



Universidad de Sevilla. Escuela Politécnica Superior



Trabajo Fin de Grado en Ingeniería Química Industrial

**Ensayo Biochemical Methane Potencial de
Digestión Anaerobia con Fangos Mixtos de
EDAR y Residuos Orgánicos de Vertedero**

Autora: María Rodríguez Escobar. Tutor: Dr. Julián Lebrato Martínez
Curso académico: 2017/2018

Contenido

RESUMEN	2
Palabras Clave:.....	2
ABSTRACT	2
Keywords	2
1. INTRODUCCIÓN.	3
1.1 Enfoque de la investigación	3
1.2 Fundamentos biológicos de la digestión anaerobia	6
1.2.1 Hidrólisis.	7
1.2.2 Acidogénesis.	8
1.2.3 Acetogénesis.	8
1.2.4 Metanogénesis.....	9
1.3 Factores que afectan a la digestión anaerobia.	10
1.3.1 Parámetros ambientales:.....	11
1.3.2 Parámetros operacionales:.....	16
1.4 Residuos utilizados.	19
1.5 Objetivos de la investigación.....	26
2. MATERIALES Y MÉTODOS.	27
2.1 Introducción	27
2.2 Tecnología BMP.....	27
2.3 Puesta en funcionamiento.....	29
2.4 Instalaciones e instrumentación del laboratorio.	33
2.5 Descripción de los métodos analíticos.	37
2.5.1 Demanda Química de Oxígeno (DQO)	37
2.5.2 Alcalinidad Total.....	38
2.5.3 Ácidos Grasos Volátiles	39
2.5.4 Sólidos Totales y Sólidos Volátiles	41
2.5.5 Determinación de la producción de biogás	42
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	44
3.1 Datos de digestión.	44
4. CONCLUSIONES.....	53
5. LÍNEAS DE FUTURO.....	54
6. BIBLIOGRAFÍA.	55

RESUMEN

La co-digestión anaerobia puede ser una buena opción para la valorización económica de determinados residuos. Una opción que permita mejorar la producción de biogás y, además gestionar residuos de difícil tratamiento y altamente contaminantes.

En este proyecto se realiza un estudio experimental para comprobar la viabilidad del lixiviado de vertedero como co-sustrato en la co-digestión anaerobia utilizando la tecnología BMP.

Palabras Clave:

Eficiencia energética, Co-digestión anaerobia, fangos de depuradora, gestión de residuos, lixiviado de vertedero.

ABSTRACT

The anaerobic co-digestion can be a good option to valorise this waste. This is an option which allow to improve the biogas production, also it can allow to manage waste of difficul treatment and highly polluting.

In this project is about an experimental study to check the viability of landfill leachate as co-sustrate in anaerobic codigestión using BMP technology.

Keywords

Energy efficiency, anaerobic codigestión, sewage sludge, manage waste, landfill leachate.

1. INTRODUCCIÓN.

1.1 Enfoque de la investigación

La sociedad se enfrenta al desafío de, por un lado, estimular el crecimiento para generar empleo y bienestar social y, por otro lado, lograr que este crecimiento permita un futuro sostenible del sistema económico y medioambiental.

Un sistema que, basado en satisfacer la demanda energética mayoritariamente con la utilización de combustibles fósiles y no renovables, y en una extracción desmesurada de recursos materiales conducen a una situación insostenible.

Por ello, la búsqueda de políticas de eficiencia energética es vital para encontrar la clave de cumplimiento de los objetivos medioambientales. Ya que según *La Hoja de Ruta hacia una Europa Eficiente en el Uso de Recursos* “para 2050, si se continúa con el ritmo actual de consumo, se necesitará el equivalente de más de dos planetas para sostenernos y serán muchos los que no podrán hacer realidad las aspiraciones de mejorar su calidad de vida”.

Fomentar el uso de energías renovables debe ser uno de los objetivos principales de la búsqueda de mejora antes mencionada. Por ello deben tener un papel fundamental en el suministro eléctrico y serán determinantes para que la Unión Europea cumpla con el compromiso del protocolo de Kioto, el cual establece el compromiso de tomar un conjunto de medidas para reducir los gases de efecto invernadero. Se deben apostar, por tanto, por tecnologías que generen mayor cantidad de energía sin aumentar la tasa de CO₂ del país.

El nivel de consumo actual provoca un mayor consumo de recursos, es decir, un mayor requerimiento energético, de agua y nutrientes, además de un aumento de los residuos.

Algunas de las actividades que suelen generar residuos peligrosos son:

- Dentro de la industria agroalimentaria:
 - Industria cárnica, charcutería, láctea, de aceite y grasa vegetales, azucarera...
 - Agricultura: cultivos, labrado animal, gestión y explotación forestal.
- Energía.
- Industria química.
- Metalurgia

El aumento de residuos en cualquiera de las actividades mencionadas anteriormente provoca un incremento en la contaminación del medio ambiente. Por lo que deben fomentarse medidas que mejoren la gestión de los residuos producidos, que en algunos casos resulta costoso. Se necesitan técnicas mejoradas o nuevas tecnologías que permitan la reducción de costes en los tratamientos empleados.

Una medida que puede tomarse para mejorar esta situación es la valorización de los residuos. Convertir un residuo en un recurso, que pueda ser utilizado, por ejemplo, como fuente energética.

En las Estaciones Depuradoras de Aguas Residuales se generan fangos o lodos, éstos son un tipo de residuo que presenta oportunidades atractivas de gestión.

En la depuración biológica de las aguas residuales existen dos alternativas: los tratamientos aerobios y anaerobios. Sin embargo, el hecho de no necesitar aireación y la generación de biogás, que se puede utilizar en la misma planta con finalidades energéticas, hacen que la digestión anaerobia resulte mucho más favorable económicamente. El uso del proceso de digestión anaerobia representa una excelente alternativa para la sustitución de combustibles fósiles no renovables utilizados actualmente, es también, una opción adecuada para la gestión y valorización de residuos orgánicos.

Por tanto, se obtiene con el uso de procesos anaerobios, cada vez más extendido, el desarrollo de un proceso ecológicamente responsable. Que

además resulta como uno de los más favorables para la reducción de las emisiones de efecto invernadero.

De este proceso se obtienen los fangos estabilizados y el biogás.

La estabilización de los fangos es un proceso necesario para disminuir la contaminación presente en los mismos y reducir los impactos adversos sobre el medio ambiente (Mapama, 2018). Una vez estabilizados pueden ser sometidos a otras operaciones para poder utilizarse en los suelos agrícolas conforme a lo establecido en el Real Decreto 1310/1990, de 29 de octubre o para poder eliminarlos en vertederos de forma ambientalmente más segura.

Según los datos del Registro Nacional de Lodos aproximadamente el 80% de los lodos generados se utilizan en el sector agrícola.

El biogás o “gas de digestión” producido es una mezcla gaseosa formada principalmente por: metano y dióxido de carbono, además de pequeñas proporciones de otros gases (Terreros-Mecalco, J. *et al*, 2009). La composición o riqueza del biogás depende del material digerido y del funcionamiento del proceso.

El alto contenido en metano del biogás le proporciona una gran capacidad calorífica, haciendo posible su uso en motores de cogeneración, lo que permite obtener energía eléctrica y calorífica. En las EDAR puede utilizarse dicha electricidad para abastecer las propias instalaciones suponiendo un importante ahorro económico. Por lo que se debe buscar una mejora en el proceso para aumentar la producción de gas y así obtener una mayor producción energética, lo que se traduce en un mayor ahorro energético.

Una opción de mejora en el rendimiento del proceso es la utilización de algún co-sustrato que mejore la digestión y potencie la generación de biogás. Este proceso se conoce como co-digestión y consiste en el tratamiento de dos o más residuos de forma conjunta.

La co-digestión permite la gestión de residuos cuyo tratamiento es problemático por lo que, la EDAR pasa a convertirse en una gestora de residuos, además de generadora de energía tanto eléctrica como calorífica. Mejorando las emisiones de CO₂.

En resumen, la mejora de la eficiencia energética aporta importantes beneficios,

- Desde el punto de vista empresarial, se reducen los costes de producción y puede mejorar la competitividad en el sector correspondiente;
- Desde el punto de vista energético, supondría una menor dependencia de energía del exterior, que en España es hoy en día superior al 80%;
- Desde el punto de vista ambiental, supone una reducción de la contaminación, del impacto de los gases de efecto invernadero y del deterioro del medio ambiente proveniente de la extracción indiscriminada de recursos naturales.

El objetivo de esta investigación está centrado en el estudio de la co-digestión anaerobia utilizando como residuos el lixiviado de vertedero y el suero de leche que deben ser tratados sin que la producción de biogás disminuya de forma drástica. El estudio se lleva a cabo utilizando la tecnología *Biochemical Methane Potencial*.

1.2 Fundamentos biológicos de la digestión anaerobia

La digestión anaerobia es un proceso biológico que ocurre en ausencia de oxígeno, en la cual la materia orgánica compleja se descompone, gracias a la acción de varios grupos de microorganismos, dando como productos finales: metano y dióxido de carbono, mayoritariamente, y pequeñas cantidades de algunos otros gases, y, por otro lado, el residuo estabilizado. La proporción en la que se presentan los gases depende del tipo de residuo que se esté tratando y del proceso en sí mismo.

En la digestión anaerobia se distinguen cuatro etapas diferenciadas: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis. Estas etapas pueden considerarse conectadas de forma consecutiva, para que la digestión opere de manera estable.

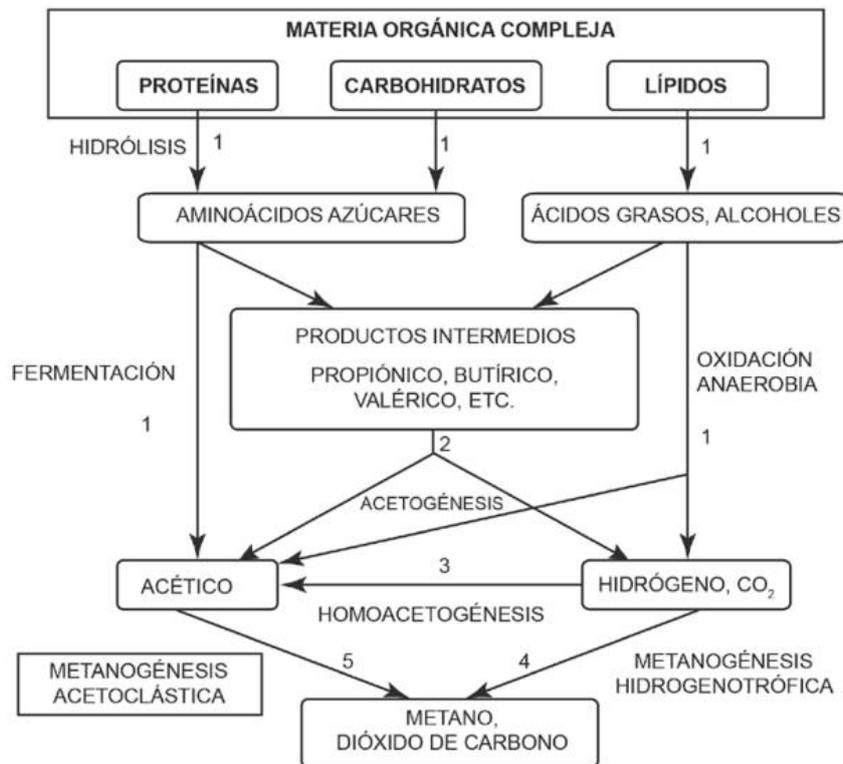


Figura 1.1. Fases de la digestión anaerobia y poblaciones microbianas; Los números indican la población responsable del proceso 1. *Bacterias hidrolíticas-acidogénicas*, 2. *Bacterias acetogénicas*, 3. *Bacterias homoacetogénicas*, 4. *Arqueas metanógenas hidrogenotróficas*, 5. *arqueas metanógenas acetoclásticas*. (Pavlosthathis, Giraldo-Gomez, 1991)

1.2.1 Hidrólisis.

La hidrólisis es el primer paso requerido para la degradación anaerobia de la materia orgánica ya que ésta se encuentra en forma de polímeros orgánicos de gran tamaño y las bacterias anaerobias, en general, no son capaces de asimilar estas cadenas largas, por lo tanto, resulta indispensable para que las etapas posteriores puedan desarrollarse. Esta etapa es llevada a cabo por enzimas extracelulares producidas por microorganismos hidrolíticos.

