

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA QUÍMICA



“Efecto de la digestión anaerobia en la disminución de materiales orgánicos biodegradables de los residuos sólidos municipales de chimbote”

TESIS

**PARA OPTAR EL TÍTULO DE
INGENIERO QUÍMICO**

AUTORES:

Br. JOSÉ M. PELÁEZ RODRÍGUEZ

Br. SILVIA E. VILLANUEVA GAVIDIA

ASESOR:

Ing. GUILLERMO EVANGELISTA BENITES

TRUJILLO - PERÚ

2002

PRESENTACION

Señores Miembros del Jurado:

El presente trabajo es el fruto de la investigación y la experiencia, que se ha presentado a través del tiempo que duró nuestra investigación.

Nos proponemos alcanzar ideas, sugerencias, planteamientos, posibles alternativas de solución al problema y auscultadas en base al resultado del proceso de investigación realizada

Como ex alumnos de la Facultad de Ingeniería Química, y con el propósito de conseguir un título profesional. Nos permitimos presentar el siguiente trabajo denominado: **“EFECTO DE LA DIGESTIÓN ANAEROBIA EN LA DISMINUCIÓN DE MATERIALES ORGÁNICOS BIODEGRADABLES DE LOS RESIDUOS SÓLIDOS MUNICIPALES DE CHIMBOTE”**. Esto, como una ayuda oportuna para la

solución a la problemática de los residuos municipales.

Este trabajo ponemos a vuestra consideración, y estamos seguros que con las observaciones de su reconocida experiencia profesional; llevaremos un valioso conocimiento de lo que puede hacer un Ingeniero Químico en beneficio de la comunidad y de la nación.

Trujillo, Julio del 2002

Br. José M. Peláez Rodríguez

Br. Silvia E. Villanueva Gavidia

AGRADECIMIENTO

Agradecemos profundamente a Dios, por haber terminado nuestros estudios universitarios. A nuestros familiares. A nuestros colegas y amigos, que con su conocimiento y colaboración; permitieron el desarrollo de esta investigación.

De modo muy especial, al Ingeniero Saúl EUSEBIO LARA, profesor de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional del Santa por su desinteresada colaboración, aconsejamiento y orientación. Y cuyas sugerencias y opiniones, fueron de gran importancia en el inicio de este trabajo.

Asimismo, nuestro fraterno agradecimiento al Ingeniero Guillermo EVANGELISTA BENITES, por el apoyo incondicional a nuestra investigación. De igual modo, a los ingenieros: Noe COSTILLA SÁNCHEZ é Isidoro VALDERRAMA RAMOS, por su permanente y eficiente colaboración en nuestras consultas; que han hecho posible el desarrollo y culminación de esta temática.

LOS AUTORES

RESUMEN

En el presente informe se plantea en forma experimental, el efecto que produce la digestión anaerobia en la disminución de materiales orgánicos biodegradables de los residuos municipales.

En primer lugar, se hizo una selección de la basura municipal; a fin tratarlo posteriormente en 6 pequeños biorreactores a escala piloto y con diferentes porcentajes de materia orgánica, rumen y agua. Seguidamente, se escogió el más óptimo que fue llevado a escala de laboratorio con su respectivo indicador de anaerobiosis; determinando la demanda bioquímica de oxígeno, el recuento bacteriano. Así como la formación de biogás.

Como resultado de todo este proceso, se obtuvo una disminución de la carga contaminante; reduciendo la materia orgánica a compuestos más simples. Y a la vez obteniendo biogás, y consiguientemente una fuente de energía no convencional.

SUMMARY

Presently report thinks about in experimental form, the effect that produces the digestion anaerobia in the decrease of organic materials of the municipal residuals.

In the first place a selection of the municipal garbage was made, it stops later on to treat him in 6 small biorreactores to scale pilot with different percentages of organic matter, rumen and it dilutes. Subsequently the best was chosen that was taken to laboratory scale with their respective anaerobiosis indicator and determining the biochemical demand of oxygen, the bacterial recount as well as the biogas formation.

As a result of this whole process a decrease of the polluting load was obtained, reducing the organic matter to simpler compounds. And at the same time obtaining biogas, having this way a source of non conventional energy.

INDICE

CARATULA

DEDICATORIA

PRESENTACION

AGRADECIMIENTO

RESUMEN

SUMMARY

Pág.

I.- INTRODUCCION..... 01

II.- MARCO TEORICO..... 04

2.1.- Recogida de los Residuos Sólidos

Municipales

2.2.- Composición de los Residuos Sólidos

Municipales de Chimbote

2.3.- Características Biológicas de los

Residuos Sólidos Municipales

2.3.1.- Modo de Descomposición

- 2.3.1.1.- Descomposición anaerobia
 - 2.3.1.1.1.- Proceso de Solubilización
 - 2.3.1.1.2.- Proceso de Acidogénesis
 - 2.3.1.1.3.- Proceso de Metanogénesis
- 2.3.1.2.- Descomposición Anaerobia de Carbono Orgánico y el Concepto de transferencia de Hidrógeno Inter especies (Sintrofia)
 - 2.3.1.2.1.- Hábitats Metanogénicos
- 2.3.1.3.- El Ecosistema Microbiano del Rumen
- 2.3.1.4.- Variables que Influyen en el proceso de fermentación anaerobia
- 2.3.1.5.- Demanda Bioquímica de Oxígeno

III.- MATERIAL Y METODO..... 34

3.1.- Material

3.1.1.- Material Biológico

3.1.2.- Material No Biológico

3.1.2.1.- Medio de Cultivo

3.1.2.2.- Equipos y Reactivos

3.1.2.3.- Construcción de los biorreactores

3.2.- Método

3.2.1.- Extracción de Filtrado de Rumen

3.2.2.- Trituración de la materia orgánica

3.2.3.- Instalación de Biorreactores

3.2.4.- Tratamiento de muestras

3.2.5.- Preparación de agar anaerobio de Brewer

3.2.6.- Aislamiento por difusión y recuento en placa

3.2.7.- Determinación de la Demanda Bioquímica

de Oxígeno (DBO_5)

IV.- RESULTADOS.....	44
V.- DISCUSIONES.....	61
VI.- CONCLUSIONES.....	63
VII.- RECOMENDACIONES.....	64
VIII.- BIBLIOGRAFIA.....	65
IX.- ANEXOS.....	66

DEDICATORIA

“Con mucho afecto, a mi madre NANCY.
Que me dio siempre el mejor apoyo moral
en mi formación profesional. A mi padre
y hermanos por sus sabios consejos”

José Martín

“Con amor, a mi madre. Quién, ha
estado siempre presente en mi corazón.
A mi padre y hermana Karin. Quiénes,
me dieron el mejor apoyo en la
realización de mi carrera profesional.”

Silvia Eliana

Biblioteca de Ingeniería Química

1.-INTRODUCCION

El medio ambiente llamado también medio, está constituido por el agua, suelo, desierto, montañas, etc. Estos ambientes, pueden describirse mejor o con mayor exactitud; atendiendo a diferentes factores: físicos, diferencia de humedad, temperatura, entre otros. Así como también biológicos.

Los seres vivos, especialmente el ser humano, desarrollan su modus vivendus, acorde con sus necesidades. Esto hace que el medio ambiente sufra alteraciones, poniendo en riesgo la vida del hombre; un claro ejemplo la constituye la contaminación ambiental. La misma que es producida por muchos factores como son: el incremento de los residuos sólidos, el tráfico vehicular, la contaminación marina, etc.

La aglomeración y abundancia de los residuos sólidos urbanos, se ha convertido en uno de los mayores problemas ambientales actuales. En las grandes ciudades, se registra un importante crecimiento de la masa de residuos a depositar; y un crecimiento mucho más notable aún en el volumen.

La composición de los residuos sólidos municipales, ha variado significativamente desde el año 1900; ya que en el siglo pasado hubo una gran concentración de personas en las grandes ciudades, la tecnología fue utilizando nuevos utensilios para el hogar con una vida menor; lo que implicaba que estos fueran desechables. Los residuos sólidos urbanos, están compuestos especialmente por materia orgánica, papeles, cartones, plásticos, metales, metales ferrosos,

aluminio, vidrios, entre otros.

La ciudad de Chimbote, es uno de los escenarios que presenta los mayores problemas ambientales de la zona baja de la Cuenca del Santa; producto de un crecimiento caótico y desordenado, sin planificación urbana y ausente de medidas de protección y manejo adecuado de sus ecosistemas. Debido a estas características la ciudad de Chimbote, está considerada como una de las más contaminadas a nivel nacional.

Actualmente tiene una población de 313516 habitantes: 241999 ubicados en Chimbote y 71517 en Nuevo Chimbote, el 60% de la población se ubica en los denominados pueblos jóvenes. Con estas cifras y características de la población, se tiene una carga de desechos municipales de 75 TM/día, que son depositados en la playa, avenidas, parques, etc. **(Foronda, 1997)**

La variedad de los problemas ambientales de la ciudad, se refleja en los impactos que ocasionan sobre los factores básicos, tales como el agua, el aire y el suelo.

El aporte de carga contaminante de origen doméstico al suelo es de 78110 m³/año que representa el 26.45% del total de cargas contaminantes (incluyen las fuentes de origen industrial pesquero y siderúrgico). **(Foronda, 1997)**

Los residuos sólidos que son recolectados por el Municipio de Chimbote, no tienen ningún tipo de tratamiento, las basuras son depositadas en botaderos a cielo abierto en zonas cercanas a los pueblos jóvenes; ubicados en el sur de la ciudad (Nicolás Garatea) y en el botadero ubicado al norte de la ciudad. En ambos

casos, comprometen la salud de los segregadores informarles y de la población en general, por la proliferación de moscas y roedores. Y sobre todo, porque sirve de lugar de pastoreo de animales para consumo humano directo.

Estos impactos ambientales en Chimbote, no sólo han frenado su tránsito hacia el desarrollo sostenible; sino que ha puesto en grave peligro a su recurso más valioso: sus habitantes, que en diferentes momentos han enfrentado serios problemas de salud; derivados de la falta de saneamiento ambiental. Sin embargo, creemos que este conjunto de problemas; no tienen porqué constituirse en una condición invariable e imposible de superar.

El objetivo principal de este informe, es estudiar el efecto que produce la digestión anaerobia en la disminución de materiales orgánicos biodegradables de los residuos sólidos municipales de Chimbote.

Por todo esto, queremos aportar nuestros conocimientos para poder así -de alguna manera- disminuir el grado de contaminación en esa ciudad.

II-MARCO TEORICO

2.1.- RECOGIDA DE LOS RESIDUOS SÓLIDOS MUNICIPALES

La recolección de RSU (residuos Sólidos Urbanos) se ha venido realizando con una frecuencia de 6 días a la semana. Siendo los únicos días sin este servicio en el año, los domingos (excepto los que coincidan con las fiestas patronales), el día de Navidad y el día de Año Nuevo. Su realización es nocturna en urbanizaciones centrales, y diurna en los alrededores. *(Foronda, 1997)*

En cuanto a los contenedores para basura ordinaria, en estos momentos hay colocados en las calles en número reducido; están contruidos de fierro, y pintados de color verde oscuro. De los cuales, aproximadamente- la mitad son de 800 litros de capacidad y la otra mitad de 1000 litros. *(Foronda, 1997)*

El lavado de los mismos, se realiza en forma mecánica y manual; la primera mediante un camión lava contenedores y la segunda mediante la sustitución de los contenedores ubicados en las calles por otros limpios. Trasladando luego, los primeros a las instalaciones del vertedero para proceder a su lavado intensivo en forma manual.

La producción de residuos en el año 2000 ha sido de casi 30 mil toneladas, lo que supone una producción mensual de 2.438 toneladas y de 70

toneladas por día de recolección. En los meses de julio a octubre se produce un aumento de la producción; debido -principalmente- a la celebración de fiestas patronales, aunque también se debe en parte al aumento de la población por el turismo, aunque éste no es de gran importancia en la zona. En los 6 primeros meses del año 2001, se ha producido una pequeña disminución de la cantidad de basura recogida respecto al año 2000.

(Foronda, 1997)

A la recolección diaria en los contenedores de uso público, hay que añadir los vertidos realizados en el vertedero por las distintas industrias y empresas; cuyos residuos son asimilables a RSU (Residuos sólidos urbanos). Las industrias y empresas, tienen el derecho a solicitar previamente el correspondiente permiso de vertido, el cual debe ser presentado en el control de entrada del vertedero cada vez que vayan a realizar un vertido.

En estos momentos, tienen permiso de vertido cerca de 300 empresas y comercios de la zona; los cuales vertieron durante el año 2000 una media de 1.456 toneladas al mes, lo que supone 57 toneladas por día laborable. En el año 2001 el vertido de empresas ha aumentado considerablemente lo cual es un claro indicador de la buena marcha de la economía de la zona. Las tasas por kilogramo vertido se especifican en la Ordenanza Fiscal.

(Foronda, 1997)

2.2.- COMPOSICION DE LOS RESIDUOS SÓLIDOS MUNICIPALES DE CHIMBOTE

Componente	Humedad (% en peso)		Densidad (Kg/m ³)
	Intervalo	Típico	
Papel y cartón	04 a 10	7	80
Residuos de alimentos	50 a 80	70	300
Residuos de jardín	30 a 80	60	100
Metal (aluminio, lote)	2 a 6	3	125
Vidrio	1 a 4	2	160
Plásticos	1 a 4	2	65
Cenizas, polvo	6 a 12	8	480
Otros escombros (a)	5 a 30	20	160

(a) Incluye, caucho, textiles, cuero, madera, metal no ferroso. Una información valiosa adicional de los RSM es su contenido de energía presente, ya que estos contienen alrededor del 50% de material volátil combustible. El contenido de energía representativo de estos materiales es alrededor de 9300 a 14100 KJ/Kg

Fuente: Foronda, 1997

2.3.- CARACTERISTICAS BIOLÓGICAS DE LOS RESIDUOS SÓLIDOS MUNICIPALES

La basura que es arrojada a un botadero municipal, contiene microorganismos, los que representan la parte viva de la materia orgánica. Por lo tanto, debe ser considerada para un proceso de degradación, descomposición y depuración. Los cambios bioquímicos que producen los gases disueltos, juegan un papel muy importante; como el caso del desarrollo de los microorganismos aeróbicos que es asegurado por la presencia de oxígeno disuelto. Con estos microorganismos, se realiza un proceso de descomposición aeróbica, el mismo que da lugar a putrefacciones y malos olores. En el caso de descomposición anaeróbica, lo

producen los compuestos que tienen azufre, dándoles la acidez; la misma que puede afectar las reacciones bioquímicas y por lo tanto tener una acción corrosiva. Consiguientemente, la descomposición de la materia orgánica (de basura) puede producirse bajo estas condiciones aeróbicas y anaeróbicas.

