# INFLUENCIA DE LAS PARADAS ESTACIONALES SO-BRE LA BIOMASA INMOVILIZADA EN REACTORES ANAEROBIOS

José L. García-Morales, Luis I. Romero García y Diego Sales Márquez<sup>1</sup>

**RESUMEN:** Los reactores anaerobios con biomasa inmovilizada son especialmente recomendados cuando se aborda el tratamiento de vertidos con una alta carga orgánica como es el caso de la mayoría de industrias del sector agroalimentario. Uno de los grandes inconvenientes de muchos de los vertidos de este tipo de industrias es su carácter estacional con periodos de parada prolongados en su rutina operational. Estos fenómenos de rearranque en los digestores son uno de los procesos en los que se suelen producir desequilibrios en la microbiota del reactor. La evolución de la biomasa de la biopelícula en periodos sin alimentación en reactores anaerobios adaptados al tratamiento, en rango termofilico, de efluentes de destilerías vínicas es el objeto del estudio de este trabajo. Para ello se ha efectuado el seguimiento de la evolución de la biomasa adherida y en suspensión, y la actividad (acidogénica y metanogénica) de la biomasa adherida a lo largo de un periodo experimental de 75 días. Durante este periodo experimental se ha estudiado como variable la ausencia de una alimentación de los microorganismos manteniendo la temperatura en el óptimo del rango termofilico (55°C). Los resultados indicaron que el desprendimiento de la biomasa de la biopelícula se encontraba relacionado con la actividad de la misma. A lo largo del periodo sin alimentación se observó un descenso de la biomasa adherida al soporte y de las diferentes actividades de la biomasa inmovilizada.

## **INTRODUCCIÓN**

Los reactores anaerobios con biomasa inmovilizada se utilizan en la actualidad para el tratamiento de una amplia variedad de efluentes industriales que presentan características muy diferentes, si bien están recomendados cuando se aborda el tratamiento de vertidos con alta carga orgánica. Entre estos últimos cabe destacar los efluentes líquidos de la mayoría de las industrias del sector alimentario (vitivinícolas, destilerías, conserveras, etc.) (Fiestas, *et al.*, 1981 ; Romero, *et al.*, 1990; Soto, *et al.*, 1991; París, 1992).

No obstante uno de los principales incci,venientes de la aplicación de los tratamientos microbiológicos a los vertidos de este tipo de industrias deriva del carácter estacional de su ciclo productivo y, por tanto, de la generación de residuos. Esta estacionalidad viene condicionada bien por la época de cosecha (caso de las industrias del sector agroalimentario), bien por las restricciones estacionales de la pesca (en el sector de las conservas de pescado), o bien por la evolución de los productos utilizados como materia prima (como puede ser el caso del vino en las destilerías de alcohol vínico).

En cualquier caso, este tipo de operación industrial implica periodos de parada prolongados en su rutina operacional y conlleva la necesidad de parar y rearrancar las unidades de tratamiento biológico, lo cual provoca desequilibrios en la microbiota del reactor. Una de las principales razones de estos desequilibrios es la mayor sensibilidad de determinados grupos bacterianos, implicados en el proceso de digestión anaerobia, a las modificaciones en su medio ambiente. Las poblaciones bacterianas que, normalmente, presentan una mayor sensibilidad a estos cambios son las pertenecientes a la microbiota metanogénica, ya que presentan requerimientos de temperatura, pH, y ausencia de tóxicos o inhibidores biológicos mucho más estrictos que la microbiota acidogénica, con la que se encuentran en un equilibrio sintrófico en los reactores estables (García-Morales, 1996).

En este sentido, los periodos de rearranque de los digestores anaerobios suelen presentar el inconveniente de un acusado desequilibrio entre las actividades remanentes de los diferentes grupos bacterianos implicados en el proceso, y en consecuencia se producen fenómenos tales como acidificación del medio por acumulación de ácidos grasos (acético, propiónico y butírico, fundamentalmente) e inhibición de la microbiota metanogénica.

Todo lo anterior indica la importancia del seguimiento de la evolución de la biomasa y de la actividad de la biopelícula de reactores anaerobios adaptados al tratamiento de efluentes de destilerías vínicas, en rango termofílico 55°C, en periodos sin alimentación del reactor, que es el objetivo del presente trabajo.

