

Evaluación de la actividad metanogénica específica (AME) en lodos de industria no alcohólica.

Sebastián Méndez Corredor

Adela Tatiana Rodríguez Chaparro
Tutor



**UNIVERSIDAD MILITAR
NUEVA GRANADA**

**UNIVERSIDAD MILITAR NUEVA GRANADA
FACULTAD DE INGENIERÍA
PROGRAMA DE INGENIERÍA CIVIL
BOGOTÁ D.C., SEPTIEMBRE DE 2020**

Evaluación de la actividad metanogénica específica (AME) en lodos de industria no alcohólica.

Sebastián Méndez Corredor

Adela Tatiana Rodríguez Chaparro

Tutor



UNIVERSIDAD MILITAR NUEVA GRANADA
FACULTAD DE INGENIERÍA
PROGRAMA DE INGENIERÍA CIVIL
BOGOTÁ D.C., SEPTIEMBRE DE 2020

Nota aceptación

Firma de tutor

Firma de jurado 1

Bogotá D. C., Septiembre de 2020

DEDICATORIA

Este trabajo esta dedicado a mi familia y amigos que me apoyaron en estos años de carrera, así como a los integrantes del laboratorio de calidad de aguas y saneamiento ambiental de la Universidad Militar Nueva Granada que me apoyaron durante este tiempo. Especial dedicatoria a las ingenieras Tatiana R. Chaparro y Yuly Vanessa Torres por todo lo que me han enseñado y apoyado durante este tiempo.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su agradecimiento a la Universidad Militar Nueva Granada por el apoyo financiero, mediante el proyecto de Investigación INV ING 3186 y a los Laboratorios de Saneamiento Ambiental y Calidad de Aguas del Programa de Ingeniería Civil por el apoyo técnico.

Contenido

1. INTRODUCCIÓN	11
2. JUSTIFICACIÓN	13
3. PROBLEMA	16
4. OBJETIVOS	17
5. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	17
6. METODOLOGÍA.....	20
7. DISEÑO EXPERIMENTAL	21
8. RESULTADOS Y DISCUSIONES	27
9. PRINCIPALES HALLAZGOS	32
10. CONCLUSIONES	32
11. RECOMENDACIONES	33
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	33

Lista de Figuras

Figura 1: Metodología de trabajo	20
Figura 2: Muestra de inóculo sin preparar	22
Figura 3: Esquema del reactor de ensayo	23
Figura 4: Diagrama de flujo de la metodología AME.....	25
Figura 5: Producción acumulada de metano vs Tiempo Experimento 1	28
Figura 6: Producción acumulada de metano vs Tiempo Experimento 2	30

Lista de Tablas

Tabla 1: Resultados experimento 127

Tabla 2: Resultados experimento 229

Lista de abreviaturas

- AD: Anaerobic digestion / Digestión anaerobia
- ABAI: Anaerobic Biodegradation, Activity and Inhibition/ Biodegradabilidad anaerobia, actividad e inhibición.
- AGV's: Ácidos grasos volátiles
- AME: Actividad Metanogénica Específica
- AP: Alcalinidad Parcial
- BMP: Biomethane Potential / Potencial de biometano
- DQO: Demanda química de oxígeno
- STV: Sólidos totales volátiles

RESUMEN

La digestión anaerobia (AD) es una extensa tecnología aplicada al tratamiento de aguas residuales en donde, con ausencia de oxígeno, se logra estabilizar la materia orgánica generando biogás, el cual puede ser reutilizado como combustible. Dentro de la tecnología anaerobia existen los ensayos de biodegradabilidad anaerobia los cuales buscan obtener la máxima capacidad de producción de metano tanto de un grupo de microorganismos como del sustrato, logrando mejoras de rendimiento y operación en biodigestores anaerobios. La compleja aplicación de estos ensayos hace que se omitan a menudo especialmente en Colombia y Latino América. La falta de datos y metodologías para los diferentes ensayos de biodegradabilidad hace que el análisis y comparación de datos sea cada vez mas difícil. En este trabajo se evaluó la actividad metanogénica específica aplicada a una muestra de lodo granular proveniente del biodigestor anaerobio de una fábrica de bebidas no alcohólicas, adaptando el método de aplicación rápido de 3 días. Se realizaron 2 experimentos del ensayo AME obteniendo valores de 0.014 y 0.015 g DQO/gSTV logrando así ampliar la base de datos para ensayos AME bajo distintas condiciones.

1. INTRODUCCIÓN

La digestión anaerobia (AD) es una extensa tecnología aplicada al tratamiento de aguas residuales y residuos industriales o domésticos, consiguiendo una recuperación de energía en forma de biogás. Sin embargo, la realización y estabilidad de los procesos de AD son sensibles a múltiples factores ambientales incluidos el pH, temperatura, la presencia de macro y micronutrientes, así como de inhibidores. (Lu et al., 2018). La digestión anaerobia es un proceso biológico por el cual los lodos residuales, por acción de un grupo de bacterias y en ausencia de oxígeno, se descomponen en biogás y una mezcla de productos minerales. (Aguilar-Benitez & Blanco, 2018).

La digestión anaerobia (AD) es un tratamiento biológico realizado bajo la ausencia de oxígeno para estabilizar la materia orgánica mientras se produce biogás, una mezcla formada principalmente por metano y dióxido de carbono. (Mata-Alvarez et al., 2014).

Muchos factores incluidos las características de la materia prima, el diseño del reactor y las condiciones operativas, pueden afectar el desempeño de los procesos de digestión anaerobia, ya sea por mejora o inhibición del proceso. (Babaee & Shayegan, 2011). En muchos de los estudios de biodegradabilidad anaerobia, los resultados para el mismo sustrato suelen diferir entre laboratorios por lo que se necesita mucho trabajo para estandarizar cada método. (Strömberg et al., 2014). La caracterización de los residuos sólidos es un paso necesario antes de que puedan utilizarse en la digestión anaerobia. Las diferentes cantidades de compuestos (carbohidratos, proteínas, lípidos y fibras) y la biodegradabilidad anaerobia (capacidad de producir metano) son información importante necesaria para caracterizar los residuos. (Lesteur et al., 2010).

Los ensayos de biodegradabilidad anaerobia se utilizan para establecer la biodegradabilidad anaerobia, para determinar el potencial de metano final de los desechos, pero también se utilizan para determinar la tasa de biodegradación en general. (Irimi Angelidaki & Sanders, 2004). La biodegradabilidad anaerobia se evalúa generalmente usando una prueba biológica, la prueba de Potencial Bioquímico de Metano (BMP), (Lesteur et al., 2010), utilizada específicamente para obtener la producción máxima de metano proveniente del sustrato, así como la prueba de Actividad Metanogénica Específica (AME), enfocada en la capacidad máxima de producción de metano de un grupo de microorganismos. Estos ensayos son complementarios y se analizan en paralelo con el fin de obtener una información precisa del comportamiento de un sistema sometido a procesos de digestión anaerobia.

Uno de los ensayos de biodegradabilidad anaerobia más utilizados es la actividad metanogénica específica. La actividad metanogénica o AME por sus siglas, hace parte de los bioensayos anaerobios, realizados con el fin de cuantificar la máxima capacidad de producción de metano producida por un grupo de microorganismos que se encuentran en lodos anaerobios y condiciones controladas de laboratorio. Es una herramienta que evalúa el comportamiento de la biomasa contaminada y determina la carga orgánica máxima que puede aplicarse a un sistema. (Torres & Pérez, 2010).

La actividad Metanogénica específica (AME), determina la capacidad de producción de metano del lodo para un sustrato específico en el nivel de concentración donde la disponibilidad de sustrato no es un factor limitante. (Hussain & Dubey, 2014). La prueba AME puede ser utilizada para delinear las condiciones operativas del sistema, así como un parámetro para evaluar el desempeño del sistema al brindar una mejor comprensión del comportamiento y estabilidad del sistema. (Hussain & Dubey, 2017).