2.3.1.- MODO DE DESCOMPOSICION

La descomposición de la materia orgánica, puede producirse en condiciones aeróbicas y anaeróbicas. El proceso aerobio, requiere de una aportación continua de oxígeno disuelto libre. Y es el método más eficaz para reducir el contenido orgánico de los residuos líquidos diluidos. Sin embargo, cuando hay sólidos que han de pasar al estado líquido o cuando la concentración de residuos es muy grande -como en el caso de la materia orgánica de la basura municipal- el proceso anaerobio resulta extremadamente efectivo. *(Carozzi, 1988)*

2.3.1.1.- DESCOMPOSICION ANAEROBIA

La fermentación anaerobia es un proceso bioquímico, mediante el cual la comunidad bacteriana es capaz de recuperar y conservar la energía de oxidación-reducción, contenida en la materia orgánica por un juego combinado de reacciones; en las cuales una parte de los

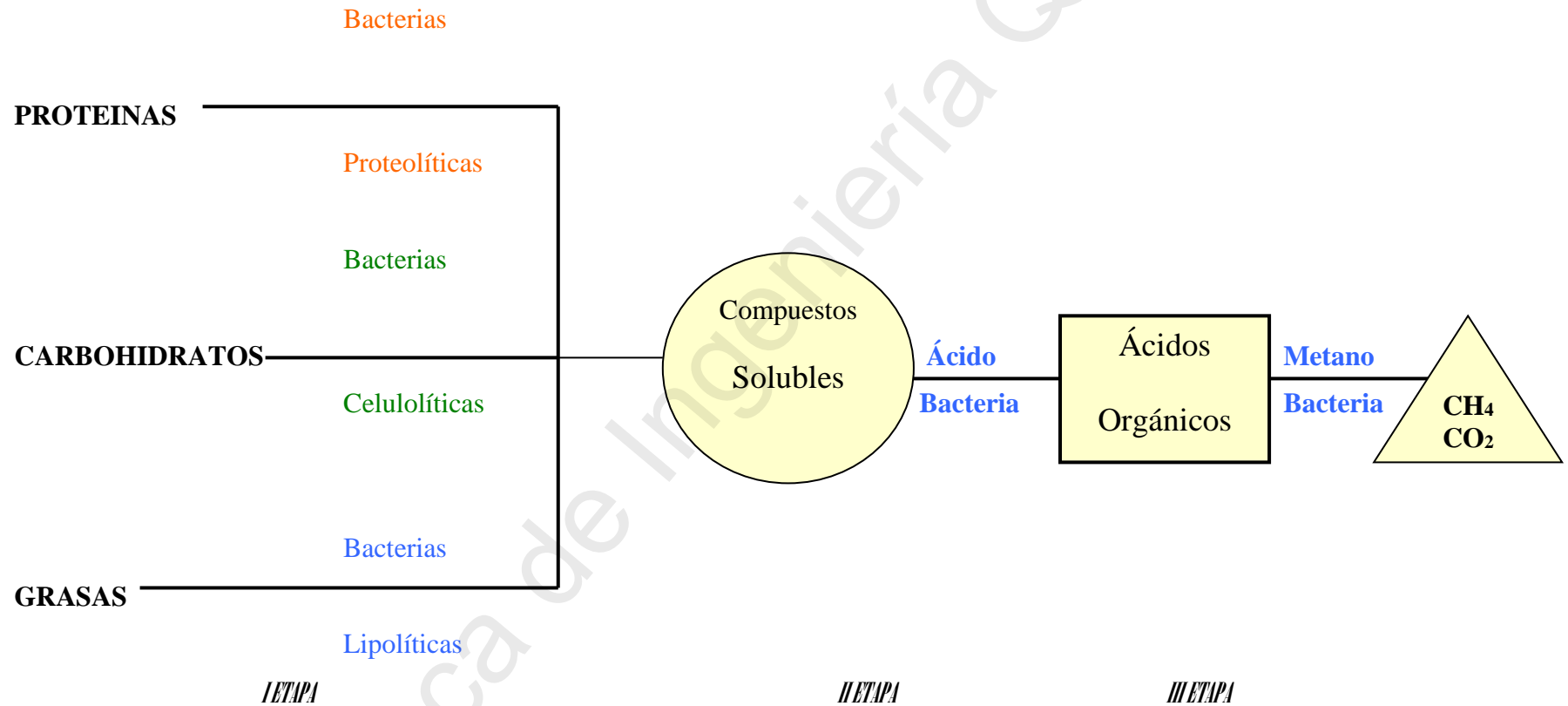
compuestos es oxidada a gas carbónico, mientras que la otra parte es reducida a metano.

La digestión anaeróbica de la materia orgánica, es un proceso bioquímico complejo que se desenvuelve en tres etapas; utilizando en cada una, un grupo específico de microorganismos: "Solubilización", "Acidogénesis", "Metanogénesis".

A continuación, se describe las reacciones químicas que realizan los microorganismos fermentadores para transformar la materia orgánica en metano y CO₂ (biogás).

(Carozzi, 1988)

FIGURA n°1 *Etapas de la Fermentación Anaeróbica*



Fuente: Verástergui, 1980

2.3.1.1.1.- PROCESO DE SOLUBILIZACION

La materia orgánica cruda, formada por polímeros (proteínas complejas, grasas y carbohidratos, principalmente); es hidrolizada por la acción de enzimas. Las celulasas y amilasas (transforman los polisacáridos en monosacáridos), las proteasas (convierten las proteínas en péptidos y aminoácidos) y las lipasas (transforman las grasas en ácidos grasos y glicerina); descomponiéndose luego, en compuestos simples y solubles.

Esta etapa, es la que determina la velocidad de la fermentación. Pues, es la más lenta del proceso, siendo especialmente difícil la degradación de la celulosa. La cual transcurre en un período mucho más largo, que es necesario para la descomposición de cualquier otro complejo orgánico.

(Verástegui, 1980)

Tabla n° 1 ETAPA DE SOLUBILIZACION

MATERIA CRUDA	+	MICROORGANISMOS SOLUBILIZADORES	⇒	COMPUESTOS SOLUBLES	+	MICROORGANISMOS SOLUBILIZADORES
Polímeros Complejos		Bacterias		Monómeros de		Y otros
Carbohidratos		Enzimáticas		Azúcares		productos
Proteínas		(Facultativas)		Aminoácidos		intermedios
Grasas				Glicéridos		

Fuente: “Generación de Biogás en las áreas rurales del Perú” Verástegui, 1980

2.3.1.1.2.- PROCESO DE ACIDOGÉNESIS

Los compuestos simples solubles, de la primera etapa; siguen un proceso de fermentación que los convierte por oxidación-reducción, en ácidos simples de cadena corta. Esto, mediante la acción de bacterias formadoras de ácido que son anaeróbicas facultativas (viven en presencia, como en ausencia de aire).

Los compuestos orgánicos simples producidos en la fase anterior, son asimilados por las células de los microorganismos; ocurriendo en el interior de ellos las reacciones de oxidación-reducción bajo la acción de endoenzimas, que los transforman en ácidos grasos de cadena corta y alcoholes, desprendiéndose H_2 y CO_2 . Los que más tarde se combinarán para formar metano y agua. El ácido volátil más importante de esta reacción, es el acético. El cual da origen al 70% de la producción de metano. A parte del ácido acético, se forman también los ácidos propanoico (CH_3CH_2COOH) y butanoico ($CH_3(CH_2)_2COOH$). Los cuales también son intermediarios para la formación de metano. *(Verástegui, 1980)*

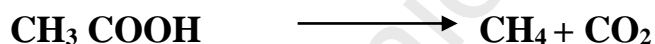
Tabla n° 2 ETAPA DE ACIDOGENÉISIS

COMPUESTOS SOLUBLES	+	MICROORGANISMOS ACIDO-GENERADORES	⇒	ACIDOS ORGANICOS	+	MICROORGANISMOS ACIDOGENERADORES
Monómeros de		Bacterias		Ácido Acético		Y otros
Azúcares		formadoras		Ácido propiónico		productos
Aminoácidos		de ácidos		Ácido láctico		intermedios
Glicéridos y		(Facultativa)		Alcoholes simples		
Lípidos				CO ₂ , N ₂ , H ₂		

Fuente: “Generación de Biogás en las áreas rurales del Perú” Verástegui, 1980

2.3.1.1.3.- PROCESO DE METANOGÉNESIS

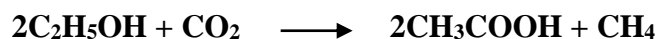
Los ácidos orgánicos simples, producidos en la segunda etapa, devienen en substratos para la descomposición, estabilización y producción de metano. Esto debido a la acción de bacterias metanogénicas, estrictamente anaeróbicas y por 2 vías: fermentación de ácido acético y reducción de CO_2 (principalmente); metanol y ácido fórmico por hidrógeno naciente:



- Estas etapas constituyen una sucesión de reacciones bioquímicas

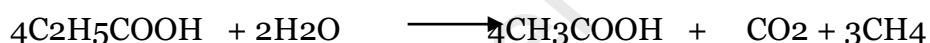
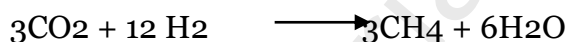
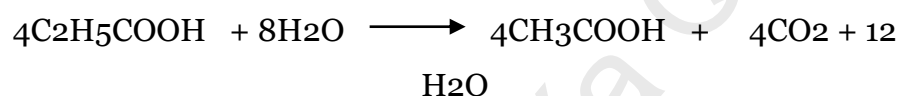
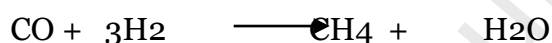
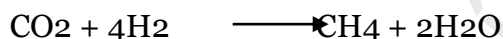
La formación de metano, puede explicarse como el resultado de alguna de las alternativas presentadas a continuación.

- a) El metano se produce como resultado de la oxidación de alcohol etílico y de la reducción del dióxido de carbono.



- b) El metano se produce como resultado de

la reducción del dióxido de carbono. Producto de la oxidación del ácido acético y propanoico. Las ecuaciones son las siguientes:



En ésta etapa, es muy importante la concentración del hidrógeno; ya que determina la proporción de los productos de las reacciones. De manera, que cuando el contenido de hidrógeno aumenta, debido a la disminución del tiempo de exposición de la materia orgánica a la acción bacteriana - o por sobrecarga orgánica; se tiene que el metano se forma a partir de los ácidos propanoico y butírico. En vez de la formación normal en base al ácido acético. Lo que origina la acidificación del sustrato.

Las tres fases descritas anteriormente, se realizan en forma simultánea y se forman en sucesión biológica. Cuyo equilibrio dinámico, se mantiene constante para determinadas condiciones de tipo y cantidad de microorganismos. Esto significa, que la

velocidad de fermentación, la concentración de los productos intermedarios y la velocidad de generación de metano; pueden ser estabilizadas.

Las reacciones ocurridas, en cada una de las etapas que constituye el proceso de fermentación anaeróbica; se producen en el digestor. Presentándose globalmente de la siguiente manera: inicialmente se produce gran cantidad de ácidos volátiles y a medida que su concentración aumenta; se incrementa la concentración de nitrógeno amoniacal, provocándose la disminución de los ácidos volátiles y del potencial redox. En consecuencia, aumenta la generación de biogás y su contenido de metano. Después de esta biosucesión el pH, el rendimiento del biogás y contenido de metano, se estabilizan. **(Verástegui, 1980).**

Tabla n° 3 Etapa metaNOGENICA

ACIDOS SOLUBLES	+	MICROORGANISMOS METANO-GENERADORES	⇒	BIOGAS	+	MICROORGANISMOS ACIDO-GENERADORES
Ácido Acético		Bacterias		Metano		Y otros
Ácido propiónico		formadoras		Dióxido de Carbono		productos
Ácido Láctico		de metano		nitrógeno		finales
Alcoholes Simples		(anaerobias obligadas)		Sulfuro de hidrógeno		
CO ₂ , N ₂ , H ₂						

Fuente: “Generación de Biogás en las áreas rurales del Perú” Verástegui, 1980

2.3.1.2.- DESCOMPOSICIÓN ANAEROBIA DE CARBONO ORGÁNICO Y EL CONCEPTO DE TRANSFERENCIA DE HIDRÓGENO INTERESPECIES (SINTROFIA)

Aquí presentaremos el significado del problema total del ciclo anaeróbico del carbono. Sustancias de peso molecular grande, por ejemplo, los polisacáridos, las proteínas y las grasas, se convierten en CH_4 por la interacción cooperativa de diferentes grupos fisiológicos de bacterias en muchos ambientes anaeróbicos. Los precursores inmediatos del CH_4 son el H_2 y el CO_2 siendo generados estos sustratos por las actividades de los anaerobios de fermentación. Para la conversión de un polisacárido típico, por ejemplo, de la celulosa en metano; pueden participar hasta cinco grupos fisiológicos principales de bacterias en el proceso general.

Las *bacterias celulolíticas* rompen la molécula de celulosa, de peso molecular grande, en celubiosa (glucosa-glucosa) y en glucosa libre. Entonces, la glucosa es fermentada por anaerobios fermentados en varios productos de fermentación, acetato, propionato, butirato, H_2 y CO_2 que son los principales compuestos observados. Las bacterias metanogénicas, homoacetogénicas o reductoras de sulfatos, consumen inmediatamente cualquier H_2 producido en procesos fermentativos primarios. Además, el acetato puede ser convertido en metano por ciertos metanógenos.

Los organismos, clave en la conversión de las sustancias orgánicas complejas en metano son, las

bacterias productoras de H₂ oxidantes de ácidos grasos.

Estos organismos, utilizan los ácidos grasos o los alcoholes como fuentes de energía; pero se desarrollan pobremente o no del todo sobre estos substratos en cultivo puro. No obstante, asociadas con un organismo consumidor de H₂ (por ejemplo un metanógeno o una bacteria reductora de sulfato), las bacterias productoras de H₂ se desarrollan profusamente.

Como se explicará más adelante, el consumo de H₂ por un segundo organismo es críticamente importante para el desarrollo de bacterias oxidantes de ácidos grasos, productoras de H₂.

(Brock, 1993)

2.3.1.2.1.- Hábitats Metanogénicos:

A pesar de la anaerobiosis obligada y de su metabolismo especializado, los metanógenos están ampliamente distribuidos en todo el mundo. Aunque, sólomente en los ambientes anaeróbicos se encuentran altos niveles de metanogénesis, por ejemplo en los pantanos y en las ciénagas, o en el rumen. El proceso también se efectúa, en hábitats que normalmente se podrían considerar aerobios, citaremos, un bosque o terrenos de praderas; en tales hábitats la metanogénesis se efectúa en micro ambientes anaeróbicos, por ejemplo, en medio de terrones. Nótese, que la producción biogénica de metano por las bacterias metanógenas excede considerablemente la velocidad de producción de los pozos de gas y de otras fuentes abiogénicas. Los eructos de los rumiantes son la mayor fuente

por sí sola de metano biogénico. En efecto, es posible que aproximadamente el 2% de aumento de los niveles de metano atmosférico; observado durante los últimos años- se debe al incremento de la cantidad de rumiantes domésticos a nivel mundial. Los metanógenos, también se encuentran en el conducto gastrointestinal de los mamíferos, en el intestino de los insectos que se alimentan de madera y en la mayor parte de otros hábitats anaerobios como pantanos, ciénagas, sedimentos y arrozales.