<sup>1</sup> Departamento de Ingeniería Química. Tecnología de Alimentos y Tecnología del Medio Ambiente. Facultad de Ciencias del Mar. CASEM.. Universidad de Cádiz -11510- Puerto Real (Cádiz)

Artículo publicado en *Ingeniería del Agua Vol.6 Num.4 (diciembre 1999)*, páginas 249-256, recibido el **8 de febrero de 1999** y aceptado para su publicación el **2 de julio de 1999**. Pueden ser remitidas discusiones sobre el artículo hasta seis meses después de la publicación del mismo. En el caso de ser aceptadas, las discusiones serán publicadas conjuntamente con la respuesta de los autores en el primer número de la revista que aparezca una vez transcurrido el plazo indicado.

## MATERIAL Y MÉTODOS

El proceso de colonización del soporte, como paso previo a los estudios previstos en este trabajo, se desarrolló en un reactor de lecho fijo, en rango termofilico de temperatura (55°C), como el que se esquematiza en la *Figura 1*. El reactor, de 2.4 l de capacidad global y 2 l de volumen útil, consta de los siguientes elementos:

- a. Un cuerpo central, provisto de una camisa de vidrio externa que permite la termostatización del equipo por circulación de agua a 55°C, en el se introducen 300 ml del soporte poroso comercial.
- b. Una bomba conectada a la salida de efluente permite la homogeneización del medio por recirculación del efluente líquido en sentido ascendente.
- c. Un gasómetro, de 5 l de volumen ubicado a un nivel más elevado que el correspondiente al digestor para recoger el gas producido.

El proceso de colonización de este tipo de soportes en reactores de lecho fijo supone una colonización principalmente superficial de dicho soporte. El tipo de flujo en el interior del reactor supone un escaso aporte de fuerzas de cizalla que desprendieran la biopelícula formada en la superficie. Asimismo, este flujo proporcionaría una seria limitación difusional al sustrato que no permitiría el crecimiento en zonas profundas del interior de la estructura porosa del soporte. Por este motivo, se puede suponer que el desprendimiento se va a producir mayoritariamente en zonas externas del soporte y su paso al medio se va a ver favorecido por la generación de biogas en el seno de la misma.

Una vez que se obtuvo la cantidad adecuada de soporte colonizado se procedió a utilizarlo en los estudios objeto del presente trabajo para determinar el efecto de los periodos de parada (ausencia de alimentación) sobre la biopelícula.



Figura 1. Esquema del reactor de lecho fijo usado en el proceso de colonización del soporte



Figura 2. Equipo experimental usado en la simulación de la parada estacional y en la determinación de la actividad metanogénica: 1. Reactor de ensayo. 2. Toma de muestra. 3. Cámara de seguridad. 4. Gasómetro. 5. Probeta. 6. Salida de biogas. 7. Baño termostático

Para abordar el estudio se utilizó un reactor (*Figura 2*) sin agitación (para evitar el desprendimiento de la biomasa del soporte por fenómenos de cizalla) con un volumen total de 250 ml (volumen útil de 150 ml), que se introducía en un baño termostático para mantenerlo a 55°C. El sistema contaba con un dispositivo para la medida del metano generado por desplazamiento de una disolución de KOH (2,5 %).

En el reactor se introdujeron un total de 23 ml de soporte colonizado, soporte saturado en agua medido en una probeta. El proceso de colonización se realizó mediante la utilización de una modificación del método de colonización descrito por Pérez y colaboradores (1997) en el reactor descrito en la *Figura 1*. Las unidades de soporte tenían una concentración inicial de biomasa de 0.0656  $gSV_{adh}/gRll$  [gramos de sólidos volátiles adheridos al soporte por gramo de relleno (*Rll*)]. La duración total del ensayo fue de 75 días.

El soporte utilizado (*Tabla 1*) es un soporte poroso comercial, SIRAN<sup>TM</sup>, en forma de perlas de vidrio sinterizado con un diámetro medio de 1.5-2 mm. Este soporte utilizado debido a sus características geométricas y de porosidad resulta muy adecuado para su empleo en reactores de lecho fluidizado.

