0.0001	0.01811130

#### 5.4.1.2 Anovas para la eficiencia de eliminación.

##### 1) Caso experimental.

Dependent Variable: EFI

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	1	273.8476804	273.8476804	55.14	0.0018
Error	4	19.8650029	4.9662507		
Corrected Total	5	293.7126833			

R-Square	C.V.	Root MSE	EFI Mean
0.932366	2.547110	2.228509	87.4916667

Dependent Variable: EFI

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
LNCO	1	273.8476804	273.8476804	55.14	0.0018
Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
LNCO	1	273.8476804	273.8476804	55.14	0.0018

Parameter	Estimate	T for H0: Parameter=0	Pr >  T	Std Error of Estimate
INTERCEPT	85.84947625	91.69	0.0001	0.93627718
LNCO	5.51232210	7.43	0.0018	0.74232549

##### 2) Caso simulado.

Dependent Variable: EFI

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	1	423.2633137	423.2633137	8.39	0.0443
Error	4	201.7872047	50.4468012		
Corrected Total	5	625.0505184			

R-Square	C.V.	Root MSE	EFI Mean
0.677167	7.893645	7.102591	89.9786000

Dependent Variable: EFI

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
LNCO	1	423.2633137	423.2633137	8.39	0.0443

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
LNCO	1	423.2633137	423.2633137	8.39	0.0443

Parameter	Estimate	T for H0: Pr >  T	Std Error of Parameter=0	Estimate
INTERCEPT	87.93698291	29.47	0.0001	2.98405576
LNCO	6.85307315	2.90	0.0443	2.36590265

### 5.4.1.3 Anovas para potencial de amortiguamiento

#### 1) Caso experimental

Dependent Variable: AMO

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	1	0.00000214	0.00000214	9.83	0.0350
Error	4	0.00000087	0.00000022		
Corrected Total	5	0.00000301			

R-Square	C.V.	Root MSE	AMO Mean
0.710724	20.62855	0.000466	0.00226000

Dependent Variable: AMO

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
COR	1	0.00000214	0.00000214	9.83	0.0350

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
COR	1	0.00000214	0.00000214	9.83	0.0350

Parameter	Estimate	T for H0: Pr >  T	Std Error of Parameter=0	Estimate
INTERCEPT	0.0017516644	7.01	0.0022	0.00025004
COR	0.0003386366	3.13	0.0350	0.00010802

2) Caso simulado

Dependent Variable: AMO

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	1	0.00000965	0.00000965	32.90	0.0046
Error	4	0.00000117	0.00000029		
Corrected Total	5	0.00001082			

R-Square	C.V.	Root MSE	AMO Mean
0.891601	6.113937	0.000541	0.00885667

Dependent Variable: AMO

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
COR	1	0.00000965	0.00000965	32.90	0.0046
Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
COR	1	0.00000965	0.00000965	32.90	0.0046

Parameter	Estimate	T for H0: Parameter=0	Pr >  T	Std Error of Estimate
INTERCEPT	0.0077763718	26.78	0.0001	0.00029041
COR	0.0007196572	5.74	0.0046	0.00012547

5.4.1.4 Anovas para pH

1) Caso experimental

Dependent Variable: PH

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	1	0.00402949	0.00402949	0.08	0.7889
Error	4	0.19670384	0.04917596		
Corrected Total	5	0.20073333			

R-Square	C.V.	Root MSE	PH Mean
0.020074	3.157426	0.221757	7.02333333

Dependent Variable: PH

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CO	1	0.00402949	0.00402949	0.08	0.7889
Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CO	1	0.00402949	0.00402949	0.08	0.7889

Parameter	Estimate	T for H0: Parameter=0	Pr >  T	Std Error of Estimate
-----------	----------	-----------------------	---------	-----------------------

INTERCEPT	7.049920752	54.35	0.0001	0.12970309
CO	-0.010605978	-0.29	0.7889	0.03705117

2) Caso simulado

Dependent Variable: PH

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	1	0.00008817	0.00008817	0.02	0.8922
Error	4	0.01692084	0.00423021		
Corrected Total	5	0.01700901			

R-Square	C.V.	Root MSE	PH Mean
0.005184	1.037865	0.065040	6.26671667

Dependent Variable: PH

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CO	1	0.00008817	0.00008817	0.02	0.8922

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
CO	1	0.00008817	0.00008817	0.02	0.8922

Parameter	Estimate	T for H0: Parameter=0	Pr >  T	Std Error of Estimate
INTERCEPT	6.262783865	164.63	0.0001	0.03804126
CO	0.001568832	0.14	0.8922	0.01086692

**5.4.2 Anovas de paralelismo.** En esta sección se muestran los anovas para las pruebas de paralelismo para cada variable dependiente. Se presentan en primer lugar, los anovas del modelo completo y en segundo lugar, los del modelo bajo la hipótesis.