Los metanógenos, se han encontrado también viviendo, como endosimbiontes de ciertos protozoarios.

Existen varios tipos de protozoarios, incluyendo amebas acuáticas de vida libre y flagelados que han sido encontrados en el intestino de los insectos y éstos albergan bacterias metanógenas. En las termitas, por ejemplo, las bacterias metanógenas existen dentro de las células de varios pequeños protozoarios tricomónicos; los cuales habitan en el intestino posterior de la termita. Los simbiosis metanógenos de los protozoarios, se asemejan a especies de forma de bastoncillo del género *Methanobacterium* o *Methanobrevibacter*; pero sus interrelaciones exactas en la metanogénesis aún no están claras. Se considera el intestino posterior de la termita. Los metanógenos endosimbióticos, son de beneficio para sus huéspedes protozoarios al consumir el H_2

generado en la fermentación de la glucosa por los protozoarios celulolíticos. Aunque la cantidad total de metano producido por el intestino posterior de la termita es relativamente pequeña. Las cifras muy altas de metanógenos simbióticos que se encuentran en ciertos protozoarios ameboideos ricos en metano; sugieren que los metanógenos simbióticos podrían ser una fuente principal de metano en estos hábitats. **(Brock, 1993)**

2.3.1.3.- EL ECOSISTEMA MICROBIANO DEL RUMEN:

Los rumiantes son mamíferos herbívoros que poseen un órgano especial conocido también como panza o herbario). Este órgano segrega una sustancia denominada rumen, cuya acción permite la digestión de la celulosa y otros polisacáridos de las plantas; gracias a la actividad de poblaciones microbianas especiales. Algunos de los animales domésticos más importantes, la vaca, la oveja, y el carnero son rumiantes.

En vista de que la economía humana alimentaria -en gran medida- depende en alto grado de estos animales; la microbiología del rumen es de considerable importancia económica. **(Brock, 1993)**

Fermentación en el Rumen

El grueso de la materia orgánica en las plantas terrestres, está presente en forma de polisacáridos insolubles; de los cuales, la

celulosa es el más importante. Los mamíferos y en realidad casi todos los animales que subsisten fundamentalmente de los pastos y de las plantas como hojas, pueden metabolizar la celulosa gracias a la utilización de los microorganismos como agentes digestivos. Las características fundamentales del rumen como sustancia degradante de la celulosa en la digestión de los animales herbívoros y sobre todo por su capacidad, es relativamente grande (100 a 150 litros en una vaca, 6 litros en una oveja, en su posición en el órgano correspondiente a donde llegan inicialmente los alimentos digeridos. La alta temperatura constante (37°C), pH invariable (6,5) y la naturaleza anaeróbica del rumen también son factores importantes. El rumen funciona de una manera más o menos continua, y en algunos aspectos pueden ser considerados como un análogo del quemostato.

Las relaciones del rumen con otras partes del sistema digestivo de los rumiantes, se muestran en la figura. Los alimentos entran al rumen con la saliva y son mezclados gracias al movimiento de rotación; durante el cual, tiene lugar la fermentación microbiana. La masa alimenticia, pasa gradualmente hacia el bonete o redecilla; que está formado por pequeñas porciones llamadas rumias, de dónde los alimentos son regurgitados hacia la boca para ser masticados nuevamente. Los sólidos, ahora finalmente fragmentados, bien mezclados con saliva, son deglutidos otra vez; pero en esta

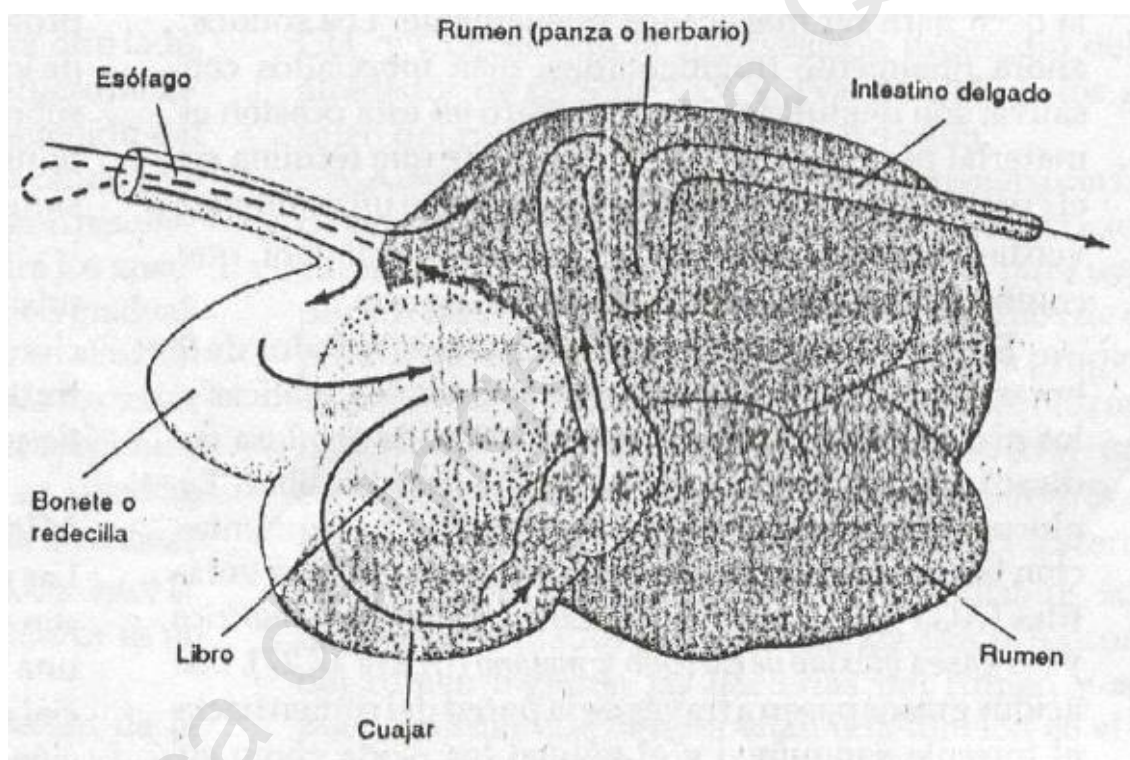
ocasión, el material pasa por un camino diferente que termina en el cuajar, que es un órgano más parecido a un estómago verdadero. Aquí se inicia la verdadera digestión, que continúa en el intestino delgado y el grueso.

El alimento permanece en el rumen alrededor de 9 horas. Durante este período, las bacterias celulolíticas y los protozoarios celulolíticos hidrolizan la celulosa en disacárido celubiosa y unidades de glucosa libre. La glucosa liberada, experimenta entonces una fermentación bacteriana; con producción de ácidos grasos volátiles (AGV), principalmente acético, propiónico y butírico y los gases bióxido de carbono y metano. Los ácidos grasos pasan a través de la pared del órgano que contiene el rumen, hacia el torrente sanguíneo y el animal los oxida como su fuente principal de energía. Además de sus funciones digestivas, los microorganismos del rumen sintetizan aminoácidos y vitaminas, que son la fuente principal de estos nutrientes indispensables para el animal. El contenido del rumen, después de la fermentación, consta de gran cantidad de células microbianas (10^{10} y 10^{11} bacterias por mililitro de líquido de rumen) Además, de materiales vegetales parcialmente digeridos; estos prosiguen en el conducto gastrointestinal del animal, donde luego experimentan procesos digestivos similares a los de los no rumiantes. Muchas de las células microbianas formadas en el rumen, son capaces de desarrollarse sobre urea; como única fuente de

nitrógeno, la que se suele suministrar en el forraje para el ganado. Y a fin de promover la síntesis microbiana de proteínas.

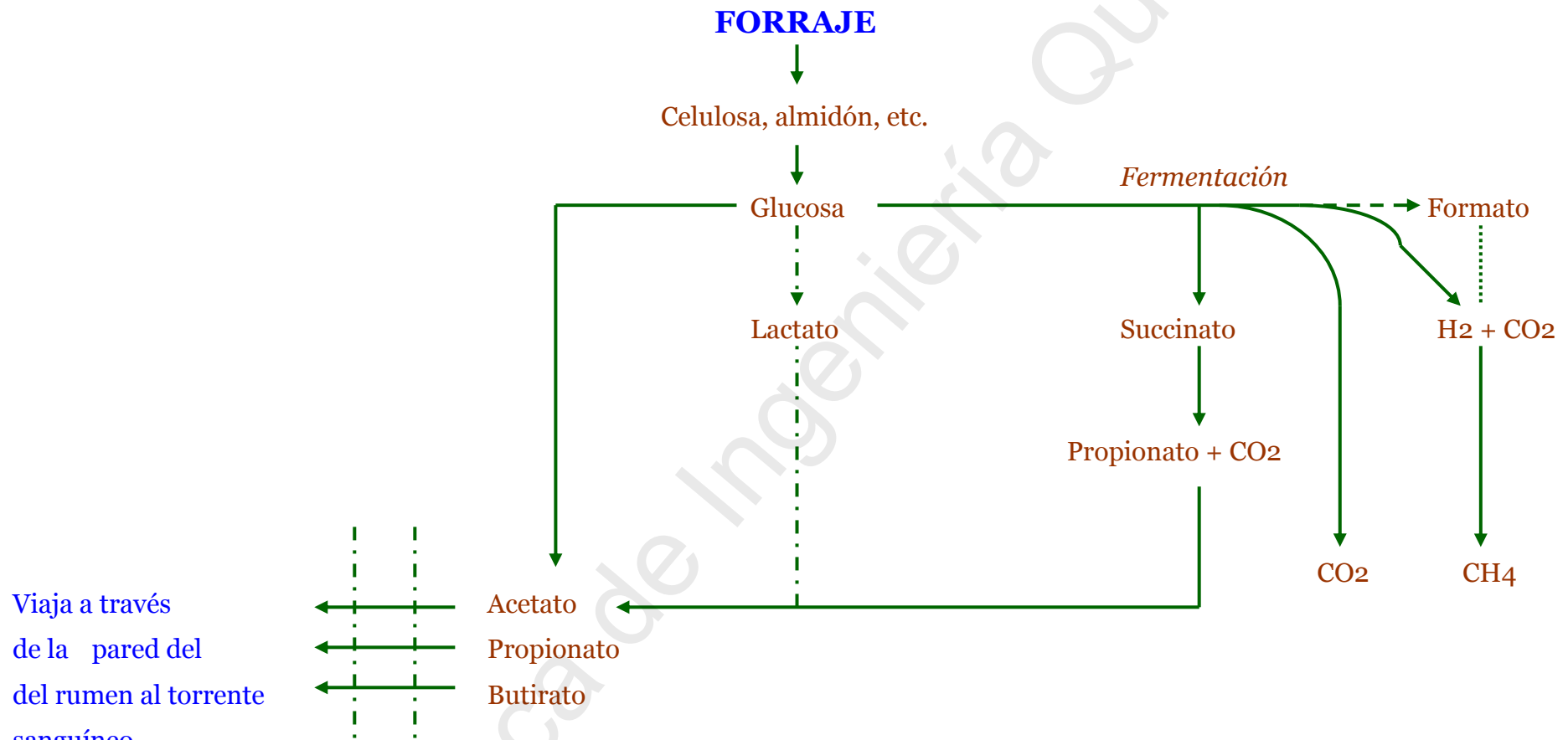
En su mayor parte, ésta proteína finalizará en el mismo animal. Con todo esto, los rumiantes son nutricionalmente superiores a los no rumiantes; cuando se trata de subsistir a base de alimentos que son deficientes de proteínas, como es la pastura. (**Brock, 1993**)

Figura N° 01: *Diagrama del rumen y del sistema gastrointestinal de una vaca donde se ve el camino del paso de los alimentos.*



Fuente: "Microbiología" Brock, 1993

Figura N° 02: REACCIONES BIOQUÍMICAS EN EL RUMEN



ESTEQUIOMETRIA GENERAL DE LA FERMENTACION EN EL RUMEN:



Fuente: "Microbiología" Brock, 1993

Microorganismos del Rumen

Las reacciones bioquímicas que se efectúan en el rumen, son complejas y abarcan las actividades combinadas de una variedad de microorganismos. Dado que el potencial de reducción del rumen es -0.4 voltios (la concentración de O₂ en este potencial altamente reductor es 10⁻²²M). Naturalmente, dominan las bacterias anaeróbicas. Además, dado la conversión de celulosa en azúcares a ácidos grasos volátiles. Por consiguiente, los Bacteriodes Succinógenes y Ruminococcus albus, son los dos anaerobios más abundantes celulolíticos del rumen.

Aunque ambos microorganismos producen celulasas bacteroides, una bacteria gram-negativa emplea una celulasa periplástica para degradar la celulasa. Así el organismo debe permanecer fijo a la fibrilla de celulasa mientras digiere.

(Brock, 1993)

Cuadro n° 01: Características de algunas bacterias del rumen

Organismos	Tinción de Gram	Forma	Motilidad	Productos de fermentación
Degradadores de celulosa:				
<i>Bacteroides succinogenes</i>	Neg.	Bastón	-	Succinato, acetato, formato
<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i>	Neg.	Bastones curvos	+	Acetato, formato, lactato, butirato, H ₂ , CO ₂
<i>Ruminococcus albus</i>	Pos.	Cocos	-	Acetato, formato, H ₂ , CO ₂
<i>Clostridium lechheadii</i>	Pos.	Bacilos (esporas)	+	Acetato, formato, butirato, H ₂ , CO ₂
Degradadores de almidón:				
<i>Bacteroides amylophilus</i>	Neg.	Bacilo	-	Formato, acetato, succinato
<i>Bacteroides ruminicola</i>	Neg.	Bacilos	-	Formato, acetato, succinato
<i>Selenomonas ruminantium</i>	Neg.	Bastones curvos	+	Acetato, formato, lactato
<i>Succinomonas amylolytica</i>	Neg.	Oval	+	Acetato, propionato, succinato
<i>Streptococcus bovis</i>	Pos.	Cocos	-	Lactato
Degradadores de lactato:				
<i>Selenomonas lactilytica</i>	Neg.	Bacilo curvo	+	Acetato, succinato
<i>Peptostreptococcus elsdenii</i>	Pos.	Cocos	-	Acetato, propionato, butirato, valerato, H ₂ , CO ₂
Degradador de pectina:				
<i>Lachnospira multiparus</i>	Pos.	Bacilos curvos	+	Acetato, formato, lactato, H ₂ , CO ₂
Productores de metano:				
<i>Methanobrevibacter</i>	Pos.	Bacilos	-	CH ₄ (proveniente de H ₂ + CO ₂ o formato)
<i>Methanomicrobium mobile</i>	Neg.	Bacilos	+	CH ₄ (proveniente de H ₂ + CO ₂ o formato)

Fuente: "Microbiología" Brock, 1993

2.3.1.4.- VARIABLES QUE INFLUYEN EN EL PROCESO DE FERMENTACION ANAEROBIA

A. DILUCION O CONCENTRACION DE SÓLIDOS

Toda la materia orgánica, está constituida de agua y una fracción sólida; ésta última es llamada "Sólidos Totales".

