

Comparación de la producción de CH₄ por sustrato fácilmente hidrolizable vs sustrato metanogénico

L. Márquez Benavides^{1*}, J.M. Sánchez-Yáñez², R. Alfaro Cuevas-Villanueva³ y R. Cortés-Martínez⁴

¹Laboratorio de Residuos Sólidos y Medio Ambiente. Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales. Av. San Juanito Itzicuaró S/N, Col. San Juanito Itzicuaró. UMSNH.

²Microbiología Ambiental, Edificio B-3. CU, IIQB-UMSNH.

³Laboratorio de Espectrofotometría de Absorción Atómica. Instituto de Investigaciones Químico Biológicas. Edificio A1'. Ciudad Universitaria, FJ. Mujica S/N. C.P. 58030. UMSNH.

⁴Facultad de Químico Farmacobiología. Tzintzuntzan 173. Colonia Matamoros. C.P. 58240. UMSNH.

Resumen

En la digestión anaerobia de residuos sólidos urbanos se reporta una baja producción de lodos residuales y de biogás como un combustible alternativo. El objetivo de este trabajo fue comparar el uso de dos sustratos para la producción de metano (CH₄): El acetato de sodio metanogénico y la sacarosa fácilmente hidrolizable. Para ello se colocaron excretas vacunas frescas y suelo de jardín en botellas de vidrio de 250 mL. Los lodos residuales se sedimentaron y el sobrenadante se uso para disolver diferentes concentraciones de acetato de sodio y sacarosa, las botellas se incubaron a 35 °C, esta prueba se realizó por triplicado y posteriormente por cromatografía de gases se cuantificó la concentración de biogás y de CH₄ generados. Los resultados mostraron que la producción de CH₄ fue mayor a diversos niveles de concentración de acetato de sodio, que con la sacarosa, dado que las bacterias metanogénicas lo incorporaron eficazmente en su metabolismo al minimizar las transformaciones bioquímicas requeridas en la síntesis de este gas. Por lo que se concluye que el ácido acético es un sustrato adecuado para estimular a la microbiota anaeróbica en lodos para la generación de CH₄, aunque es necesario realizar más investigación al respecto que sustenten estos resultados.

Palabras clave: ácido orgánico, disacárido, anaerobiosis, bacterias metanogénicas.

Introducción

La digestión anaerobia (DA) de alta tasa es un proceso atractivo para el tratamiento de residuos. Ello se debe a que el proceso reporta una baja producción de lodos o biomasa residual, pero lo que lo hace realmente llamativo es la producción de biogás como un combustible alternativo (Batstone et al., 2002).

Convencionalmente, la DA se ha usado para tratar residuos líquidos con o sin sólidos suspendidos tales como excretas, aguas residuales domésticas o industriales, lodos de procesos de tratamiento biológicos o físico-químicos, etc. En función de la naturaleza química del sustrato, el esquema de biodegradación es complejo e involucra varios tipos de consorcios microbianos. Algunos de los intermediarios para la formación de metano se han identificado y estudiado desde al menos hace medio siglo (Wolin et al., 1963). Se sabe entonces que la DA incluye -dependiendo del autor-, 5 ó 7 fases, desde la hidrólisis del material que se digiere en monómeros y la transformación de éstos en ácidos orgánicos de cadena corta, hasta la producción de CH₄ por sustratos como: Ácido acético, CO₂, etanol, H₂, en otros (Gerardi, 2003).