Algunos compuestos producidos durante esta etapa, como el acetato, pueden ser usados directamente en la etapa metanogénica, mientras otras moléculas con mayor longitud de cadena deben ser metabolizadas en etapas intermedias para que puedan ser usados en la última etapa.

Uno de los factores que influyen en el grado de hidrólisis y la velocidad del proceso es el tamaño de las partículas debido principalmente a la superficie disponible para la adsorción de las enzimas hidrolíticas. Además, también se ve influenciada por el tipo de materia orgánica y de factores ambientales, tales como pH y temperatura. La hidrólisis a 57°C es más favorable debido a la mayor población microbiana

Cualquier sustrato orgánico se compone de cuatro tipos básicos de macromoléculas: hidratos de carbono, proteínas, lípidos y material lignocelulósico. La hidrólisis de cada tipo de compuesto es realizada por diferentes grupos enzimáticos.

Esta etapa siendo la primera, es generalmente el paso limitante de todos los procesos de digestión anaerobia.

1.2.2 Acidogénesis.

Durante la acidogénesis, las moléculas orgánicas solubles son fermentadas por varios microorganismos fermentativos formando compuestos de menor peso molecular, es decir, se consigue una mayor degradación y partición de los componentes restantes de la etapa anterior.

Esta fase consiste en la transformación de los monómeros simples obtenidos en la etapa de hidrólisis principalmente ácidos grasos volátiles (acetato, propionato, butirato, succinato), así como pequeñas cantidades de ácido láctico y etanol, dióxido de carbono e hidrógeno. Las proporciones entre los productos de la fermentación varían en función del consumo de H₂ por parte de las bacterias que utilizan hidrógeno.

1.2.3 Acetogénesis.

Algunos de los productos obtenidos en la etapa anterior pueden ser metabolizados directamente por las bacterias metanogénicas (H₂ y acetato), en cambio, hay otros componentes que deben ser transformados en productos más sencillos a través de las bacterias acetogénicas.

En esta etapa tienen actividad tres grupos de microorganismos: las bacterias homoacetogénicas, las sintróficas u OHPA, del inglés Obligate Hydrogen Producing Acetogen, y las sulforeductoras. La mayoría de ellas son anaerobias estrictas. La principal función de estos microorganismos en el proceso de digestión anaerobia es la de donar hidrógeno, dióxido de carbono y acetato a las arqueas metanogénicas.

Estos microorganismos son los encargados de convertir los productos finales de la etapa acidogénica en acetato a partir de dos rutas diferentes: deshidrogenación acetogénica (producen acetato a partir de la fermentación de ácidos grasos volátiles, lactato, propionato y alcoholes) e hidrogenación acetogénica (las bacterias homoacetogénicas sintetizan acetato a partir de hidrógeno y dióxido de carbono).

La eliminación de hidrógeno del medio es llevada a cabo, generalmente, por bacterias metanógenas, hidrogenofílicas, aunque en presencia de sulfatos, las bacterias sulfo-reductoras son capaces de establecer una relación sintrófica con las bacterias OPHA. La relación sintrófica recibe el nombre de transferencia interespecífica de hidrógeno y permite llevar a cabo las reacciones con un balance energético favorable (Cadi, 1994).

1.2.4 Metanogénesis.

Los microorganismos metanogénicos pueden considerarse como los más importantes dentro de los microorganismos anaerobios, ya que son los responsables de la formación de metano y de la eliminación del medio de los productos de los grupos anteriores.

Esta etapa implica dos tipos de reacciones, las que el dióxido de carbono e hidrógeno se combinan para producir metano y agua, y las que convierten el acetato en metano y dióxido de carbono. Los microorganismos responsables de la primera etapa suelen denominarse hidrogenotróficos, mientras que los responsables de la segunda transformación se denominan acetoclásticos.

La principal vía de formación del metano es a partir de la degradación del acetato, con alrededor del 70% del metano producido, de forma general (Jeris *et al.*, 1965, citado en Ferguson y Mah, 1987). A pesar de ser la vía prioritaria, solo son capaces de utilizar el acetato para producir metano son los microorganismos de los géneros *Methanosarcina* y *Methanotrix*.

El crecimiento de los microorganismos metanogénicos puede verse inhibido por ciertos compuestos, entre los cuales se encuentra el nitrógeno amoniacal, los ácidos grasos de cadena larga, ácidos grasos volátiles, etc. No todos los grupos metanogénicos resultan inhibidos de la misma forma por los mismos compuestos. La inhibición por amoníaco libre es más fuerte para los metanogénicos acetoclásticos que para los hidrogenotróficos (Hansen *et al.*, 1998).

1.3 Factores que afectan a la digestión anaerobia.

Para caracterizar el estado de un digestor, se mide de forma rutinaria aquellos parámetros que pueden suponer la inhibición de la digestión anaerobia, y concretamente en su etapa más sensible, la metanogénesis. Se busca con el control de dichos parámetros, ya que se trata de un proceso bioquímico complejo, mantener las condiciones óptimas que permitan la realización tanto de las reacciones químicas dentro de la matriz líquida del reactor, como las reacciones bioquímicas intracelulares que dan vida a los organismos en juego. El control de estos parámetros ha permitido un gran progreso en el diseño de digestores, mejorando su eficacia, disminuyendo los costes e introduciendo elementos de seguridad y control de los procesos necesarios.

Existen parámetros ambientales, que son aquellos sobre los que no se puede actuar directamente cuando el proceso está en marcha, sino que dependen de las características de la materia orgánica y del desarrollo in-situ de las reacciones químicas.

Los parámetros operacionales son los que el técnico puede controlar y actuar sobre ellos durante el proceso de producción de biogás a partir de ciertas señales que informan sobre el desarrollo del mismo.

1.3.1 Parámetros ambientales:

Los parámetros ambientales o de control son indicadores de la evolución del proceso que proporcionan una fiabilidad que permita anticiparse con tiempo suficiente a posibles problemas en el transcurso del proceso.

1.3.1.1 Biogás y metano.

La producción de biogás es uno de los parámetros más significativos, una producción adecuada de biogás indicará el buen funcionamiento del proceso. No es un parámetro que sea útil para predecir periodos de mal funcionamiento para poder anticiparse a ellos, pero se puede analizar su composición, a través de baños de hidróxido sódico, cromatografía de gases o de sensores específicos para metano para encontrar algún indicio de inestabilidad. Un valor cercano al 60% en la producción de metano indica normalidad en el proceso

1.3.1.2 pH y Alcalinidad.

Se debe mantener un control del pH, los microorganismos requieren un pH en torno a la neutralidad, presentando graves problemas si está por debajo de 6 o sube por encima de 8,3 (Lay *et al.*, 1997).

La acidificación del digestor inhibe la metanogénesis lo que puede conducir al fallo del reactor. Ya que, aunque hay bacterias metanogénicas acetótrofas que pueden tolerar pH bajos antes de morir, la viabilidad de los metanógenos en cultivos mixtos desciende según disminuye el pH.

El pH es una importante variable de diagnóstico de los sistemas anaerobios, pues muchos fenómenos tienen influencia sobre el mismo, sin embargo, el pH puede resultar en ocasiones una variable demasiado lenta para diagnosticar problemas, y se suele recurrir al análisis del contenido en metano del biogás como indicador de anomalías en el proceso.

La alcalinidad es una medida de la capacidad tampón del medio. Esta capacidad puede ser proporcionada por un amplio rango de sustancias, por lo tanto, no resulta una medida específica.

Una alcalinidad elevada supone mayor estabilidad, ya que permite resistir con mayor eficacia los cambios repentinos de pH. De forma habitual, en la etapa inicial de arranque de un digestor anaerobio, la producción de ácidos volátiles provoca un descenso del pH, pero a medida que las especies metanogénicas convierten esos compuestos en CH₄ y CO₂, tanto el pH como la alcalinidad del sistema aumentan. La alcalinidad puede verse reducida por varias causas, entre ellas la acumulación de ácidos orgánicos, debido a la reducción de la actividad de las especies metanógenas por la presencia de agentes tóxicos o debido a una sobrecarga orgánica (Esteban Gutiérrez, M. *et al.*, 2014).

1.3.1.3 Ácidos grasos volátiles.

La presencia de ácidos grasos volátiles (AGV) es de gran importancia en el proceso, ya que constituye el precursor principal de la metanogénesis.

El carácter ácido que poseen puede llegar a afectar las condiciones ácido-base del sistema, por lo que, conocer su concentración en el proceso es muy importante para determinar si éste está funcionando de forma adecuada. Una cantidad excesiva de AGV en el sistema puede producirse por una carga orgánica muy alta, por una disminución de la temperatura o por la acumulación de espuma.

En el caso de que se supere la capacidad máxima de asimilación por parte de la etapa metanogénica de los productos acidogénicos formados, podría suponer una mayor acumulación de AGV que conllevaría a un consumo de alcalinidad aumentando la relación AGV/Alcalinidad.

La relación AGV/Alcalinidad es otro de los parámetros importantes para el seguimiento y posible indicador de la estabilidad del proceso (Ruiz Cabrera, C.M., 2002). Este indicador debe permanecer lo más bajo posible, en el caso de que supere el valor de 0.3-0.4 comienzan a aparecer los efectos negativos del proceso.

El fenómeno de acidificación del reactor se produce de forma gradual, por lo que es posible detectarlo en sus estadios iniciales y poder evitarlo añadiendo, por ejemplo, agentes neutralizantes.

Para determinar su valor pueden utilizarse técnicas como la cromatografía o la espectroscopía, pero éstas tienen un coste elevado por lo que no se suelen usarse y se utiliza métodos más sencillos como valoraciones e indicadores.

1.3.1.4 Sólidos totales.

La materia orgánica está compuesta de agua y una fracción sólida (sólidos totales). El porcentaje de sólidos totales contenidos en la mezcla que se añade al digestor es un parámetro importante a tener en cuenta para asegurar que el proceso progrese de forma adecuada.

Un aumento del contenido de sólidos en suspensión del efluente provoca un aumento lento de la presencia de AGV, la movilidad de las bacterias metanogénicas dentro del sustrato se ve también más limitada, por lo que puede afectar a la eficiencia y producción de biogás.

1.3.1.5 Demanda Química de Oxígeno.

La demanda química de oxígeno es una medida indirecta del contenido de materia orgánica y compuestos oxidables en una muestra. Se define como la cantidad de oxígeno necesaria para oxidar completamente la materia orgánica presente en una determinada muestra. La carga orgánica introducida en un digestor es la cantidad máxima asimilable que tiene el digestor, medido en kg DBO o SV / m³ de digestor (Ocaña Pérez-Cerdá, 2011).

1.3.1.6 Relación Carbono/Nitrógeno

La cantidad y calidad del biogás producido en la digestión anaerobia dependerán de la composición y naturaleza del residuo que se va a utilizar.

El carbono y el nitrógeno son las principales fuentes de alimentación de las bacterias metanogénicas. El carbono constituye la fuente de energía y el nitrógeno es utilizado para la formación de nuevas células.

Sustratos que contengan una relación C/N baja conducen a un incremento en la producción de amonio que puede provocar inhibición de la producción de metano. Por lo contrario, una relación C/N demasiado alta, conduce a carencias de nitrógeno que tienen consecuencias negativas en la formación de proteínas y, por tanto, en la energía y en el metabolismo estructural de los microorganismos (Solera del Rio, 2014)

1.3.1.7 Tóxicos e inhibidores.

La magnitud del efecto tóxico de una sustancia puede ser reducido significativamente por aclimatación de la población de microorganismos al tóxico. La aclimatación implica una reorganización de los recursos metabólicos para vencer los obstáculos metabólicos producidos por el sustrato tóxico.