Este contenido de sólidos totales, en una fermentación, depende básicamente del sistema de digestión escogido. El mismo que puede ser de régimen continuo, semi-continuo o batch.

Experimentalmente, se ha comprobado que para el sistema semi-continuo la mezcla dentro del digestor debe ser de diluciones altas. Que pueden fluctuar entre 6 a 10% de sólidos totales, a fin que tenga la fluidez necesaria y así facilitar su carga y descarga.

Para los sistemas tipo batch, la mezcla no requiere fluidez; pudiéndose trabajar con diluciones de 25 a 35 % de sólidos totales.

Si la pasta de alimentación es muy seca, el digestor se obstruye y además se forma amoniaco. El cual, inhibe la acción de las

bacterias metanogénicas.

Por otro lado, si se usa mucha agua, el efluente que se queda como residuo de la digestión; sale muy líquido y presenta dificultad para su transporte y aplicación como fertilizante.

B. SUBSTRATO

El substrato es el material orgánico, que las bacterias transforman hasta convertirlo en biogás. Es indispensable que este substrato, contenga todos los elementos necesarios y en las proporciones adecuadas para su aprovechamiento por la flora bacteriana.

Los elementos más importantes a ser considerados son, el contenido de carbono y nitrógeno; tanto el carbono como el nitrógeno son utilizados por los microorganismos para sus procesos vivientes. Sin embargo, el carbono es consumido de 25 - 30 veces más rápido que el nitrógeno, por lo tanto, se requiere que el contenido de carbono y nitrógeno del material orgánico tenga una relación de 25/4 a 30/1 (relación C/N)

2.3.1.5.- DEMANDA BIQUIMICA DE OXIGENO

La materia orgánica está compuesta - generalmente- por residuos alimenticios, en los cuales podemos apreciar sustancias de peso molecular grande, por ejemplo, los polisacáridos, las proteínas y las grasas, que se convierten en CH_4 por la interacción cooperativa de diferentes grupos fisiológicos de bacterias; como por ejemplo las bacterias celulolíticas y otras hidrolíticas.

Cuando la materia orgánica se oxida produce, entre otros compuestos, agua y anhídrido carbónico. Por otra parte, el oxígeno del agua es utilizado por las oxidaciones de los compuestos nitrogenados; este oxígeno no se recupera a partir del aire. Los Nitrosomonas, Nitrosococcus y Nitrobacter (microorganismos aerobios), se alimentan de compuestos nitrogenados; pero si estos compuestos no existen en cantidad suficiente, se multiplican las bacterias facultativas y las anaerobias. Ambos grupos comienzan a extraer el oxígeno de los sulfatos; desprendiendo SH_2 y originando un proceso complejo de degradación y descomposición de la materia viva. Este proceso es muy complejo, lo que dificulta extraordinariamente su reproducción en el Laboratorio. Para soslayar -en parte- este inconveniente, se han creado ciertos métodos de control, que nos indican aproximadamente, por vía química o biológica; los procesos que están

ocurriendo en el agua residual. Estos métodos o criterios son la DBO, la DQO, el COT y el método de permanganato de potasio.

Los procesos de oxidación biológica en los que el oxígeno se combina con la materia orgánica, producen energía, parte de ella, es utilizada por las células en su respiración y el resto se transforma en calor. Estos procesos anaerobios, pueden ser analizados aproximadamente mediante el método de la DBO.

La demanda bioquímica de oxígeno (DBO) de un agua dada, es la cantidad de oxígeno, medida en mg/l, que se necesita para degradar y descomponer la materia orgánica; presente en el problema en condiciones de laboratorio (20EC, oscuridad, etc) y en un tiempo dado (si es DBO₅ la incubación será de 5 días, etc).

En la práctica, se suele utilizar la DBO₅ o demanda a los cinco días y 20EC, por considerarse, que el proceso general es demasiado largo. Existen para su cálculo dos métodos, uno por dilución y, el otro, instrumental. En el método por dilución se calcula el contenido de oxígeno de la muestra y lo que queda después de cinco días de incubación a 20EC y en la oscuridad; la diferencia nos dará la DBO₅. El método instrumental, se basa en una instalación de aparatos, de los que existen varios modelos comercializados, en la que se elimina el CO₂ de la muestra y se aporta el oxígeno que va consumiendo esta a lo largo del tiempo. Se

establece una curva de consumo de oxígeno en el tiempo y de ella se extraen los resultados.

(Pelczar, 1982).

Biblioteca de Ingeniería Química

III.- MATERIAL Y METODOS

3.1 MATERIAL

3.1.1 MATERIAL BIOLÓGICO (Procedencia y recolección de las muestras)

Se usaron dos muestras (I, II) de residuos sólidos municipales procedentes del relleno sanitario norte de la ciudad de Chimbote. La recolección, se hizo semanalmente durante dos semanas consecutivas seleccionando los residuos sólidos biodegradables con la ayuda de un rastrillo para luego ser colocados en bolsas de polietileno.

3.1.2 MATERIAL NO BIOLÓGICO

3.1.2.1 Medio de cultivo:

Agar anaerobio (Brewer): El medio se utilizó para el recuento y aislamiento de microorganismos anaerobios (**Mendo, 1995**)

Composición:

- Peptona de harina de soya 50,000 g.
- Peptona de caseína 10,000 g
- Extracto de levadura 5,000 g
- L - cistina 0,400 g
- D (+) - glucosa 10,000 g

- Formaldehído sulfoxilato sódico
1,000 g
- Cloruro sódico 5,000 g
- Triglicolato sódico 2,000 g
- Azul de metileno 0,002 g
- Agar 12,600 g

3.1.2.2 Equipos y Reactivos:

a) Equipos y reactivos para esterilización e incubación:

- Alcohol yodado.
- Placas Petri.
- Microscopio.
- Autoclave.
- Algodón.
- Refrigerador.

b) Equipos y Reactivos para el análisis de la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO)

Equipos:

- Bureta graduada a 50 ml
- Probeta de 50 o 100 ml
- Pipetas de 1 ó 2 ml
- Vaso de precipitación de 100 ml

- Frascos BOD de 300 ml de capacidad con tapa esmerilada.

Reactivos:

- Solución de sulfato de manganeso ($\text{MnSO}_4 - 5\text{H}_2\text{O}$).
- Solución Yoduro - alcalina - ácida ($\text{NaI} + \text{NaOH} + \text{NaN}_3$).
- Solución de Tiosulfato ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$).
- Ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4 cc).
- Solución de almidón al 0.5%.
- Agua destilada.
- Hidróxido de sodio al 20 %.
- Ácido clorhídrico concentrado.
- Ácido acético glacial.

3.1.2.3 CONSTRUCCIÓN DE LOS BIORREACTORES:

Los biorreactores se confeccionaron empleando frascos de vidrio de un litro y medio de capacidad con 11,2 cm de diámetro y 32,6 cm de alto, tanto el extremo superior como el inferior se

sellaron con tapones de jebe de 9,5 cm de diámetro por 1 cm de alto y 2,5 de diámetro por 1 cm, respectivamente. Del extremo superior se acopló un tubo de vidrio de 5 cm de largo por 6 mm de diámetro, unida a una manguera (Master Flex) conectada a una botella de plástico, y en la parte central se instaló un pequeño motor con un hélice de 20 cm de largo.

Además de los biorreactores experimentales, se prepararon otros para prueba; que consistieron en seis frascos de vidrio de 300 ml cada uno, unido a una manguera con su respectiva bolsita indicadora de gas.

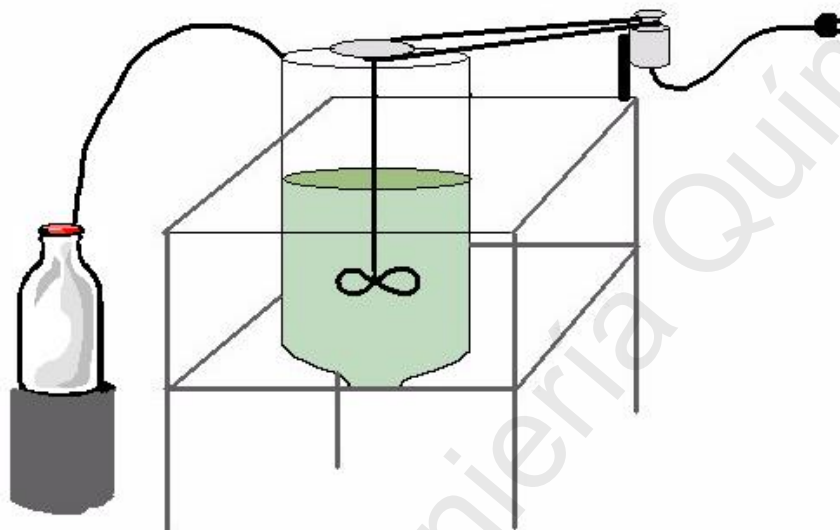


Figura 3 : Bioreactor Experimental



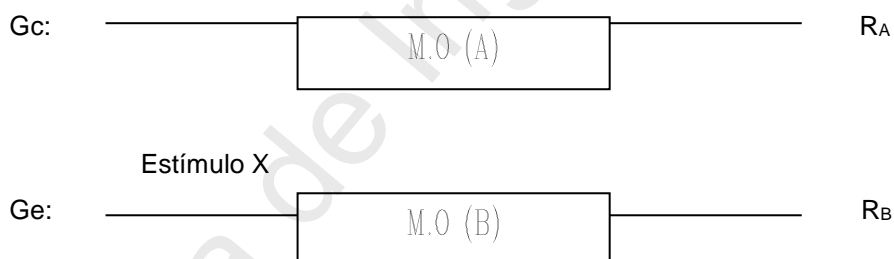
Figura 4 : Bioreactor de Prueba

3.2 MÉTODO

DISEÑO DE CONTRASTACION

La investigación se realizará con un diseño experimental en dos grupos "después" de aplicar el estímulo, teniendo como grupo de control la materia orgánica de la muestra (MO), expuesta en planta piloto aislado del estímulo; y como grupo experimental, la materia orgánica (MO) de esta muestra en presencia y después de aplicar el estímulo.

La validez del diseño, tendrá efecto mediante la réplica de análisis con otros grupos semejantes; a fin de que los resultados sean semejantes o estén de acuerdo con los resultados de los grupos iniciales.



Donde:

Gc : Grupo control o testigo

Ge : Grupo experimental

X : Estímulo (variable independiente)

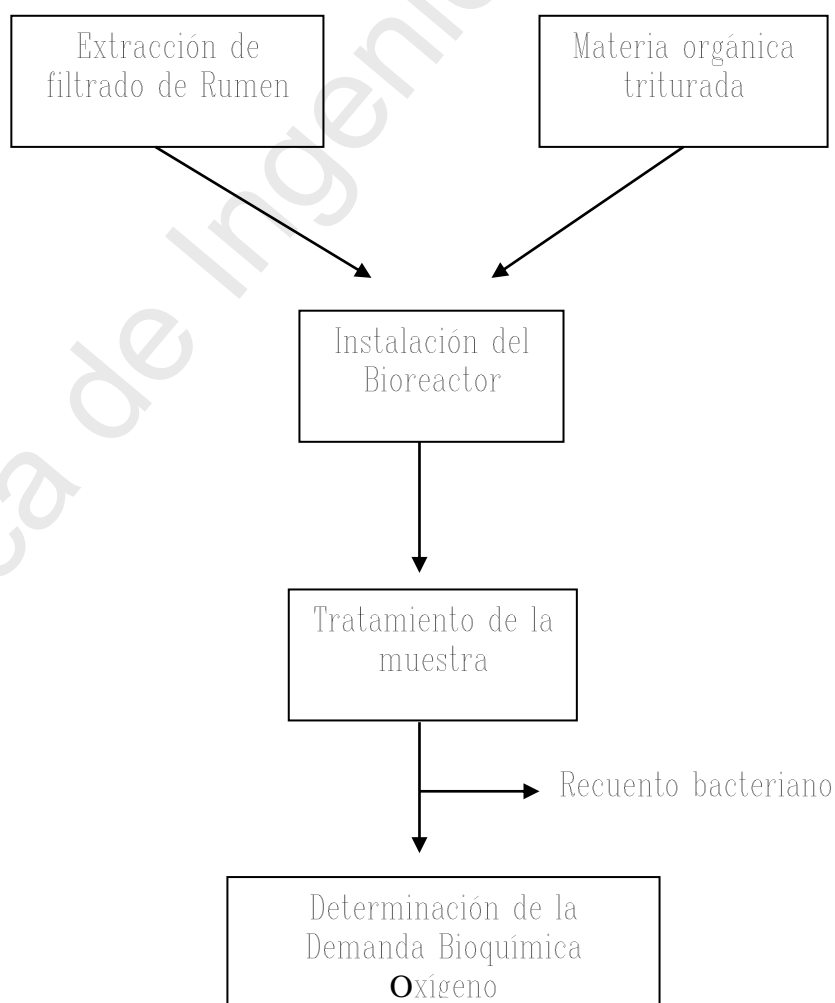
M.O. (A): Materia Orgánica de la muestra en Gc

M.O. (B): Materia Orgánica de la muestra en Ge

RA, RB : Resultados de la composición "después".

La influencia de la digestión anaeróbica, en la reducción de la composición de la materia orgánica de los residuos sólidos municipales biodegradables de Chimbote; se determinó mediante la Demanda Bioquímica de Oxígeno en los biorreactores, acondicionados con materia orgánica y filtrado de rumen en condiciones anaeróbicas.

Figura 5 : Etapas del proceso experimental



3.2.1 EXTRACCIÓN DE FILTRADO DE RUMEN:

El rumen se obtuvo del camal San Francisco, luego con ayuda de un tocuyo se separó el sólido húmedo del líquido y se colocó en un frasco de vidrio de un litro con tapa rosca.