Con el fin de facilitar el análisis de resultados en los ensayos de biodegradabilidad anaerobia, se han desarrollado diferentes estudios que buscan encontrar una optimización de las pruebas y así lograr la estandarización de éstas. Entre estos estudios se destaca la metodología propuesta por (Astals et al., 2015) que desarrolla un test rápido para el cálculo de la actividad metanogénica específica. Este estudio mencionado anteriormente tiene como objetivo validar una prueba rápida de inhibición y toxicidad en sistemas anaerobios, para esto es necesario optimizar el ensayo AME empleando un montaje experimental que permita su obtención en un periodo aproximado de 3 días.

Esta metodología ha sido citada por varios autores no solo como aplicación a ensayos de inhibición y toxicidad sino principalmente como metodología de aplicación para los ensayos de biodegradabilidad anaerobia AME y BMP. Este es el caso de (Buhlmann et al., 2019) y (Lee et al., 2017) que basan sus estudios en la implementación de las condiciones propuestas por (Astals et al., 2015) para facilitar tanto el ensayo como el análisis y comparación de resultados. Así mismo en el territorio Colombiano se han realizado estudios en donde se aplica esta metodología en inóculos anaerobios provenientes de biodigestores rurales como es el caso de (Liliana Castro, 2018).

Una de las grandes variables cuando se realizan ensayos de biodegradabilidad anaerobia es la característica y composición del inóculo, que depende no solo de la tecnología sino del sustrato que se está procesando para obtenerlo. Una de las mayores industrias donde se aplican tecnologías anaerobias es la industria de bebidas no alcohólicas debido a las altas cargas orgánicas generadas en sus residuos.

El objetivo principal de este estudio es determinar la actividad metanogénica específica en una muestra de lodo anaerobio procedente de una planta procesadora de bebidas no alcohólicas, con el fin de desarrollar la metodología de (Astals et al., 2015) bajo condiciones específicas, lo cual servirá para ampliar la cantidad de datos y ensayos en Colombia con referencia a la biodegradabilidad anaerobia y buscando en un futuro lograr la estandarización de estos métodos.

2. JUSTIFICACIÓN

Con el aumento en la aplicación de procesos anaerobios para el tratamiento de aguas, se ha convertido en una urgente necesidad la revisión de estos diferentes métodos de la estimación de biodegradabilidad y potencial de metano, ya que son de gran importancia para conocer la tasa de biodegradabilidad en general, además de incluirse en procesos de arranque y mantenimiento de reactores. (Torres & Pérez, 2010).

Con el gran crecimiento en la aplicación de los procesos de digestión anaerobia (AD), nace la urgente necesidad de revisar los métodos para la estimación de la biodegradabilidad y el potencial de metano de los residuos utilizados en estas tecnologías.(Angelidaki & Sanders, 2004).Estos métodos son lo que conocemos como ensayos de biodegradabilidad anaerobia los cuales permiten analizar la actividad metanogénica de los grupos microbianos, así como de los diferentes compuestos para medir la máxima capacidad de producción de metano. Entre estos ensayos se destacan el ensayo de actividad metanogénica específica (AME) y el potencial de biometanización (BMP).

En muchos de los estudios de biodegradabilidad anaerobia, los resultados para el mismo sustrato suelen diferir entre laboratorios por lo que se necesita mucho trabajo para estandarizar cada método. (Strömberg et al., 2014).

Esta investigación toma mayor importancia cuando se habla del entorno colombiano, en el cual la tecnología anaerobia ha comenzado a ser empleada en muchas zonas; no solo la falta de información y la imprecisión de los datos hace que estos ensayos sean de urgente investigación, sino que además la aplicación de nuevos y más sencillos métodos ayudarán al crecimiento de esta tecnología y al aumento en las investigaciones del mundo anaerobio las cuales son escasas en el país.

A partir de la década de los 90's el tratamiento biológico de aguas se convirtió en uno de los focos del mundo científico, la importancia a nivel ambiental que tenía el tratamiento de agua comenzaba a emplear en gran masa la tecnología anaerobia que era poco utilizada hasta el momento.

En 1997 en la Universidad Federal de Minas Gerais, se publicaba la primera edición del libro 'Reactores anaerobios' escrito por el doctor Carlos Augusto de Lemos Chernicharo. En este libro se expresa la importancia de la tecnología anaerobia en la implementación de reactores para el tratamiento de aguas residuales. Las dificultades encontradas en el territorio brasileño en la aplicación de esta tecnología llevaban a realizar una profunda investigación, no solo acerca de los principios de la digestión anaerobia sino de la operabilidad de los reactores (principalmente UASB).

En este libro se habla de la importancia del ensayo de actividad metanogénica específica como una prueba para la evaluación de la actividad microbiana. La evaluación de la AME encuentra importancia como un parámetro de monitoreo de la eficiencia de la población metanogénica presente en un reactor biológico, convirtiéndose, por tanto, en una importante herramienta para el control y operación de los reactores anaerobios. (Chernicharo, 2007)

Además de esto, este autor presenta uno de los principales métodos para la preparación de este ensayo, en donde se explican las condiciones necesarias para su realización, los métodos para la medición de biogás y el cálculo de la AME.

En el año 2001 durante la conferencia de digestión anaerobia AD en la ciudad de Amberes (Bélgica), se propuso la conformación del grupo de trabajo en Biodegradabilidad Anaerobia, Actividad e Inhibición (ABAI), el objetivo de este grupo era el de armonizar los ensayos de biodegradabilidad anaerobia, actividad e inhibición. A partir de este grupo se publicó el libro 'Anaerobic Biodegradation, Activity and Inhibition (ABAI)' en octubre del año 2006 en donde por primera vez se buscó la unificación y estandarización de los ensayos. (Angelidaki et al., 2006).

En la última década se fueron optimizando las metodologías en la aplicación de estos ensayos, a pesar de no llegar a estandarizar un único método, existen metodologías que han sido muy aceptadas en la comunidad científica y de las cuales se basan muchas de las investigaciones actuales.

Para el ensayo de actividad metanogénica específica (AME), en el año 2015 se publicó el documento 'Development and validation of a rapid test for anaerobic inhibition and toxicity' escrito por S. Astals, D.J. Batstone, S. Tait, P.D. Jensen. Como se explica en el artículo, los métodos experimentales descritos en la literatura generalmente son extensos y consumen una gran cantidad de recursos. Como resultado de esto, los ensayos de inhibición raramente forman parte de los estudios de AD, omitiendo la importancia y utilidad de esta información. Este estudio desarrolla y valida un simple protocolo de un ensayo rápido de inhibición basado en la relativa inhibición de la metanogénesis acetoclástica. (Astals et al., 2015).

El protocolo descrito anteriormente logra encontrar los valores de AME en un tiempo de aplicación de tan solo 3 días, utilizando las condiciones ideales de incubación y midiendo la producción de metano mediante métodos cromatográficos.

En el año 2009 se publicó el documento 'Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: a proposed protocol for batch assays' en donde según los autores es el primer paso para la definición de un protocolo estandarizado. (I. Angelidaki et al., 2009).

A inicios del presente año (2019), se publicó el artículo 'Development and validation of a low-cost gas density method for measuring biochemical methane potential (BMP)' escrito por Camilla G. Justesen, Sergi Astals, Jacob R. Mortensen, Rasmus Thorsen, Konrad Koch, Sören Weinrich, Sasha D. Hafner. En este artículo se presenta una metodología distinta de medición de biogás que beneficiaría a laboratorios que no poseen las últimas tecnologías. Este artículo describe y valida un nuevo método para la medición de BMP basado en la densidad de gases (GD-BMP). En el método de GD-BMP, la composición del biogás fue determinada a partir de la densidad del biogás, la cual es determinada mediante la pérdida de masa y el volumen de biogás que puede ser medido en un laboratorio normal, jeringas plásticas y un manómetro tubular. (Justesen et al., 2019).

Se han realizado diferentes aplicaciones de estos ensayos aplicados a condiciones similares a las trabajadas en este proyecto, en el año 2003, en la Universidad de Pernambuco, se realizó un estudio de la actividad metanogénica en lodos y la biodegradabilidad de efluentes de industrias de bebidas. (Rocha, 2003). En esta investigación se estudiaron diferentes efluentes y se aplicó el ensayo AME bajo distintas condiciones de lodo y sustrato, se encontró que el lodo granular presentaba una mayor actividad y específicamente en los efluentes donde la carga contaminante era mayor. También el autor resalta que se necesitan de tecnologías más precisas para la medición de estos ensayos y que la importancia de tener una base de datos confiable es cada vez más urgente en el territorio latino americano.