En general, la velocidad de crecimiento bacteriano aumenta con la concentración de sustrato, llegando a un punto en que se estabiliza y, dependiendo de cada caso contrato, puede llegar a descender, cuando se produce una inhibición por el sustrato.

Como ejemplo de agente inhibidor en procesos anaerobios, se puede nombrar al nitrógeno amoniacal, aunque debe tenerse en cuenta que para sostener la actividad metabólica de los microorganismos que intervienen en el proceso es necesaria cierta cantidad de nitrógeno, ya que se trata de un nutriente esencial para los mismos (Calli *et al.*, 2005)

También algunos metales pesados (Cu, Zn, Cr, etc.) en pequeñas concentraciones son necesarios para sostener la actividad de numerosas enzimas o co-enzimas, pero pueden resultar tóxicos por encima de determinados niveles (Angelidaki *et al.*, 1997).

En ambos ejemplos se puede ver que ciertos compuestos son tóxicos dependiendo de la concentración que presenten en la mezcla.

1.3.1.8 Tipo de residuo.

Los residuos que pueden utilizarse pueden ser residuos orgánicos de origen vegetal, animal, agroindustrial, forestal o doméstico (Varnero y Arellano, 1991). Las características que presentan estos residuos deben permitir el desarrollo y la actividad microbiana del sistema anaeróbico. El proceso microbiológico necesita fuentes de carbono y nitrógeno además de que deben estar presentes sales minerales en un cierto equilibrio.

Por tanto, la composición del residuo que se va a utilizar debe ser estudiada con detenimiento y descartar residuos que posean o puedan generar compuestos tóxicos o inhibidores para los microorganismos anaerobios y que condicionen la viabilidad del proceso.

Normalmente las sustancias orgánicas de origen animal presentan estas sales minerales en proporciones adecuadas. En cambio, en ciertos desechos industriales puede ser necesario la adición de esos compuestos para que el proceso se desarrolle adecuadamente.

1.3.2 Parámetros operacionales:

1.3.2.1 Efecto de la temperatura

Se trata de un parámetro que influye de manera decisiva en el proceso anaerobio, ya que de él dependen las velocidades de reacción con las que se lleva a cabo cualquier proceso biológico, la composición del biogás debido a la relación de la solubilidad de los diferentes gases con la temperatura y el daño que pueda causar a los microorganismos presentes en el medio.

En la digestión anaerobia se utilizan dos rangos de temperatura distintos, el mesofílico (30-40°C) y el termofílico (50-60°C). El proceso mesofílico es el más utilizado para la digestión anaerobia. El óptimo de temperatura se sitúa entre 35-37°C.

En cuanto a la solubilidad antes mencionada, en la mayoría de las sales aumenta con un aumento de la temperatura. Por consiguiente, las sales orgánicas son más solubles a altas temperaturas, por lo que la materia orgánica es más accesible para los microorganismos y aumenta la velocidad del proceso. En cambio, cuando hay presencia de componentes tóxicos, al aumentar su solubilidad con la temperatura serán más tóxicos, lo que puede ser una de las causas de la mayor inhibición de determinados compuestos orgánicos en el rango termofílico, como los ácidos grasos de cadena larga (Hwu *et al.*, 1997)

Conforme la temperatura aumenta, también aumenta el crecimiento de los microorganismos y se acelera el proceso de digestión, dando lugar a mayores producciones de biogás. Por otro lado, grandes variaciones de temperatura aumentan los requerimientos energéticos, y pueden desestabilizar las condiciones del reactor, por lo que se requiere una mezcla completa en el reactor y control estricto sobre la temperatura.

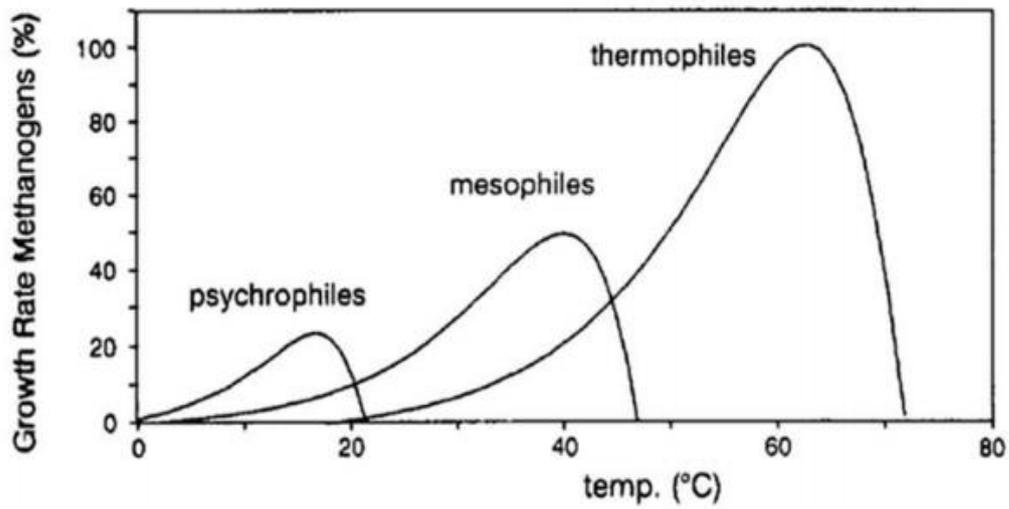


Figura 1.2. Dependencia de la constante de *crecimiento* de la temperatura (Van Lier *et al.*, 1993)

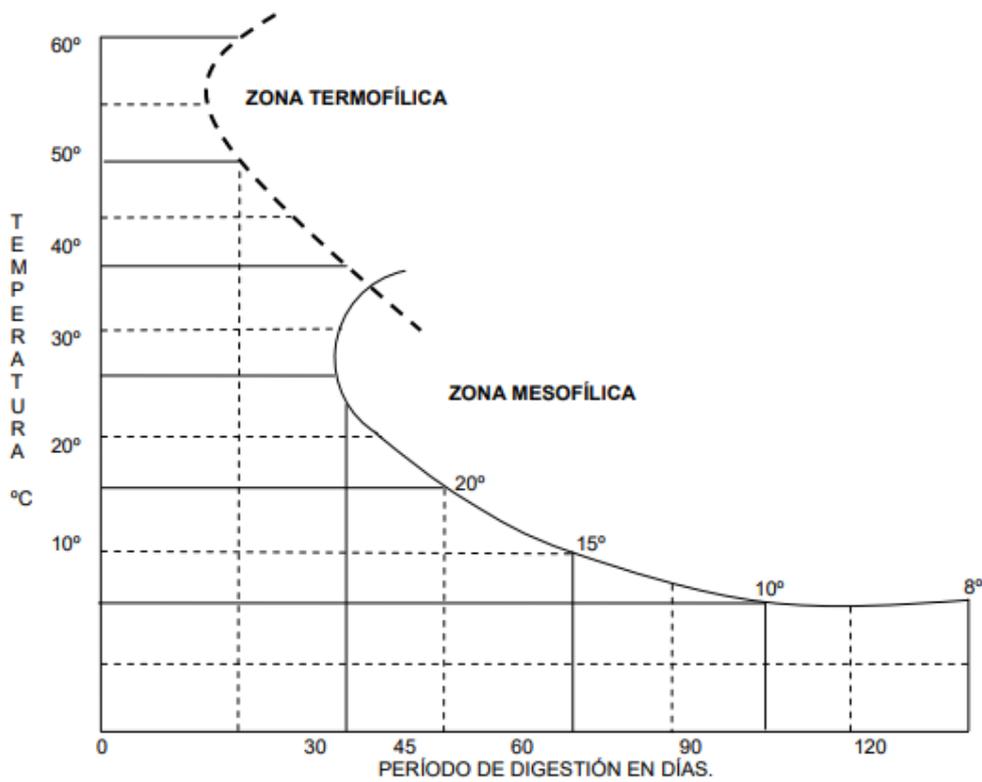


Figura 1.3 Efecto de la temperatura en la digestión anaerobia (Van Lier *et al.*, 1993)

Como se observa en la figura anterior, el proceso termofílico es mucho más rápido y permite una permanencia menor en los tanques, pero exige mayor control y presenta un balance energético más desfavorable. Por lo tanto, resulta preferible la digestión mesofílica, con temperatura controlada.

1.3.1.2 Tiempo de retención hidráulico

El tiempo de retención hidráulico es el período medio de permanencia de un sustrato en el digestor, que permite el desarrollo de la población bacteriana y del proceso de producción de biogás.

En el campo del tratamiento de aguas residuales se puede hablar de tiempo de retención de sólidos (TRS), que hace referencia al tiempo de permanencia del fango en el reactor, está directamente relacionado con el tiempo que la biomasa está retenida en el mismo; y de tiempo de retención hidráulico (TRH), este parámetro se refiere al tiempo de residencia del agua o fase líquida.

Este parámetro afecta a la eficiencia del digestor con respecto a la eliminación de materia orgánica y la producción específica de biogás y metano, ya que los microorganismos requieren tiempo para crecer lo suficiente como para compensar la cantidad retirada del digestor y se pueda mantener el proceso en un estado estacionario.

A igualdad del resto de condiciones, al aumentar el tiempo de retención se consigue una mejor digestión de la materia orgánica, pero se precisa mayor volumen del digestor.

1.3.1.3 Velocidad de carga orgánica (VCO).

La velocidad de carga orgánica es la cantidad de materia orgánica introducida por unidad de volumen del digestor y tiempo. La determinación de la VCO para operar un digestor dependerá de las características del residuo a tratar, además del diseño del reactor o del tipo de tecnología usada.

1.3.1.4 Agitación:

La agitación tiene como fin mezcla de sustrato fresco con la población microbiana, evitar la formación de espacios inactivos dentro del digestor y permite que la temperatura y la densidad bacteriana sean homogéneas, también se trata de prevenir la formación de capa superficial y de espumas, así como la sedimentación en el reactor (Noone, 1990).

El tipo de sistema de agitación y la velocidad con la que se realiza son condicionantes en el desarrollo del proceso, debe haber un equilibrio entre la buena homogeneización y la correcta formación de agregados bacterianos (Fanning, 1987). Una velocidad de agitación excesiva puede provocar una insuficiente proximidad entre especies microbianas lo que dificulta su reacción conjunta, mientras que una baja velocidad de agitación puede interferir negativamente en las distintas fases de operación evitando la correcta anaerobiosis y la producción de biogás.

1.4 Residuos utilizados.

En este apartado se van a tratar los distintos residuos utilizados durante el ensayo.

1.4.1 Fango Digerido y Fango Mixto

Para el arranque de la digestión anaerobia se utiliza el fango digerido o inóculo. La naturaleza de este fango tiene una clara influencia en la cinética y degradación obtenidos en el proceso global de la digestión anaerobia.

El fango digerido que se ha utilizado en el ensayo proviene de los reactores anaerobios de la EDAR Copero.

Esta EDAR tiene una capacidad actual de tratamiento de 255000 m³/día y depura las aguas residuales de la cuenca sur de Sevilla, la población de Dos Hermanas y el polígono industrial La Isla.

En Copero realizan tratamiento secundario biológico (fangos activos) y tratamiento de estabilización de fangos mediante digestión anaerobia y deshidratación. Desde 2003 cuenta con aprovechamiento energético del gas producido, con una potencia de cogeneración de 4*630 kWh. Del tratamiento de estabilización se obtiene el fango digerido que se ha utilizado en el ensayo.

El residuo base utilizado es el fango mixto, se le denomina sustrato, formado por una mezcla de fangos procedentes de la decantación primaria y secundaria del tratamiento de depuración de las aguas residuales. Este fango se utiliza para establecer un mínimo de producción de gas.

El fango mixto utilizado, al igual que el fango digerido, proviene de la EDAR Copero.

Los residuos añadidos se les denomina cosustratos y variarán la producción de biogás de forma positiva o negativa, teniendo como base la producida con el uso únicamente de fango mixto.