Para el seguimiento de la evolución de la biomasa en el sistema, a lo largo del tiempo de operación, se utilizó la

Características del SIRAN				
Densidad real (g/l)	1832			
Densidad aparente (g/l)	570			
Porosidad (%)	55-60			
Diámetro de poro (mm)	60-300			
Diámetro partículas (mm)	1.5-2			
Área superficial (m <sup>2</sup> /l)	87			

Tabla 1. Características del soporte utilizado

 $(gSV_{susp} / l)$  de la porción líquida del ensayo, siguiendo los métodos normalizados (APHA, 1989). En cada determinación se retiró la totalidad del contenido del líquido presente en el medio de ensayo (aproximadamente 150 ml) y se sustituía con un volumen equivalente de agua destilada, atemperada a 55°C, inertizándose a continuación con una corriente de  $N_2$  durante 5'. El agua destilada atemperada contenía una disolución similar a la descrita en la *Tabla 2* para el caso de los test metanogénicos para evitar los choques osmóticos en la microbiota del ensayo.

Además, periódicamente se realizó la medida del volumen de metano acumulado generado en el ensayo.

Para el control de labiomasa adherida al soporte se efectuó, al comienzo y al final del ensayo, la medida de los sólidos volátiles adheridos por calcinación del soporte colonizado a 550°C, previa deshidratación del mismo a 110°C durante 24 h, según método descrito por Pérez (1997).

Asimismo se efectuó, también al comienzo y al final del ensayo, la medida de la actividad, tanto metanogénica como acidogénica, de la biomasa inmovilizada. Para la medida de ambas actividades se ha utilizado una modificación del método descrito por García-Morales (1994, 1996a) con el fin de adaptar este último a las características peculiares de la medida con biomasa adherida sobre soporte. El dispositivo experimental para la medida de la actividad es similar al descrito en la *Figura 2* pero con un volumen total del reactor de ensayo de 126 ml (100 ml útiles). La medida de la actividad se realizó como se describe a continuación:

La biomasa para la realización de los test de actividad  $(X_0)$  se obtiene mediante la medida directa de un volumen predefinido de soporte colonizado en una probeta y adición del mismo al reactor de ensayo. La concentración de biomasa en el ensayo se realizó de la misma forma que se indicaba anteriormente, expresándose en forma de gramos de biomasa adherida en forma de sólidos volátiles por gramo de relleno ( $gSV_{adh}/gRll$ ). Como medio para la realización de los ensayos se utilizó el que se presenta en la *Tabla 2*; tras la adición se procedía a sellar el reactor. En este momento se procedía a inertizar la fase gaseosa del vial mediante corriente de nitró-

	Test acidogénico	Test metanogénico*
Na,S • 9 H <sub>2</sub> O	0.1	0.1
Extracto de evadura	0.2	0.2
NaHCO <sub>3</sub>	1	-
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	-	1.0
KH <sub>2</sub> P0 <sub>4</sub>	-	2.5
NH <sub>4</sub> Cl	-	1.0
MgCI <sub>2</sub>	_	0.1

\* El medio debe neutralizarse antes de sellar el reactor de ensayo



#### **PARADAS ESTACIONALES EN REACTORES ANAEROBIOS**

geno a 0.5 bar durante 5 minutos para desplazar el oxígeno residual. El reactor de ensayo, a continuación, se coloca en un baño termostático a 55°C (óptimo del rango termofilico) con agitación durante una hora; en el caso metanogénico se procede en este momento a la conexión del gasómetro. A continuación se le añade la disolución que contiene la fuente de carbono adecuada: glucosa o acetato, en función de que se tratara de tests de actividad acidogénica o test metanogénicos, respectivamente.

Para la medida de la actividad acidogénica se realizó el seguimiento de la cinética de consumo de sustrato (giucosa), evaluando la cantidad de azúcares reductores en las muestras mediante el método del ácido dinitrosalicílico (Lorenz, 1959). Para el caso de la actividad metanogénica se utilizó la producción de metano como parámetro de control.

La actividad se define como la relación entre la máxima velocidad de consumo de un sustrato (glucosa) o la máxima velocidad de generación de un producto (metano) y la concentración de biomasa adherida en  $gSV_{adh}/l$ . Las unidades utilizadas son, por tanto,  $gGlucosa/gSV_{adh}/d$ , para el caso acidogénico, y  $gDQO_{CH4}/gSV_{adh}/d$  para el metanogénico.