En Colombia también se han aplicado estas metodologías en diferentes investigaciones, por ejemplo, en el documento 'Low cost digester monitoring under realistic conditions: Rural use of biogas and digestate quality' de la Universidad de Santander en donde aplicaron la metodología del ensayo AME y BMP para determinar las características de un digester rural. Se utilizó lodo floculento producto de residuos de cerdo, y se logró el óptimo monitoreo del digester. (L. Castro et al., 2017).

Con el propósito de estandarizar la aplicación de estos ensayos en el país, en el año 2010, la universidad del Valle (Cali, Colombia) publicó un estudio del ensayo AME en donde se junta diferentes referencias para hacer un protocolo básico, en este se presentan los posibles métodos de medición, las condiciones necesarias de

incubación, los equipos necesarios, los ensayos de monitoreo y los cálculos. Se concluye en esta investigación que la metodología AME por medición volumétrica resulta una técnica precisa y sencilla siendo la opción más viable en nuestro medio, además, se menciona que la estandarización de un protocolo permitía una mayor aplicabilidad para la comparación de resultados. (Torres & Pérez, 2010).

3. PROBLEMA

3.1 Identificación

El interés en las energías renovables ha ido creciendo en las últimas décadas. El biogás producido mediante procesos de digestión anaerobia (AD) es energía puramente renovable y puede ser utilizada para generar electricidad, calor o combustible vehicular. Aparte de la producción de energía, la AD es también vista como uno de los principales métodos biotecnológicos para el tratamiento de aguas residuales y residuos orgánicos. (I. Angelidaki et al., 2006).

La producción de biogás como fuente de energía renovable es una de las grandes ventajas de la digestión anaerobia, pero a su vez, la medición y determinación de biometano conforma uno de los retos importantes de la actualidad.

La aplicación de tecnologías anaerobias ha crecido a gran escala en el territorio sudamericano, sus beneficios y grandes resultados en el tratamiento de aguas residuales ha hecho de esta tecnología una prioridad cuando se habla de remover grandes cargas contaminantes. Por otro lado, el análisis detallado de estos procesos, específicamente de la biodegradabilidad anaerobia de los compuestos presentes ha presentado grandes dificultades por lo que es omitido en la mayoría de las investigaciones.

Por otra parte, la fabricación de bebidas gaseosas conforma una de las grandes fuentes contaminantes en aguas residuales, el tratamiento biológico de estas aguas necesita de la aplicación de tecnologías anaerobias. Por este motivo, la aplicación de ensayos de biodegradabilidad resulta de vital importancia para el conocimiento de la calidad del lodo y el comportamiento de estas tecnologías. (Rocha, 2003).

3.2 Descripción

En los últimos 50 años se ha investigado acerca de la biodegradabilidad de miles de materiales, ya sea en condiciones aerobias o anaerobias, a pesar de esto la comparación en los datos de biodegradabilidad encontrados en la literatura es muy difícil. (I. Angelidaki et al., 2006).

A la hora de operar los reactores anaerobios, es necesario de variables como la AME para conocer el comportamiento del lodo, si estos datos no son confiables el comportamiento va a ser desfavorable ocasionando errores de operación y mantenimiento.

Muchos de los estudios aplicados a la actividad metanogénica y el potencial de biometanización han utilizado métodos y condiciones que pueden variar fácilmente y esto hace que la comparación de resultados sea complicada. Especialmente diferencias relacionadas a: la preparación del inóculo, la fuente de carbono y su concentración inicial, y el medio de incubación. En general, las metodologías aplicadas son consideradas extensas y costosas, como resultado, estos ensayos son omitidos normalmente en los estudios de digestión anaerobia. (Astals et al., 2015).

3.3 Planteamiento

¿Cómo se deberá realizar la aplicación de los ensayos de biodegradabilidad anaerobia para obtener valores confiables de AME en lodos industriales de bebidas no alcohólicas?

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

Evaluar la actividad metanogénica específica (AME) en una muestra de lodo del reactor anaerobio de la planta de tratamiento de aguas residuales de Postobón.

4.2 Objetivos Específicos

- Desarrollar la metodología rápida de 3 días para simplificar el ensayo de Actividad Metanogénica Específica.
- Establecer el método apropiado del ensayo AME que pueda ser aplicado en el laboratorio de Saneamiento de la Universidad Militar Nueva Granada.

5. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Digestión anaerobia

La digestión anaerobia (AD) es una extensa tecnología aplicada al tratamiento de aguas residuales y residuos industriales o domésticos, consiguiendo una recuperación de energía en forma de biogás. Sin embargo, la realización y estabilidad de los procesos de AD son sensibles a múltiples factores ambientales incluidos el pH, temperatura, la presencia de macro y micronutrientes, así como de inhibidores. (Lu et al., 2018).

La AD es un proceso bioquímico tecnológico para el tratamiento de sustratos orgánicos como efluentes industriales, aguas residuales, residuos de animales y sustratos sólidos. Este incluye la degradación y estabilización de residuos orgánicos complejos por un consorcio de microorganismos convirtiéndose en energía limpia como biogás que puede ser utilizado en remplazo de las fuentes de energía fósil. (Raposo et al., 2011).

La digestión anaerobia es un proceso biológico por el cual los lodos residuales, por acción de un grupo de bacterias y en ausencia de oxígeno, se descomponen en biogás y una mezcla de productos minerales. (Aguilar-Benitez & Blanco, 2018). La digestión anaerobia (AD) es un tratamiento biológico realizado bajo la ausencia de oxígeno para estabilizar la materia orgánica mientras se produce biogás, una mezcla formada principalmente por metano y dióxido de carbono. (Mata-Alvarez et al., 2014).

Ensayos de Biodegradabilidad Anaerobia

La biodegradación es el proceso mediante el cual las sustancias orgánicas se descomponen en compuestos más pequeños mediante los procesos metabólicos o enzimáticos de los organismos microbianos vivos. (Lagad et al., 2012).

Los ensayos de biodegradabilidad anaerobia son usados para establecer la capacidad de un residuo a ser degradado, para determinar el máximo potencial de metano y también para la determinación de la tasa de biodegradabilidad en general.

La mayoría de estos métodos en la literatura se basan en el monitoreo de la producción de biogás. La producción de biogás puede ser medida como el incremento de volumen bajo una presión constante (métodos volumétricos), o la medida del incremento de presión bajo un volumen constante (métodos manométricos), o midiendo la formación de metano con la cromatografía de gases. (I. Angelidaki et al., 2006).

Los métodos existentes para la medición de biogás en reactores a escala están basados en la medida directa del volumen de biogás o su presión acumulada. A pesar de ser métodos simples, requiere de un intenso trabajo cuando se usan sistemas no automatizados y los sistemas automatizados son muy costosos. (Hafner et al., 2015).

Algunos diferentes ensayos han sido desarrollados en los últimos 20 años con una variedad de montajes experimentales. Además, existen diferencias considerables en los protocolos empleados. Los métodos reportados como estándares se pueden dividir en dos grupos: aquellos que fueron diseñados para abordar la definición de biodegradabilidad anaerobia de compuestos químicos o plásticos y aquellos que pretenden calcular la biodegradabilidad final de sustratos orgánicos complejos y la producción de biogás. (I. Angelidaki et al., 2006).

Actividad Metanogénica Específica

La actividad metanogénica o AME por sus siglas, hace parte de los bioensayos anaerobios, realizados con el fin de cuantificar la máxima capacidad de producción de metano producida por un grupo de microorganismos que se encuentran en lodos anaerobios y condiciones controladas de laboratorio. Es una herramienta que evalúa el comportamiento de la biomasa contaminada y determina la carga orgánica máxima que puede aplicarse a un sistema. (Torres & Pérez, 2010).