1.4.2. Cosustratos.

La digestión conjunta de dos o más sustratos de diferente origen y composición, también conocida como co-digestión, se constata como una forma de optimización del proceso, ya que, generalmente, aumenta la producción de biogás.

La co-digestión compensa las carencias de cada uno de los diferentes cosustratos por separado. Además, permite compartir instalaciones de tratamiento de diversos residuos y compensar las variaciones temporales de producción de cada sustrato, a la vez que se disminuyen los costes de inversión y de explotación (Hublin *et al.*, 2012)

Se debe tener en cuenta que los residuos utilizados pueden presentar problemas en la digestión, como deficiencia en nutrientes necesarios para el desarrollo de microorganismo anaerobios, baja alcalinidad o excesivo contenido en sólidos que provoquen problemas mecánicos.

Los cosustratos utilizados en este estudio son: los lixiviados de vertedero y lactosuero, a los que no se les ha aplicado ningún tratamiento previo antes de los ensayos.

Lixiviados de vertedero.



Figura 1.4 Lixiviado de vertedero (Fotografía: María Rodríguez Escobar)

Se entiende por lixiviado a los efluentes líquidos formados por la interacción de un líquido (agua) sobre un residuo sólido, o los efluentes líquidos por la propia descomposición del residuo.

La composición química de los lixiviados de vertedero depende del tipo de vertedero, de la cantidad de aguas pluviales y del período de explotación del vertedero. Los lixiviados arrastran las sustancias tóxicas producidas en el vertedero.

Los lixiviados de vertedero generados pueden contaminar tanto el subsuelo como las aguas subterráneas, por lo que en los vertederos es necesario implementar artificialmente las medidas necesarias para garantizar la estanqueidad y, con ello, la seguridad de la instalación. Deben tener una capa drenante por donde fluirán los lixiviados hasta el punto de captación o achique.

Algunos de los efectos negativos que tiene la formación de lixiviados son:

- Si se acumula gran volumen de lixiviados en el vertedero, éstos ejercerán una carga hidráulica sobre el revestimiento artificial, pueden producirse, por tanto, fugas a través de los poros.
- Si se acumulan lixiviados, los residuos pueden cargarse de humedad disminuyendo la consistencia y estabilidad de la masa de residuos.

- A mayor volumen de lixiviados, mayor contaminación en caso de fuga accidental y aumenta la probabilidad de que se produzca dicha fuga.
- Los lixiviados, por su carga contaminante, deben ser tratados antes de su vertido y a mayor cantidad, mayor coste de eliminación de los mismos. (Ramos Castellanos, *et al.* 2003)

Como se ha dicho anteriormente, la antigüedad del vertedero provoca una variación en la composición química de los lixiviados y esto supone una dificultad añadida para realizar un tratamiento, por ejemplo, una planta de tratamiento diseñado para tratar un lixiviado con las características presentadas en un vertedero nuevo sería diferente de una diseñada para tratar el lixiviado procedente de un vertedero antiguo.

Los lixiviados de vertederos son uno de los principales problemas relacionados con la eliminación de residuos de vertedero y uno de los efluentes más difíciles de tratar.

El lixiviado utilizado en el ensayo proviene de la Mancomunidad de la Vega (Sevilla). Se encarga de la gestión de la recogida y tratamiento de basuras. Está compuesta por un total de 18 municipios mancomunados: Alcalá del Río, Alcolea del Río, Brenes, Burguillos, Cantillana, Castiblanco de los Arroyos, Castilleja de la Cuesta, El Castillos de las Guardas, Gerena, Guillena, La Algaba, La Rinconada, Lora del Río, Peñaflor, San Juan de Aznalfarache, Tocina, Villanueva del Río y Minas y Villaverde del Río (Mancomunidad de la Vega, 2018).

Las características del lixiviado utilizado se presentan en la siguiente tabla:

Tabla 1.1 Caracterización de lixiviado utilizado en el ensayo. (Benito, 2017)

Parámetros	Unidades	Suero Bruto
DQO	mg/L	23.145,41
ST	mg/L	13.300,22
Materia Seca	%	1,33
SV	mg/L	4350,02
Materia Volátil	%	32,71
SF	mg/L	8.950,17
pH		4,35
Conductividad	mS/cm	18,75

Lactosuero

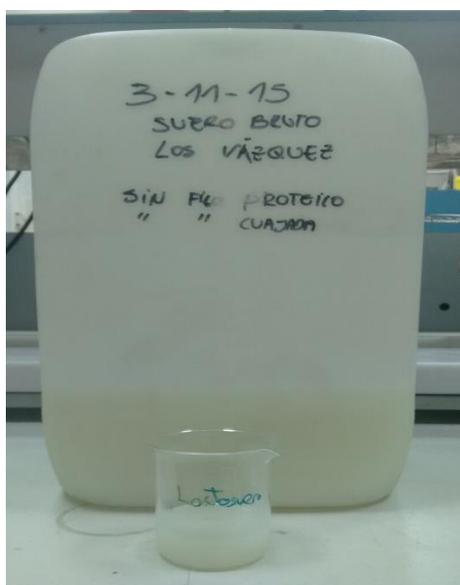


Figura 1.5 Muestra de lactosuero utilizada en el ensayo. (Alonso, 2017)

El lactosuero se define como la sustancia líquida obtenida durante la coagulación de la leche en la elaboración del queso.

En la actualidad parte del lactosuero obtenido se transforma en suero en polvo, aislado de proteína de suero, bioetanol, biopolímeros, hidrógeno, metano y probióticos (Yadav, *et al.*, 2015). La cantidad restante es utilizada como alimento para animales, como fertilizante o es desechado (Jauregi y Welderufael, 2010). Que se deseche gran parte del lactosuero es consecuencia de la ausencia de métodos económicamente viables que permitan su correcta eliminación.

En España se producen anualmente unos 2700 millones de litros de suero en total (Cebrian *et al.*, 2013).

Es uno de los residuos más representativos de la industria lechera y uno de los contaminantes más severos que existen a nivel ambiental dado que posee una alta carga orgánica, el suero sin tratar produce en el agua a la que se vierte un desbalance del oxígeno disuelto que es consumido en la degradación de sus componentes orgánicos, y en el suelo puede descompensar el equilibrio de nutrientes (Bainotti *et al.*, 1987), generando una disminución en el rendimiento de cultivos agrícolas (Parra, 2009).

En cuanto al impacto ecológico, se estima que por cada 1000 L de lactosuero se genera una demanda bioquímica de oxígeno de 35 kg y una demanda química de oxígeno de 68kg, lo que equivale a la contaminación producida por las aguas negras de 450 personas en un día (Liang *et al.*, 2006)

El lactosuero contiene principalmente lactosa, proteínas, lípidos y sales minerales. También posee ácidos lácticos y cítricos y compuestos nitrogenados (Chatzipaschali, 2012).

Características del lactosuero como sustrato para generar biogás.

El lactosuero es un buen sustrato para producir biogás por las siguientes características:

- Adecuado porcentaje de sólidos totales.

Tiene consistencia líquida con baja concentración de sólidos suspendidos, por lo que no se requieren sistemas de separación de sólidos, lo que facilita su manipulación y bombeo.

- Alto porcentaje de sólidos volátiles.

El porcentaje de sólidos volátiles es importante en la producción de biogás ya que estos sólidos poseen valor calorífico y en definitiva son los que se degradarán formando el biogás (Chatzipaschali, 2012).

- Biodegradabilidad.

Está formando por componentes con una alta biodegradabilidad, entre ellos la lactosa y las proteínas. Los lípidos, componente secundario del suero, tiene buena biodegradabilidad, pero menor que la lactosa y las proteínas.

- Alta tasa de producción de biogás por unidad de sólido volátil.

Posee una de las tasas más altas de producción de biogás por kilogramo de sólido volátil entre los residuos orgánicos.

- Reducido tiempo de retención hidráulica.

El suero tiene un muy bajo tiempo de retención, en general los 2 y 10 días pero puede incluso llegar a ser menor.

- Buen porcentaje de metano en el biogás.

El biogás procedente del lactosuero tiene un porcentaje de metano que varía entre el 60 y 80%. (Hernández, 2015).

El lactosuero utilizado en el ensayo corresponde a la empresa de fabricación quesera Los Vázquez, situada en Castilleja del Campo, en Sevilla. Las características de este sustrato se recogen en la siguiente tabla:

Tabla 1.2 Caracterización de lactosuero utilizado en el ensayo. (Benito, 2017)

Parámetros	Unidades	Suero Bruto
DQO	mg/L	56.452,77
ST	mg/L	30.350,63
Materia Seca	%	3,04
SV	mg/L	27.040,52
Materia Volátil	%	89,09
SF	mg/L	3.310,65
pH		4,96
Conductividad	mS/cm	4,91

1.5 Objetivos de la investigación.

Los objetivos principales de este proyecto son:

Estudiar si se produce una mejora en la producción de biogás a partir de lixiviado de vertedero. Para llevar a cabo este objetivo general, se han planteado los siguientes objetivos específicos:

1. Se estudia el proceso anaerobio de mezclas de lixiviado de vertedero con fangos de depuradora, con diferentes proporciones de la mezcla.
2. Se compara la eficiencia de las mezclas con lixiviado de vertedero con una mezcla que sólo contiene la mezcla de fangos.
3. Se estudia otros reactores con una mezcla de fangos de depuradora y lixiviado a los que se les añade residuos orgánicos procedentes de la industria lechera.
4. Comprobación de la mejora producida al añadir el suero de la leche en la producción de biogás.

Por tanto, se trata de determinar el potencial del co-tratamiento de lodos de EDAR como gestora de residuos orgánicos procedente de vertedero y de la industria lechera vía digestión anaerobia. Ambos residuos de difícil tratamiento con una alta carga contaminante.

Para alcanzar estos objetivos se van a utilizar pequeños digestores mono-etapa (BMP) que permiten:

- Determinar el potencial metanogénico de los sustratos en condiciones anaerobias, es decir, su biodegradabilidad ante bacterias para obtener el producto deseado, el biogás.
- Comprobar la inhibición causada por el lixiviado.
- La aplicabilidad de estos sustratos a digestores piloto de mayor volumen de trabajo.

2. MATERIALES Y MÉTODOS.

2.1 Introducción

En este apartado se proporciona una información detallada del material empleado para llevar a cabo el ensayo experimental, incluyendo la descripción de los microdigestores como del procedimiento seguido en las medidas analíticas del laboratorio.

2.2 Tecnología BMP

Los ensayos Biochemical Methane Production (BMP) son una herramienta muy útil para el estudio de la biodegradabilidad y el potencial metanogénico de un residuo de forma sencilla y económica. La tecnología BMP proporciona el volumen de metano producido en condiciones normales por unidad de sustrato añadido, de manera que se puede determinar la productividad del biogás del sustrato (Nielfa *et al.*, 2015)

2.2.1 Parámetros que influyen en los ensayos de BMP:

1. Temperatura

Para los ensayos desarrollados, se ha elegido la operación en condiciones mesófilas, que es la más ampliamente empleada a escala real.

2. Número de réplicas

La muestra de fango puede presentar alta heterogeneidad por lo que es conveniente distribuir el fango en cada ensayo de la manera más homogénea. Con el fin de disminuir los efectos de la heterogeneidad y obtener resultados fiables es conveniente transferir el fango de manera aleatoria entre todos los ensayos y con la mayor mezcla posible. Por otro lado, se van a realizar todos los ensayos por triplicado (ASTM D 5210 (1992), ISO 11734 (1995)).

Para la realización de los ensayos se han utilizado microdigestores que consisten en botes de borosilicato transparentes de 250 mL y con un volumen útil de 300 mL cerrados herméticamente, con tapones de goma flexible que permiten tomar medidas de presión diferencial, estos digestores se incuban en agitación y temperatura mesófila en un agitador que se describirá más adelante en este mismo capítulo.