El cálculo de la actividad máxima, metanogénica o acidogénica, se realizó por ajuste de los resultados experimentales de consumo de sustrato, glucosa en el caso acidogénico, o de producción de metano utilizando acetato como sustrato, en el caso metanogénico, considerando el modelo de Monod (1949) (*Ecuación 1*) para la cinética de los microorganismos. Este modelo ha sido ampliamente utilizado en la bibliografía para el cálculo de la actividad (Field *et al.*, 1988; Soto, *et al.*, 1993). Para el caso de una cinética de crecimiento de biomasa se tiene:

$$\mu = \mu_{max} \cdot \frac{S}{K_s + S} = A_X \tag{1}$$

donde  $\mu$ , velocidad específica de crecimiento microbiano, coincide con  $A_X$ , el parámetro  $K_s$  se denomina constante de semisaturación por sustrato y coincide con el valor de sustrato para el que m tiene una valor igual a la mitad del máximo ( $m_{max}$ ). El valor de  $K_s$  es representativo de la afinidad del microorganismo por el sustrato; de forma que cuanto mayor es  $K_s$  menor es la afinidad y viceversa. A partir de esta expresión de  $A_x$  y teniendo en cuenta la Ecuación 2, se puede expresar  $A_s$  y  $A_{Smax}$  como:

$$A_{s} = \frac{A_{X}}{Y_{X/S}} = \frac{\mu_{max}}{Y_{X/S}} \cdot \frac{S}{K_{S}+S}$$
(2)

Como se deduce de la *Ecuación 3*, el valor de la máxima actividad de consumo de sustrato,  $A_{smax}$ , se obtiene cuando la concentración de sustrato presente en el medio es muy elevada frente al valor de la constante  $K_S$ ,  $S >> K_S$ .

$$A_{S max} = \frac{\mu_{max}}{Y_{X/S}} \tag{3}$$

Los resultados experimentales que se obtienen en los test de actividad corresponden a valores de la concentración de sustrato presente en el medio a diferentes tiempos de incubación. Por tanto, para determinar la actividad se procederá al calculo de los valores de los parámetros cinéticos del modelo a partir de éstos. Teniendo en cuenta la definición de  $A_s$  (velocidad específica de consumo de sustrato) y su relación con  $-r_s$ , podrá obtenerse la expresión representativa de la evolución de la concentración de sustrato en función de  $A_{Smax}$ .

$$\left(-\frac{dS}{dt}\right) = \frac{\mu_{max}}{Y_{X/S}} \cdot \frac{S}{K_S + S} \cdot X_{V_0} \tag{4}$$

$$(A_s) = \frac{1}{X_V} \cdot \left(-\frac{dS}{dt}\right) \tag{5}$$

La integración de la anterior expresión conduce a la evolución de la concentración de sustrato con el tiempo. Sin embargo, la principal dificultad de este procedimiento estriba en que la concentración de microorganismos activos  $X_V$  suele ser una función dependiente del tiempo y, en cultivos anaerobios, difícilmente calculable. Una posibilidad para simplificar dicho cálculo es utilizar inóculos con concentraciones muy elevadas en microorganismos activos,  $X_{Vo}$ . Así, de esta forma se puede considerar que la concentración de microorganismos inoculados es mucho mayor que la que podría formarse a partir de la utilización de todo el sustrato alimentado en el bioensayo, y  $X_v$  podría considerarse aproximadamente igual a  $X_{V0}$  y constante durante todo el proceso de medida de la actividad. Introduciendo esta aproximación obtenemos:

$$(6)$$

$$\left(-\frac{dS}{dt}\right) \approx \frac{\mu_{max}}{Y_{X/S}} \cdot \frac{S}{K_S + S} \cdot X_{V_{\theta}}$$

Aún es posible una nueva simplificación a la *Ecuación 6* que consiste en utilizar únicamente los valores de la concentración de sustrato *S*, que sean suficientemente altos como para que se cumpla la siguiente condición:

$$S \gg K_{S} \quad \frac{S}{K_{S} + S} \approx 1$$

$$\left(-\frac{dS}{dt}\right) \approx A_{Smax} \cdot X_{V_{0}}$$
(7)

En estos casos, el valor de la actividad máxima del cultivo puede calcularse directamente determinando el valor de la pendiente del tramo recto inicial de la evolución de la concentración de sustrato con el tiempo y dividiéndolo entre el valor de la concentración inicial de microorganismos inoculados (Field *et al.*, 1988; Soto *et al.*, 1993).