La actividad metanogénica es un aspecto importante en el monitoreo de la población de arqueas metanogénicas presentes en el reactor biológico, razón por la cual se considera una herramienta de control y operación de los reactores. El conocimiento de la AME de un lodo permite conocer la capacidad máxima de remoción de DQO y por consiguiente la carga orgánica máxima que puede ser aplicada sin correr el riesgo de desbalancear el equilibrio del proceso anaerobio.

El ensayo AME considera diferentes parámetros como: el inóculo que corresponde al lodo, el tipo de sustrato, que puede ser un agua residual de un tipo en específico o soluciones de ácidos orgánicos como el ácido acético, el propiónico o el butírico, según lo que se pretenda identificar con el ensayo y en algunas metodologías la solución de nutrientes, que es una mezcla de diferentes compuestos que ayudan a la alimentación de los microorganismos presentes en el inóculo.

La actividad Metanogénica específica (AME), determina la capacidad de producción de metano del lodo para un sustrato específico en el nivel de concentración donde la disponibilidad de sustrato no es un factor limitante. (Hussain & Dubey, 2014). La prueba AME puede ser utilizada para delinear las condiciones operativas del sistema, así como un parámetro para evaluar el desempeño del sistema al brindar una mejor comprensión del comportamiento y estabilidad del sistema. (Hussain & Dubey, 2017).

6. METODOLOGÍA

En la Figura 1 se muestra la metodología general de este trabajo.

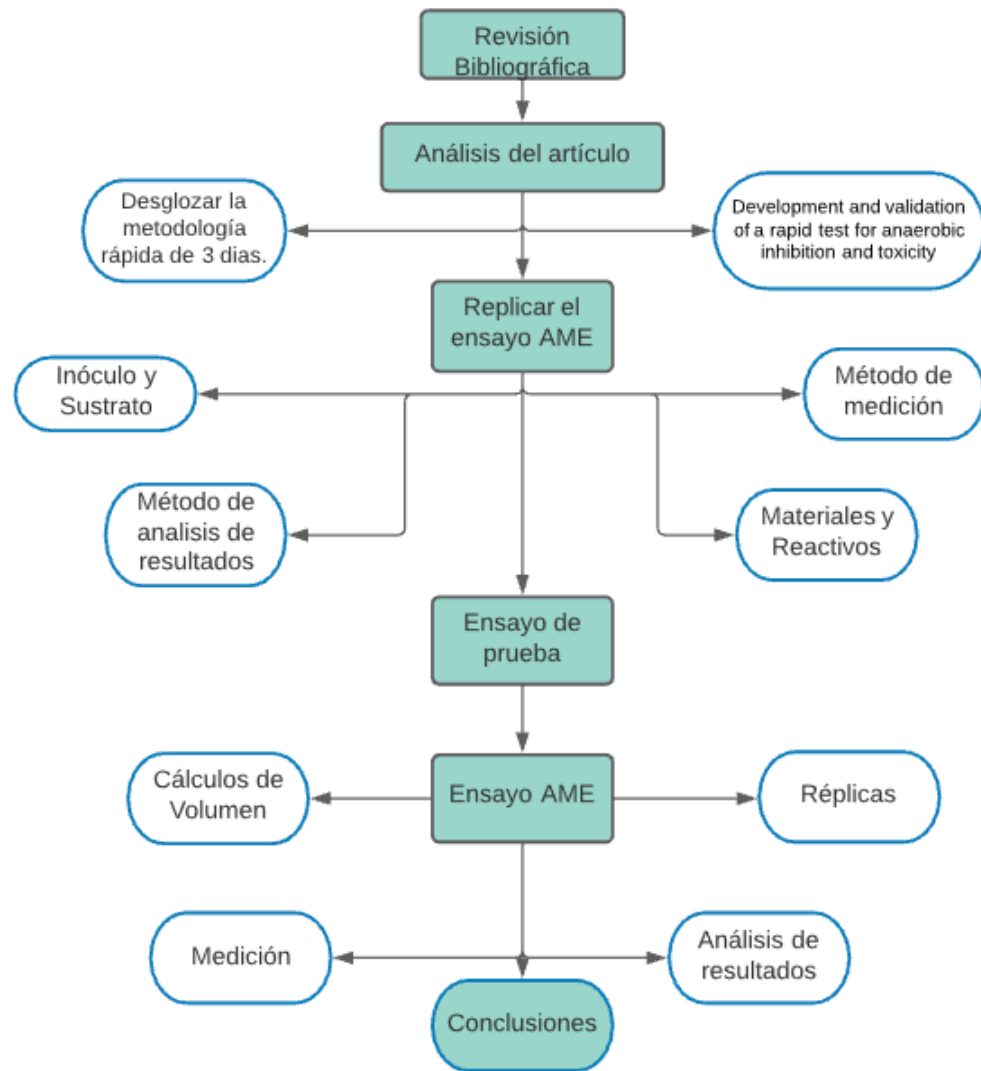


Figura 1. Metodología de trabajo

7. DISEÑO EXPERIMENTAL

a. Características y preparación del inóculo

La muestra de lodo anaerobio utilizado en este ensayo fue obtenida del biodigestor anaerobio de la planta de tratamiento de aguas residuales de una industria de bebidas no alcohólicas, ubicada en la ciudad de Bogotá, Colombia.

En la PTAR de la fábrica se reciben los residuos de las tres líneas de producción: jugos, gaseosas y desperfectos, esta última línea corresponde al agua cruda resultante de los procesos de fabricación que no cumplen los estándares requeridos para la distribución. Los residuos resultantes de estas tres líneas se mezclan en los denominados tanques clarificadores que reciben un caudal promedio de 13 L/s. Posteriormente el agua llega a un tanque homogenizador de 285 m³ y con un tiempo de detención hidráulica de 7 h.

Luego de estos tratamientos, el agua residual entra en el reactor anaerobio de donde se obtuvieron las muestras que posteriormente fueron reservadas y llevadas al laboratorio para su caracterización y preparación. Se tomó una muestra de lodo de 1 litro para cada uno de los experimentos, correspondiente a los meses de Octubre de 2019 para el experimento 1 y Febrero de 2020 para el experimento 2.

La muestra de lodo obtenida se caracteriza por ser lodo granular, difícil de tratar debido a su actividad altamente inestable, además de esto se puede diferenciar las impurezas del lodo, ver en la figura 1, por lo cual se realizó una limpieza previa al ensayo, en donde se deja decantar la muestra durante unos segundos con el fin de eliminar las impurezas del lodo y así obtener una muestra representativa.



Figura 2. Muestra de inóculo sin preparar

La preparación del inóculo se hace siguiendo las recomendaciones de (Astals et al., 2015) que consisten en obtener una concentración de inóculo de 10gSTV/L por lo que se debe hacer una dilución de la muestra inicial hasta llegar a este valor. La dilución puede hacerse con agua destilada o con el residuo líquido obtenido en el biodigestor anaerobio. Una vez realizada la concentración exigida, se deja la muestra en condiciones de ensayo ($T= 37\pm 1^{\circ}\text{C}$) durante 24 horas previas al inicio del ensayo con el fin de lograr una adaptación del inóculo.

b. Montaje del ensayo AME

El ensayo de actividad metanogénica específica (AME), se realizó en botellas de suero de 100 ml a condiciones mesofílicas. Para realizar la digestión anaerobia se utilizó un volumen de trabajo de 67 ml en cada botella dejando así un headspace de 33 ml correspondiente a 1/3 de la capacidad total del reactor, estos volúmenes pueden variar dependiendo del tamaño de botella a utilizar.

