

CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA DE LOS LODOS QUE INTERVIENEN EN LA DIGESTIÓN ANAEROBIA DE LA FRACCIÓN ORGÁNICA DE LOS RESIDUOS SÓLIDOS URBANOS

C. SANDOVAL^{*}, M. CARREÑO^{**}, E. F. CASTILLO^{*}, M. VERGARA^{*}

Universidad Industrial de Santander
^{*} Grupo de Investigación en Digestión Anaerobia
Centro de Estudios e Investigaciones Ambientales – CEIAM
^{**} Coordinadora Laboratorio de Microbiología
Centro de Innovación en Biotecnología y biología Molecular – CINBIN
^{*} ceiam@uis.edu.co
^{**} mcarreno@uis.edu.co

Fecha Recepción: 28 de Agosto de 2006
Fecha Aceptación: 6 de Octubre de 2006

RESUMEN

Entre las tecnologías anaerobias actualmente disponibles en el mercado, la digestión anaerobia de la Fracción Orgánica de los Residuos Sólidos Urbanos (FORSU) se presenta como una alternativa destinada a disminuir el volumen de residuos depositados en los rellenos sanitarios, además de producir un gas combustible conocido como biogás (CH₄ y CO₂) y un efluente rico en nutrientes, el cual puede ser usado como bioabono. En este trabajo se presenta la caracterización microbiológica de lodos anaerobios utilizados durante el arranque y puesta en marcha de un reactor anaerobio en dos fases para el tratamiento de la FORSU. El inóculo utilizado se tomó de la planta de tratamiento de aguas residuales (PTAR) de Río Frío y de un digestor anaerobio de residuos porcícolas. Las poblaciones bacterianas se evaluaron mediante el recuento de los grupos metabólicos por la técnica del Número Mas Probable (NMP); los grupos relacionados con la sensibilidad al oxígeno y la Actividad Metanogénica Específica (AME) se determinaron empleando acetato, formato y etanol como sustratos.

Palabras Clave: Digestión anaerobia, Grupos metabólicos, Número más probable (NMP), Actividad Metanogénica Específica (AME), Fracción Orgánica de los Residuos Sólidos Urbanos (FORSU)

INTRODUCCIÓN

Una de las tecnologías más aplicadas para el tratamiento de los residuos sólidos, especialmente de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos (FORSU), es la digestión anaerobia;^[1,10] por cuanto disminuirá considerablemente los volúmenes de residuos depositados en los rellenos sanitarios, además de producir biogás y un efluente con excelentes características para ser utilizado como biofertilizante.^[3,13] Durante este proceso la materia orgánica es degradada a metano a través de una serie de reacciones bioquímicas llevadas a cabo por diferentes grupos de bacterias, las cuales utilizan en forma secuencial los productos generados por cada uno de ellos. Estos grupos metabólicos están conformados por las bacterias hidrolíticas, bacterias fermentativas (acidogénicas), bacterias acetogénicas y bacterias metanogénicas. El proceso se inicia con la hidrólisis de polímeros complejos (polisacáridos, proteínas y lípidos) que por acción de enzimas extracelulares son hidrolizados a moléculas

de bajo peso molecular como los azúcares, aminoácidos, ácidos grasos de cadena larga y alcoholes. Estos productos son transportados a través de la membrana celular para ser fermentados a ácidos grasos con bajo número de carbonos como los ácidos acético, fórmico, propiónico y butírico; compuestos reducidos como el etanol, además de Hidrógeno y dióxido de carbono. Las bacterias acetogénicas transforman los productos de la fermentación en acetato, hidrógeno y dióxido de carbono. Finalmente las bacterias metanogénicas convierten los ácidos grasos a acetato, el acetato a metano y dióxido de carbono, o reducen el dióxido de carbono a metano.^[4,6,8,9,11,12,13] La estabilidad y eficiencia de los reactores anaerobios es usualmente determinada a través de algunos parámetros físico-químicos como los Sólidos Suspendidos Volátiles (SSV), la concentración de Ácidos Grasos Volátiles (AGV) y la cantidad y composición del biogás producido.^[10,15,7]

Sin embargo, son pocas las investigaciones encaminadas a evaluar los reactores a través de las poblaciones metanogénicas.