3.2.2 TRITURACIÓN DE LA MATERIA ORGÁNICA:

Los residuos sólidos biodegradables procedentes de la ciudad de Chimbote, fueron traídos al Laboratorio de la UNT en donde se los trituroó completamente con un mortero para facilitar el tratamiento posterior.

3.2.3 INSTALACIÓN DE BIORREACTORES

a) Biorreactores de Prueba:

Se instalaron 6 Biorreactores de prueba en las que se combinaron las variables -materia orgánica, agua y filtrado de rumen. Las que se instalaron de la siguiente manera:

BP N° 01: Materia orgánica (100 %)

BP N° 02: Materia orgánica (80 %) y agua (20%)

BP N° 03: Materia orgánica (50 %) y agua (50%)

BP N° 04: Materia orgánica (90 %) y agua (10%)

BP N° 05: Materia orgánica (80 %), agua (50%) y filtrado de rumen (10%)

BP N° 06: Materia orgánica (40 %), agua (50%) y filtrado de rumen (10%)

Después de colocar el contenido en cada uno de los biorreactores de prueba y de instalar la bolsita indicadora de gas, estos fueron sellados con parafina.

b) Bioreactor Experimental:

En el bioreactor se colocó aproximadamente 1350 ml de materia orgánica (90%) y 150 ml de rumen filtrado (10%), completando un volumen de trabajo de 1500 ml. en un bioreactor de 2000 ml de capacidad. Dentro del bioreactor se colocó un indicador de anaerobiosis que se preparó mezclando 1 ml de solución NaOH al 0,02%, 1 ml. de dextrosa al 6% y 1 ml de azul de metileno al 0.05% (Collins, 1985)

3.2.4 TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS

En los biorreactores de prueba, las muestras tuvieron un tratamiento de 30 días; en el que se fue evaluando en forma cualitativa cada tres días los siguientes parámetros: color, aspecto y formación de gas. Además a cada uno se les midió su Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) inicial (0 días) y final (30 días)

En el bioreactor experimental la muestra I recibió un tratamiento de 60 días y las evaluaciones se realizaron cada 15 días mediante su DBO por el método Winkler modificado por Alsterberg. Y el aislamiento y recuento bacteriano por el Método de Difusión en Placa, en Agar anaeróbico de Brewer (Lynch, 1987). Ambas evaluaciones se iniciaron desde los 0 días.

De la misma forma experimental se procedió para la muestra II.

IV.- RESULTADOS

Contenido del bioreactor: 1500cm³

Porcentaje de dilución: 90% M.O.

10% Rumen

Primera muestra tomada: Mes de diciembre

DEMANDA BIOQUIMICA DE OXIGENO (DBO₅

mgO₂/L)

TABLA n° 4

CANTIDAD EXTRAIDA DEL BIORREACTOR: 0.1 ml

DIAS	BIOREACTOR CONTROL	BIOREACTOR EXPERIMENTAL
0	4855,6	4641,5
15	4820	4489,6
30	4750,8	4450,9
45	4750,4	4410,5
60	4682,1	4360,5
75	4602	4251,9
90	4402,3	4180,5

RECUESTO BACTERIANO

TABLA N° 5

Recuento de bacterias aeróbicas mesófilas viables ó bacterias aeróbicas facultativas

DIAS	BIOREACTOR EXPERIMENTAL (UFC/ml)	BIOREACTOR CONTROL (UFC/ml)
0	15×10^8	27×10^7
15	25×10^8	20×10^8
30	34×10^8	55×10^8
45	76×10^8	15×10^9
60	22×10^9	50×10^9
75	40×10^8	35×10^8
90	16×10^7	38×10^7

PRODUCCION DE BIOGAS

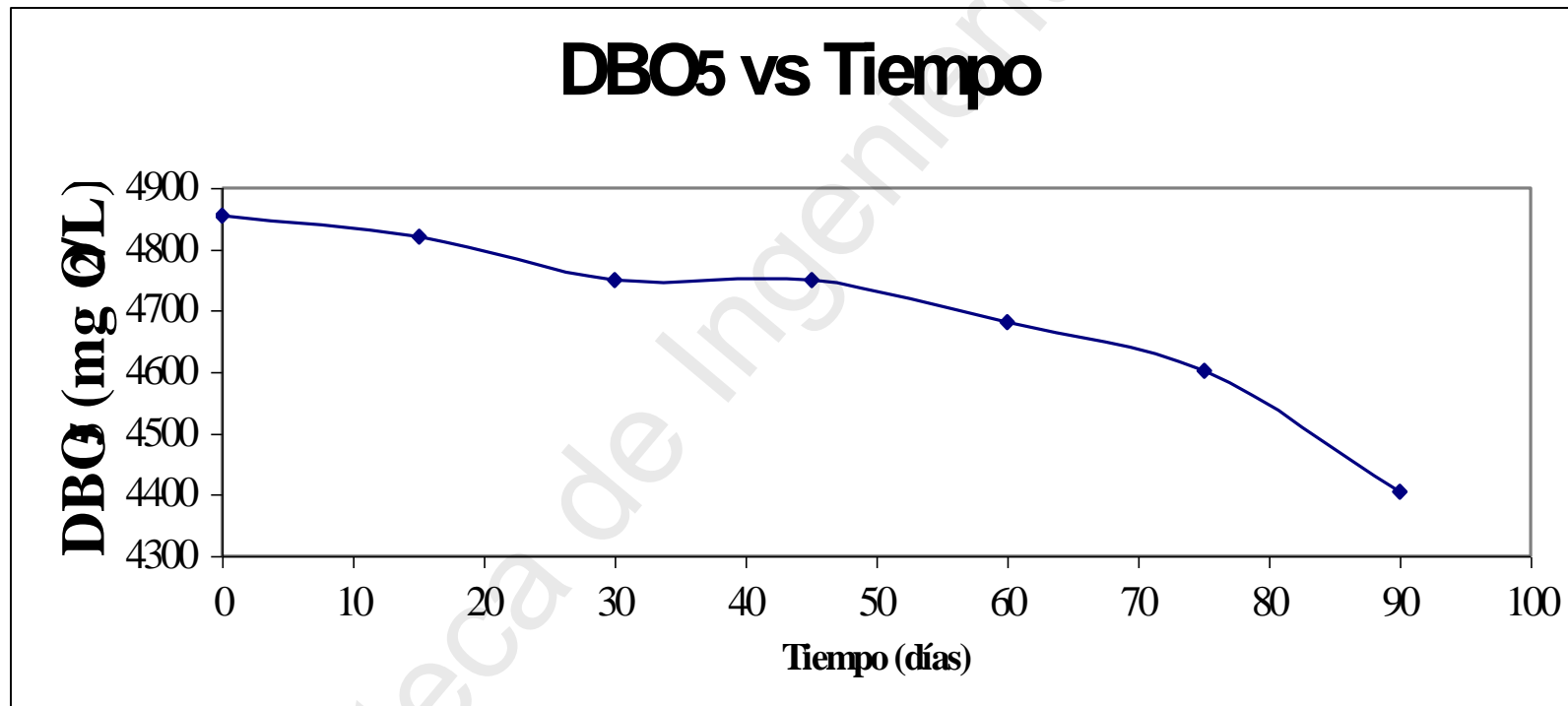
TABLA N° 6

DIAS	BIOGAS (ml)	
	CONTROL	EXPERIMENTAL
0	0	0
15	1,3	1,5
30	2,5	2,5
45	3,9	4,1
60	4,8	4,9
75	5,2	5,6
90	6,0	6,5

Grupo Control De La Primera Muestra

GRAFICO N° 01

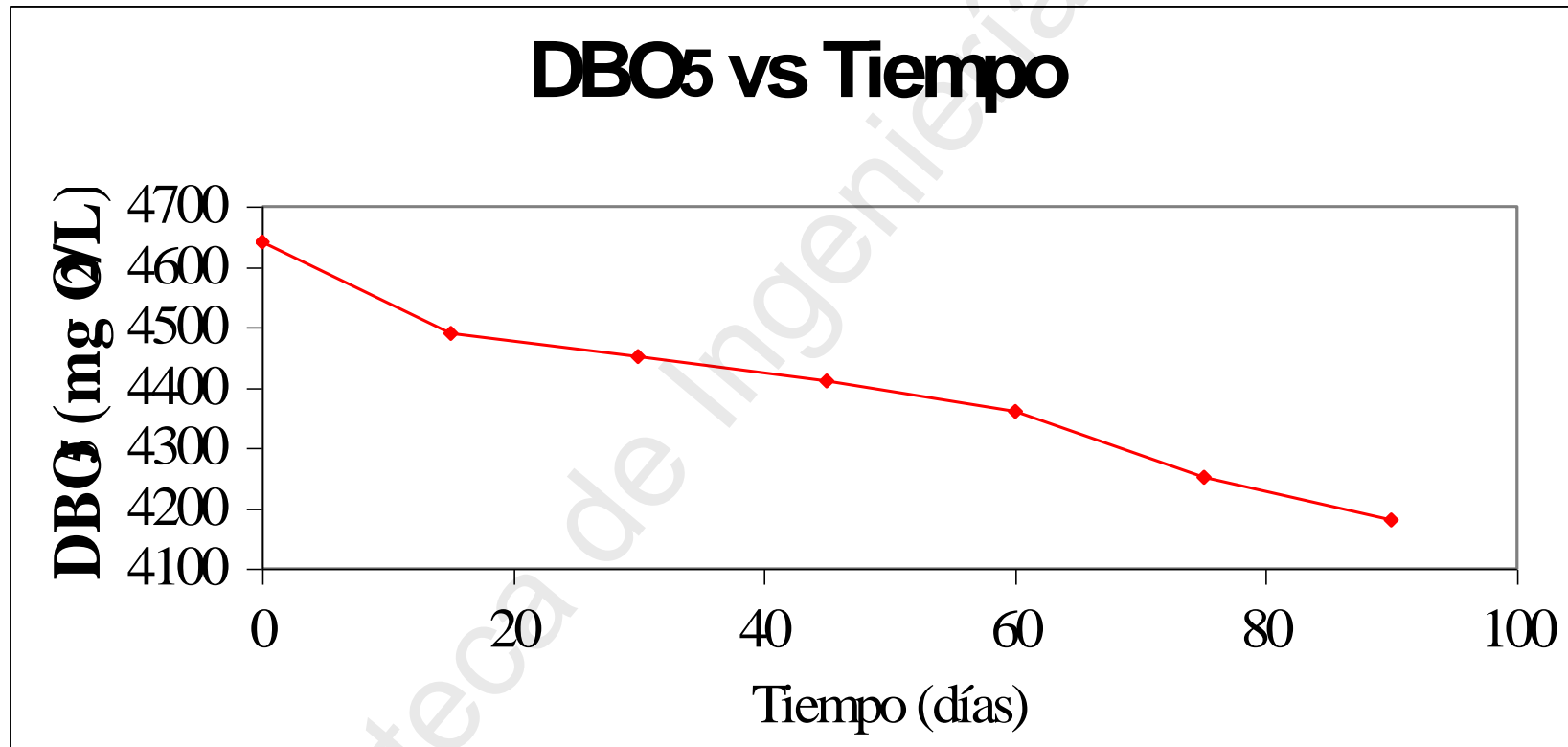
Demanda Bioquímica de Oxígeno vs tiempo en el 0,1% de dilución