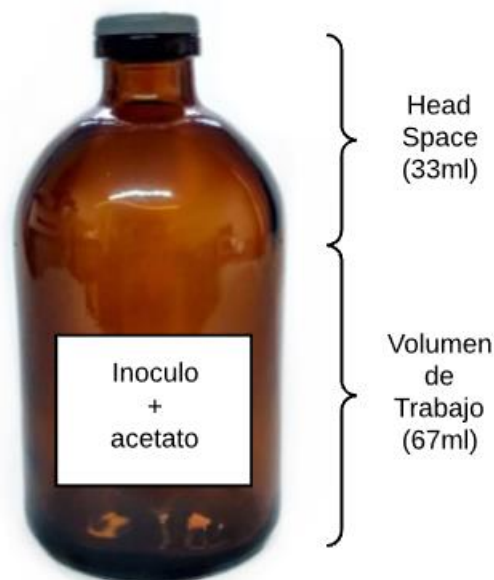


Figura 3. Esquema del reactor de ensayo

Posteriormente se calcula el volumen de sustrato el cual depende de la relación de inóculo sustrato que se busque y del volumen de mezcla o de trabajo.

$$Vol\ sustrato = \frac{2g/l\ CH_3COO * Vol\ mezcla}{200g/l\ CH_3COO} \quad Ec\ 1.$$

Y finalmente se calcula el volumen de inóculo de la diferencia entre el volumen de mezcla y el volumen de sustrato.

$$Vol\ inoculo = Vol\ mezcla - Vol\ sustrato \quad Ec\ 2.$$

Obteniendo un volumen de inóculo de 67 ml en los reactores de blanco y 66.33 ml en los reactores de ensayo.

Una vez llenados los frascos de ensayo se purgan con el gas de arrastre el cual fue una mezcla estándar de N_2CO_2 durante 1 minuto, para garantizar condiciones anaerobias. Posteriormente se ensambla el montaje en una cámara de incubación a una temperatura de 37 ± 1 °C.

La producción y composición del biogás fue determinada a partir del método volumétrico de desplazamiento de gases según lo recomendado en (Torres & Pérez, 2010). La producción de metano se obtuvo mediante el desplazamiento volumétrico

de una solución de Hidróxido de Sodio (NaOH) 1N y expresado en gramos de la demanda química de oxígeno (gDQO) bajo condiciones estándar (0°C, 1bar).

Se realizó agitación manual del reactor durante 30 segundos previo a la toma del volumen desplazado. Los experimentos se detuvieron a los 3 días del inicio del montaje aproximadamente según lo descrito en (Astals et al., 2015) ya que, a pesar de no haber finalizado la producción de biogás, este tiempo es suficiente para que la gráfica de producción acumulada y tiempo de operación refleje una pendiente significativa para el cálculo de la AME. Los reactores fueron caracterizados con ensayos de demanda química de oxígeno (DQO), Alcalinidad parcial (AP) y pH.

c. Determinación de la fuente de carbono

La concentración inicial de la fuente de carbono fue tomada según lo sugerido por (Astals et al., 2015) en donde se demuestra que la concentración óptima es de 2g Ac L-1 representado en acetato de sodio para una concentración de inóculo de 10 gSTV/L. Esta relación de inóculo/sustrato debe mantenerse sin importar el volumen de muestra.

d. Análisis de Resultados

Se realizaron dos ensayos AME denominados experimento 1 y experimento 2 en los cuales solo se diferencia el día de toma de muestra y de realización del ensayo. Cada uno de los experimentos consta de 5 reactores, 2 correspondientes a los blancos, necesarios para calcular la producción endógena de metano, y 3 reactores de ensayo AME.

Los valores de AME fueron determinados como la pendiente de la gráfica de volumen acumulado de metano (eje y) y tiempo (eje x), aplicando un ajuste de regresión lineal según lo recomendado en (Astals et al., 2015).

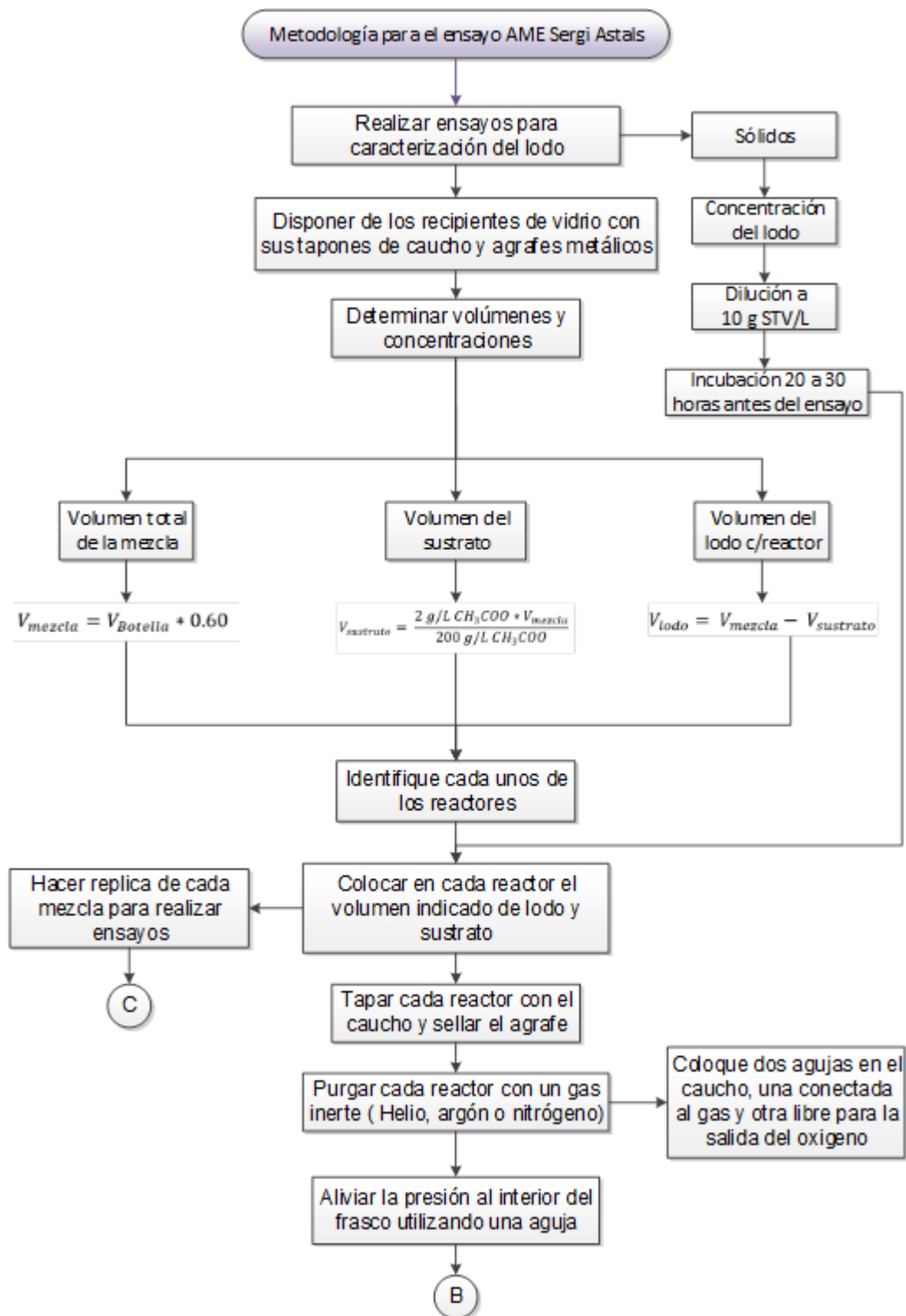
$$AME, \frac{gDQO}{gSTV} \cdot d = \frac{dV_{CH_4}}{STV} \cdot d \quad Ec 3.$$

En donde;

$\frac{dV_{CH_4}}{dt}$: pendiente de la curva de producción de metano expresada en ml de CH₄/L.

STV: masa de lodo inicial en cada reactor, expresado en, g.