Las condiciones experimentales seleccionadas ( $S_0 \ y \ X_0$ ) permiten, en la mayoría de los casos, la utilización de la simplificación de orden cero del modelo, por lo que un simple ajuste lineal proporcionaría la medida de la actividad máxima (Soto, *et al*, 1993; García-Morales, 1994).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la producción de metano (*Figura 3a*) se pueden diferenciar claramente dos fases. Una fase inicial (zona I), de corta duración, con una elevada velocidad de producción de metano en la que, aproximadamente, en un periodo de 5 días se generan unos 100 ml de metano (este volumen corresponde, prácticamente, a un tercio del volumen total de metano generado) y, a continuación, una segunda fase (zona II), que se prolonga hasta el final del ensayo, con una velocidad de producción de metano mucho menor.

Una posible explicación de las distintas fases observadas estaría basada en la procedencia del sustrato a partir del cual se genera el metano. Así, en el periodo inicial de máxima producción (zona I), el metano se genera como consecuencia del consumo del sustrato residual que había quedado adsorbido sobre la superficie del soporte colonizado al ser extraído del reactor de colonización. Un ajuste lineal de los resultados del metano acumulado presenta una pendiente, velocidad de producción de metano, de  $25.37 \ mlCH_4/d \ (r^2=0.99)$ .

Sin embargo, en la segunda fase observada (zona II), la producción de metano registrada presenta un valor de la pendiente mucho menor, 2.50  $mlCH_4/d$  ( $r^2=0,99$ ). Esta producción menor de metano puede tener su origen, en cambio, en el uso como fuente de sustrato de los compuestos celulares de almacenamiento mediante la respiración endógena y en los liberados en la lisis celular de la biomasa.

La velocidad de desprendimiento,  $V_{des}$  ( $gSV_{susp}/l/d$ ) (*Figura 3c*), es calculada como el cociente del incremento de la biomasa en suspensión (*Figura 3b*) en el intervalo, y el intervalo de tiempo transcurrido entre las medidas. Puesto que el reactor no se alimentó durante el experimento se puede admitir que la velocidad de crecimiento de los microorganismos es despreciable y, consecuentemente, el valor obtenido se corresponderá, principalmente, al desprendimiento de los microorganismos adheridos al soporte.

Las dos fases observadas en la evolución del metano generado (I y II) se reproducen en la velocidad de desprendimiento de la biomasa. En la *Figura 3c* se observa que el valor máximo de velocidad de desprendimiento de la biomasa adherida 53  $mgSV_{susp}$  /l/d coincide con la zona de máxima actividad y, por tanto, de máxima producción de metano (fase 1). A continuación, la figura muestra una segunda fase en la que se produce la estabilización de la velocidad de desprendimiento que se mantiene en el intervalo 11 ± 1  $mgSV_{susp}/l/d$ .

Todo lo anterior parece indicar que el desprendimiento de los microorganismos de la biopelícula puede admitirse que es función del grado de actividad (producción de metano en el caso metanogénico) en reactores activos, confirmando las hipótesis de diversos autores (Rittmann, 1989, Stewart, 1993) que proponen modelos de desprendimiento basados en parámetros relacionados con la actividad y crecimiento de la biopelícula. Los valores de desprendimiento en la fase menos activa pueden achacarse fundamentalmente al equilibrio adhesión/desprendimiento de los microorganismos.

Los resultados obtenidos parecen corroborar las hipótesis de algunos autores (Howell y Atkinson, 1976; Jamsen y Kristensen, 1980; Harremoës, *et al.*, 1980; Stewart, 1993) que indican que el desprendimiento de la biomasa de los soportes colonizados, lo que se denomina fenómeno de muda o *sloughing*, se debe, fundamentalmente, a la ruptura de la biopelícula por la producción gaseosa en el seno de la misma. Por lo tanto, se puede deducir que, en este tipo de sistemas estáticos, el desprendimiento de la biopelícula viene provocado mayoritariamente por la actividad inherente al desarrollo de la microbiota presente en la misma. Este aspecto ha sido observado por García-Morales (1997) en otros estudios.