Figura 2.1 Imagen correspondiente a un microdigestor y los tapones utilizados para su cierre hermético (Alonso,2017)

2.2.2 Contenido de los BMP

Las mezclas iniciales preparadas para llevar a cabo los diferentes ensayos del proyecto, están formadas de los materiales descritos a continuación:

1. Inoculo.

Dado que el proceso requiere la presencia de microorganismos, se utiliza un inoculo capaz de comenzar el proceso y facilitar el comienzo del ensayo. Se ha utilizado fango digerido de la EDAR Copero, para evaluar la respuesta del digestor a los sustratos y condiciones de trabajo a las que será sometido en la codigestión.

2. Residuo orgánico o sustrato.

El residuo orgánico es el componente que forma la fuente principal de materia orgánica biodegradable en las mezclas iniciales de los distintos experimentos de digestión anaerobia.

Se va a utilizar fango mixto proveniente de la EDAR Copero, que es el que ha de ser digerido en la planta y debe soportar la adición de cosustratos en las condiciones de operación establecidas.

3. Cosustratos.

Se utilizarán como cosustratos lixiviados de vertedero y lactosuero.

2.3 Puesta en funcionamiento.

La puesta en marcha de los ensayos BMP comienza con la organización de los microdigestores, rotulando cada uno de ellos con los sustratos que van a contener y asignando un tapón de plástico y uno de rosca a cada uno de ellos.

Se procede ahora a la preparación de las mezclas de residuos que se van a estudiar en el ensayo. Estas mezclas se preparan en recipientes independientes y no en los propios botes que actúan como reactores, ya que se necesita una muestra sobrante para su caracterización inicial. Una vez tomada la muestra para analizar, se llena cada reactor con 150 mL, dejando aproximadamente 100 mL libres para que se almacene el biogás producido.

Se realizan los ensayos por triplicado para minimizar los errores del proceso. En cada uno de ellos se añade como se dijo anteriormente, se añade inóculo, el sustrato base para todos los test, fango mixto, y los dos residuos, el lixiviado y el lactosuero, siendo el primero el que se utilizará en distintas cantidades.

Para proporcionar una estabilidad y viabilidad al proceso anaerobio durante el ensayo, se añade en la mezcla inicial una pequeña cantidad de bicarbonato de potasio hasta obtener una concentración de 5 g KHCO_3/L . además, se adiciona una pequeña cantidad de una disolución que contiene varios macronutrientes, micronutrientes y elementos traza en una concentración de 1 mL/L.

Las composiciones de cada uno de los ensayos realizados se presentan en la siguiente tabla:

Tabla 2.1 Composición de los ensayos realizados.

	Fango digerido (mL)	Fango mixto (mL)	Lixiviado (mL)	Lactosuero (mL)
1	150		-	-
2	100	50	-	-
3	100	45	5	-
4	100	40	10	-
5	100	35	15	-
6	100	25	25	-
7	100	45	5	5
8	100	40	10	5
9	100	35	15	5
10	100	25	25	5

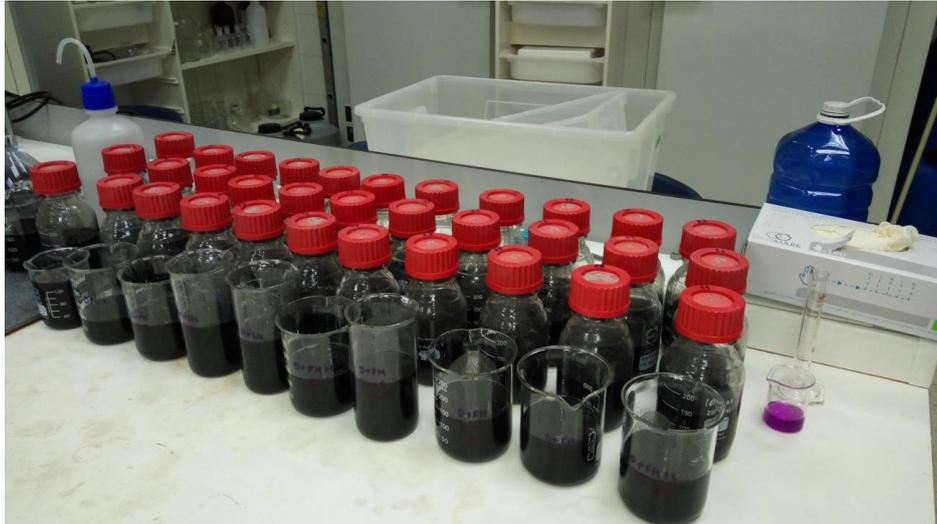


Figura 2.2 Microdigestores con las muestras preparadas. (Fotografía: María Rodríguez Escobar)

Una vez preparados los microdigestores con las mezclas de estudio, se introducen en el equipo de agitación, asegurando así la homogeneidad de la mezcla en todo momento y un buen aprovechamiento del volumen útil del reactor.

La cuantificación de biogás se lleva a cabo diariamente mediante un equipo de presión (ifm PN5007) que tiene un rango de medición de 0 a 1bar. Tras cada medida, se vacía el gas acumulado en el espacio vacío de la botella. Los valores de presión son convertidos a volúmenes utilizando la ecuación de los gases ideales.



Figura 2.3 Equipo de presión ifm PN5007. (Fotografía: María Rodríguez Escobar)

Se tiene en cuenta la composición del biogás generado. Esta composición se determina extrayendo del reactor un volumen de gas conocido, utilizando una jeringa e inyectando dicho volumen en un caudalímetro que contiene NaOH. El CO₂ que forma parte del biogás precipitado junto al NaOH obteniendo así el volumen de metano producido.

Los ensayos se realizaron a una temperatura controlada de 35°C, para garantizar que se encontrara en el rango mesofílico, con agitación automática continua en un shacker (New Brunswick, Scientific, G10- Gyrotory Shacker), tomando mediciones diarias de la presión.



Figura 2.4: Sistema de agitación Shacker (Alonso,2017)

Al inicio y finalización de los ensayos de BMP, en cada uno de ellos se midió DQO, Alcalinidad, AGV, ST y SV y se determinó la relación AGV/Alcalinidad.

2.4 Instalaciones e instrumentación del laboratorio.

Los instrumentos utilizados a lo largo del ensayo para las distintas medidas analíticas son:

- Estufa. Se utiliza para la determinación de los sólidos totales.



Figura 2.5: Estufa utilizada en los análisis (Fotografía: María Rodríguez Escobar)

- Mufla. Se utiliza para el cálculo de sólidos volátiles ya que permite alcanzar una temperatura de 550°C.



Figura 2.6: Mufla utilizada en el proceso (Fotografía: María Rodríguez Escobar).

- Balanza. Utilizada para la determinación de sólidos por diferencias de pesos.



Figura 2.7. Balanza analítica (Alonso, 2017)

- Campana de enfriamiento. Utilizada para el enfriamiento de los crisoles a la salida de los hornos en la determinación de sólidos.



Figura 2.8. Campana de enfriamiento. (Fotografía: María Rodríguez Escobar).

- pH-metro. Se utiliza para el control del pH en las valoraciones de los análisis de alcalinidad y AGV.



Figura 2.9. pH-metro. (Fotografía: María Rodríguez Escobar).

- Dispensador programado. Se utilizarán para la realización de la DQO ya que se trabajan con los mismos volúmenes, se programan estos dispensadores conectados a los botes que contienen los reactivos necesarios en el proceso, facilitando la toma de volúmenes y la realización del análisis.



Figura 2.10. Dispensadores programados. (Fotografía: María Rodríguez Escobar).

- Buretas electrónicas. Usadas para llevar a cabo las valoraciones ya que proporcionan medidas más exactas que las manuales.



Figura 2.11. Buretas electrónicas. (Fotografía: María Rodríguez Escobar).

- Placa calefactora. Utilizada para llevar a ebullición las muestras de los análisis.



Figura 2.12. Placa calefactora. (Alonso, 2017)

2.5 Descripción de los métodos analíticos.

Como se dijo anteriormente, se determinan inicial y finalmente distintos parámetros para comprobar el rendimiento que han tenido los digestores. En este apartado se van a describir cada uno de los métodos que se han llevado a cabo.

2.5.1 Demanda Química de Oxígeno (DQO)

La DQO es una medida indirecta del contenido de materia orgánica y compuestos oxidables en una muestra. Se define como la cantidad de oxígeno necesaria para oxidar completamente la materia orgánica y los compuestos oxidables de una determinada muestra.

La determinación se lleva a cabo según el método 5220B propuesto en Standard methods of examination of water and wastewater (ALPHA, 2005)

Materiales y reactivos necesarios:

- Tubos de digestión. Se trata de vidrio Pyrex, con tapones con rosca.
- Estufa que permita mantener la temperatura estable en 150°C.
- Buretas electrónicas.
- Matraz aforado de 2L.
- Pipeta de 5 mL.
- Matraz aforado de 10 mL.
- Solución de sulfato de plata en ácido sulfúrico concentrado.
- Solución indicadora ferroína.
- Solución de dicromato potásico.
- Agua destilada.
- Solución de sulfato de amonio ferroso, SAF, sal de Möhr, 0.025 M.

Procedimiento:

En primer lugar, se lavan los tubos de ensayo que se van a utilizar en la digestión con una solución de HCl para evitar la contaminación. Se introducen, una vez lavados en el horno durante 20 min para secarlos y se dejan enfriar antes de su utilización.

Se toman 10 mL de muestra y se diluyen en un matraz aforado de 2 litros de agua destilada. De esta disolución se toman 5 mililitros que se introducen en un tubo de ensayo. Se realiza la digestión de la muestra con exceso de dicromato potásico en un medio fuertemente ácido (H_2SO_4), durante dos horas a $150^\circ C$.

La reacción es catalizada con sulfato de plata Ag_2SO_4 y se utiliza $HgSO_4$ para eliminar posibles interferencias con los haluros presentes.

Posteriormente se dejan enfriar los tubos a temperatura ambiente y se realiza la determinación de la DQO, midiendo el exceso de dicromato con ayuda de una solución de sulfato de amonio ferroso, SAF, utilizando como indicador la ferroína, de la cual se añaden unas gotas en cada valoración.

Se toma como punto final de la valoración el cambio de color desde un azul verdoso a marrón rojizo.

Es necesario incluir un blanco, que contenga los reactivos y un volumen de agua desionizada igual que la muestra para considerar las posibles interferencias de los reactivos usados.

El volumen obtenido se introduce en la siguiente fórmula para obtener el valor de DQO.

$$DQO \left(mg \frac{O_2}{L} \right) = \frac{(A-B) \times M \times 8000}{mL \text{ de muestra}} \quad (\text{ecuación 1})$$

Donde,

A (mL): volumen de SAF utilizados para el blanco.

B (mL): volumen de SAF utilizado para la muestra

M: molaridad del SAF.

2.5.2 Alcalinidad Total

La medida de alcalinidad informa sobre la capacidad tampón de un medio y, por tanto, sobre la resistencia del pH a variar en función de las anomalías de operación. Esta medida permite conocer la concentración de carbonatos, bicarbonatos e hidróxidos presentes en la muestra (Alonso, 2017).

Materiales y reactivos necesarios:

- Matracas Erlenmeyer.
- Matraz aforado de 25 mL.
- pH-metro.
- Agitador.
- Agua destilada.
- Ácido clorhídrico 0.1 M.

Procedimiento:

Para llevar a cabo esta técnica se recogen en un Erlenmeyer 25 mL de muestra a los que se añade 100 mL de agua destilada y se coloca en el agitador.

Se realiza una valoración de la mezcla con un ácido fuerte, ácido clorhídrico (0,1 N). A medida que se añade, se controla el pH de la muestra utilizando el pH-metro, que en un inicio debe estar en rango neutro y tras la adición del ácido fuerte va bajando. Cuando se alcanza un pH igual a 4, se para la valoración y se anota el volumen requerido para llegar a este valor de pH.

El dato obtenido se asocia a la alcalinidad total, calculada con la siguiente fórmula:

$$\text{Alcalinidad} \left(\text{mg} \frac{\text{CaCO}_3}{\text{L}} \right) = \frac{A \times N \times 50000}{V} \text{ (ecuación 2)}$$

Donde,

A es el volumen de disolución de ácido estándar gastado en la valoración (en mL).