En el caso de los sistemas de DA cuya aplicación se pretende orientar hacia usos domésticos o rurales, uno de los principales problemas que enfrenta esta tecnología es que son sistemas que necesitan una inversión considerable de tiempo para el manejo y mantenimiento apropiado, y que por eso se tornan frecuentemente en proyectos fallidos por razones ajenas al proceso biológico *per se*. De hecho, es común que en países en desarrollo los gobiernos

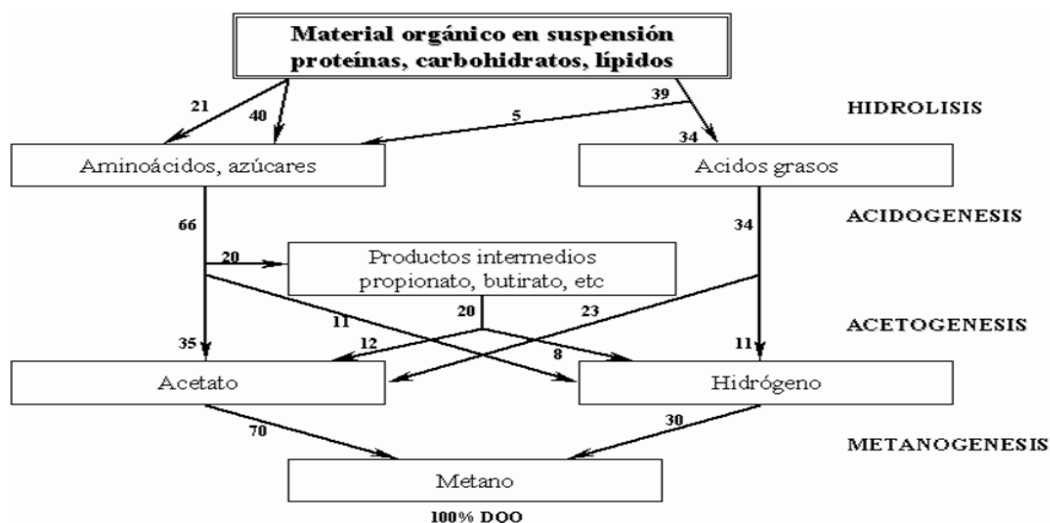
eroguen incentivos para la construcción de digestores a escala piloto pero que luego son abandonados (Ely, 2005).

Por otro lado, el montaje y operación de un digestor anaerobio a escala mediana o pequeña puede representar una solución de dos diferentes problemas. Primeramente, un digestor puede operarse con el objetivo primario de tratar una corriente de residuos, obteniendo un fertilizante o aditivo para suelos. La segunda perspectiva sería buscar primordialmente la generación de biogás, independientemente del material que se digiere. Es en esta segunda opción se busca proveer la DA con un sustrato que sea de fácil manejo en los términos de la suplementación al proceso. Sin embargo, esta es una cuestión que debe tratarse con cuidado, toda vez que la complejidad inherente de la DA la hace especialmente vulnerable a tres situaciones: i) La amplia disponibilidad de un sustrato fácilmente hidrolizable puede causar la acidificación del proceso y por ende en una disminución o anulación de la producción de biogás; ii) La suplementación de material de baja degradabilidad, y por supuesto, iii) su costo económico (Buckley y Wall, 2006).

Además, considerando que las rutas metabólicas que sigue la DA son complejas (**Figura 1**), es conveniente también estudiar la idoneidad del sustrato suplementado en términos de la fase metabólica objetivo (hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis, metanogénesis, etc.), es decir, es posible que el sistema sea mas eficaz con la adición de un sustrato fácilmente hidrolizable que con uno que sea directamente metanogénico.

✉*Autor de correspondencia: L. Márquez Benavides, e-mail: lmarquez@umich.mx

Figura 1. Fases metabólicas de la digestión anaerobia de sustratos complejos, en términos de reducción de demanda química de oxígeno (DQO)



El objetivo de esta investigación fue comparar la producción de metano al hacer uso de dos distintos sustratos, el acetato de sodio como sustrato directo para los consorcios metanogénicos y la sacarosa, como un sustrato de fácil hidrólisis que para bacterias acidogénicas. De manera adicional, también se comparó el uso de la adición del sustrato mediante disolución en H₂O (agua destilada) o sobrenadante de lodos de reactor anaerobio de flujo ascendente (RAFA).