Metodología AME



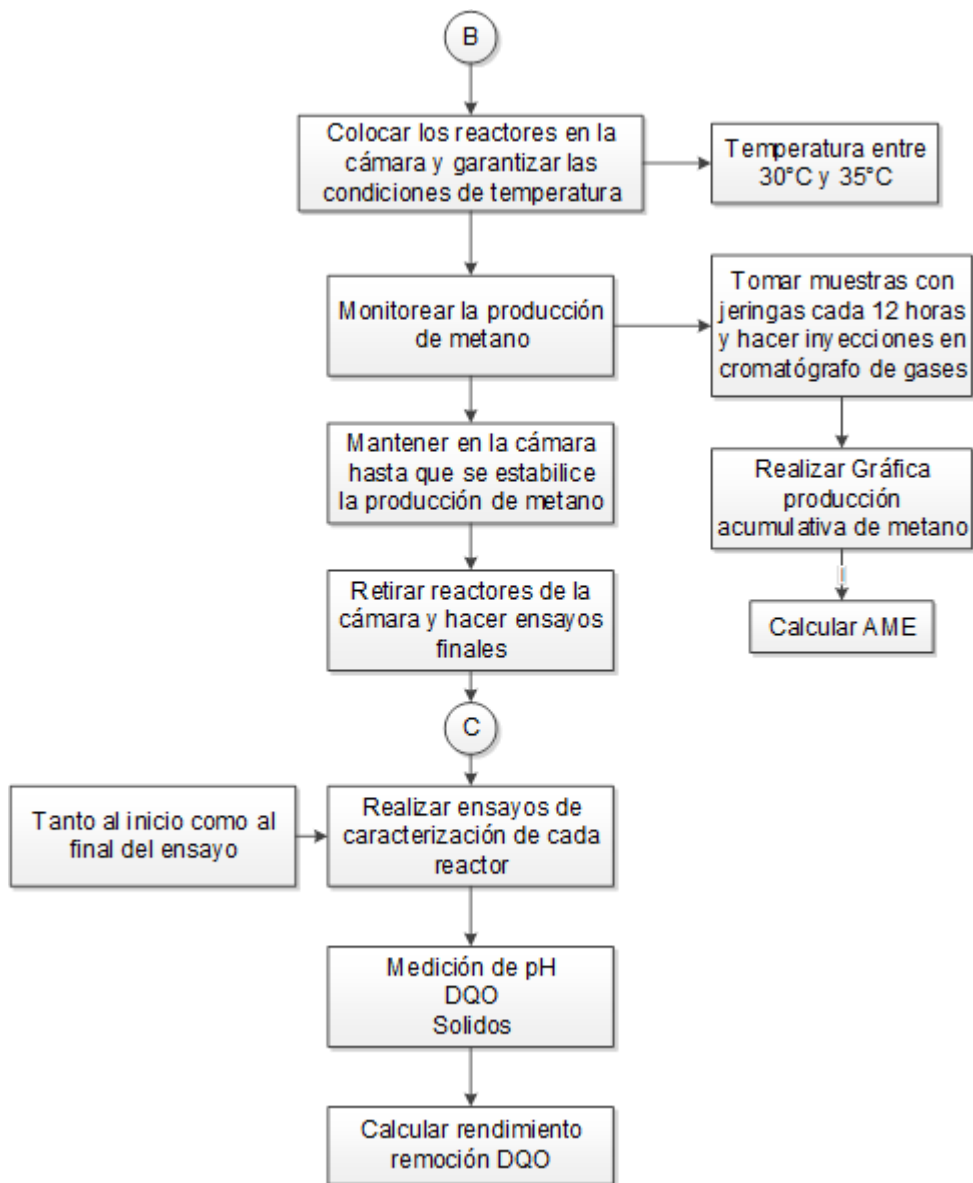


Figura 4. Diagrama de flujo de la metodología AME

Para la obtención de resultados se necesita de la réplica de este ensayo en duplicado.

Cada montaje experimental consta de la preparación de 2 muestras de blanco y tres muestras de ensayo. Estos 5 reactores son analizados cada 12 horas durante 3 días. Para el control de las condiciones en los reactores, se realizan los ensayos de pH, DQO, Alcalinidad y AGV's. Estos ensayos se efectúan antes y después del montaje de cada reactor.

Para la medición de los ensayos de control se siguieron los métodos establecidos en el Standard Methods y en el Manual para el análisis de aguas residuales y lodos de la Universidad Militar Nueva Granada.

Los ensayos de pH, DQO, Alcalinidad y AGV's se aplicaron al inicio y al final del ensayo AME.

- pH: Se debe medir para cada uno de los reactores analizados. Se realizará siguiendo el Standard Methods método 4500 -H.
- DQO: cada reactor se deben tomar una muestra y una réplica. Se utilizará el espectrofotómetro DR 2800 siguiendo el método N° 5220 – rango medio 0-1000 mg/l y el método N° 5220 – rango alto 1000 – 5000 mg/l del Manual para el análisis de aguas residuales y lodos de la Universidad Militar Nueva Granada.
- Alcalinidad y AGV's: Se medirá una muestra de los blancos y una muestra de los reactores de ensayo. Se aplicará siguiendo el método N° 2320 del Manual para el análisis de aguas residuales y lodos de la Universidad Militar Nueva Granada.

8 RESULTADOS Y DISCUSIONES

Experimento 1

En la Figura 5 se presenta la gráfica de producción acumulada de metano vs tiempo aplicada a la media de las réplicas, así como a las muestras de blanco del experimento 1.

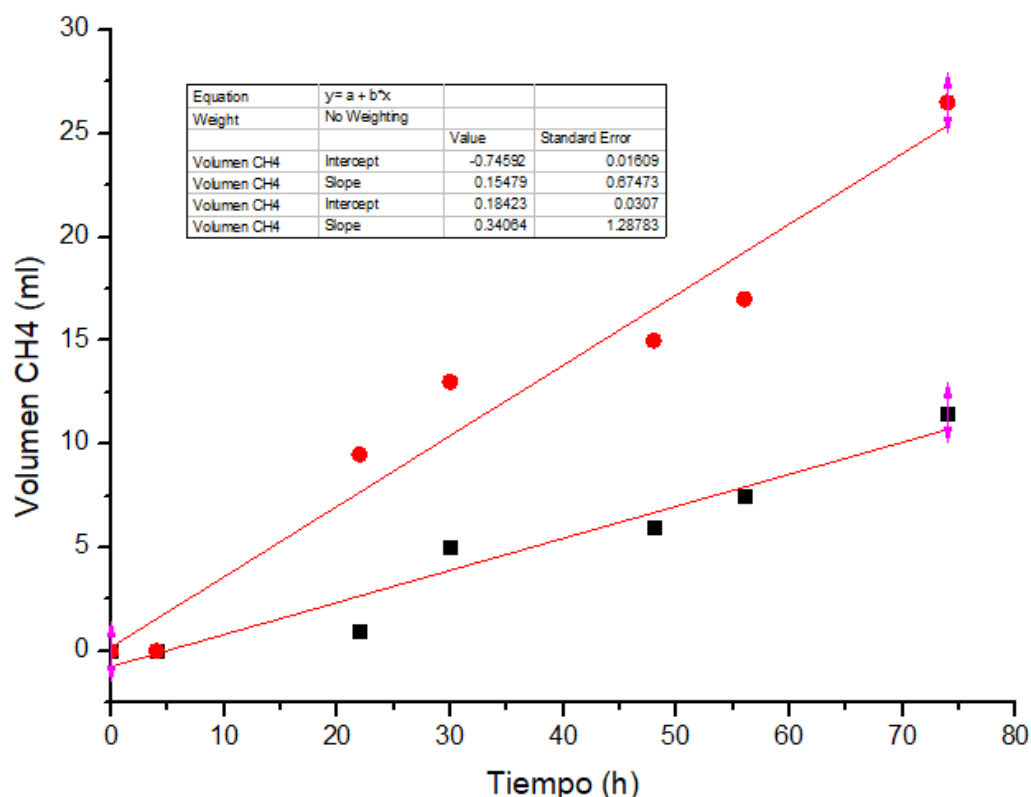


Figura 5. Producción acumulada de metano vs Tiempo
 Experimento 1
 (●)Replicas; (■) Blanco

Se aprecia un crecimiento constante en la actividad metanogénica posterior a las primeras 4 horas. Dentro de las 74 horas analizadas la actividad metanogénica no se estabiliza lo que refleja que los datos se encuentran en la franja de crecimiento exponencial del ensayo. Las mayores actividades se presentaron entre las horas 4 y 22 y las horas 56 y 74 en donde se presentó un desplazamiento de casi 10 ml de NaOH.

La producción de metano alcanza un máximo de 26.5 ml de NaOH desplazado, lo que refleja un valor de AME total de 0.015 gDQO/gSTV.