**5.4.2.1 Anovas para Metano**

1) Modelo completo (MC)

Dependent Variable: Y

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	<u>11.87724386</u>	2.96931096	425.02	0.0001
Error	8	0.05588978	<u>0.00698622</u>		
Uncorrected Total	12	11.93313364			

R-Square	C.V.	Root MSE	Y Mean
0.995316	12.10118	0.083584	0.69070667

## 2) Modelo bajo la hipótesis (MBH)

Dependent Variable: Y

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	2	<u>11.86019031</u>	5.93009516	812.97	0.0001
Error	10	0.07294332	0.00729433		
Uncorrected Total	12	11.93313364			

R-Square	C.V.	Root MSE	Y Mean
0.993887	12.36514	0.085407	0.69070667

## 5.4.2.2 Anovas para eficiencia de eliminación.

1) Modelo completo (MC)

Dependent Variable: Y

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	<u>95202.74599</u>	23800.68650	859.00	0.0001
Error	8	221.65837	<u>27.70730</u>		
Uncorrected Total	12	95424.40437			

R-Square	C.V.	Root MSE	Y Mean
0.997677	5.932005	5.263772	88.7351333

2) Modelo bajo la hipótesis (MBH)

Dependent Variable: Y

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	2	<u>95176.09163</u>	47588.04582	1916.46	0.0001
Error	10	248.31274	24.83127		
Uncorrected Total	12	95424.40437			

R-Square	C.V.	Root MSE	Y Mean
0.997398	5.615700	4.983099	88.7351333

## 5.4.2.3 Anovas para potencial de amortiguamiento.

1) Modelo completo (MC)

Dependent Variable: Y

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	4	<u>0.00051307</u>	0.00012827	502.34	0.0001

Error	8	0.00000204	<u>0.00000026</u>
Uncorrected Total	12	0.00051511	

R-Square	C.V.	Root MSE	Y Mean
0.996034	9.091047	0.000505	0.00555833

2) Modelo bajo la hipótesis (MBH)

Dependent Variable: Y

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	3	<u>0.00051172</u>	0.00017057	452.24	0.0001
Error	9	0.00000339	0.00000038		
Uncorrected Total	12	0.00051511			

R-Square	C.V.	Root MSE	Y Mean
0.993410	11.04911	0.000614	0.00555833

**5.4.3 Construcción de F.** La construcción de F para las pruebas de paralelismo, se realizó utilizando los datos de los Anovas que se encuentran subrayados.

**5.4.3.1 F para Metano.**

$$F_c = \frac{(\text{SCRMC} - \text{SCRMBH}) / 2}{\text{CMEMC}}$$

$$F_c = \frac{(11.87724386 - 11.86019031) / 2}{0.00698622}$$

$$F_c = 1.2205$$

$$F_{2,8 \alpha = 0.01} = 8.64$$

$F_c < F_{2,8 \alpha = 0.01}$  entonces  $H_0$  no se rechaza, lo que significa que las pendientes y ordenadas de ambos modelos son iguales.

**5.4 3.2. F para eficiencia de eliminación.**

$$F_c = \frac{(\text{SCRMC} - \text{SCRMBH}) / 2}{\text{CMEMC}}$$

$$F_c = \frac{(95202.74599 - 95176.09163) / 2}{27.70730}$$

$$F_c = 0.48099$$

$$F_{2,8 \alpha = 0.01} = 8.65$$

$F_c < F_{2,8 \alpha = 0.01}$  entonces  $H_0$  no se rechaza, lo que significa que las pendientes y ordenadas de ambos modelos son iguales.

#### 5.4.3.3 F para potencial de amortiguamiento.

$$F_c = \frac{(\text{SCRMC} - \text{SCRMBH}) / 1}{\text{CMEMC}}$$

$$F_c = \frac{(0.00051307 - 0.00051172) / 1}{0.00000026}$$

$$F_c = 5.192$$

$$F_{1,8 \alpha = 0.01} = 11.259$$

$F_c < F_{1,8 \alpha = 0.01}$  entonces  $H_0$  no se rechaza, lo que significa que las pendientes de ambos modelos son iguales pero difieren en ordenadas al origen.