A partir de los resultados representados en el apartado b de la *Figura 3* se puede estimar la cantidad de biomasa desprendida del soporte a lo largo del tiempo de ensayo. Partiendo del volumen de soporte colonizado añadido inicialmente, 23 ml, y suponiendo una densidad volumétrica similar a la del soporte sin colonizar (1832 *gRll/LRll*), se tienen 42.14 g de soporte. Asimismo, se

#### PARADAS ESTACIONALES EN REACTORES ANAEROBIOS

conoce que la medida inicial de biomasa por gramo de relleno es de 0.0656  $gSV_{adh}/gRll$ , de donde se obtiene una cantidad de 18.43  $gSV_{adh}/l$ . Al final del ensayo, después de 75 días, se efectuó nuevamente la medida de la biomasa adherida al soporte, obteniéndose un valor de 0.0530  $gSV_{adh}/gRll$ , o referido al volumen del ensayo, 14.89  $gSV_{adh}/l$ . Los resultados muestran un descenso en la concentración de la biomasa adherida al soporte de 3.54  $gSV_{adh}/l$ . Efectuando el sumatorio de la cantidad de biomasa en suspensión retirada se obtiene un valor de 1.08  $gSV_{susp}/l$ . En consecuencia, durante el periodo de ensayo se produce una reducción de la biomasa adherida en el soporte de 2.46  $gSV_{adh}/l$ , lo que supone un 13.35% de la concentración inicial de la biomasa adherida en el sistema.

Esta diferencia entre la biomasa en suspensión extraída del sistema y la disminución experimentada por la biomasa adherida al soporte corresponde a la pérdida neta por respiración endógena y/o lisis celular debido a la ausencia de un sustrato para su mantenimiento. En cualquier caso, el mantenimiento celular en estas condiciones de carencia de sustrato produce la generación de metano observado en esta segunda fase que, lógicamente, es mucho menor que en la fase anterior.



**Figura 3.** Evolución del metano acumulado (a) de la biomasa en suspensión (mgSV  $_{susp}/l$ ) (b) y la velocidad de desprendimiento  $V_{des}$  (mgSV  $_{susp}/l/d$ ) (c) durante la parada estacional simulada

	$A_A(gGluc/gSV_{adh}\!/d)$	$r^2 = A_M$ $(g^D OOCH4'g SV_{eff}/d)$		r <sup>2</sup>	SVadh
			(8 ( 0 0 0 0 8 - 1 auir - 2)		(g/gRll)
Inicial	8.11	0.98	1.10	0.99	0.0656
Final	3.33	0.98	aprox.0	_	0.0530

**Tabla 2.** Valores de la actividad máxima, tanto acidogénica como metanogénica, al principio y final del tiempo de ensayo, junto con los valores de la biomasa adherida al soporte  $(gSV_{adh}/gRll)$ 

Los resultados de actividad obtenidos (*Tabla 2*) indican un acusado descenso de los valores de la actividad máxima, tanto acidogénica como metanogénica. No obstante, este descenso de la actividad máxima es mucho más acusado en el caso metanogénico que varía desde un valor inicial de  $1.10 \ gDQO_{a}/gSV_{b}/d$ , hasta anularse casi completamente, al finalizar el ensayo, con un valor residual despreciable.

Las *Figuras 4* y 5 muestran la evolución de la concentración de glucosa con el tiempo, en los ensayos de actividad acidogénica, y la evolución del metano acumulado generado en el ensayo para la medida inicial de la actividad metanogénica, respectivamente.

La actividad máxima de la microbiota acidogénica, aunque, registra también un acusado descenso, no llega a anularse sufriendo una disminución del 60% respecto a su valor inicial.