Materiales y métodos

Obtención y preparación de materiales

En el mes de Julio de 2010 se obtuvieron 10 litros de lodos de un reactor RAFA (reactor anaerobio de flujo ascendente), de la planta tratadora de aguas residuales en Quiroga, Michoacán; 5 kg de excretas vacunas frescas y suelo para jardín (tierra de hoja, *Nutrigarden*^{MR}). Los materiales se transportaron al laboratorio y se almacenaron a 4°C. Los lodos residuales se sedimentaron en conos Imhoff durante 12 horas y se utilizó solo el sobrenadante.

Digestión en sustrato sólido

Se pesaron 60 g (base húmeda) de excreta, lodos y suelo. La mezcla (180g) se colocó en cada una de 39 botellas de vidrio de 250 mL. La **Tabla 1** muestra la concentración de los sustratos añadidos diluidos tanto en H₂O destilada como en lodo de RAFA. La adición de sustrato se realizó desde el día 0, 7, 14, 21 y 28. Después de la adición de sustrato cada botella fue sellada herméticamente con un tapón Suba-sealTM y sometida a un flujo de N₂ para desplazar el oxígeno. Las unidades experimentales se incubaron a 35°C y las pruebas se realizaron por triplicado.

Métodos analíticos

Se midieron sólidos totales (ST) y sólidos volátiles totales (STV) mediante el método gravimétrico de pérdida de peso por calentamiento a 105°C por 24 h y por calcinación a 550°C por 5 h, respectivamente. El biogás generado se midió por desplazamiento y el contenido de CH₄ se cuantificó 2 veces por semana utilizando un cromatógrafo de gases VARIAN CP

3800 con detector FID y una columna de acero inoxidable (2 m de longitud y 2 mm DI) empacada con HAYESEP Q 80-100 MESH. El flujo del gas acarreador N₂ fue de 30 ml/min, la temperatura del horno, inyector y detector fueron de 90, 200 y 210°C, respectivamente.

Resultados

El análisis de la mezcla inicial de suelo, lodos y excreta vacuna mostró una composición inicial de 51.69 gr de ST y 15.37 gr de STV. La producción de biogás acumulada se muestra en la **Figura 2**. Se obtuvo una producción máxima de CH₄ de hasta 1.5 mol CH₄/kg STV con la adición de acetato de Na (AcetNa)-160mM, usando ambos disolventes (H₂O_d y lodos). Sin embargo al agregar el AcetNa en el lodo se alcanzó una tasa de CH₄ similar con una concentración de 80mM.

Por otra parte, el uso de sacarosa+H₂O como sustrato fácilmente hidrolizable produjo la tasa de CH₄ mas baja, aunque la menor concentración de sacarosa +lodos genero una tasa de CH₄ semejante a la mayor concentración de Acet Na.

La **figura 3** muestra la producción biogás y su proporción en volumen de CH₄ para el caso de aquellas botellas que exhibieron el mejor resultado en el CH₄ acumulado. Después de la primera semana de experimentación la producción de

Tabla 1. Concentración de sustratos utilizados y solvente para disolución en la producción de biogás y CH₄

Sustrato	Concentración (mM)	Disolvente
Acetato de Sodio	40, 80, 160	H ₂ O destilada
Sacarosa	5, 10, 30	
Acetato de Sodio	40, 80, 160	Lodos RAFA
Sacarosa	5, 10, 30	
Control	H ₂ O destilada	

Acetato de Sodio (Golden Bell)
Sacarosa (Meyer).