N es la normalidad del ácido estándar utilizado.

V es el volumen de muestra utilizado (en mL)

2.5.3 Ácidos Grasos Volátiles

Conocer la producción de ácidos grasos volátiles, permite marcar el punto de estabilización conseguido, indicando el correcto funcionamiento en las cinéticas de producción y eliminación de dichos ácidos.

Materiales y reactivos necesarios:

- Matracas Erlenmeyer.
- Matraz aforado de 25 mL.
- pH-metro.
- Placa calefactora.
- Agitador.
- Agua destilada.
- Hidróxido sódico 0.01 N.

Procedimiento:

Para realizar el análisis se aprovecha el proceso anterior donde se calculaba la alcalinidad. Una vez realizado dicho análisis, se toma el matraz y se pone a calentar en la placa calefactora.

Cuando comienza la ebullición, se cuentan tres minutos de reloj y se retira de la placa hasta un baño de agua donde se enfría a temperatura ambiente.

Con el matraz enfriado, se realiza una valoración empleando una base fuerte como es el hidróxido sódico. Se realiza, de nuevo, un control del pH, comenzará con un valor de pH bajo al principio de la valoración e irá aumentando conforme se añada la base fuerte.

Se añadirá el hidróxido sódico hasta alcanzar pH 7 y se anota el volumen consumido en la valoración.

Se utilizará la siguiente fórmula para obtener los Ácidos grasos volátiles:

$$AGV \left(mg \frac{CaCO_3}{L} \right) = \frac{B \times N \times 50000}{V} \text{ (ecuación 3)}$$

Donde,

B es el volumen de disolución de base estándar gastado en la valoración (en mL).

N es la normalidad de la base estándar utilizada.

V es el volumen de muestra utilizado (en mL)

2.5.4 Sólidos Totales y Sólidos Volátiles

Los sólidos totales (ST) están compuestos por sólidos fijos (SF) y sólidos volátiles (SV), estos engloban tanto los sólidos orgánicos como inorgánicos (Pozo, L., 2013).

Con estas dos medidas se puede determinar la cantidad de materia sólida inerte y la cantidad de materia orgánica o biomasa existente en la muestra.

Materiales y reactivos necesarios:

- Crisoles.
- Estufa.
- Mufla.
- Campana de enfriamiento.
- Balanza analítica.

Procedimiento:

Para llevar a cabo el procedimiento se utilizan los crisoles que previamente se han secado en la estufa, se introducen en una campana de enfriamiento hasta durante unos 10-15 minutos y se pesan (P_0).

Teniendo el crisol rotulado y pesado, se añaden en él 25 mL de muestra y se meten en la estufa durante 24 horas a una temperatura en torno a los 105°C. Una vez transcurrido este tiempo se sacan de la estufa y se dejan en la campana de enfriamiento durante 10-15 minutos antes de ser pesados nuevamente (P_1).

$$\text{Sólidos totales (g/L)} = \frac{P_1 - P_0}{V} * 1000 \text{ (ecuación 4)}$$

Donde, como se ha dicho, P_0 es el peso inicial del crisol vacío, P_1 el peso del crisol más la muestra una vez transcurridas las 24 horas y V (L) es el volumen de muestra

El crisol con la muestra seca, una vez pesado se introduce en una mufla a 550°C durante 20 min. Una vez transcurrido este tiempo, se ponen los crisoles en la estufa de 105°C durante 10 minutos para que el cambio de temperatura no sea tan brusco y haya errores en la pesada.

De nuevo se sacan los crisoles de la estufa y se introducen en la campana de enfriamiento durante 10-15 minutos antes de ser pesados por última vez (P_2).

$$\text{Sólidos volátiles (g/L)} = \frac{P_1 - P_2}{V} * 1000 \text{ (ecuación 5)}$$

2.5.5 Determinación de la producción de biogás

Conocer el volumen de biogás generado y su composición (sobre todo la cantidad de metano y dióxido de carbono) permite tener un indicador de la biodegradabilidad del efluente problema, además proporciona una medida indirecta de la actividad de las bacterias metanogénicas y de la evolución de la alcalinidad.

Materiales utilizados:

- Equipo de presión (ifm PN5007).
- Baño de NaOH.

Procedimiento:

El volumen de gas producido se obtiene utilizando de forma diaria el medidor de presión. Para realizar la medida, se coloca una aguja en el medidor y se introduce en el microdigestor. El medidor proporciona la presión medida en mbar. La producción de biogás se calcula a partir de la siguiente ecuación:

$$\frac{V_{\text{cámara de gas}} * T}{P * T_{\text{ensayo}}} = \frac{P_{\text{medida}}}{1.01 \text{ mbar}} \text{ (ecuación 6)}$$

Donde:

P es la presión en condiciones normales.

$V_{\text{cámara de gas}}$ es el volumen de la cámara de gas del BMP.

T es la temperatura de referencia (273 K)

T_{ensayo} es la temperatura del ensayo (K).

P_{medida} presión que se obtiene al medir con el equipo de presión (mbar).

Para determinar la composición del gas se ha pasado el gas producido por un baño de NaOH, donde queda precipitado el CO₂ y por tanto el volumen medido por el contador corresponde al metano. Con el dato de metano se puede obtener el de CO₂ por simple diferencia con el gas que se ha introducido en el baño de NaOH. En general, la composición obtenida corresponde con un 60% de metano y un 40% de dióxido de carbono.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

En este apartado se presentan los resultados de las medidas analíticas realizadas a las mezclas de los BMP al inicio y al final del ensayo.

3.1 Datos de digestión.

Producción de biogás.

En las gráficas que se muestran a continuación se van presentar el volumen acumulado, tanto el producido por el inóculo como el producido por las mezclas de sustrato-cosustratos.

En la figura 3.1, se presentan las curvas correspondientes al ensayo que contiene únicamente fango digerido y el que contiene la mezcla entre fango digerido y fango mixto.

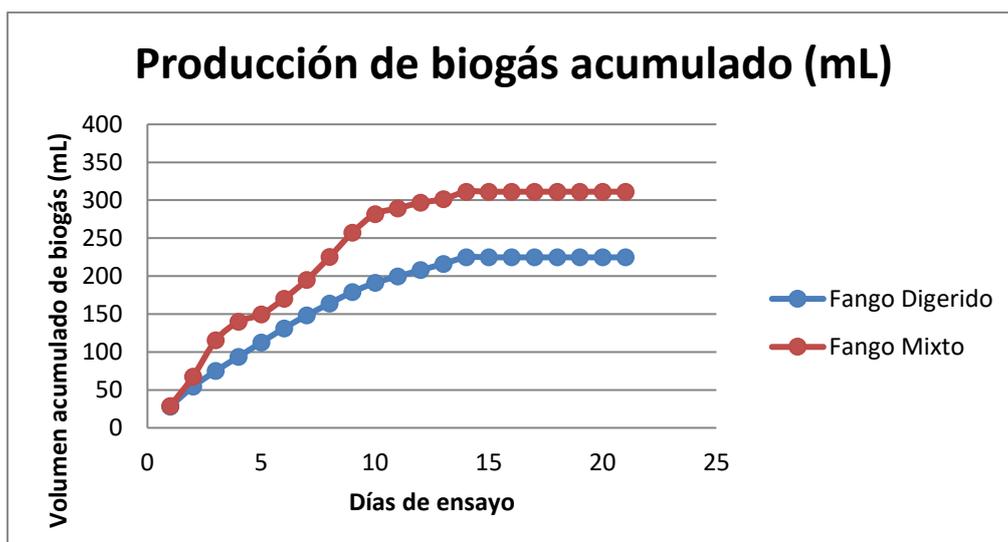


Figura 3.1 Producción de biogás de BMP con Fango Digerido y la mezcla con Fango Mixto. (Rodríguez Escobar, M.)

Como se puede observar en este primer gráfico, añadiendo el fango mixto la producción de biogás aumenta con respecto al ensayo que solo contiene fango digerido. Esto permite comprobar que el fango mixto es de utilidad y está en buenas condiciones dado que tiene actividad microbiana.

Comparando ahora el ensayo compuesto por fango digerido y fango mixto (curva FM), con los ensayos a los que además se le añadió las distintas proporciones de lixiviado se observa, en la gráfica 3.2, que cuanto mayor es el

volumen de lixiviado añadido, menor es la producción de biogás. Por lo que se demuestra el carácter inhibitorio del lixiviado.

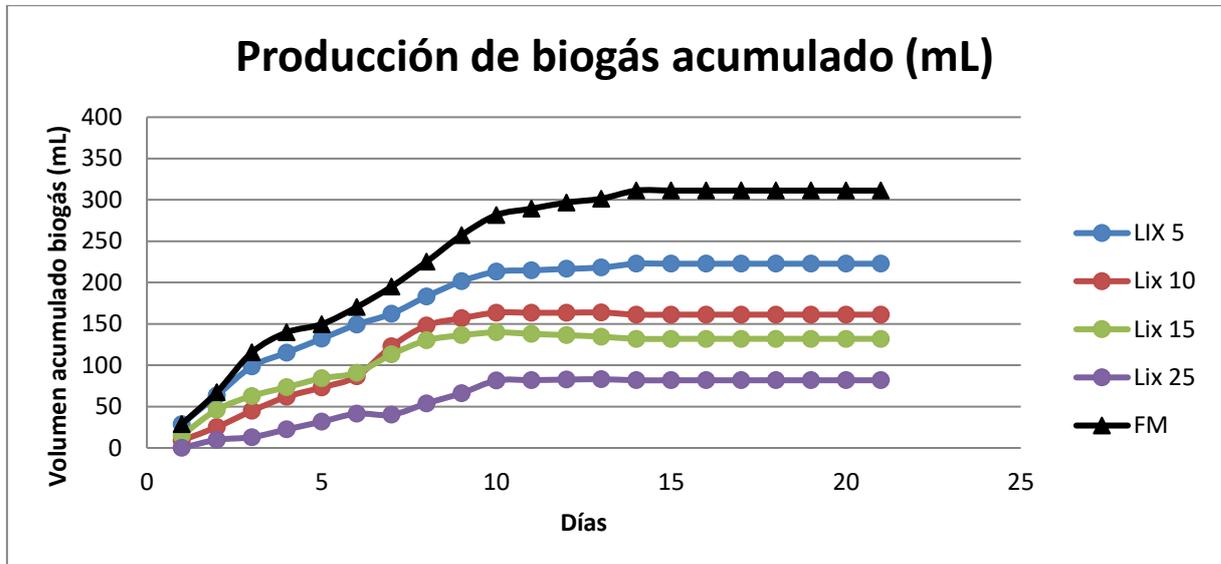


Figura 3.2 Producción de biogás de BMP con lixiviado de vertedero. (Rodríguez Escobar, M.)

Para tratar de compensar la toxicidad que produce el lixiviado, se añade una cantidad fija de lactosuero, del cual se sabe sus buenas propiedades para producir biogás.

Como se observa en la gráfica 3.3, la adición de lactosuero hace que la producción de biogás aumente con respecto a los ensayos en los que no se ha utilizado este cosustrato. Sin embargo, para los BMP con 15 y 25 mL de lixiviado, la cantidad de lactosuero añadido no es suficiente para mejorar el volumen producido por el ensayo de fango digerido y fango mixto.