Uno de los factores críticos para la estabilidad de los reactores anaerobios durante el tratamiento de la FORSU es el mantenimiento de suficientes poblaciones metanogénicas ya que una disminución en su actividad afecta directamente la ejecución de los reactores anaerobios en términos de producción de metano y calidad del efluente.

En este estudio se realizó la caracterización de las diferentes poblaciones bacterianas involucradas en el proceso de digestión anaerobia de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos en un reactor anaerobio en dos fases.

METODOLOGÍA

Reactor

Se empleó un reactor anaerobio en dos fases (reactor hidrolítico (R1) y un reactor metanogénico (R3)), construidos en acero inoxidable, con capacidad de 30 L y un volumen útil de 24 L, además del control automático de agitación y temperatura. En la tabla 1 se reportan los parámetros operacionales de los reactores.

Tabla 1. Parámetros operacionales de los reactores.

PARAMETROS	REACTOR HIDROLITICO	REACTOR METANOGENICO
Temperatura	35°C	38°C
pH	4.0 – 6.5	7.5 – 8.0
TRH	10 días	15 días

Inóculo

El reactor fue inoculado con una mezcla de lodos procedentes de la planta de tratamiento de aguas residuales municipales (PTAR) Río Frío, localizada en el municipio de Girón, Santander y de un digestor anaerobio para el tratamiento de los residuos porcícolas ubicado en la finca Gavassa de la mesa de los Santos, Santander.

Sustrato

Se utilizó la Fracción Orgánica de los Residuos Sólidos Urbanos (FORSU) como sustrato durante el arranque del reactor hidrolítico (R1) y el efluente del mismo como sustrato para el Reactor Metanogénico (R3).

Recuento por sensibilidad al oxígeno

Se empleó la técnica de recuento estándar en placa por siembra profunda para los siguientes grupos: Bacterias Aerobias y Anaerobias Facultativas (BAAF), Bacterias Anaerobias (BA), Mohos y Levaduras (ML). Se sembraron dos cajas por dilución y dos diluciones por muestra. Se incubaron a 35°C así: las BAAF bajo condiciones aerobias durante 48 horas, las BA durante 8 días bajo atmósfera de anaerobiosis y los ML durante 8 días a temperatura ambiente.^[4] Adicionalmente se realizó un recuento de Coliformes totales y Fecales utilizando la técnica de NMP^[2].

Recuento por grupos metabólicos

Las poblaciones microbiales fueron caracterizadas por la técnica de Número Mas probable (NMP) para los siguientes grupos: Bacterias Fermentadoras de glucosa (BFG) y lactato (BFL); Bacterias Acetogénicas del Propionato, Formato y Etanol (BAP, BAF, BAE); Bacterias Sulfatorreductoras del Acetato (BSRA), Lactato (BSRL) y Etanol (BSRE); Bacterias Metanogénicas del Acetato, Formato, Metanol (BMA, BMF, BMM).

Para el recuento de los grupos metabólicos se inoculan tres viales o botellas por dilución y tres diluciones por muestra. Se incubaron a 35°C durante el tiempo necesario dependiendo del grupo. Todos los procedimientos descritos fueron corridos bajo una atmósfera de N₂ y CO₂ (80% - 20%)^[4].

Actividad Metanogénica Específica (AME)

Para la realización de estos ensayos se utilizaron los lodos del reactor metanogénico. Como reactores se usaron botellas de suero de 500 ml, con un volumen útil de 250 ml selladas herméticamente. Las botellas fueron llenadas con 200 ml del medio,^[5] 40 ml de lodo y 10 ml de sustrato bajo una atmósfera de N₂ y CO₂ (80% - 20%). La producción de metano fue medida por el método de desplazamiento de líquido usando una solución de hidróxido de sodio (NaOH) al 1% e indicador de fenofaleina. Los sustratos usados para esta prueba fueron, acetato (600 mM); formato (2400mM) y etanol (1000 mM). Se monitoreó la producción diaria de metano y a partir de los datos obtenidos se calcularon las AME. El contenido de las botellas de suero fue mezclado por movimientos manuales antes de cada lectura. La misma cantidad de sustrato adicionada durante la primera alimentación fue suministrada para la segunda alimentación. Todas las pruebas fueron conducidas a 38°C y ejecutadas por duplicado^[16, 15, 5]. Adicionalmente se determinaron los Sólidos Suspendidos Volátiles (SSV) según las recomendaciones del Standard Methods^[2].