La Tabla 1 presenta el resultado de la actividad metanogénica específica del experimento 1 en donde se evidencia que la réplica 1 varía en diferencia con las réplicas 2 y 3 por lo que se omitió para realizar el cálculo de la media. La mayor actividad metanogénica, por ende, se presencié en la réplica 3 con un valor de AME neto (es decir, sin contar con la producción endógena) de 0.32 gDQO/gSTV y en donde se obtuvo una remoción del 93.8 % de DQO. El sustrato se consumió casi por completo y se esperaría que la remoción de DQO fuera completa si el experimento se alargara en duración.

Tabla 1. Resultados Experimento 1

Reactores	AME (gDQO/gSTV)	Remoción DQO (%)
Blanco 1	0,012	45,0
Blanco 2	0,016	54,3
Réplica 1	0,034	95,0
Réplica 2	0,030	92,3
Réplica 3	0,032	93,8

Los valores de pH evaluados al inicio y final del ensayo no presentaron variaciones significativas fluctuando entre las 7 y 8 unidades tanto para las réplicas de blanco como para los reactores. La alcalinidad parcial presentó una disminución en las réplicas de blanco llegando a un valor mínimo de 325 mg/L, mientras que en los reactores presentó un aumento al final del ensayo con un máximo de 1000 mg/L.

Experimento 2

En la Figura 6 se muestra la producción acumulada de metano de la media de datos obtenidos en el experimento 2.

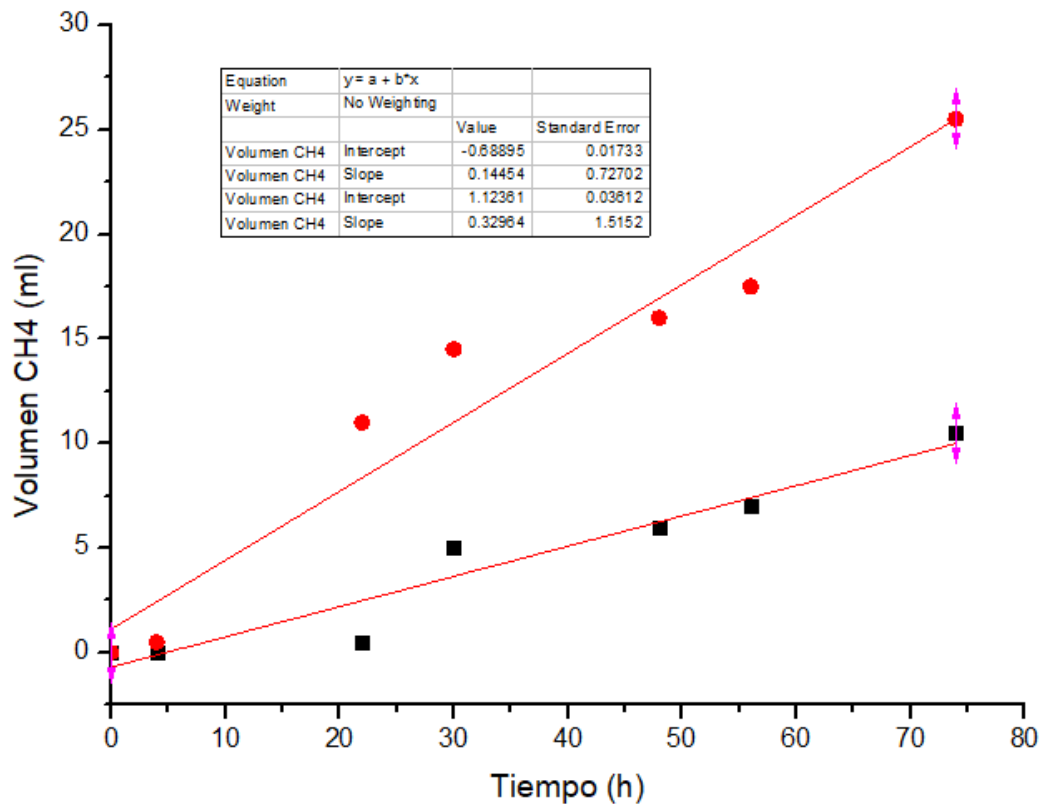


Figura 6. Producción acumulada de metano vs Tiempo
 Experimento 2
 (●) Réplicas; (■) Blanco

Se aprecia un ajuste a la regresión lineal durante las 74 horas de ensayo en donde el crecimiento de la actividad metanogénica es constante. Entre las 4 y las 22 horas existe el mayor aumento en la actividad con más de 10 ml de NaOH desplazados. La producción metanogénica alcanzó un máximo de 25.5 ml reflejados en un valor de AME de 0.014 gDQO/gSTV.

La Tabla 2 presenta el resultado del ensayo de actividad metanogénica específica del experimento 2, se observa que la réplica 2 difiere en relación con la 1 y la 3 por lo que se omite en el cálculo de la media. La mayor actividad metanogénica se presentó en la réplica 3 con una AME de 0.032 gDQO/L y una remoción de casi 94 % de DQO.

Tabla 2. Resultados Experimento 2

Reactores	AME (gDQO/gSTV)	Remoción DQO (%)
Blanco 1	0,012	61,5
Blanco 2	0,014	61,2
Réplica 1	0,028	93,8
Réplica 2	0,020	93,2
Réplica 3	0,032	93,9

Las condiciones evaluadas al final del ensayo no presentaron variaciones significativas, los valores de pH variaron entre las 7.5 y 8 unidades. La alcalinidad parcial fue mayor al inicio de este ensayo con valores para Blanco y AME de 1262 mg/L y 1515mg/L respectivamente, su comportamiento al final del ensayo fue similar llegando a un mínimo para blanco de 1005 mg/L y un máximo en los reactores de 2730 mg/L.

La comparación de datos se realizó basándose en los datos presentados en (Astals et al., 2015) considerando que se cumplen los mismos parámetros de operación así como la concentración de inóculo y sustrato en el ensayo. Los valores de AME en los experimentos 1 y 2 no superan los 0.015 gDQO/gSTV lo que significan valores bajos de actividad metanogénica en comparación a los valores comparativos que alcanzan valores de hasta 0.14 g COD/gVS. Los valores bajos de AME indican que la capacidad metanogénica del lodo analizado es baja, lo que puede deberse al origen del lodo o a errores en el diseño experimental o toma de datos. Al analizar las características del lodo se evidencia que tanto el origen como la composición del lodo son diferentes en relación a lo evaluado en (Astals et al., 2015) por lo que puede influir en la variación de los datos.

Se analizó la composición del biogás obtenido en el digester anaerobio de la fábrica de bebidas y se encontró que existe una relación de 60% CO₂ y 40% CH₄ en su máxima operación, pero para las fechas que fue realizado el ensayo, las condiciones operativas del biodigester no eran estables por lo que puede afectar los resultados del ensayo.

Por otra parte, la tendencia del crecimiento en la producción acumulada de metano coincide con lo propuesto por (Astals et al., 2015) en donde el modelo se ajusta a una regresión lineal y alcanza su máxima pendiente en un intervalo de 12 horas luego de iniciado el ensayo. La degradación en términos de DQO también fue correcta ya que se demuestra que al considerar como sustrato una concentración

de 2g Ac L-1, esta ayuda a que el proceso de digestión anaerobia se acelere y se logre una disminución de más del 90% en los primeros 3 días.

La gran cantidad de variables que presenta este ensayo, así como la dificultad general que existe en los ensayos de biodegradabilidad anaerobia hace que sea complicado la comparación de los datos obtenidos. No obstante, el comportamiento y tendencia de los datos presenta una correlación válida para tener en cuenta en futuras investigaciones. Con base en este trabajo no se puede confirmar la estandarización del método de actividad metanogénica específica por lo que se hace necesario ampliar la investigación de este campo, variando tanto las condiciones de ensayo, como los tipos de muestra y los métodos de medición.