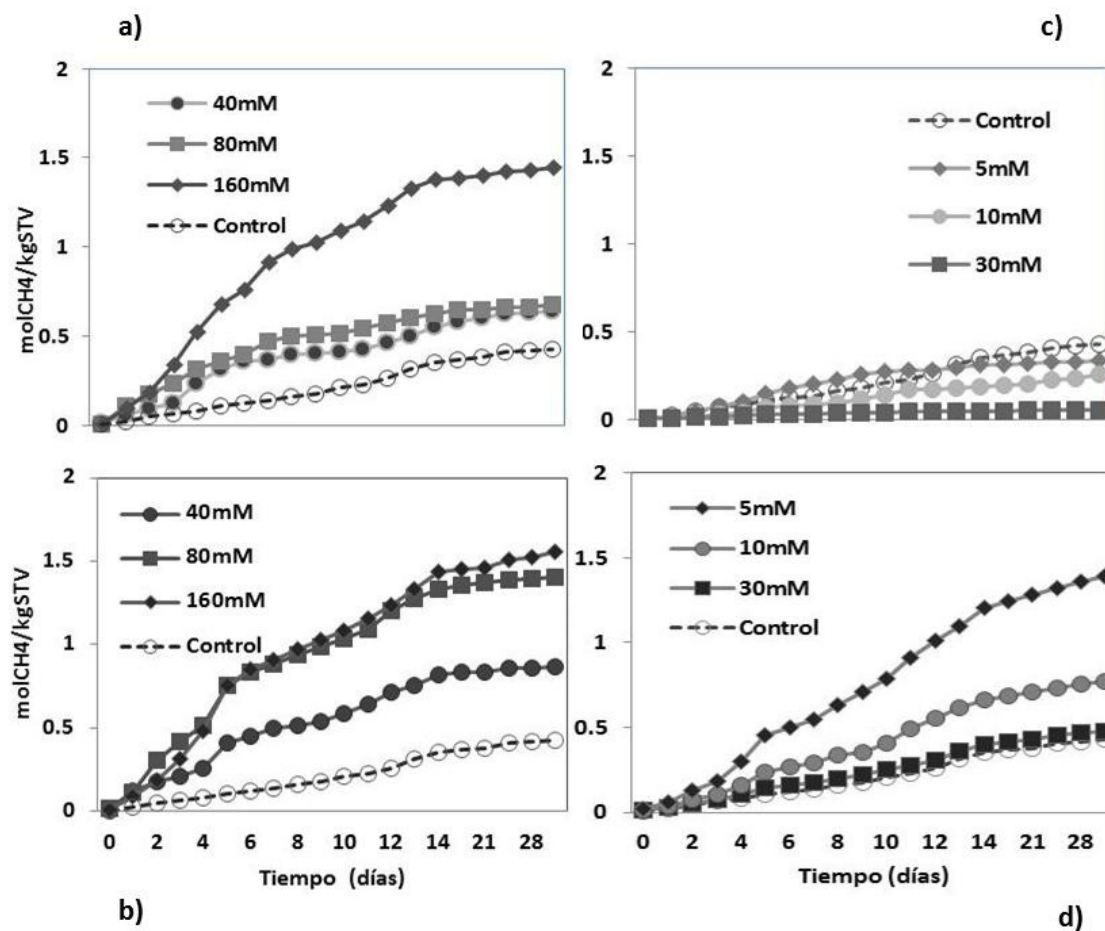


Figura 2. Producción de metano acumulada (mol CH₄/kgSTV). a) AcetNa + H₂O; b) AcetNa + lodos; c) Sacarosa + H₂O; d) Sacarosa + lodos

biogás fue semejante tanto en las botellas suplementadas con sustrato como las consideradas como control, a la que solo se le añadió agua destilada. Los resultados señalan que si bien la producción acumulada de CH₄ y de biogás comparables en las botellas mencionadas, la concentración porcentual de CH₄ no lo fue. El biogás de las botellas suplementadas con sacarosa 5mM + lodos mostraron que la proporción de CH₄ fue equiparable a las homologas del experimento control.