RESULTADOS

En la tabla 2 se consignan los recuentos relacionados con la sensibilidad al oxígeno para el reactor hidrolítico y metanogénico. Ambos reactores se caracterizaron por presentar una proporción de

bacterias anaerobias (BA) alta, seguidas por las bacterias aerobias y anaerobias facultativas (BAAF) y en menor proporción los mohos y levaduras (ML); indicando la presencia de condiciones anaerobias en estos reactores.

Tabla 2. Grupos microbianos relacionados con la sensibilidad al oxígeno expresada en UFC/ml.

GRUPOS BACTERIANOS	REACTOR HIDROLITICO	REACTOR METANOGENICO
Bacterias aerobias y anaerobias facultativas (BAAF)	18×10^5	15×10^5
Bacterias anaerobias (BA)	16×10^7	74×10^5
Mohos y levaduras (ML)	10×10^3	44×10^4

Los recuentos de Coliformes totales y fecales se presentan en la tabla 3, los cuales se mantuvieron bajos para ambos reactores.

Tabla 3. Recuento de microorganismos patógenos expresado en NMP / ml

GRUPOS	REACTOR HIDROLITICO	REACTOR METANOGENICO
Coliformes totales (CT)	43×10^3	24×10^3
Coliformes fecales (CF)	43×10^3	24×10^3

Tabla 4. Grupos microbianos relacionados con el metabolismo bacteriano expresado en NMP / ml

GRUPOS METABOLICO	REACTOR HIDROLITICO	REACTOR METANOGENICO
Bacterias Fermentadoras de glucosa (BFG)	11×10^6	ND*
Bacterias Fermentadoras de lactato (BFL)	11×10^6	ND*
Bacterias Acetogénicas del Propionato (BAP)	46×10^6	26×10^5
Bacterias Acetogénicas del Formato (BAF)	11×10^6	26×10^5
Bacterias Acetogénicas del Etanol (BAE)	11×10^6	11×10^5
Bacterias Sulfatorreductoras del Acetato (BSRA)	11×10^6	29×10^4
Bacterias Sulfatorreductoras del Lactato (BSRL)	29×10^5	74×10^4
Bacterias Metanogénicas del Acetato (BMA)	ND	46×10^5
Bacterias Metanogénicas del Formato (BMF)	ND	46×10^5
Bacterias Metanogénicas del Metano (BMM)	ND	11×10^5

Con respecto al metabolismo bacteriano, las bacterias fermentadoras (BF) y las bacterias sulfatorreductoras (BSR) presentaron poblaciones muy similares para el reactor acidogénico, sugiriendo que estas consumen rápidamente los metabolitos producidos durante la transformación de la materia orgánica.

Las BSR representaron una población importante, mostrando una mayor proporción en el reactor hidrolítico al compararlo con los conteos obtenidos para el reactor metanogénico. Las BSR en ausencia de sulfatos, compiten eficientemente por el sustrato con las bacterias metanogénicas, siendo las BSR más eficientes y presentando mayor habilidad para

sobrevivir a pH bajos, inhibiendo las bacterias metanogénicas y por consiguiente, la producción de metano. Los recuentos de las poblaciones de BSR no evidenciaron una competencia con las bacterias metanogénicas (BM) por los sustratos empleados.

Para el caso de las bacterias acetogénicas (BA), se presentaron valores más altos en el reactor hidrolítico. La presencia de este grupo bacteriano en el reactor metanogénico es de gran importancia, ya que se genera un equilibrio entre la microbiota del sistema, relacionada con la transferencia interespecífica de hidrógeno, donde las BA producen hidrógeno y las BMH o BSR lo consumen.