Grupo Experimental De La Primera Muestra

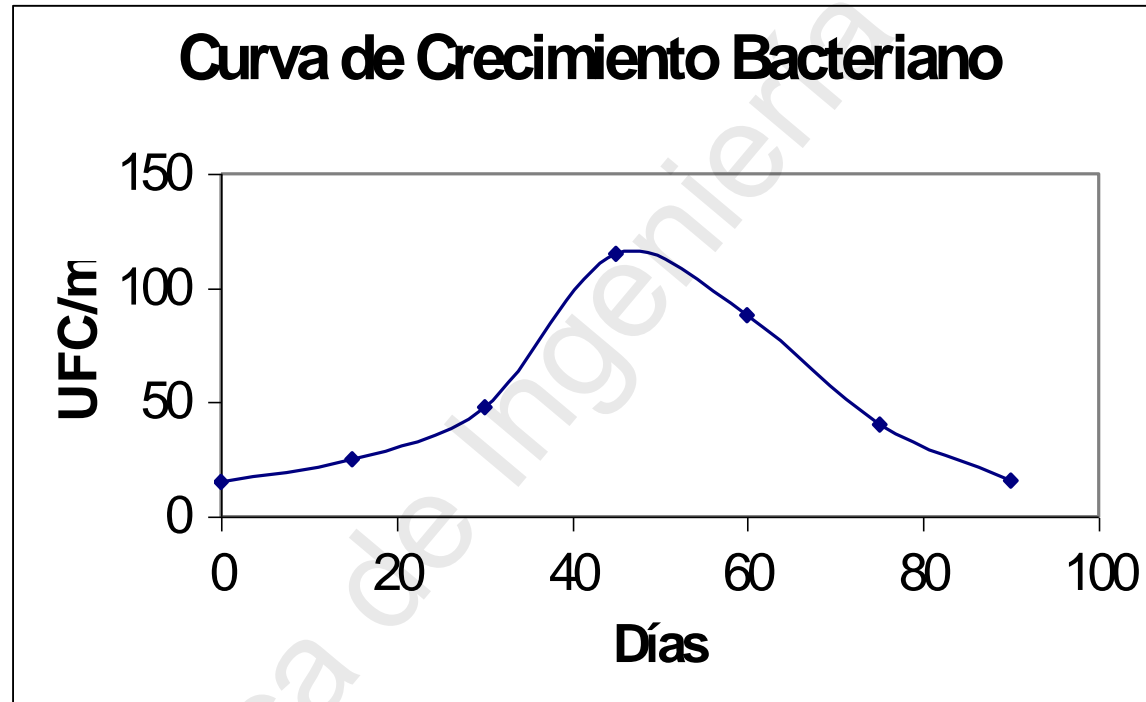
GRAFICO N° 02

Demanda Bioquímica de Oxígeno vs tiempo en el 0,1% de dilución



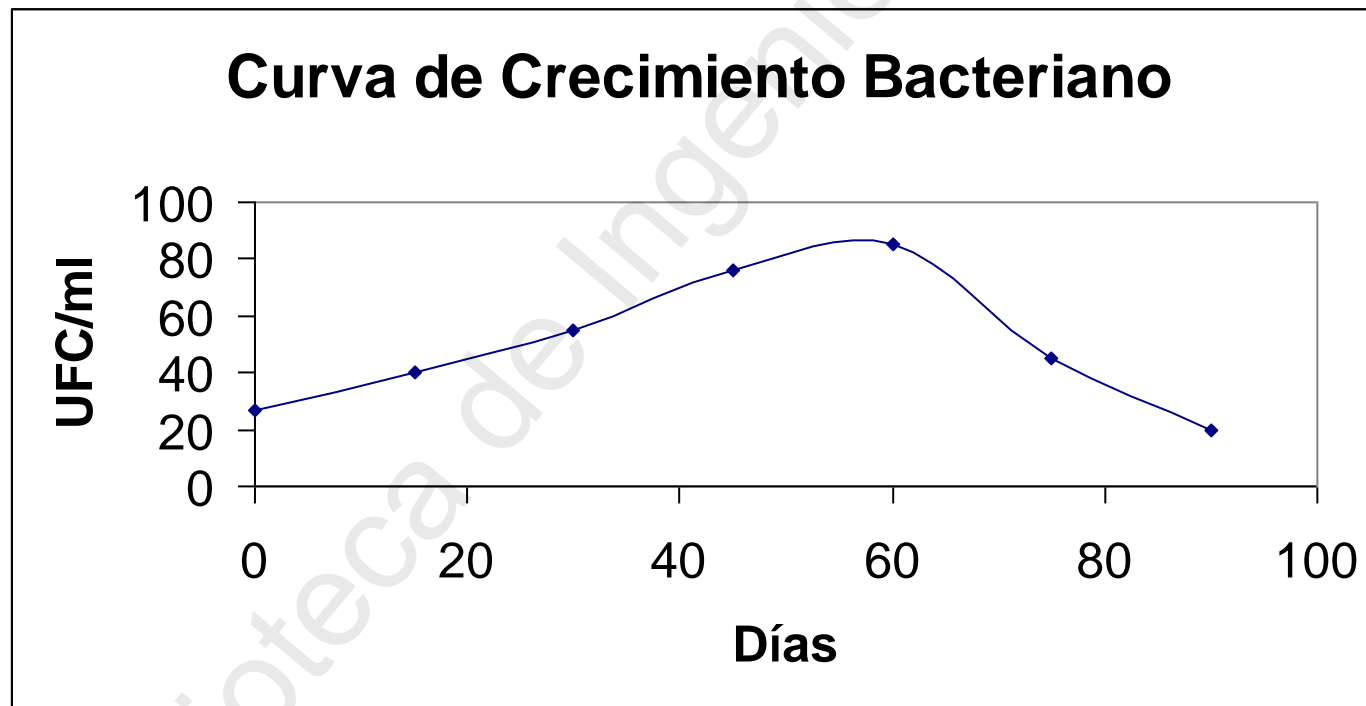
GRUPO EXPERIMENTAL DE LA PRIMERA MUESTRA.

GRAFICO N° 03 :



GRUPO CONTROL DE LA PRIMERA MUESTRA

GRAFICO N° 04



GRAFICOS N° 05

PRODUCCION DE BIOGAS DEL GRUPO CONTROL

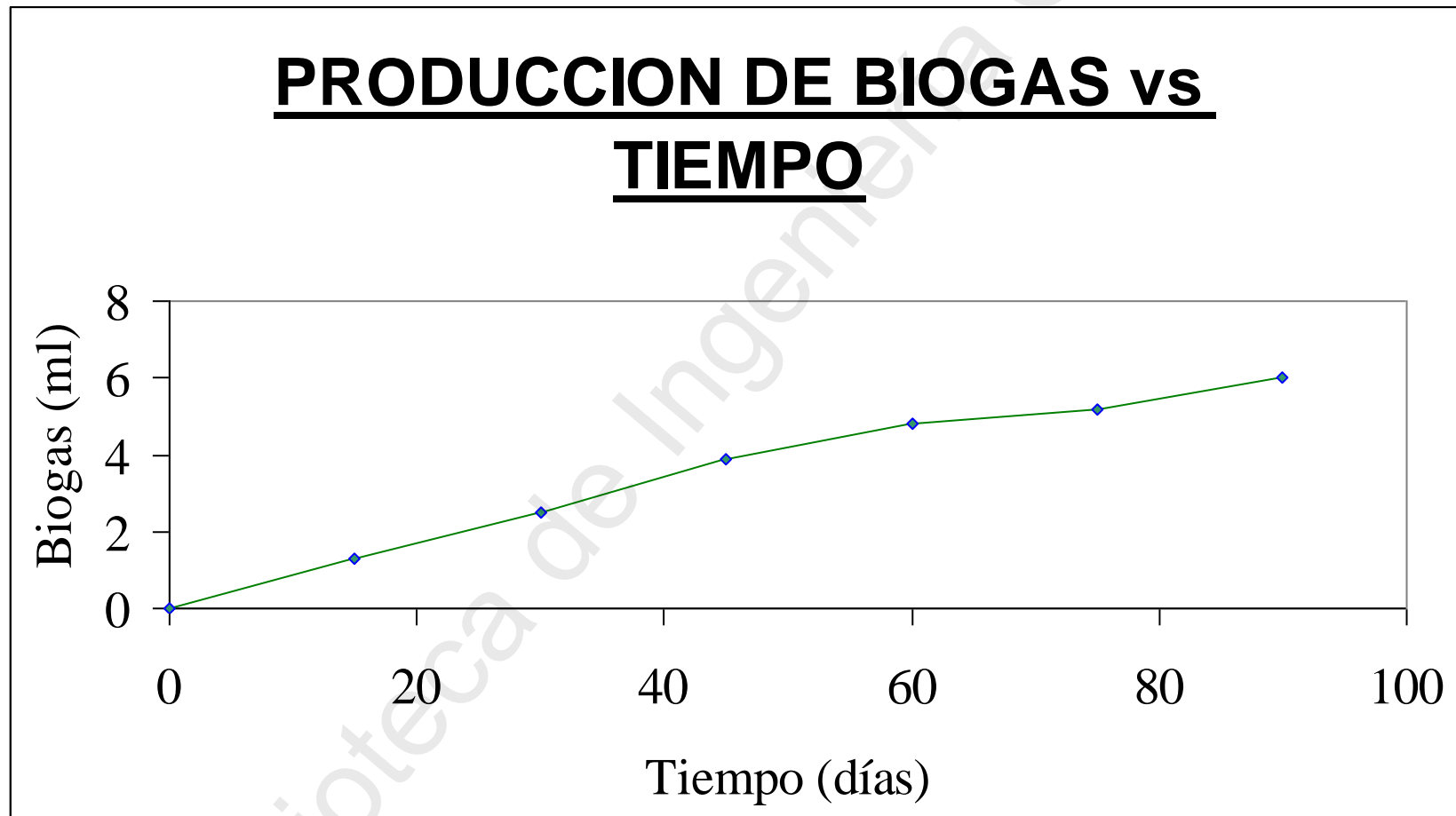
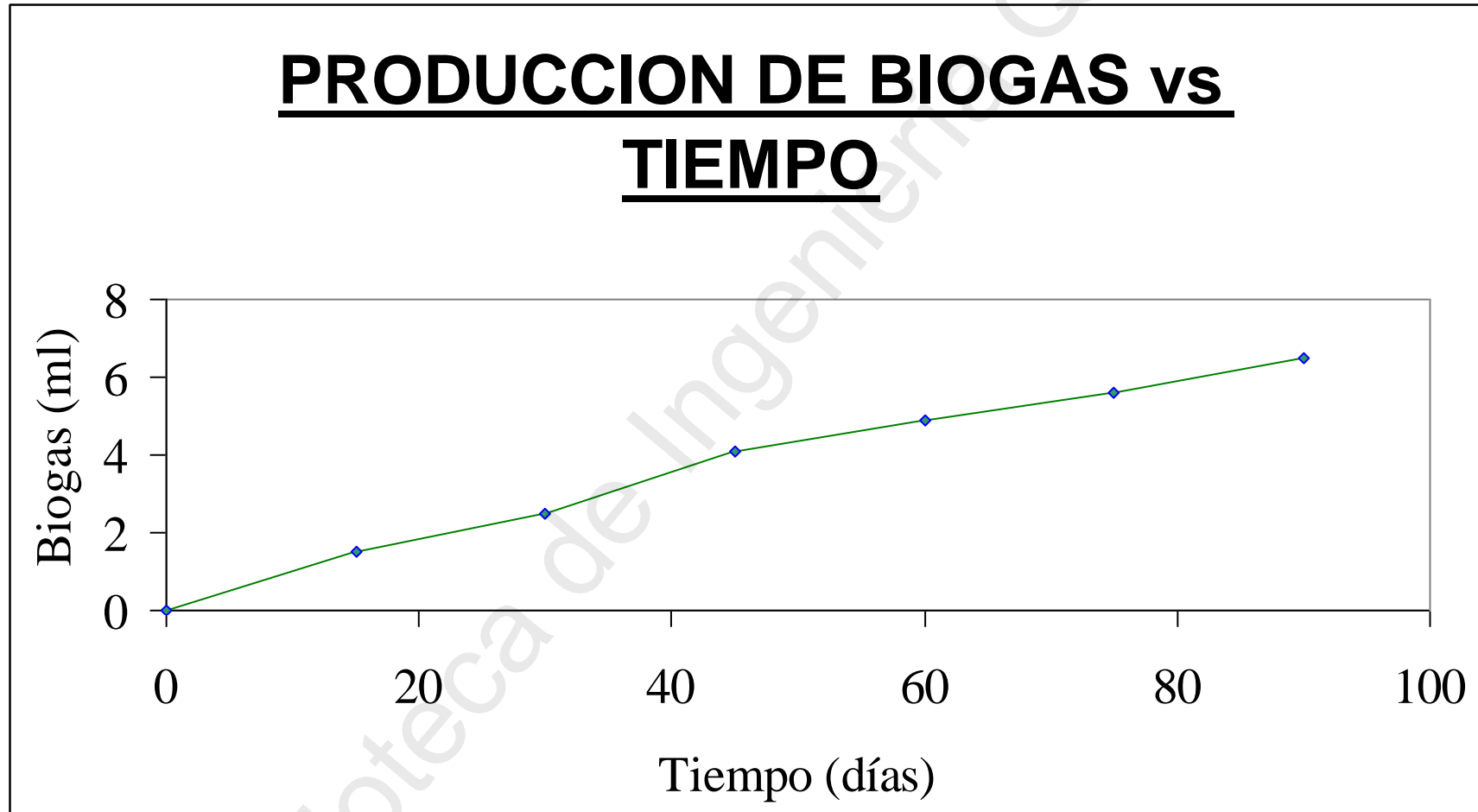


GRAFICO N° 06

PRODUCCION DE BIOGAS DEL GRUPO EXPERIMENTAL



Segunda MUESTRA

Segunda muestra tomada: Mes de Enero

DEMANDA BIOQUIMICA DE OXIGENO (DBO₅ mgO₂/L)

TABLA N° 7

CANTIDAD EXTRAIDA DEL BIORREACTOR: 0.1 ml

DIAS	BIOREACTOR CONTROL	BIOREACTOR EXPERIMENTAL
0	4785,8	4790,1
15	4670,5	4600,9
30	4520,1	4530,05
45	4489,5	4470
60	4399,5	4300,3
75	4310,1	4223,5
90	4299	3875

RECUESTO BACTERIANO

TABLA N° 8

Recuento de bacterias aeróbicas mesófilas viables ó bacterias aeróbicas facultativas

DIAS	REACTOR CONTROL (UFC/ml)	REACTOR EXPERIMENTAL (UFC/ml)
0	32×10^8	25×10^9
15	12×10^9	24×10^{10}
30	55×10^9	34×10^{10}
45	15×10^{10}	20×10^{10}
60	25×10^9	32×10^9
75	15×10^8	20×10^8
90	45×10^7	24×10^7