Discusión

En la **figura 2** se muestra que la producción de CH₄ fue mayor con la adición de AcetNa a diferentes niveles de concentración especialmente adicionado a lodos de RAFA. Es decir que este sustrato en lodos RAFA mejoró y amplió la diversidad y densidad de géneros bacterianos con capacidad de producir CH₄. Para la síntesis anaeróbica de este gas fue más fácil incorporar la sal del ácido acético en su metabolismo involucrado en su generación, lo que minimizó las transformaciones bioquímicas requeridas por este grupo microbiano en la producción de este gas. En cambio, con la adición de la sacarosa en lodos su catabolismo en los monosacáridos: Glucosa y fructosa para la posterior glucólisis no se observó la misma tasa de producción de biogás probablemente porque esta conversión requirió más tiempo y causó que una parte importante de este disacárido no se haya convertido en CH₄.

En la **figura 3** se muestra que la producción de CH₄ en el biogás de nuevo fue relativamente mayor con la adición de dos niveles de concentración de AcetNa: 80 mM adicionado a lodos y 160 mM + H₂O, en comparación con lo detectado con la sacarosa en lodos. De nuevo fue evidente que la adición de la sal del ácido acético en lodos fue rápidamente metabolizada por la microbiota anaeróbica en este material, comparado con el mayor tiempo que fue requerido para la transformación de la sacarosa en biogás y CH₄, dada la complejidad de las reacciones metabólicas involucradas en este tipo de digestión anaeróbica. Esto además fue soportado por el hecho de que las proporciones de CH₄:CO₂ fueron diferentes, de acuerdo al sustrato añadido. De hecho, algunos autores reportan que la producción de CH₄ a partir de AcetNa representa entre el 70-95% del CH₄ generado, mientras que el resto se sintetiza a partir de sustratos no acetilclásticos (Shigematsu y col., 2004).

Finalmente, a pesar de que los resultados señalan hacia el uso de AcetNa para la producción de biogás mejor que la adición de sacarosa, este resultado debe ser tomado con precaución. Estrada-Vázquez y col. (2001), realizaron una investigación de la actividad metanogénica específica acetilclástica en lodos anaerobios y gránulos de reactores UASB, y concluyeron que la adición de sacarosa como sustrato primario puede aumentar la resistencia a la exposición al oxígeno, principalmente por protección ejercida por los géneros de bacterias facultativas que

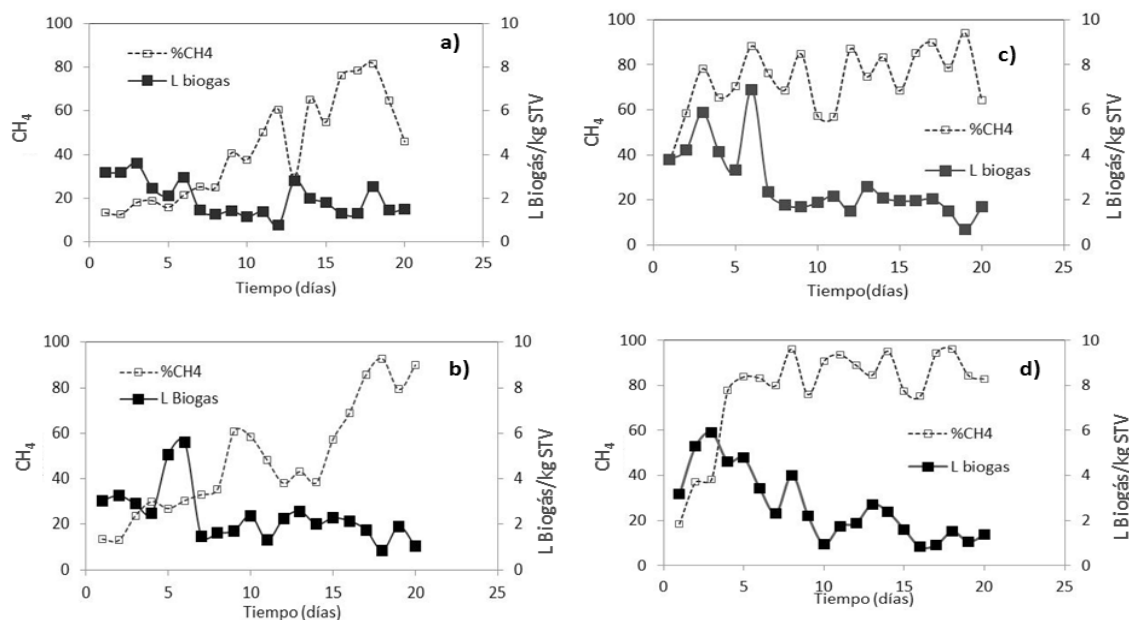
Comparación de la producción de CH₄ por sustrato fácilmente hidrolizable vs sustrato metanogénico