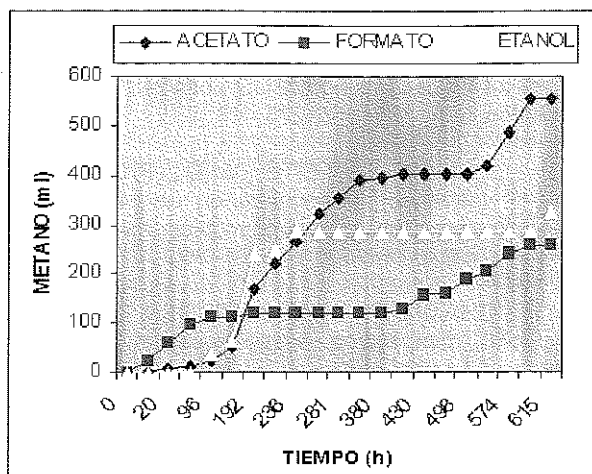


Figura 1. Producción de metano para los sustratos utilizados para la Actividad Metanogénica Específica (AME) del Reactor Metanogénico.

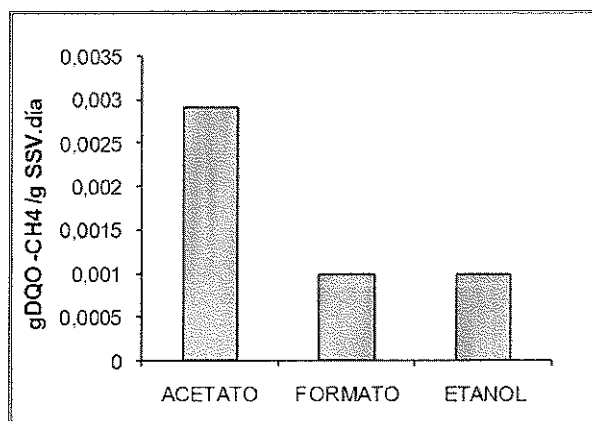


Figura 2. Actividad Metanogénica Específica en el Reactor Metanogénico.

Como se observa en la Figura 1 las BMA comienzan a utilizar el acetato eficientemente a partir de las 96 horas hasta las 406 horas, indicando agotamiento del sustrato; momento en el cual se realizó la segunda alimentación observándose que las BMA comienzan a utilizar eficientemente el acetato para producir metano. Las BMH comienzan a metanogenizar el formato hasta las 190 horas entrando en una fase estacionaria, al iniciar la segunda alimentación se presenta una fase exponencial hasta el final de la experiencia. Por el contrario las BME comienzan a utilizar el etanol para ser metanogenizado a partir de las 96 horas hasta las 236 horas.

En la cinética de producción de metano (Figura 1), se observa una mayor producción en el ensayo alimentado con acetato, cuyos valores sobrepasaron los 500 ml después de la segunda alimentación;

este comportamiento coincide con los resultados obtenidos del cálculo de la actividad metanogénica la cual se encontró en 0,0029 gDQO-CH₄/gSSV.día. La actividad metanogénica para el formato y el etanol se encontró 0,001 gDQO-CH₄/gSSV.día (Figura 2).

CONCLUSIONES

La prueba de Actividad Metanogénica Específica demostró el establecimiento de suficientes poblaciones metanogénicas en el reactor metanogénico, lo cual sugiere que este parámetro puede ser un indicador útil para determinar las condiciones de estabilidad para el reactor anaerobio en dos fases.

Los datos reportados durante la caracterización de las poblaciones bacterianas son preliminares, sin embargo, se considera exitosa la digestión anaerobia para el tratamiento de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos debido a que los recuentos microbiológicos demostraron una adecuado balance entre las poblaciones presentes.