**5.4.3.4. F para pH.** Como se observa en los anovas de regresión para pH, no hubo regresión, en ninguno de los dos casos: experimental y simulado. Esto significa que en ambos casos la pendiente es igual a cero, por lo cual existe paralelismo de horizontales.



## 6. REFERENCIAS

---

Abram, J.W and Nedwell, D.B. (1978) Inhibition of methanogenesis by sulfate reducing bacteria competing for transferred hydrogen. Arch. Microbiol. **117**: 89-92

APHA/AWWA/WPCF (1989) Standard Methods for the examination of water and wastewater. 17th edition, Joint Editorial Board.

Alvarez, J.; Monroy, O.; Ruiz, V. (1992) Model and control of a two stage anaerobic digester, 2º. Congreso IFAC BIO2. Colorado, USA.

Anderson, G.K.; Donnelly, T. and McKeown, K.J. (1982) Identification and control of inhibition in the anaerobic treatment of industrial wastewaters. Proc. Biochem. **7**:28-32.

Andrews, J.F. (1969) Dynamic model of the anaerobic digestion process. J. Sanit. Engng Div. Am. Soc. civ. Engrs. SA **1**:95-116.

Attal, A.; Ehlinger, F.; Audida, J.M. and Faup, G.M. (1988) pH inhibition mechanism of aacetogenic, acetoclastic and hydrogenophilic populations, in Advances in Water Pollution Control. Anaerobic Digestion 5<sup>th</sup> International Symposium on Anaerobic Digestion. E.R. Hall and P.N. Hobson eds. Pergamon Press.

Bailey, J.E. and Ollis, D.F. (1977) Biochemical Engineering Fundamentals. Ed. Mc Graw Hill, Japan.

Balch, W.E.; Fox, G.E.; Magrum, L.D.; Woese, C.R. and Wolfe, R.S. (1979) Methanogens: Reevaluation of a unique biological group. Microbiol. Rev. **43**:260-296.

Barker, H.A. (1941) Studies on the methane fermentation: V Biochemical activities of *Methanobacterium omelianskii* J. Biol. Chem., **137**:153-167.

Boone, D.R. and Bryant, M.P. (1980) Propionate degrading bacterium *Sintrophobacter wollini* sp. nov. gen. nov. from methanogenic ecosystem. Appl. Environ. Microbiol. **40**:626-632.

Brock, D.T. (1988). La vida a altas temperaturas. Mundo científico **8**:664-673.

Brock, D.T.; Smith, D.W. and Madigan, M.T. (1987) Microbiología Prentice Hall, Hispanoamericana S.A., México.

Bryant, M.P.; Campbell, L.C.; Reddy, C. and Joyner A.E. Jr. (1977) Growth of *Desulfovibrio* in lactate or ethanol media low in sulfate in association with H<sub>2</sub> - utilizing methanogenic bacteria. Appl. Environ. Microbiol. **33**:1162-1169.

Cao, Y.S.; Zhang, H. and Li, Y.Z. (1992) UASB treatment of monosodium glutamate wastewater; Dynamic and kinetic behaviour of the start-up of the reactor. *Wat. Sci. Tech.* **26**:2441-2444.

Chartrain, M. and Zeikus, J.G. (1986) Microbial ecophysiology of whey biomethanation: Characterization of bacterial trophic populations and prevalent species in continuous culture. *Applied and Environmental Microbiology*, **51**: 188-196.

Chartrain, M. and Zeikus, J.G. (1986) Microbial ecophysiology of whey biomethanation: Intermediary metabolism of lactose degradation in continuous culture. *Applied and Environmental Microbiology*, **51**: 180-187.

Chen, L.; Bastin, G. and Van Breusegem V. (1991) Adaptive nonlinear regulation of feed-batch biological reactors: An industrial application. Proceedings of the 30<sup>th</sup> Conference on Decision and Control. December. Brighton, England. 2130 - 2135.

Cohen, A.; Breure, A.M.; Van Andel, J.G. and Van Deursen, A. (1980) *Water Research* **14**, 14339.

Colin, F. (1984) Anaerobic digestion carbohydrate hydrolysis of waste. Presented at Proc. CEC Conference, Luxembourg.

Costello, J.D.; Greenfield, P.F. and Lee, L.P. (1991) Dynamic modelling of a single-stage high-rate anaerobic reactor - I. Model derivation. *Wat. Res.* **25**:847-858.