Figura 3. Comparación de la producción de litros de biogás y su contenido de CH₄ (% v/v) al suplementar con los siguientes sustratos: a) H₂O destilada (control); b) Sacarosa 5mM+Iodos; c) Acet Na 80 mM+Iodos; d) Acet Na 160 mM+H₂O.

reducen la concentración de oxígeno disuelto vía respiración aerobia heterótrofa. Este punto se considera de importancia en especial en reactores diseñados para uso doméstico o rural que tiene una mínima entrada de oxígeno al sistema.

Conclusiones

La sencillez química del AcetNa facilitó su rápida y eficaz asimilación para su conversión en CH₄, siendo además un compuesto de relativamente bajo costo y que permite una elevada tasa de producción de CH₄ en la digestión anaeróbica.

La adición de un sustrato de esta naturaleza química puede potenciar la producción de biogás y por ende metano, si se añade junto con una carga microbiana proveniente de un reactor RAFA.

Agradecimientos

Los autores agradecen el generoso financiamiento del proyecto CIC 5.15 de la Coordinación de la Investigación Científica (2010) para la realización de esta investigación. También se agradece el excelente apoyo técnico de Lilia Velasco Delijorge, Dulce Sánchez Orozco y Eduardo Baltierra Trejo.

Referencias

Batstone, D.J., Keller, J., Angelidaki, I., Kalyuzhnyi, S.V., Pavlostathis, S.G., Rozzi, A., Sanders, W.T.M., Siegrist, H. and Vavilin, V.A. (2002). The IWA Anaerobic Digestion Model No 1 (ADM1). *Water*

Science and Technology, 45(10): 65–73.

Buckley, M. and Wall, J. (2006). *Microbial Energy Conversion. A report from the American Academy of Microbiology. March 10-12, 2006*, San Francisco, California, USA.

Ely, M.D. (2005). *Analysis of renewable energy project implementation: biogas and improved cook stoves in the village of Chhaling*, Bhaktapur district, Nepal. Master in Science Thesis (In English), Michigan Technological University, USA.

Estrada-Vázquez, C., Hervé, M., KATO, T., Rodríguez-Vázquez, R. y Poggi Valardo, HM (2001). Resistencia a la Exposición al Oxígeno de Lodos Anaerobios Suspendidos. INCI. [online]. nov. 2001, vol.26, no.11 [citado 23 Agosto 2010], p.547-553. Disponible en la World Wide Web: <http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442001001100004&lng=es&nrm=iso>. ISSN 0378-1844.

Gerardi, M.H. (2003). *The microbiology of anaerobic digesters*. John Wiley & Sons, USA, ISBN 0-471-20693-8.

Shigematsu, T., Tang, Y., Kobayashi, T., Kawaguchi, H., Morimura, S., and Kida, K. (2004). Effect of Dilution Rate on Metabolic Pathway Shift between Aceticlastic and Nonaceticlastic Methanogenesis in Chemostat Cultivation. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(7): 4048–4052

Wolin, E.A.; Wolin, M.J.; and Wolfe, R.S. (1963). Formation of methane by bacterial extracts. *The journal of biological chemistry*. 238(8):2882-2886.