Los resultados corroboran la mayor sensibilidad, descrita por muchos autores, de la microbiota metanogénica ante condiciones adversas (Oven, *et al.*, 1 979; Sanjoy, *et al*, 1995; García-Morales, et al., 1996b) y explica los problemas de desequilibrio existentes en los periodos iniciales de rearranque de los reactores anaerobios después de paradas prolongadas (Pérez, 1995) como consecuencia de la descompensación de las actividades de las poblaciones bacterianas implicadas en el proceso.

## **CONCLUSIONES**

El desprendimiento de la biomasa adherida al soporte se produce principalmente por fenómenos relacionados con la propia actividad de la biopelícula y, fundamentalmente, con la generación de metano en el seno de la



**Figura 4.** Evolución de la concentración de glucosa (gGlucosa/l) en los ensayos para la determinación de la actividad acidogénica máxima  $(A_A)$  al comienzo y final del ensayo

misma, lo que está de acuerdo con los estudios de otros autores que indican que el desprendimiento de la biopelícula se debe, fundamentalmente, a los fenómenos de muda o sloughing por generación gaseosa en el seno de ésta.

Durante el periodo de carencia de sustrato se produce un mantenimiento de la población por metabolismo endógeno, que provoca una reducción de la concentración de microorganismos en la biopelícula. Los resultados obtenidos indican una eliminación del 13.35% de la concentración inicial de microorganismos en un periodo de 75 días.

Los resultados de la medida de actividad de los principales grupos bacterianos implicados en el proceso muestran que a lo largo del periodo sin alimentación se produce una pérdida casi total de la actividad metanogénica, mientras que la actividad acidogénica no se anula (60% del valor inicial a los 75 días). En consecuencia, los anteriores resultados parecen indicar que la microbiota acidogénica es capaz de mantener un cierto grado de actividad a pesar de una disminución de microorganismos en la biopelícula. Este fenómeno puede deberse bien a la utilización de compuestos internos de almacenamiento celular (respiración endógena) o a la utilización de compuestos celulares excretados al medio en la lisis de otras células.

Finalmente, la descompensación de las actividades de ambas poblaciones, como consecuencia de la carencia de sustrato, permite explicar el desequilibrio inicial que se produce en el rearranque de los digestores anaerobios para el tratamiento de vertidos de industrias alimentarias de carácter estacional.



**Figura 5.** Evolución del metano acumulado (ml CH<sub>4</sub> (en)) para la determinación de la actividad metanogénica máxima ( $A_M$ ) al comienzo del ensayo.

## **AGRADECIMIENTOS**

El presente trabajo ha sido financiado por la Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología (CICYT), Proyecto BIO 92-0859. José Luis García Morales ha sido Becario de Investigación del P.F.P.I. del Ministerio de Educación y Ciencia.

### LISTA DE SIMBOLOS

- $A_A$  actividad acidogénica máxima de la biomasa adherida (gGhucosa/gSV adh/d)
- $A_M$  actividad metanogénica máxima de la biomasa adherida ( $gDQO_{CH4}/gSV_{adh}/d$ )
- $A_S$  velocidad específica de consumo de sustrato
- Asmax velocidad específica máxima de consumo de sustrato
- $A_X$  velocidad específica de crecimiento de microorganismos
- $X_{\nu}$  concentración de microorganismos viables o activos
- $X_{\nu o}$  concentración inicial de microorganismos viables o activos
- DQO demanda química de oxígeno
- $\mu$  velocidad específica de crecimiento de los microorganismos
- $\mu_{max}$  velocidad específica máxima de crecimiento de los microorganismos
- $K_s$  constante de semisaturación por sustrato y coincide con el valor de sustrato para el que m tiene un valor igual a la mitad del máximo ( $\mu_{max}$ )
- *Rll* abreviatura de relleno
- $r_s$  velocidad de consumo de sustrato
- S sustrato
- $S_0$  concentración inicial de sustrato
- *SV<sub>adh</sub>* sólidos volátiles adheridos
- SV<sub>susp</sub> sólidos volátiles en suspensión
- $X_0$  concentración inicial de biomasa adherida ( $gSV_{adh}/I$ )
- $V_{des}$  Velocidad de desprendimiento ( $mgSV_{susp}/l/d$ )

## REFERENCIAS

- APHA, AWWA, WPCF (1989). <u>Métodos normalizados.</u> <u>para el análisis de aguas potables y residuales</u>, Ed: Díaz de Santos, S.A. Edición en español (1990).
- Fiestas, J.A.; León, R.; García, A.J.; Fernández, J.R.; Saínz, A. (1981). Aplicación de los procesos anaerobios en la depuración de las aguas residuales industriales de alta carga orgánica. <u>Ingeniería Química.</u> Junio. 85-89.