PRODUCCION DE BIOGAS

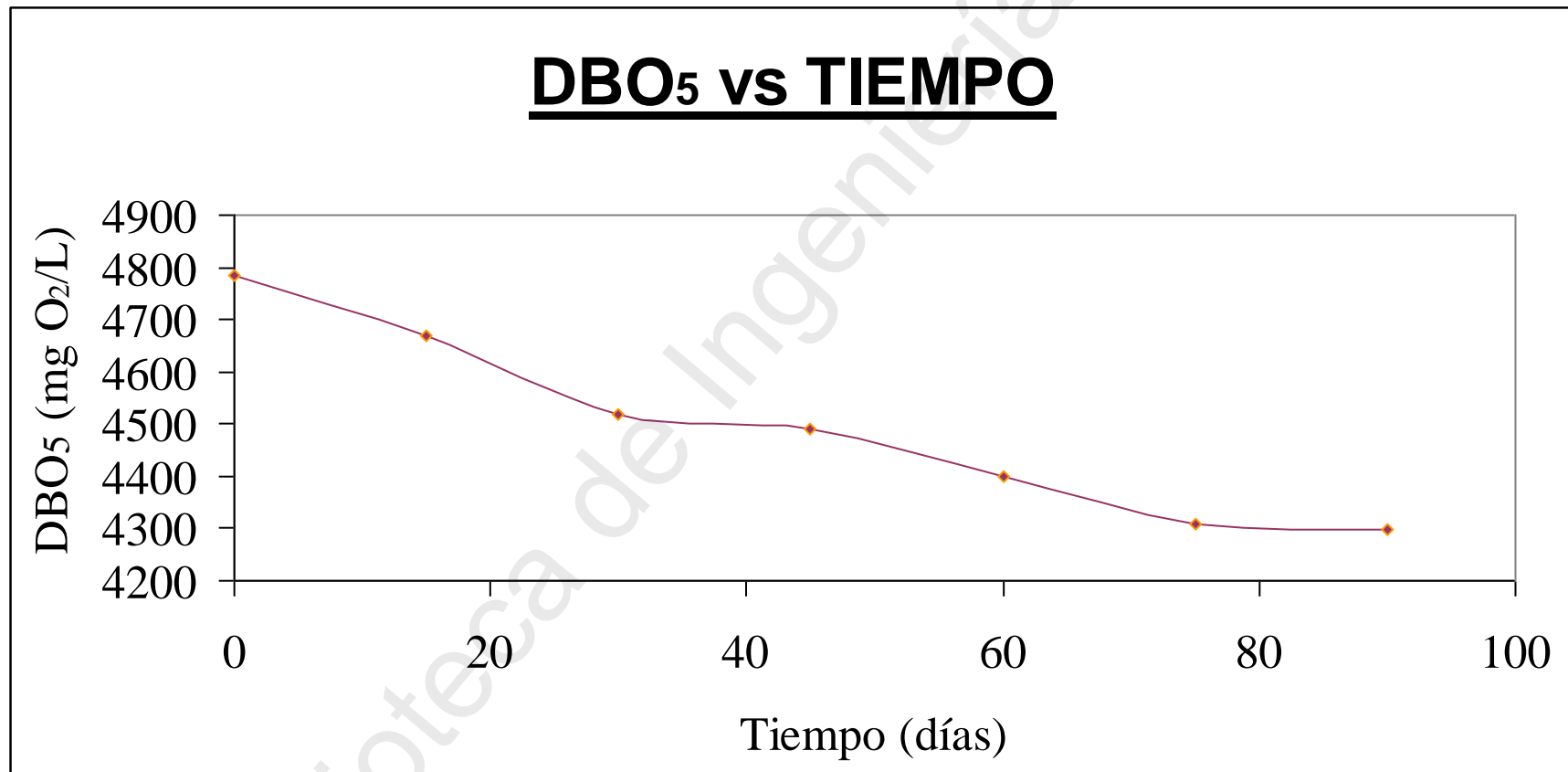
TABLA N° 9

DIAS	BIOGAS (ml)	
	CONTROL	EXPERIMENTAL
0	0	0
15	1,0	1,5
30	1,5	2,8
45	2,6	3,7
60	2,8	4,5
75	3,5	5,8
90	4,3	6,9

Grupo Control De La Segunda Muestra

GRAFICO N° 07

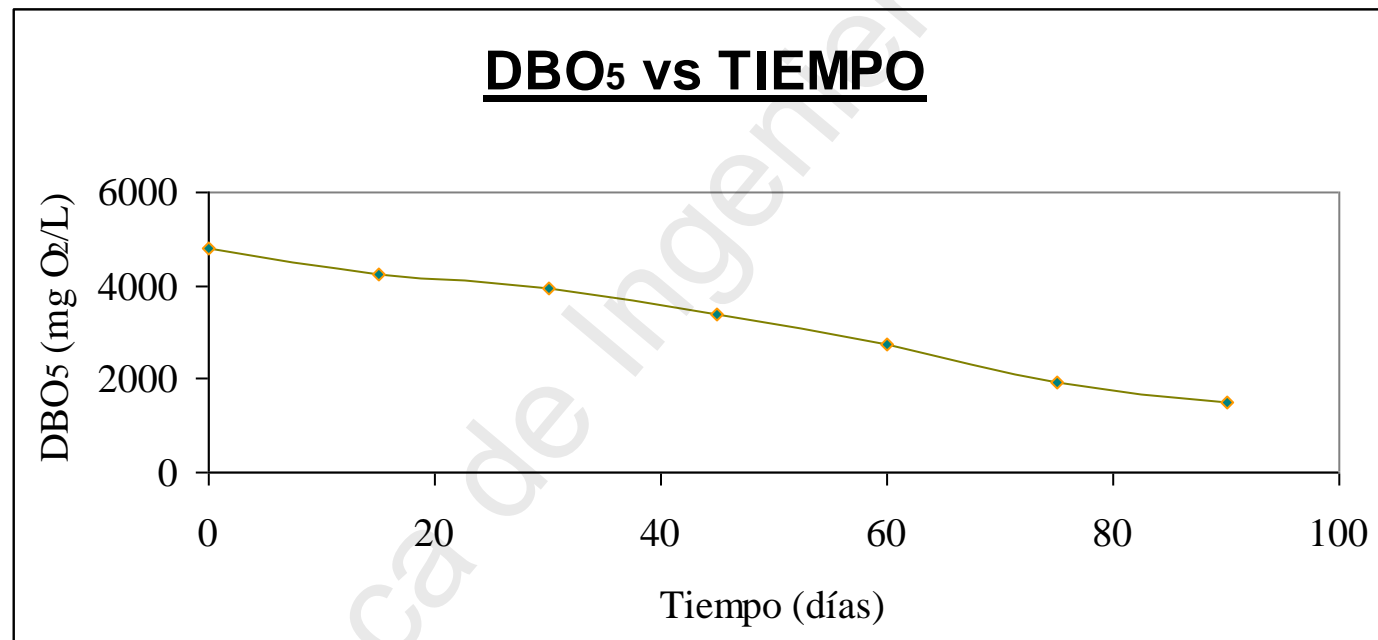
Demanda Bioquímica de Oxígeno vs tiempo en el 0,1% de dilución



Grupo Experimental De La Segunda Muestra

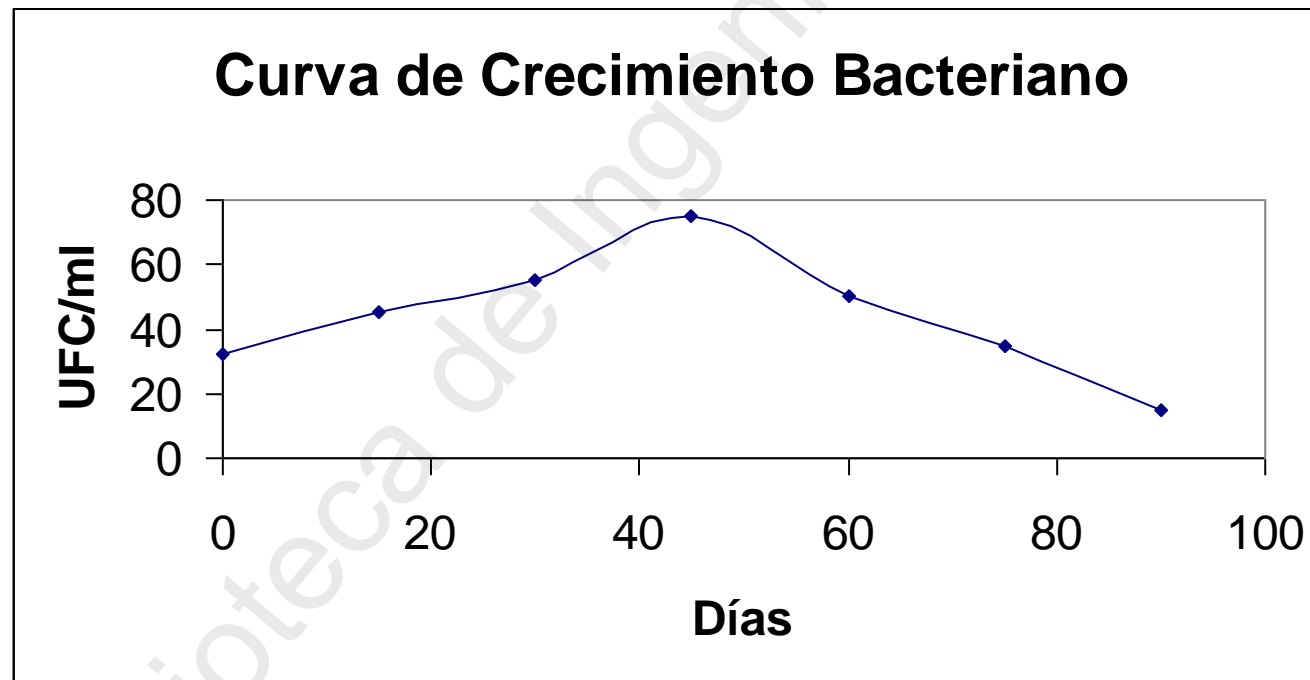
GRAFICO N° 08

Demanda Bioquímica de Oxígeno vs tiempo en el 0,1% de dilución



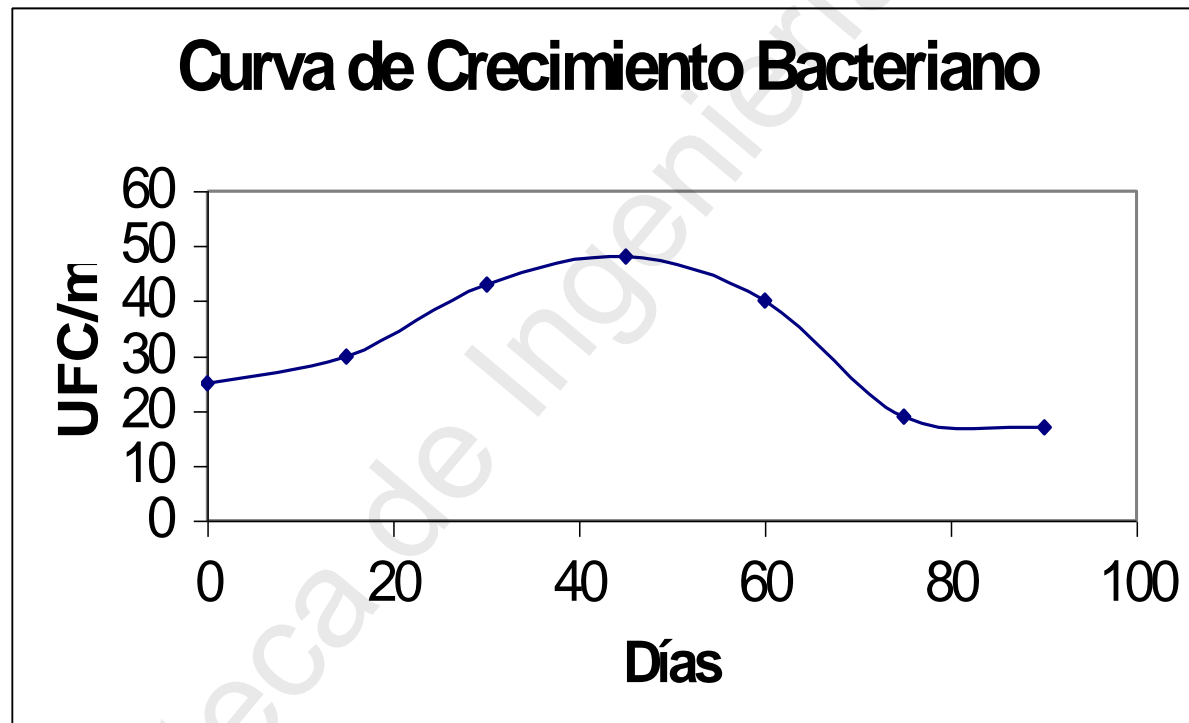
GRUPO CONTROL DE LA SEGUNDA MUESTRA

GRAFICO N° 09



GRUPO EXPERIMENTAL DE LA SEGUNDA MUESTRA

GRAFICO N° 10



GRAFICOS N° 11

PRODUCCION DE BIOGAS DEL GRUPO CONTROL

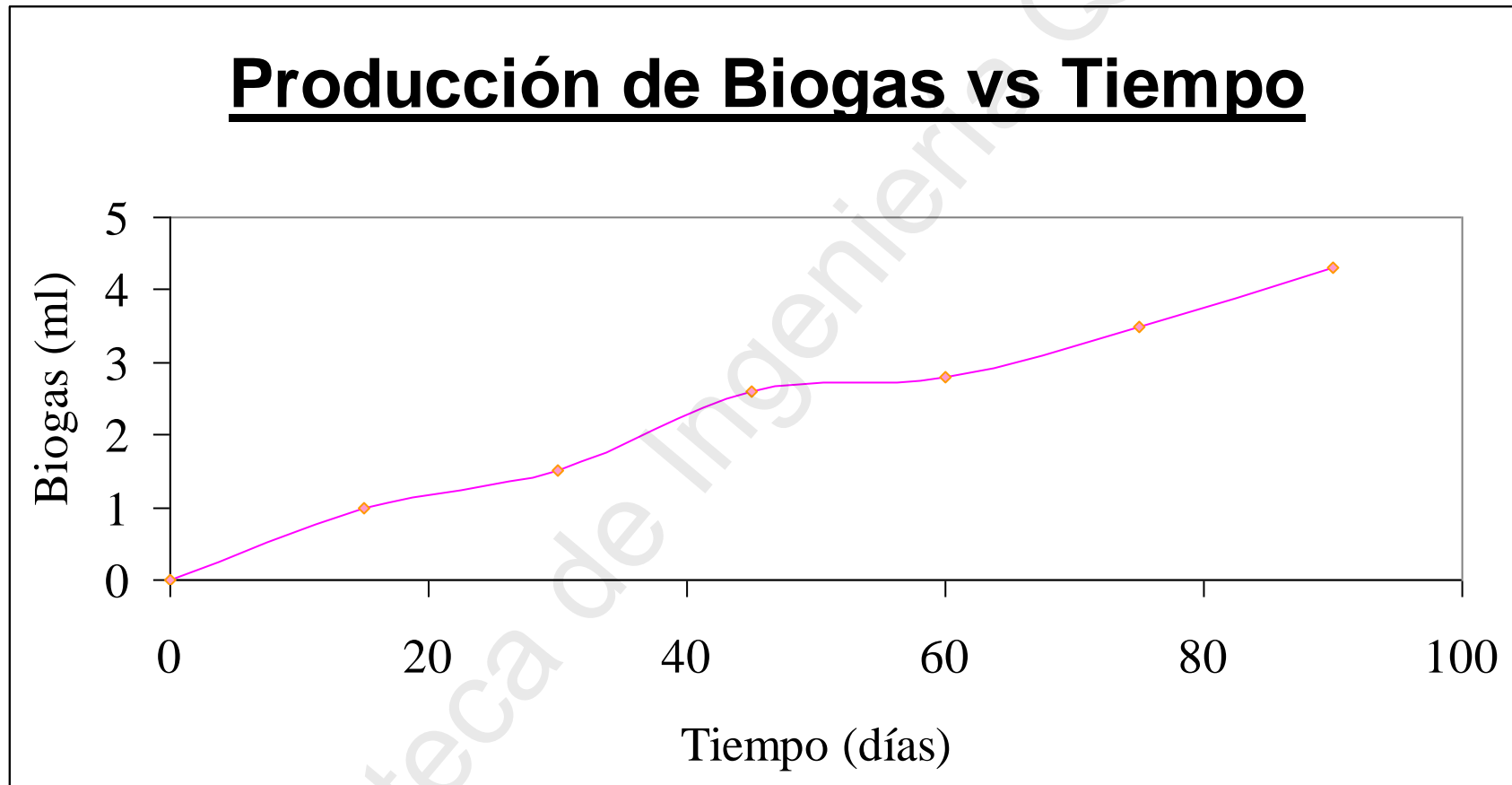
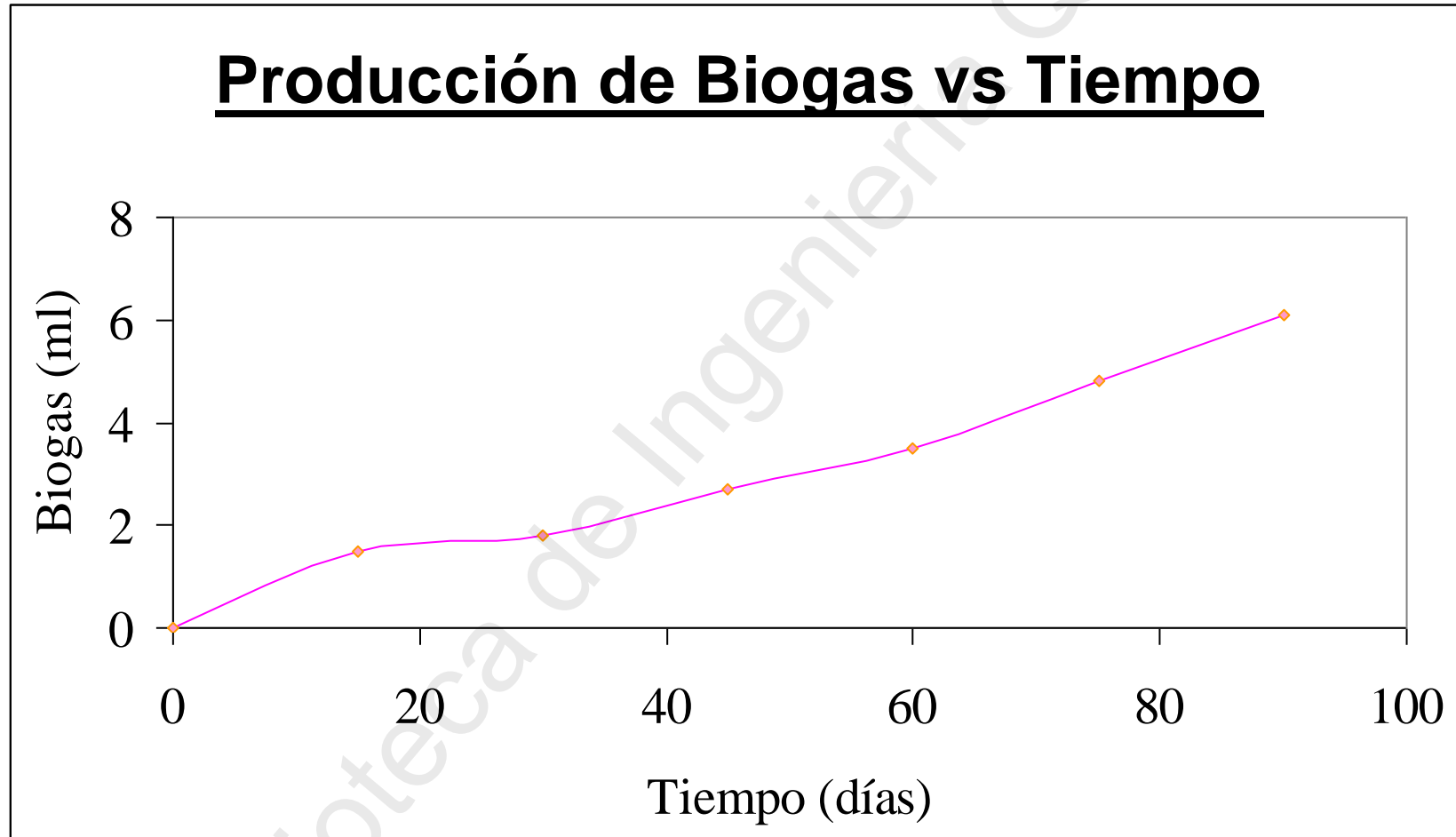