9 PRINCIPALES HALLAZGOS

Durante la operación de reactores anaerobios se recomienda el seguimiento de diferentes parámetros como son el monitoreo de la estabilidad y eficiencia del reactor, estos se analizan a través de procesos fisicoquímicos o el uso de herramientas exteriores. El ensayo AME es utilizado para monitorear la calidad del inóculo, es decir la capacidad de asimilación que tienen las bacterias metanogénicas frente a una carga orgánica.

En este sentido, los valores bajos de AME muestran que el grupo de microorganismos analizado no soporta adecuadamente la carga orgánica a la que está expuesto, por lo que a pesar de acelerar el proceso metanogénico con un sustrato preferencial, estas bacterias no son capaces de asimilar la carga. La operación del reactor se verá afectada debido a que la remoción de la carga contaminante no será la esperada. El biodigestor anaerobio deberá ampliar la cantidad de microorganismos utilizados, así como mejorar su calidad. Así mismo, es necesario analizar la posible presencia de inhibidores en el agua que puedan producir este efecto en los grupos bacterianos y evaluar la actividad metanogénica de manera periódica.

10 CONCLUSIONES

Se estudió la actividad metanogénica específica de un lodo anaerobio granular proveniente de una planta de tratamiento de bebidas no alcohólicas empleando el método rápido de 3 días. Se encontró que la actividad metanogénica fue baja con un valor máximo de 0.015 gDQO/gSTV debido al origen del lodo y errores en el montaje experimental. Se evidenció que, bajo un tiempo experimental de 75 horas, el sustrato puede ser consumido en hasta un 94% mientras que la máxima producción de metano bajo condiciones de ensayo se presenta en las primeras 20 horas. Es necesario ampliar la investigación y la aplicación de este método bajo

diferentes variables para considerar una estandarización del ensayo AME y promover su aplicación en el territorio colombiano.

11 RECOMENDACIONES

Se recomienda investigar acerca de los diferentes ensayos de biodegradabilidad anaerobia como el ensayo de biometanización (BMP) que son complementarios al ensayo de actividad metanogénica específica. Además, se recomienda implementar las nuevas tecnologías para el análisis de producción metanogénica relacionadas al uso del cromatógrafo de gases para evitar errores en la toma de datos producto de metodologías inconsistentes.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilar-Benitez, I., & Blanco, P. A. (2018). Methane recovery and reduction of greenhouse gas emissions: WWTP Nuevo Laredo, Tamaulipas, Mexico. *Tecnología y Ciencias Del Agua*, 9(2), 86–111. <https://doi.org/10.24850/j-tyca-2018-02-04>
- Angelidaki, I., Alves, M., Bolzonella, D., Borzacconi, L., Campos, J., Guwy, a., Kalyuzhnyi, S., Jencek, P., & Van Lier, J. (2006). Anaerobic Biodegradation , Activity and Inhibition Biogas potential Bio- degradability Activity tests Toxicity tests. *Anaerobic Biodegradation, Activity and Inhibition (ABAI) Task Group Meeting 9 to 10 October 2006, October*.
- Angelidaki, I., Alves, M., Bolzonella, D., Borzacconi, L., Campos, J. L., Guwy, A. J., Kalyuzhnyi, S., Jenicek, P., & Van Lier, J. B. (2009). Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: A proposed protocol for batch assays. *Water Science and Technology*, 59(5), 927–934. <https://doi.org/10.2166/wst.2009.040>
- Angelidaki, I., & Sanders, W. (2004). Assessment of the anaerobic biodegradability of macropollutants. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 3(2), 117–129. <https://doi.org/10.1007/s11157-004-2502-3>
- Astals, S., Batstone, D. J., Tait, S., & Jensen, P. D. (2015). Development and validation of a rapid test for anaerobic inhibition and toxicity. *Water Research*, 81, 208–215. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.05.063>
- Babae, A., & Shayegan, J. (2011). Effect of Organic Loading Rates (OLR) on Production of Methane from Anaerobic Digestion of Vegetables Waste. *Proceedings of the World Renewable Energy Congress – Sweden, 8–13 May, 2011, Linköping, Sweden*, 57, 411–417. <https://doi.org/10.3384/ecp11057411>
- Buhlmann, C. H., Mickan, B. S., Jenkins, S. N., Tait, S., Kahandawala, T. K. A., & Bahri, P. A. (2019). Ammonia stress on a resilient mesophilic anaerobic

- inoculum: Methane production, microbial community, and putative metabolic pathways. *Bioresource Technology*, 275(December), 70–77. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.12.012>
- Castro, L., Escalante, H., Jaimes-Estévez, J., Díaz, L. J., Vecino, K., Rojas, G., & Mantilla, L. (2017). Low cost digester monitoring under realistic conditions: Rural use of biogas and digestate quality. *Bioresource Technology*, 239(October), 311–317. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.05.035>
- Castro, Liliana. (2018). *Del Digerido de un Biodigestor Rural a la Estruvita Luisa Jasbleidy Díaz Moyano Kenia Paola Vecino Gutierrez Trabajo de Grado Para Optar el Título de Ingeniero Químico Directores Humberto Escalante Hernández Ingeniero Químico , PhD Liliana Del Pilar Castr* (Issue June).
- Hafner, S. D., Rennuit, C., Triolo, J. M., & Richards, B. K. (2015). Validation of a simple gravimetric method for measuring biogas production in laboratory experiments. *Biomass and Bioenergy*, 83, 297–301. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2015.10.003>
- Hussain, A., & Dubey, S. K. (2014). Specific methanogenic activity test for anaerobic treatment of phenolic wastewater. *Desalination and Water Treatment*, 52(37–39), 7015–7025. <https://doi.org/10.1080/19443994.2013.823116>
- Hussain, A., & Dubey, S. K. (2017). Specific methanogenic activity test for anaerobic degradation of influents. *Applied Water Science*, 7(2), 535–542. <https://doi.org/10.1007/s13201-015-0305-z>
- Justesen, C. G., Astals, S., Mortensen, J. R., Thorsen, R., Koch, K., Weinrich, S., Triolo, J. M., & Hafner, S. D. (2019). Development and validation of a low-cost gas density method for measuring biochemical methane potential (BMP). *Water (Switzerland)*, 11(12). <https://doi.org/10.3390/W11122431>
- Lagad, M. ., Kale, V. ., & Shreedevi, H. (2012). *Assessment of anaerobic biodegradability. March.*
- Lee, J., Shin, S. G., Han, G., Koo, T., & Hwang, S. (2017). Bacteria and archaea communities in full-scale thermophilic and mesophilic anaerobic digesters treating food wastewater: Key process parameters and microbial indicators of process instability. *Bioresource Technology*, 245(June), 689–697. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.015>
- Lesteur, M., Bellon-Maurel, V., Gonzalez, C., Latrille, E., Roger, J. M., Junqua, G., & Steyer, J. P. (2010). Alternative methods for determining anaerobic biodegradability: A review. *Process Biochemistry*, 45(4), 431–440. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2009.11.018>
- Lu, Y., Liaquat, R., Astals, S., Jensen, P. D., Batstone, D. J., & Tait, S. (2018). Relationship between microbial community, operational factors and ammonia inhibition resilience in anaerobic digesters at low and moderate ammonia background concentrations. *New Biotechnology*, 44(February), 23–30. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2018.02.013>
- Mata-Alvarez, J., Dosta, J., Romero-Güiza, M. S., Fonoll, X., Peces, M., & Astals, S. (2014). A critical review on anaerobic co-digestion achievements between 2010 and 2013. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 36(August), 412–427. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.04.039>

- Rocha, M. A. G. (2003). *Estudos da atividade metanogênica de lodos e da biodegradabilidade anaeróbia de efluentes de indústrias de bebidas*.
- Strömberg, S., Nistor, M., & Liu, J. (2014). Towards eliminating systematic errors caused by the experimental conditions in Biochemical Methane Potential (BMP) tests. *Waste Management*, 34(11), 1939–1948. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2014.07.018>
- Torres, P., & Pérez, A. (2010). Actividad Metanogénica Específica: Una Herramienta De Control Y Optimización De Sistemas De Tratamiento Anaerobio De Aguas Residuales. *Ingeniería de Recursos Naturales y Del Ambiente*, 9, 5–14.