Costello, J.D.; Greenfield, P.F. and Lee, L.P. (1991) Dynamic modelling of a single-stage high-rate anaerobic reactor - II. Model verification. *Wat. Res.* **25**:859-871.

Dochain, D. and Bastin, G. (1985) Stable adaptive controllers for waste treatment by anaerobic digestion. *Environmental Technology Letters*, **6**: 584-593.

Dochain, D.; Bastin, G.; Rozzi, A. and Pauss, A. (1988). Adaptive estimation and control of biotechnological processes. Workshop on Adaptive Control Strategies for Industrial Use. June. Banff., Germany.

Dolfing, J.; Griffioen, A.; Van Neerven A.R.W. and Zevenhuizen L.P.T.M. (1985) *Can. J. Microbiol.* **31**:744-750.

Duarte, A.C. and Anderson, G.K. (1982) Inhibition modelling in anaerobic digestion. *Wat. Sci. Technol.* **14**:749-763.

Dubourguier, H.C.; Buisson, M.N.; Tissier, J.P.; Prensier, G. and Albagnac, G. (1988) In: Granular anaerobic sludge; microbiology and technology. Letting G. et al (eds.) Pudoc. Wageningen, Netherlands. 78-86.

Dybing, S.T and Smith, D.E. (1991) Relation of chemistry and processing procedures to whey protein functionality: A review. *Cultured Dairy Products Journal*. **26**:4-11.

García, G.M. (1984) Alternarivas de utilización del suero de leche. *Información Científica y Tecnológica* **6**:35-39.

García, J.L. (1982) Relations between acidogenesis and the utilization of lactate, sulfate and nitrate, during anaerobic digestion. Segundo Simposio Panamericano de Combustibles y Productos Químicos Vía Fermentación. "Avances en Digestión Anaerobia" Octubre. Mexico.

García, P.A.; Rico, J.L. and Fdz.-Polanco, F. (1991) Anaerobic treatment of cheese whey in a two-phase UASB reactor. *Environm. Tech.* **12**:355-362.

García, J.L. Taxonomy and ecology of methanogens (1990) *FEMS Microbiology Reviews* **87**:297-308.

Graef, S.P. and Andrews, J.F. (1974) Mathematical modelling and control of anaerobic digestion. *AIChE Symp. Ser Wat.* -1973101-131.

Grogono, P. (1986). Programación en Pascal. Ed. Addison-Wesley Iberoamericana, México.

Guiot, S.R. (1992) Bioinmovilización en reactores anaerobios, en *Bioprocesos Anaerobios para el Tratamiento de Efluentes Industriales*. Mayo. UAM-I, México.

Guiot, S.R.; Gorur, S.S. and Kennedy, K.J. (1988) In: *Proc. of the 5<sup>th</sup> Int. Symp. on Anaerobic Digestion*. May. Hall E.R. and Hobson P.N. (eds.) Bologna Italy. Pergamon Press, Oxford U.K. 47-53.

Guiot, S.R.; Kennedy, K.J. and Van der Berg L. (1986) In: *Proc. of the NVA-EWPCA Conf. on Water Treatment: Anaerobic Treatment, a grown-up technology*. Aquatech, 86. September. Amsterdam. The Netherlands, Industrial Presentations (Europe) B.V. Schiedam. The Netherlands. 535-546.

Guiot. S.R.; Pauss, A. and Costerton, J.W. (1991) In *6<sup>th</sup> Int. Symp. on Anaerobic Digestion*. May. Hall E.R. and Hobson P.N. (eds.) Sao Paulo, Brazil, 1-12.

Gujer, S. and Zehnder, A.J.B. (1983) *Water Science and Technology*, **15**:127-168.

Guyot, J.P. (1992) Introducción a la microbiología de la digestión anaerobia, en *Bioprocesos anaerobios para el tratamiento de efluentes industriales*. Mayo. UAM-I, México.

Guyot, J.P. and Ramírez, F. (1989) Inhibition of anaerobic acetate degradation by formate. *Biotechnol. Lett.* **11**:365-368.

Guyot, J.P.; Traore, I. and García, J.L. (1985) Methane production from propionate by methanogenic mixed culture. *FEMS Microbiol. Lett.* **26**:329-332.

Hill, D.T. (1982) *Trans. ASAE*, 25,1374-1380.

