



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN INGENIERÍA

INSTITUTO DE INGENIERÍA

**APROVECHAMIENTO DE LEVADURAS PARA LA
PRODUCCIÓN DE METANO: SUSTRATO ÚNICO Y
EN CODIGESTIÓN CON LODOS ACTIVADOS.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN INGENIERÍA

INGENIERÍA AMBIENTAL -AGUA

P R E S E N T A :

ING. BALMORE HERNÁNDEZ MARTÍNEZ

TUTOR:

DR. ADALBERTO NOYOLA ROBLES

DEDICATORIA

A mi Madre: Juana Martínez González por todo su cariño, confianza y apoyo. GRACIAS a ella he podido alcanzar cada una de las metas que me he propuesto.

A mi Padre Balmore Hernández Juárez, por haberme brindado su cariño, confianza y amistad a lo largo de su vida. GRACIAS por haberme enseñado a no darme por vencido jamás.

A mis hermanos Gibrán y Yoadir por su amistad y cariño. GRACIAS por brindarme su apoyo en todo momento.

A mi mujer Sandra Gasga Ortiz por el amor y confianza que me brinda. GRACIAS por creer en mí

A mi familia por el cariño y apoyo que siempre han brindado GRACIAS

A mi amigos Albar, Israel, Homero, Evelyn, Zen, por su apoyo y amistad.



AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México por abrirme sus puertas para mi formación

Al Instituto de Ingeniería por permitirme realizar mi trabajo de tesis en sus instalaciones

*A mi tutor Dr. Adalberto Noyola Robles
Y los miembros de mi jurado:*

*Dr. Víctor M. Luna Pabello
Dra. Gabriela E. Moeller Chávez
Dr. Simón González Martínez
Dr. Pedro Martínez Pereda*

*Por su tiempo de dedicación y aportaciones
en el presente trabajo*

*A mis amigos Cesar, Erika, Erik, Edsón,
Evelyn, Margarita, Miguel, Miriam,
Roberto, Sandra, Toño, Zen, por compartir
conmigo esta etapa y brindarme su amistad*

*A toda la gente que me apoyo y ayudo
durante el desarrollo de este trabajo. En
especial a la gente del Instituto de
Ingeniería.*



CONTENIDO

RESUMEN	a
ÍNDICE	i
ÍNDICE DE FIGURAS	iii
ÍNDICE DE TABLAS	v
1. INTRODUCCIÓN	1
2 MARCO TEORICO	3
2.1 BIOMASA YBIOGÁS	3
2.2. DIGESTIÓN ANAEROBIA	5
2.2.1. Bioquímica de la digestión anaerobia	6
2.2.2 Factores que Inciden en la Digestión Anaerobia	7
2.2.2.1. <i>Temperatura</i>	7
2.2.2.2. <i>pH</i>	7
2.2.2.3. <i>Ácidos grasos volátiles</i>	8
2.2.2.4. <i>Alcalinidad</i>	8
2.2.2.5. <i>Relación alfa (α)</i>	8
2.2.3. Co digestión anerobia	9
2.2.4. Digestores de lodos	10
2.2.4.1. <i>Digestores de baja tasa</i>	10
2.2.4.2. <i>Digestores de alta tasa</i>	10
2.2.4.3. <i>Diseño de digestores anaerobios</i>	11
2.3. LA LEVADURA (<i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i>)	14
2.3.1. Autólisis de levaduras	16
2.3.1.1. <i>Moléculas liberadas durante la autólisis</i>	16
2.3.1.2. <i>Autólisis: consideraciones generales</i>	18



2.3.2. Levadura como sustrato para digestión anaerobia	19
3.OBJETIVO GENERAL	21
3.1 OBJETIVOS PARTICULARES	21
3.2 METAS	21
4. METODOLOGÍA	22
4.1 ARREGLO EXPERIMENTAL	22
4.2 ARRANQUE Y OPERACIÓN DE LOS DIGESTORES ANAEROBIOS MESOFÍLICOS	25
4.3 TÉCNICAS ANALÍTICAS	27
4.3.1. Técnicas analíticas no normalizadas	27
5. RESULTADOS	30
5.1. PRUEBAS INICIALES	30
5.2. ARRANQUE DE DIGESTORES	29
5.3 OPERACIÓN DE LOS DIGESTORES ANAEROBIOS	33
5.3.1 Carga orgánica aplicada al sistema, relación alfa (α) y conductividad	33
5.3.2 Alcalinidad Total y conductividad eléctrica	39
5.3.3. pH	41
5.3.4. Producción y composición del biogás	41
5.3.5. Sólidos totales de los sistemas	43
5.3.6. Porcentaje de Remoción de Sólidos Volátiles (%RSV)	45
5.3.7. Ácidos Grasos Volátiles (AGV's)	46



5.3.8. Sulfuro de Hidrógeno (H ₂ S) y Nitrógeno Amoniacal (N-NH ₃)	47
6 CONCLUSIONES	51
7. BIBLIOGRAFÍA	53
ANEXO	
<i>Técnicas analíticas utilizadas</i>	I
1. NITRÓGENO AMONIACAL	II
2. DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO (DQO)	V
3. ALCALINIDAD	X
4. DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS	XI
5. ÁCIDOS GRASOS VOLÁTILES	XV