ABSTRACT

Among the anaerobic technologies available in the market, the anaerobic digestion of the Organic Fraction of Urban Solid Waste (OFUSW) appears as an alternative destined to decrease the volume of wastes deposited in the landfills, further to produce a biogas (CH₄ and CO₂) and a rich effluent in nutrients, which can be used as a biofertilizer. In this work is presented the microbiological characterization of the anaerobic mud used during the starting-up of a two phases anaerobic reactor for the anaerobic digestion of OFUSW. The inoculum was obtained from Wastewater Treatment Plant of Río Frío and piggery waste anaerobic digester. The bacterial populations were evaluated through of metabolic groups count by Most Number Probable (MNP) technique. The groups related with the oxygen sensitivity and the determination of the Specific Methanogenic Activity (SMA) using acetate, formate and ethanol as substrates.

Keywords: Anaerobic digestion, Metabolic sorts, Most Number Probable (MNP), Specific Methanogenic Activity (SMA), Organic Fraction Urban Solid Waste (OFUSW).

AGRADACIENTOS

Los autores agradecen a COLCIENCIAS por la financiación de este proyecto y al CEIAM por su apoyo para la ejecución del mismo.

BIBLIOGRAFIA

- [1] AĞDAĞ, O. N. and SPONZA, D. T. (2005). Co-digestion of industrial sludge with municipal solid wastes in anaerobic simulated landfilling reactors. *Process Biochemistry*. 40:1871–1879.
- [2] APHA, AWWA and WEF. (1995). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 19 th edition. *American public Health Association*. Washington, D.C. USA.
- [3] BOUALLAGUI, H., *et al.* (2005). Bioreactor performance in anaerobic digestion of fruit and vegetable wastes. *Process Biochemistry*. 40: 989–995.
- [4] DIAZ, M.; ESPITIA, V. y P, MOLINA. (2002). Digestión Anaerobia. Una aproximación a la Tecnología. *Universidad Nacional de Colombia. Instituto de Biotecnología*. Primera edición.
- [5] FRICKE, K.; SANTEN, H. and WALLMANN, R. (2005). Comparison of selected aerobic and anaerobic procedures for MSW treatment. *Waste Management* 25: 799–810.
- [6] GRIFFIN, M. E. *et al.* (1998). Methanogenic population dynamics during start-up anaerobic digesters treating municipal solid waste and biosolids. *Biotechnology and Bioengineering*. 57(3): 342-355.
- [7] HARTMANN H. and AHRING, B. K. (2005). Anaerobic digestion of the organic fraction of municipal solid waste: Influence of co-digestion with manure. *Water Research* 39(8): 543-1552.
- [8] HEDRICK, D. B., *et al.* (1992). Microbial biomass and community structure of a phase-separated methanogenic reactor determined by lipid analysis. *Journal of Industrial Microbiology*. 9: 193-199.
- [9] SOLERA, R.; ROMERO, L. I. and SALES, D. (2001). Determination of the microbial population in thermophilic anaerobic reactor: comparative analysis by different counting methods. *Anaerobe* 07: 79–86.
- [10] SOSNOWSKI, P.; WIECZORECK, A.; LEDAKOWICZ, S. (2003). Anaerobic co-digestion of sewage sludge and organic fraction of municipal solid wastes. *Advances in Environmental Research*. 7: 609-616.
- [11] KOTSYURBENKO, O. R. 2005. Trophic interactions in the methanogenic microbial community of low-temperature terrestrial ecosystems. *FEMS Microbiology Ecology*. 53: 3–13.
- [12] LIU, J.; OLSSON, G. and MATTIASSON, B. (2004). On-line monitoring of a two-stage anaerobic digestion process using a BOD analyzer. *Journal of Biotechnology*. 109: 263–275.
- [13] LOPES W. S.; LEITE, V. D.; PRASAD, S. (2004). Influence of inoculum on performance of anaerobic reactors for treating municipal solid waste. *Bioresource Technology*. 94: 261–266.
- [14] MOHAMMAD J. and VINOD, T. (1999). Microbial composition assessment of anaerobic biomass through methanogenic activity tests. *Water SA*. 25(3): 345-350.
- [15] POETSCH, P. and KOETZ, P. R. (1998). Sistema de determinação da atividade metanogênica específica de lodos anaeróbios. *Rev. Bras. de agrociência* 4 (3): 161-165.