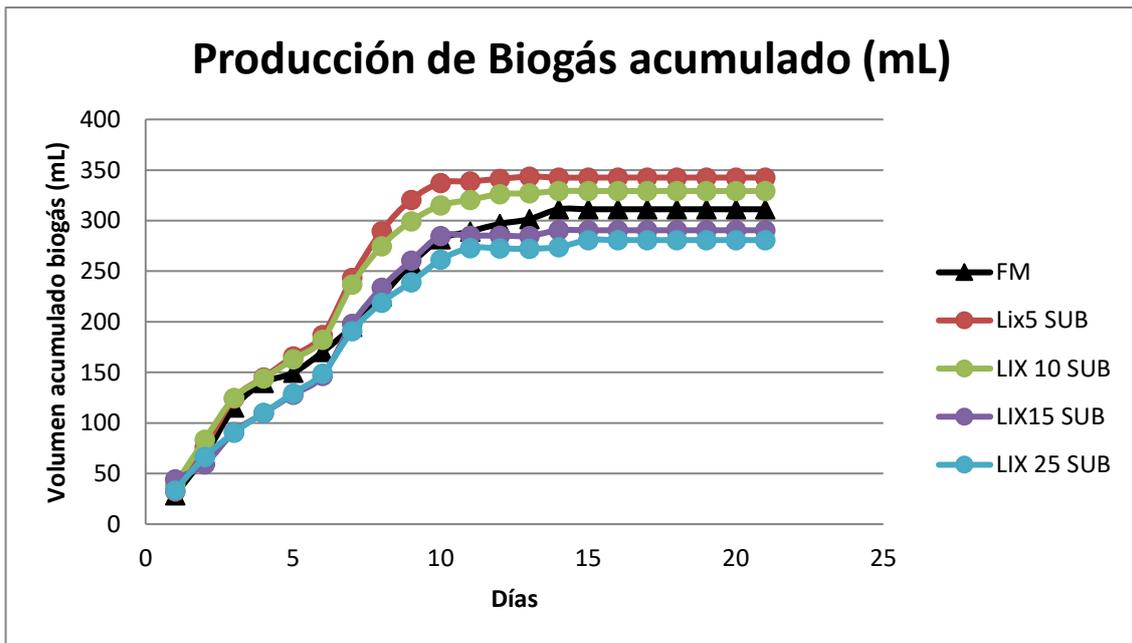


Figura 3.3 Producción de biogás de BMP con lixiviado y lactosuero. (Rodríguez Escobar, M.)

En las próximas gráficas se va a estudiar, por un lado, de manera individual los ensayos con la misma cantidad de lixiviado

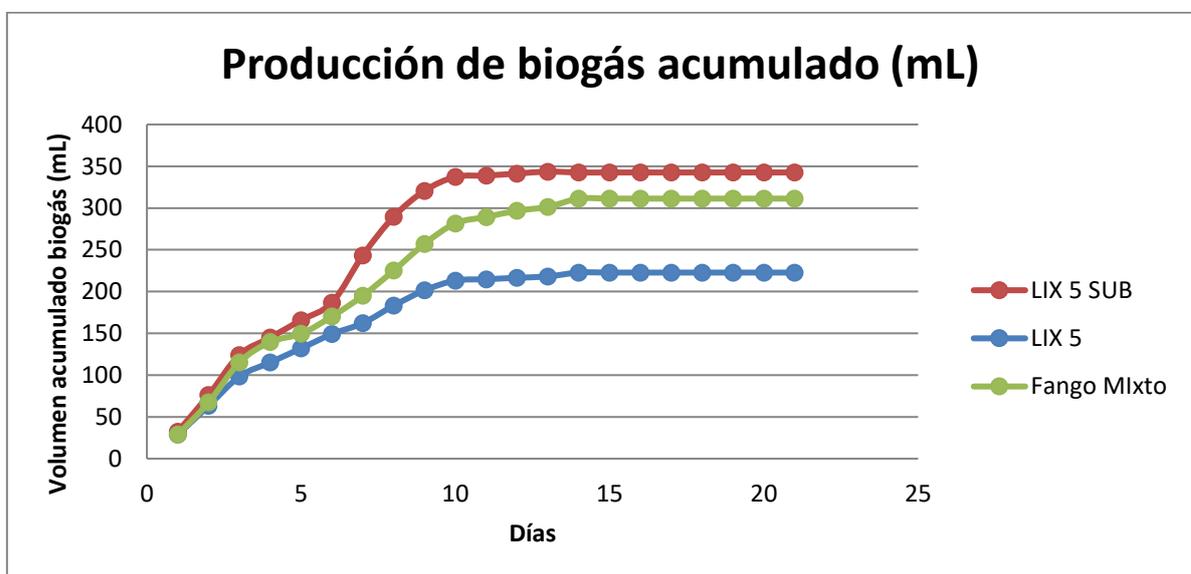


Figura 3.4 Producción de biogás de BMP con 5 mL de lixiviado y 5 mL lixiviado con lactosuero. (Rodríguez Escobar, M.)

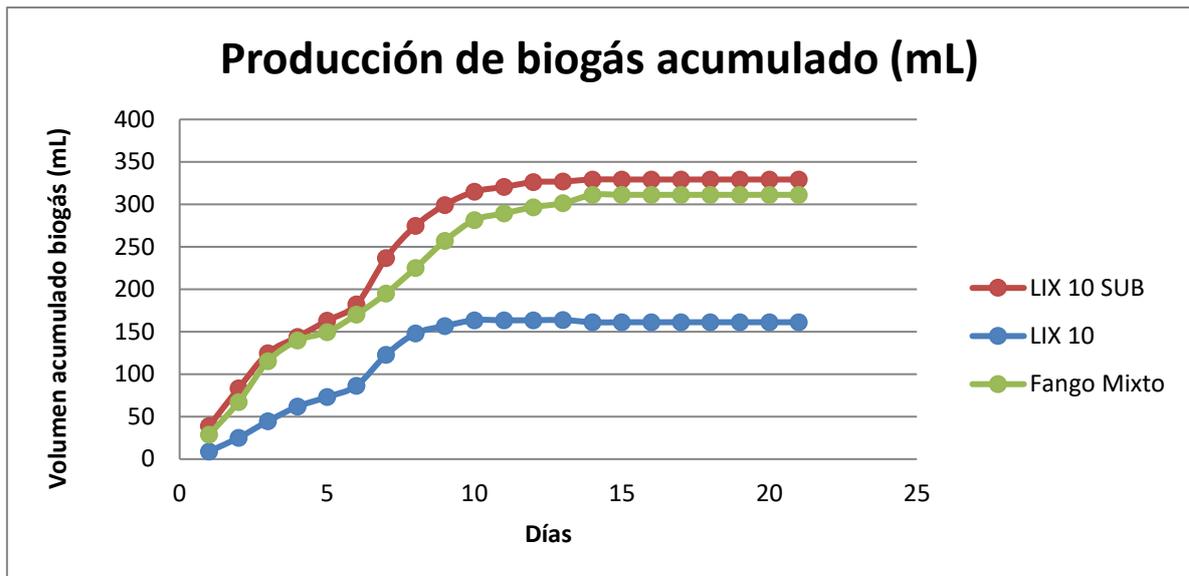


Figura 3.5 Producción de biogás de BMP con 10 mL de lixiviado y 10 mL lixiviado con lactosuero. (Rodríguez Escobar, M.)

En los BMP que tienen 15 y 25 mL de lixiviado, la cantidad de lactosuero no resulta suficiente para superar la producción del BMP con fango mixto. A pesar de esto, se sigue comprobando que la producción de biogás sufre una gran mejora con la adición del lactosuero.

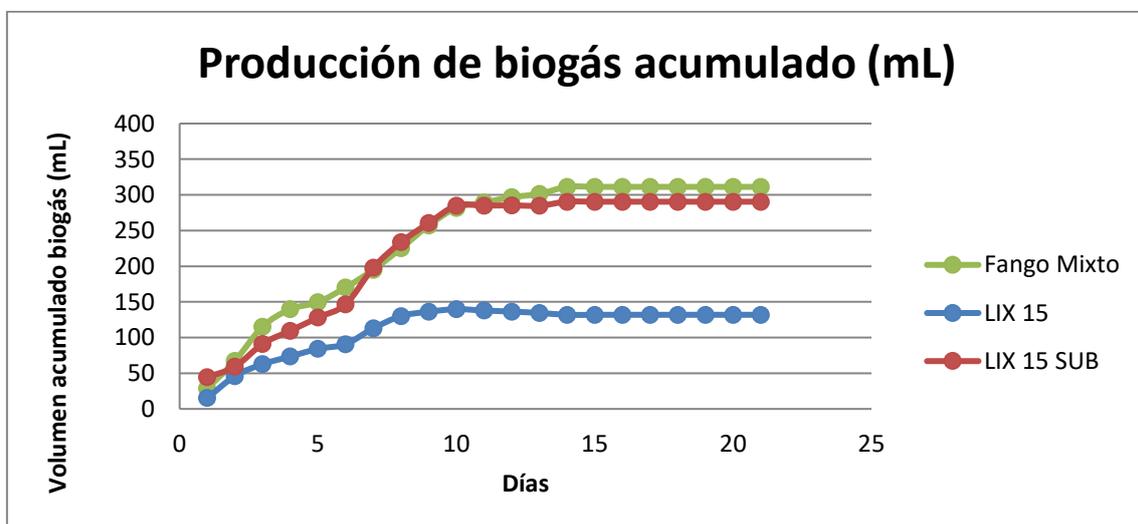


Figura 3.6 Producción de biogás de BMP con 15 mL de lixiviado y 15 mL lixiviado con lactosuero. (Rodríguez Escobar, M.)

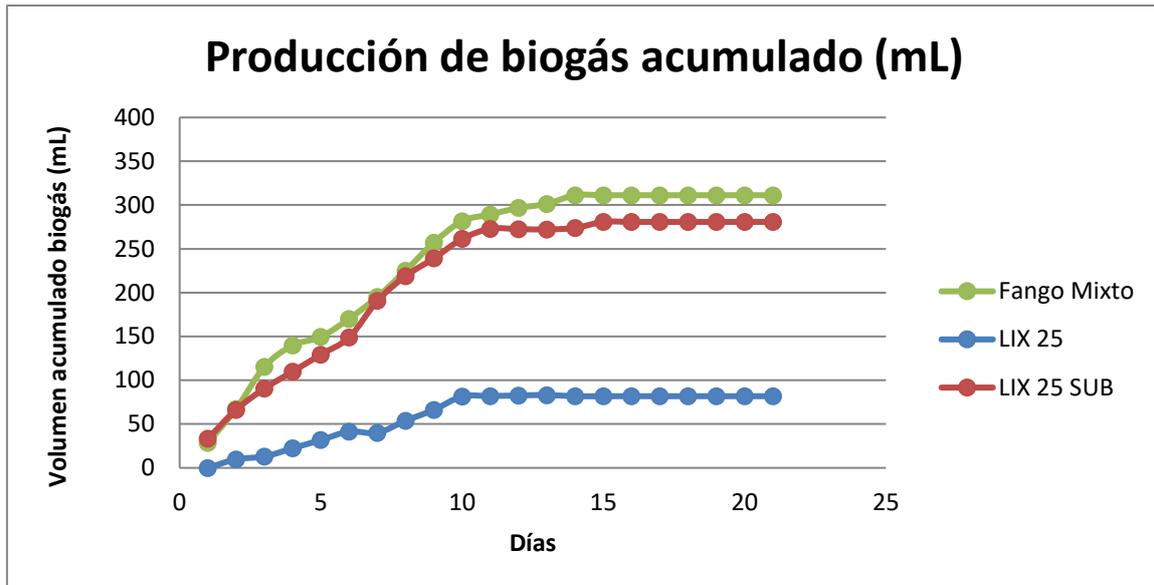


Figura 3.7 Producción de biogás de BMP con 25 mL de lixiviado y 25 mL lixiviado con lactosuero. (Rodríguez Escobar, M.)

Demanda Química de Oxígeno:

Los datos de Demanda Química de Oxígeno permiten conocer en qué medida se está eliminando la materia orgánica en los microdigestores.

En la siguiente tabla se recogen los datos de DQO al inicio y al final del ensayo, además del porcentaje de eliminación de materia orgánica.