- García Morales, J.L. (1994). <u>Revisión y puesta a punto</u> <u>de ensayos para la determinación de la actividad</u> <u>acidogénica y metanogénica en reactores anae-</u> <u>robios termofilieos</u>, Tesis de Licenciatura. Universidad de Cádiz.
- García-Morales J.L., Nebot E., Cantoral J.M., Romero, L.I., Sales D. (1996a). *Methanogenic and acidogenic activity test in an anaerobic thermophilic reactor*. <u>Biotechnol. Tech.</u> 10(4), 249-252.
- García-Morales J.L., Nebot E., Cantoral J.M., Romero, L.I., Sales D. (1996b). *Efecto inhibidor del alquilbenceno sulfonato lineal (LAS). Su evaluación en reactores anaerobios termofílicos.* Tecnología del Agua. 152, 22-28.
- García Morales, J.L. (1997) <u>Dinámica de colonización de</u> la biopelícula bacteriana en reactores anaerobios termofílicos. Tesis Doctoral. Universidad de Cádiz.
- Harremoës P.J., La Cour Jansen, Kristensen G.H. (1980) <u>Prog. Wat. Tech.</u> 12,253.
- Howell J.A., Atkinson, B. (1976). Sloughing of microbial film in trikling filters. <u>Wat. Res.</u>, 10, 307-315.
- Jansen J., Kristensen G. H., (1980). <u>Fixed Film Kinetics:</u> <u>Denitrification in Fixed Films</u>, Report, 80-59, Departament of Sanitary Engineering, Technical University of Denmark.
- Lorenz M.G. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. <u>Annalitical Chemistry.</u> 31(3), 426-428.
- Monod J. (1949). *The growth of bacterial cultures*. <u>Annual Reviews of Microbiology</u> 3, 371-94.
- Oven W.F., Stuckey D.C., Healy J.B., Young L.Y., Mc-Carty P.L. (1979). *Bioassay for Monitoring Biochemical Methane Potential and Anaerobic Toxicity*. <u>Water Res.</u> 13, 485-492.
- Paris, J.M. (1992). *Tratamiento de aguas residuales por digestión anaerobia*. <u>Tecnología del agua</u>. Febrero. 92: 35-.
- Pérez, M. (1995). <u>Utilización de reactores avanzados en</u> la depuración anaerobia de vertidos de alta carga orgánica. Tesis Doctoral. Universidad de Cádiz
- Pérez M., Romero L. I., Nebot E., Sales D. (1997). Colonization of a porous sintered-glass support in anaerobic thermophilic bioreactors. <u>Bioresource Technology</u> 59, 117-183.
- Romero, L.I.; Sales, D.; Martínez de la Ossa, E. (1990) *Three Microbiological Processes to Depurate Wine-Distillery Wastewaters*. <u>Kem. Ind.</u> 39(9):409-414.
- Rittmann, B.E. (1989). *Detachment from Biofilms en* <u>Structure and Function of Biofilms</u>. Edts. W.G. Characklis y P.A. Wilderer. 49-58. Ed. John Wiley & Sons. Ltd.

- Sanjoy K. B., Richard, L.M., Vikas U., Mohammad R.H. (1995). Toxic effects of Cadmium on methanogenic systems. <u>Wat. Res.</u> 29, 2339-2345
- Soto M., Méndez R., Lema J.M.(1991). *Biodegradability* and toxicity in the anaerobic treatment of fish canning wastewaters. <u>Environmental Technology</u>. 12:669-667.
- Soto M., Méndez R., Lema J.M. (1993). *Methanogenic* and Non-Methanogenic Activity Test. Theoretical Basis and Experimental Set Up, <u>Water Research.</u> 27(8). 1361-1376.
- Stewart, P.S. (1993). A model of Biofilm Detachment. <u>Bio-</u> technology and Bioengineering. 41(1) 111-117.