Hawkes, F.R.; Rozzi, A.; Black, K.; Guwy, A. and Hawkes, D.L. (1992) The stability of anaerobic digesters operating on a food-processing wastewater. *Wat. Sci. Tech.* **25**:73-82.

Henderson, P.J.F. (1971) Ion transport for energy-conserving biological membranes. *Ann. Rev. Microbiol.* **25**:393-428.

Hobson, P.N. and Shaw, B.G. (1974) The bacterial population of piggery waste anaerobic digesters. *Wat. Res.* **8**:507-516.

Huser, B.A.; Wuhrmann, K.; Zehender, A.J.B. (1982) *Methanotrix soehngenni* gen. sp. nov., a new acetotrophic non-hydrogen-oxidising methane bacterium. *Archs. Microbiol.* **132**:1-9.

Hwang, S.H.; Hansen, C.L. and Stevens D.K. (1992) Biokinetics of an Upflow Anaerobic Sludge Blanket reactor treating whey permeate. *Bioresource Technology* **41**:223-230.

Iza, L.J. (1989) El control de la operación de los digestores anaerobios de aguas residuales. En *Digestión anaerobia de aguas residuales*. Ed. Fernández-Polanco *et al.* Servicio de publicaciones Universidad de Valladolid, Valladolid.

Jardim W.F. and Rohwedder J.J.R. (1989) Chemical oxygen demand (COD) using microwave digestion. *Water Research*, **23**:1069 - 1071

Joyanes-Aguilar, L. Turbo Pascal 5.5, manual de bolsillo. Ed. Mc Graw Hill, México, 1992.

Kisaalita, W.S.; Lo, K.V. and Pinder, K.L. (1989) Influence of dilution rate on the acidogenic phase products distribution during two-phase lactose anaerobiosis. *Biotechnology and Bioengineering*, **34**:1235-1250.

Kroeker, E.J.; Schulte, D.D.; Sparling, A.B. and Lapp, M.M. (1979) Anaerobic treatment process stability. *J. Wat. Poll. Control Fed.* **51**:718-727.

Lequerica, J.L. (1982). *Metanogénesis de efluyentes del procesamiento de frutas cítricas*. Simposio Internacional Avances en digestión anaerobia, II curso regional de la OEA "Combustibles por fermentación". Octubre. México, D.F.

Levenspiel, O. (1986). *El omnilibro de los reactores químicos*. Ed. Reverte S.A., España.

Marsilli-Libelli, S. and Nardini, M. (1985) Stability and sensitivity analysis of anaerobic digestion models. *Environ. Tech. Lett.* **6**:602-609.

Martínez-Garza, A; Castillo-Morales, A. (1987) Teoría de la regresión con aplicaciones agronómicas. Colegio de Postgraduados, Institución de enseñanza e investigación en ciencias agrícolas.

Mc Carty, P.L., (1964) Anaerobic waste water treatment fundamentals, Part 2, Environmental requirements and control. *Public Works* **95**:123-126.

Mc Cracken, D.D. and Dorn, W.S. Métodos numéricos y programación Fortran. Ed. Limusa, México, 1982.

Mc Gregor A.N. and Keeney. D.R. (1973) Methane formation by lake sediments during *in-vitro* incubation. *Wat. Res. Bull.* **9**:1153-1158.

Mc Inerney, M.J. and Bryant M.P. (1981) Basic principles of bioconversions in anaerobic digestion and methanogenesis, in Biomass conversion process for energy and fuels. S.S. Safer and O.R. Zabrosky (ed). Plenum Publishing Corporation

Monroy, H.O. (1991) Cinética de la digestión anaerobia. Primer diplomado internacional de química ambiental del agua. Septiembre. UNAM, México.

Monroy, H.O. (1992) Control de la digestión anaerobia, en Bioprocesos anaerobios para el tratamiento de efluentes industriales. Mayo. UAM-I, México.

Montfort, D.O. (1987) Evidence for ATP synthesis driven by a proton gradient in *Methanosarcina barkeri*. *Biochem. and Biophys. Res. Communication* **45**:1346-1351.

Moreno, R.G. (1991). Microbiología y Bioquímica de la digestión anaerobia. Primer diplomado internacional de química ambiental del agua. Septiembre. UNAM, México.

Mosey, F.E. (1983) Anaerobic treatment of wastewater in fixed-film reactors. *Water Science and Technology*, **15**:209-301.

Murray, W.D. (1984) In: Proc. of the third European Congress on Biotechnology. Munich, Germany. 145-149.