Tabla 3.1 Resultados de DQO al inicio y al final del ensayo y % Eliminación

	Inicio BMP (mg/L)	Final BMP (mg/L)	% Eliminación DQO
Fango digerido (F.D.)	13821,00	9685,16	29,92
FM	33351,91	15604,99	53,21
FM+ LIX 5 mL	17853,00	9078,50	49,15
FM+ LIX 10 mL	16210,50	9265,00	42,84
FM+ LIX 15 mL	15810,72	10196,00	35,51
FM+ LIX 25 mL	12360,00	8989,00	27,27
FM+ LIX 5 mL+ SUB	19489,26	9562,00	50,93
FM+ LIX 10 mL+ SUB	18310,00	9895,00	45,96
FM+ LIX 15 mL+ SUB	17524,00	10364,00	40,86
FM+ LIX 25 mL + SUB	14680,00	8824,00	39,89

Con respecto a los resultados obtenidos en los ensayos, se observa que en todos los ensayos conforme aumenta la proporción de lixiviado añadido, disminuye el porcentaje de eliminación de materia orgánica.

También se ha comprobado que al incorporar lactosuero a la mezcla, el descenso de la DQO es mayor que en los ensayos que no lo contienen.

Sólidos totales y Sólidos Volátiles:

El porcentaje de sólidos volátiles medidos permite conocer la cantidad de microorganismos que existen en el digestor, esto refleja el estado en que el digestor se encuentra. Una estabilidad en estos valores representa un buen funcionamiento del proceso. Una escasa población microbiana indica que los residuos suministrados provocan unas condiciones poco favorables.

Tabla 3.2 Resultados de Sólidos totales al inicio y al final del ensayo y % Eliminación

	Inicio BMP (mg/L)	Final BMP(mg/L)	% Eliminación
Fango digerido (F.D.)	21474	8365	61.04
FM	24636	8361	66.06
FM+ LIX 5 mL	24380	7577	68.92
FM+ LIX 10 mL	23289	7062	69.69
FM+ LIX 15 mL	20964	7366	64.86
FM+ LIX 25 mL	21076	7883	62.60
FM+ LIX 5 mL+ SUB	22704	7929	65.08
FM+ LIX 10 mL+ SUB	23680	7451	68.53
FM+ LIX 15 mL+ SUB	21890	7956	63.65
FM+ LIX 25 mL + SUB	21772	7799	64.18

Tabla 3.3 Resultados de Sólidos Volátiles al inicio y al final del ensayo y % Eliminación

	Inicio BMP (mg/L)	Final BMP (mg/L)	% Eliminación
Fango digerido (F.D.)	11894	4199	64,69
FM	15982	3984	75.07
FM+ LIX 5 mL	14520	3415	76,48
FM+ LIX 10 mL	13978	3044	78.22
FM+ LIX 15 mL	12108	2962	75.54
FM+ LIX 25 mL	12074	3777	68.72
FM+ LIX 5 mL+ SUB	13764	3969	71.16
FM+ LIX 10 mL+ SUB	14494	3624	74.99
FM+ LIX 15 mL+ SUB	13934	3689	73.52
FM+ LIX 25 mL + SUB	12868	3673	71.46

Alcalinidad y Ácidos Grasos Volátiles.

El ratio AGV/Alcalinidad disminuye en todos los ensayos como se puede observar en la tabla 3.4. Los valores de la tabla muestran que, a pesar de las irregularidades del proceso, se obtienen resultados equilibrados.

Tabla 3.4 Resultados de Alcalinidad, AGV y relación AGV/Alc. al inicio y al final del ensayo.

	Inicio BMP (mg CaCO ₃ /l)			Final BMP (mg CaCO ₃ /l)		
	Alcalinidad	AGV	AGV/Alc.	Alcalinidad	AGV	AGV/Alc.
Fango digerido	5553	751.90	0.14	9328	475.29	0.05
FM	4977	1206.03	0.24	8705	443.39	0.05
FM+ LIX 5 mL	4947	1056.03	0.21	9184	495.60	0.05
FM+ LIX 10 mL	4712	810.09	0.17	9111	493.97	0.05
FM+ LIX 15 mL	4777	779.31	0.16	9015	360.00	0.04
FM+ LIX 25 mL	5207	800.34	0.15	8974	440.86	0.05
FM+ LIX 5 mL+ SUB	4435	985.86	0.22	8657	421.12	0.05
FM+ LIX 10 mL+ SUB	4537	920.78	0.20	8899	391.03	0.04
FM+ LIX 15 mL+ SUB	4714	999.91	0.21	8933	426.21	0.04
FM+ LIX 25 mL + SUB	4572	569.83	0.12	8743	310.76	0.03

4. CONCLUSIONES

En este apartado se presentan las conclusiones obtenidas a partir de los datos recogidos durante los ensayos.

- Como se ha observado en las gráficas de comparación de producción de biogás, el aumento de la cantidad de lixiviado produce una disminución de la producción, por lo que se ha comprobado que se trata de una sustancia que dificulta el proceso de digestión.

- La producción de gas aumenta al añadir el lactosuero. Los ensayos que mejor han respondido a la adición de lactosuero son a los que se les ha añadido 5 mL y 10 mL de lixiviado de vertedero, en ambos casos la producción de biogás es mayor que añadiendo únicamente fango mixto.

Por lo que se puede confirmar el potencial del lactosuero para valorizar residuos complejos como el lixiviado de vertedero y generar una cantidad de biogás extra que genere beneficios energéticos y que permita gestionar un residuo contaminante.

- Para los ensayos de 15 mL y 25 mL, se deberá continuar el estudio para comprobar la cantidad necesaria de lactosuero que se necesita para mejorar la producción de biogás.

5. LÍNEAS DE FUTURO.

La experiencia que se ha desarrollado en este proyecto permite que se pueda continuar con la investigación:

- Los resultados positivos en los BMP con fango mixto, lixiviado y lactosuero (5 mL y 10 mL) deben llevarse al digestor de 7 L para comprobar su viabilidad.
- Por otro lado, con los BMP que han dado resultados desfavorables, los que contienen 15 mL y 25 mL de lixiviado de vertedero, se deberá continuar el estudio para determinar nuevas mezclas que mejoren el proceso y permitan la obtención de resultados positivos.
- Se debe promover la búsqueda de nuevos co-sustratos, distinto al lactosuero, que mejore las condiciones del proceso y sea económicamente viable.

6. BIBLIOGRAFÍA.

Angelidaki, I., Alves, M., Bolzanella, D., Borzacconi, L., Campos, J.L., Guwy, A.J., Kalyuzhnyi, S., Jenicek, P., Van Lier, J.B, (2009). *Defining the biometane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: A proposed protocol for batch assays*. Water sci technol. 59(5). 927-934.

Alonso Contreras, A.J., (2017) *Ensayo de estabilización y reparación de digestores anaerobios, con residuos industriales y agroalimentarios, en un proceso de co-digestión anaerobia*. Tesis Doctoral Universidad de Sevilla

APHA, AWWA, WPCF. *Métodos normalizados para el análisis de aguas y aguas residuales*. Ed. Días de Santos, S.A. Madrid.

Bainotti, AE., Ennouri, M., Felfoul, I., Attia, H., (2013). *A physical stability study of wheybased prickly pear beverages*. Food Hydrocoll. 33: 234-244.

Benito Mora, C., (2017). *Desarrollo de la tecnología BMP para ensayos de Codigestion anaerobia, de residuos agroalimentarios con fangos mixtos de EDAR*. Tesis doctoral, Universidad de Sevilla.

Cadi, Z. (1994). *Méthanisation en bioréacteur à membrane: application a un effluent de papeterie*. Tesis doctoral. Université Claude Bernard (Lyon).

Calli, B., Mertoglu, B., Inanc, B., Yenigun, O. (2005). *Effects of high free ammonia concentrations on the performances of anaerobic bioreactors*. Process Biochemistry 40. 1285-1292.

Cebrian M., Rentería M, Guitierrez M., Orive M. San Martín D., Zufía J. (2013). *Aprovechamiento integral del lactosuero generado en el sector lácteo: proyecto Valorlact*. Industrias Lácteas Españolas nº 417.

Chatzipaschali A., Stamatis A., (2012). *Biotechnological Utilization with a Focus on Anaerobic Treatment of Wheese Whey: Current Status and Prospects*. Energies 5, 3492-3525.

Esteban Gutiérrez, M. (2014). *Co-digestión anaerobia de lodo de EDAR con residuos orgánicos de diferente naturaleza, combinación de técnicas experimentales y herramientas matemáticas*.

ISO 11734. 1995. Water quality – Evaluation of the ultimate anaerobic biodegradability of organic compounds in digester sludge – Method by measurement of the biogas production. International Organization of Standardization, Switzerland.

Hernández F.M., (2015). *Producción de biogás con suero de queso: Tratamiento y generación de energía renovable a partir de lactosuero.*

Hublin a., Zokic T. I. y B. Zelic (2012). *Optimization of Biogas Production from Co-digestion of Whey and Cow Manure.* Biotechnology and Bioprocess Engineering. 17: 1284-1293.

Jauregui, P., Wolderufael, FT., (2010) *Added-value protein products from whey.* Nutrafoods 9 9: 13-23.

Lay, J.J., Li, Y.Y., Noike, T. (1997). *Influences of pH and moisture content on the methane production in high-solids sludge digestion.* Water Research, 31(10), 1518-1524.

Lettinga, G.; de Man, A.; van der Last, A.R.M.; Wiegant, W; van Knippenberg, K.; Frinjs, J and van Buuren, J.C.L. (1993). *Anaerobic treatment of domestic sewage and wastewater.* Wat. Sci. Tech., 27 (9), 67-73.

Liang, M., Chen, VYT., Chen, W. (2006). *A simple and direct isolation of whey components from raw milk by gel filtration chromatography and structural characterization by Fourier transform Raman spectroscopy.* Talanta 69: 1269-1277.

Noone, G.P., (1990). *The treatment of domestic wastes in Anaerobic digestion: a waste treatment technology.* A Critical reports on applied chemistry, 31. 139-170.

Ocaña Pérez. Fco. J., (2011) *Biodigestor Anaerobio de Laboratorio.* Departamento de Ciencia e Ingeniería de Materiales e Ingeniería Química, Universidad de Madrid.

Parra, A., (2009) *Lactosuero: importancia en la industria de alimentos.* Revista Facultad Nacional de Agronomía 62(1): 4967-4982.

Pavlostathis, S.G., Giraldo-Gomez, E. (1991). *Kinetics of anaerobic treatment a critical review*. Critical reviews in environmental control. 21 (5,6) 441-490.

Ramos Castellanos, Pedro, *Residuos: Alternativas de Gestión*, Ediciones Universidad de Salamanca, 2003.

Ruiz Cabrera, C. (2002). *Aplicación de digestores anaerobios discontinuos en el tratamiento de aguas residuales industriales*. Tesis doctoral Universidad de Sevilla.

Schelinkhout, A (1993). *UASB technology for sewage treatment: experience with a full scale plant and its applicability in Egypt*. Wat. Sci. Tech., 27(9), 173-180.

Solera del Río, R. *De residuo a recurso. Aspectos biológicos de la digestión anaerobia*. Ed. Mundi-Prensa, 2014.

Terreros- Mecalco, J., Olmos, A. (2009). *Digestión anaerobia en dos etapas de lodos primarios y secundarios con reactores anaerobios de flujo ascendente*. Tesis doctoral Universidad Autónoma Metropolitana.

Van Lier, J.B., Nidal, M., Zeeman, G. (2008). *Anaerobic Wastewater Treatment*. In: Henze, I., Loosdrecht, M.C.M., Ekama, G.A., Brdjanovic, D. (Ed.) Biological Wastewater Treatment- Principles, Modelling and Design, IWA Publishing London.

Yadav, JSS., Yan, S., Pilli, S., Kumar L. Tyagi RD, Surampalli RY, (2015) *Cheese whey: A potential resource to transform into bioprotein, functional/nutritional proteins and bioactive peptides*. Biotechnol. Adv. 33: 756-774.

Recursos web:

- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación:

<http://www.mapama.gob.es/es/calidad-y-evaluacion-ambiental/temas/prevencion-y-gestion-residuos/flujos/lodos-depuradora/> (2018)

- Estación de aguas residuales Copero:

<http://www.emasesa.com/conocenos/nuestras-infraestructuras/depuracion/estaciones-depuradoras-e-d-a-r/edar-copero-2/> (2018)

- Mancomunidad de la Vega:

<http://web.lavegamancunidad.es/> (2018)