GRAFICO N° 12

PRODUCCION DE BIOGAS DEL GRUPO EXPERIMENTAL



V.- DISCUSIONES

- ▶ En el gráfico # 02 (experimental) se nota una disminución más pronunciada del DBO_5 con respecto al gráfico # 01 (control); esto es justificado debido a que al grupo experimental se le agregó rumen y esta sustancia aportó más microorganismos los cuales degradan más rápido la materia orgánica.
- ▶ La curva de crecimiento bacteriano, resultó distinta para las dos biorreactores como se puede apreciar en la figura n° 02 y 03. Las UFC (unidades formadoras de colonia) presentan valores más elevados en el grupo experimental, que alcanzan su máxima etapa de crecimiento a los 48 días; el cual se desarrolló en menos tiempo que el grupo control.
- ▶ La producción de biogás en una primera etapa presentan comportamientos similares de producción para los dos biorreactores; pero con el transcurrir del tiempo el bioreactor experimental genera una formación de biogás ligeramente mayor, que son producto de la degradación de los ácidos grasos a metano y otros compuestos.
- ▶ La muestra tomada en el mes de enero aportó más carga bacteriana, por consiguiente, un aumento de los mismos con respecto al mes de diciembre; esto es justificado debido a que el mes de enero son depositadas más materia orgánica que en el mes de

diciembre por varios motivos, y esto redundará en un aumento de microorganismo debido al aumento de biomasa.

- ▶ Los gráficos siguientes del mes de enero (07, 08, 09, 10, 11, 12) proporcionan un comportamiento similar a los gráficos 01, 02, 03, 04, 05, 06 del mes de diciembre, debido a que en el mes de enero hay más descarga de desechos orgánicos municipales.

VI.- CONCLUSIONES

- ▶ El DBO_5 en el grupo control y experimental de la primera y segunda muestra correspondiente se observa valores de 4855,6; 4641,5; 4785,8; 4790,1; y son muy elevados, lo que indica una alta concentración de microorganismos presentes en las muestras de basura. Los rangos de DBO encontrados significan que se necesitan de grandes cantidades de oxígeno para oxidar todos los compuestos orgánicos.
- ▶ Se puede concluir que tomando un 90% de materia orgánica y un 10% de rumen se da un proceso más óptimo y se genera una mayor producción de biogás
- ▶ Se puede concluir que hubo mayor materia orgánica en la primera muestra, debido a los altos índices de DBO que presenta.
- ▶ Al agregar un inóculo de rumen va a generar una formación de biogás en menos tiempo que en el proceso normal. Es decir, sin inóculo.
- ▶ Hay una mejor reducción de carga contaminante al seleccionar únicamente los compuestos biodegradables celulolíticos que son compatibles con las bacterias que contienen el rumen.

VII.- RECOMENDACIONES

- ▶ Al iniciar el experimento, se recomienda hacer unas pruebas en biorreactores pilotos, para determinar la dilución exacta en el bioreactor experimental.
- ▶ Evitar turbulencias y burbujas en el muestreo y análisis de la muestra en la determinación de DBO.
- ▶ Para determinar DBO, procurar trabajar en el más breve tiempo posible; y así evitar que las muestras sufran un cambio con respecto al bioreactor.
- ▶ Se recomienda que el rumen sea usado rápidamente desde el momento de su extracción. En caso contrario conservarlos en un proceso de congelación.
- ▶ Se recomienda que el reactor se encuentre en continua agitación lenta para que la materia orgánica sea degradable uniformemente por los microorganismos.
- ▶ Al utilizar la muestra se debe tener cuidado en seleccionar únicamente la materia orgánica biodegradable.

- ▶ Para optimizar el proceso se recomienda hacer uso de variables de control.

VIII.- REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

CAROZZI, A.

"Anaerobic Treatment of fish Processing Wastewater. Fifth International Symposium on Anaerobic Digestion". Bologna, Italy. 1988

FORONDA, M.

Contaminación Ambiental de la Ciudad de Chimbote -Instituto Ecologista - Natura-Chimbote -1997.

SALAS DEL PINO, M.

Biotecnología y Conservación del Medio Ambiente -Libro Perú -VI Congreso Peruano de Ingeniería Química- Trujillo -Perú -1996.

VERASTEGUI, L.J. y otros

"Generación de biogas en las áreas rurales del Perú"
Lima - 1980.

BROCK, T.

"Microbiología"
Editorial Prentice-Hall Hispanoamericana S.A.
México - 1993.

PELCZAR, M.

"Microbiología

Cuarta Edición. Mc Graw Hill

México - 1982.

ANEXOS

PREPARACIÓN DEL AGAR ANAERÓBICO DE BREWER

En un litro de agua destilada se suspendió 51 g de Agar anaeróbico Brewer comercial y se dejó remojar por 15 minutos. Seguidamente, se calentó hasta ebullición, agitándolo frecuentemente hasta disolverlo completamente. Luego se esterilizó en autoclave por 15 minutos a 15 lb de presión (121°C), después de lo cual se repartió en placas Petri (Mendo, 1995).

AISLAMIENTO POR DIFUSIÓN Y RECUENTO EN PLACA

Procedimiento:

- De la muestra del bioreactor se sacó 1 ml para colocarlo en tubo que contenía 9 ml de SSF. Este tubo correspondió a una dilución 1:10 (10^{-1}).
- De esta dilución (10^{-1}) se trasvasó 1 ml a otro tubo con 9 ml de SSF. Esta nueva dilución correspondió a 10^{-2} , continuándose así hasta 10^{-6} .
- De cada tubo de diluciones 10^{-4} , 10^{-5} y 10^{-6} se transfirió 1 ml a una placa Petri esterilizada.

- Luego el Agar anaeróbico fundido y enfriado (de 47°C a 50°C) se vertió en las placas Petri, llenándolas hasta $\frac{3}{4}$ de su capacidad. Cuando el Agar se solidificó las placas se invirtieron y se colocaron en una jarra anaeróbica, la que se llevó a incubación a 37 °C por 24 horas. (La pequeña cantidad de oxígeno que quedó atrapada en la superficie del Agar y el oxígeno del aire, reaccionó con los agentes reductores del medio, creando así condiciones anaeróbicas.
- Para el recuento se escogieron placas que contenían entre 30 y 300 colonias, se multiplicó el número de colonias por el inverso de la dilución para obtener el recuento total de bacterias por mililitro.

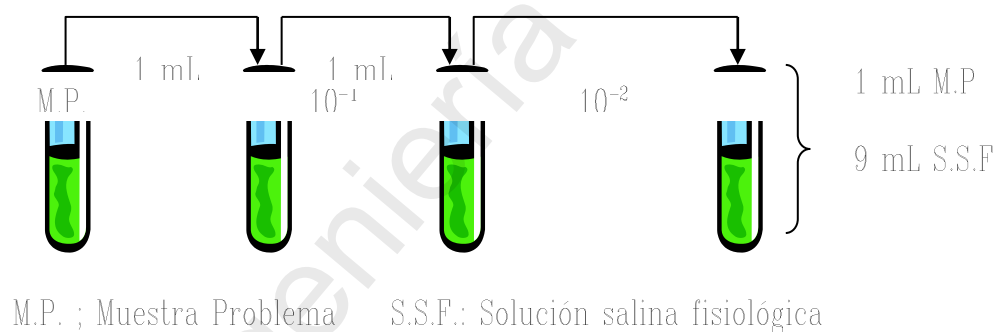


Figura 6 : Preparación de las diluciones de la muestra

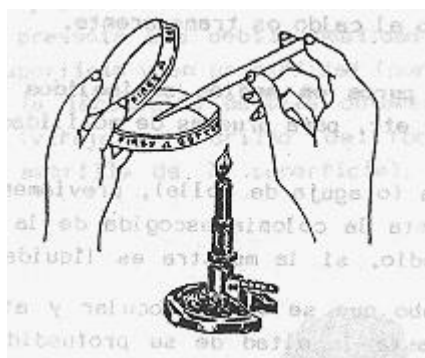


Figura 7 : Transferencia de diluciones en placa Petri.

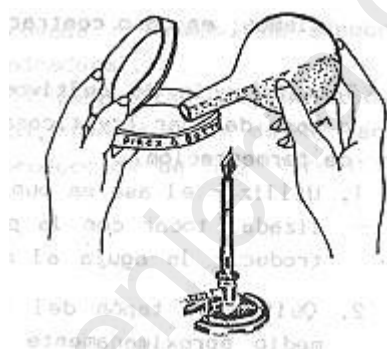


Figura 8 : Adición de Agar Anaeróbico (Brewer)

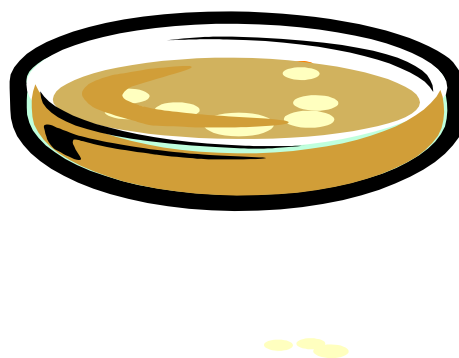


Figura 9 : Recuento de bacterias anaeróbicas

DETERMINACIÓN DE LA DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO (DBO)

Procedimiento:

- Se colocaron cuidadosamente las muestras sin diluir en el frasco BOD y se completó después con agua destilada alrededor de 300 ml, en proporción que permitiera lograr la dilución deseada. Se usaron dos botellas por muestra, una se trabajó inmediatamente y la otra se incubó por 5 días a 20 °C y en oscuridad.
- Las botellas se taparon evitando que formen burbujas de aire en el interior y se dejó reposar por 15 segundos.
- Luego se destapó cuidadosamente el frasco BOD y se adicionó superficialmente 1 ml de solución de sulfato de manganeso y 1 ml de solución yoduro - alcalina - ácida. El frasco se tapó verificando que no se formen burbujas de aire y se dejó en reposo por 10 segundos.
- Se mezcló el contenido hasta que el precipitado se dispersara completamente y se dejó reposar por 10 minutos.

- Se destapó el frasco y se adicionó 1 ml de ácido sulfúrico concentrado, se tapó con cuidado y se agitó enérgicamente hasta que todo el precipitado se disuelva. El agua tomó un color ámbar, dejándose reposar luego por 30 minutos.
- Posteriormente se colocó 50 ml de un vaso de precipitación y se tituló con tiosulfato de sodio hasta la aparición de un color amarillo "paja".
- Cuando el color ámbar viró al amarillo se adicionó 1 ml de solución de almidón (indicador). Luego de la aparición de un color azul, se siguió titulando hasta que desaparezca completamente dicha coloración.
- El contenido de oxígeno disuelto se determinó aplicando la siguiente fórmula:

$$MgO_2Dis / L = \frac{a.N(1/40).8.1000}{V \cdot \frac{V_{fco} BOD - 2}{V_{fco} BOD}}$$

DONDE:

- a = Gasto.
- N = Normalidad de tiosulfato de sodio (1/40)
- V = Volumen de muestra titulada
- V_{fco}BOD = Volumen de frasco BOD = 300 ml

DETERMINACION DE DBO₅

- Determinar el DBO de la muestra antes de

los 15 minutos. Será el OD₁

- Incubar otra muestra en frasco de DBO sellado herméticamente y envuelto en papel aluminio para que la oscuridad sea total.
- Al cabo de 5 días de incubación a 20°C, sacar el papel aluminio a 20°C el frasco de la incubadora, sacar el papel aluminio y determinar el oxígeno disuelto, será el OD₂
- El DBO se calcula con la siguiente fórmula:

$$DBO_5 = \frac{OD_1 - OD_2}{P}$$

Donde:

OD₁ = oxígeno disuelto del 1er día

OD₂ = oxígeno disuelto del 5to día

P = fracción de la muestra analizada

Las diluciones que se utilizaron fueron de 0.1% de acuerdo de la siguiente tabla.

TIPO DE MUESTRA	% DILUCION	RANGO DE DBO (mg/l)
DESECHOS URBANOS	0.01	20,000 – 70,000
	0.02	10,000 – 35,000
	0.05	4,000 – 14,000
	0.1	2,000 – 7,000
	0.2	1,000 – 3,500