Noyola, R.A. (1993) Reactor anaerobio de lecho de lodos con flujo ascendente, en Primer minisimposio internacional sobre remoción de contaminantes de aguas y suelos. Junio. UNAM, México.

Palns, S.S.; Wentzel, M.C.; Dold, P.L.; Loewenthal, R.E. and Marais, GvR. (1991) Mathematical modelling of upflow anaerobic sludge bed (UASB) systems treating carbohydrate waste waters. **17**:91-106.

Paula D.R. and Foresti E. (1992). Kinetic studies on a UASB reactor subjected to increasing COD concentration. *Water Science and Technology*. **6**:103-111.

Pavlostathis S.G. and Giraldo-Gómez E. (1990) Kinetics of anaerobic treatment, a critical review. IAUPRC International Specialized Workshop "Anaerobic treatment technology for municipal and Industrial wastewater".

Pohland, F.G. (1962) Ph. Thesis, Purdue University.

Powell G.A. and Archer D.A. (1989). On-line titration method for monitoring buffer capacity and total volatile fatty acid levels in anaerobic digesters. *Biotech. and Bioeng.* **33**:570-577.

Rico-Gutiérrez J.L, García-Encina P.A. and Fernández-Polanco F. (1991) Anaerobic treatment of cheese-production wastewater using a UASB reactor. *Bioresource Technol.* **37**:271-276.

Rouviere, P.E. and Wolfe, R.S. (1988) Novel biochemistry of methanogenesis. *J. Biol. Chem.* **263**:7913-7916.

Rozzi A, Di Pinto A.C. and Brunetti A. (1985) Anaerobic process control by bicarbonate monitoring. *Environmental Technology Letters*. **6**:594-601.

Rozzi A., Merlini S., Pasinno R. (1985) Development of a four population model of the anaerobic degradation of carbohydrates. *Environmental Technology Letters*, **6**: 610-619.

Ruiz, V.M y Monroy, H.O. (1991) Modelo para un biorreactor anaerobio de dos fases. Enero. UNAM-UAMI. México.

Schoberth S.M. (1982) Methanogenic flora and their methabolic routes. Segundo simposio panamericano de combustibles y productos químicos vía fermentación. "Avances en digestión anaerobia". Octubre. Mexico..

Shelton, D.R. and Tiedje, J.M. (1984) General method for determining anaerobic biodegradation potential. *Appl. and Environ. Microbiol.* **47**:850-857.

Smith, P.A. and Mah, R.A. (1966) Kinetics of acetate metabolism during sludge digestion. *Appl. Microbiol.* **140**:387-390.

Soto, M.; Méndez, R. and Lema, J.M. (1993) Methanogenic and non-methanogenic activity tests. Theoretical basis and experimental set up. *Wat. Res.* **27**:1361-1376.

Stronach, S.M.; Rudd, T. and Lester, J.N. (1986). Anaerobic digestion processes in industrial wastewaters treatments. Springer-Verlag, N.Y.

Van Breusegem, V.; Beteau, J.F.; Tomei, M.C.; Rozzi, A.; Cheruy, A. and Bastin, G. (1990). Bicarbonate control strategies for anaerobic digestion processes. IFAC world congress, Tallin, USSR.

## Referencias

Weiland, P. and Rozzi, A. (1991) The start-up, operation and monitoring of high rate anaerobic treatment systems: Discusser's report. *Wat. Sci. Tech.* **24**:257-277.

Winfrey, M.R. and Zeykus, J. G. (1977) Effect of sulfate on carbon and electron flow during microbial methanogenesis in freshwater sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* **33**:275-281.

Woese, C.R and Wolfe, R.S. (1985) *Archaeobacteria*. Academic Press, vol III.

Wolfe, R.S. (1990) Novel coenzymes of *Archaeobacteria*. Colloquium Mosbach. The Molecular basis of bacterial metabolism. Springer-Verlag. Berlin, Heidelberg.

Zehnder A.J.B.; Huser, B.A.; Brock, T.D. and Wihrman, K. (1980) Characterization of an acetate-decarboxylating non-hydrogen oxidizing methane bacterium. *Arch. Microbiol.* **124**:1-11.

Zinder, S.H. and Mah, R.A. (1979) Isolation and characterization of a thermophilic strain of *Methanosarcina* unable to use H<sub>2</sub>-CO<sub>2</sub> for methanogenesis. *Appl. Environ. Microbiol.* **38**:966-1008.