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1.	Diagrama del flujo de energía en la digestión anaerobia de la materia orgánica particulada a metano (Gujer & Zehnder, 1983).
Figura 2.2.	Levaduras <i>Saccharomyces cerevisiae</i> . Microscopia de contraste de fases x580 aumentos. (González, et al., 2006).
Figura 2.3.	Levaduras <i>Saccharomyces cerevisiae</i> . Microscopia electrónica de barrido x7040 aumentos. (González, et al., 2006).
Figura 2.4.	Compuestos liberados al mosto durante la autólisis de las levaduras (Mathews, et al., 2002).
Figura 4.1	Digestor anaerobio mesofílico utilizado (dos unidades)
Figura 4.2.	Medidor de gas húmedo utilizado (dos unidades).



- Figura 4.3. Controlador de velocidad de la bomba para la recirculación de lodos utilizado (dos unidades).
- Figura 4.4. Arreglo de bomba peristáltica y motor para recirculación de los lodos utilizado (dos unidades).
- Figura 4.5. Motor eléctrico y controlador de velocidad utilizado para la agitación del digestor (dos unidades).
- Figura 4.6. Levaduras *saccharomyces cerevisiae* no autolizada.
- Figura 4.7. Levaduras *saccharomyces cerevisiae* autolizada.
- Figura 4.8. Bomba portátil para determinar la concentración de H_2S .
- Figura 5.1. Carga orgánica de los digestores L y L-L. Los puntos con valor de cero de carga orgánica indican que en esos días no se alimentó el digestor por sobrecarga.
- Figura 5.2. Relación α de los Digestores L y L-L.
- Figura 5.3. Comparativo de la carga orgánica (C.O). vs alfa (α) digestor L
- Figura 5.4. Comparativo de la carga orgánica (C.O). vs alfa (α) digestor L-L.
- Figura 5.5. Evolución de la alcalinidad total en el lodo digerido.
- Figura 5.6. Evolución de la conductividad eléctrica después de realizada la dilución en los digestores y en su alimentación. Las entradas de ambos digestores ya eran diluidas a partir del día 86.
- Figura 5.7. Evolución del pH.
- Figura 5.8. Producción de biogás a lo largo del estudio.
- Figura 5.9. Porcentaje de metano en el biogás.
- Figura 5.10. Sólidos totales en sus tres formas para el digestor L.
- Figura 5.11. Sólidos totales en sus tres formas para el digestor L-L
- Figura 5.12. Porcentaje de remoción de sólidos totales volátiles (%RSV).



Figura 5.13. Valores de AGV's durante la operación del sistema. Digestor L.

Figura 5.14. Valores de AGV's durante la operación del sistema. Digestor L-L.

Figura 5.15. Concentración de nitrógeno amoniacal en los lodos digeridos.



RESUMEN

Un residuo que genera la industria cervecera y vitivinícola es la levadura de cerveza, el cual representa un alto costo en su tratamiento y deposición final, debido a que no siempre es retirada por eventuales interesados en su reutilización. Una de las alternativas para el tratamiento de las levaduras es la digestión anaerobia, la cual reduce su masa, realiza su estabilización y reduce el costo de tratamiento ya que generaría biogás que puede ser utilizado como energía.

El objetivo de este trabajo fue determinar la capacidad de generación de biogás (metano) en un digester anaerobio utilizando como sustratos la levadura cruda y en una combinación con lodos (primario y secundario) en un digester anaerobio, así como determinar las condiciones de operación y eventuales inhibidores para el mejor tratamiento de este residuo orgánico.

Como primer paso se realizaron pruebas de demanda química de oxígeno soluble (DQOs) a la levadura así como al lodo (primario y secundario) para determinar su carga orgánica y el volumen que sería utilizado en el digester.

Se pusieron en operación simultáneamente dos digestores anaerobios de alta tasa a temperatura mesofílica (35 °C). Uno de los cuales fue alimentado con levadura cruda y el otro con una combinación de levadura y lodos (primario y secundario). La levadura fue sometida a un tratamiento previo conocido como autólisis, con el fin de facilitar su degradación.

Los digestores fueron operados a lo largo de 130 días después de su estabilización, tomando como día 1 cuando se alimentó por primera vez ambos digestores con su sustrato respectivo. La carga orgánica inicial en ambos digestores fue de 0.8 gSTV/Ld L-Legando hasta una carga de 3.5 g STV/Ld aproximadamente.

Con base en los resultados obtenidos se encontró que existía inhibición en los digestores debido a la alta presencia de sales y elevada conductividad de la levadura (55 mS/cm). Para mejorar el proceso se estableció un volumen constante de alimentación para ambos digestores con objeto de mantener un Tiempo de Retención Hidráulica (TRH) constante (12.5 días), independiente al aumento de carga orgánica. Con estas modificaciones se obtuvo una mayor estabilidad en los digestores al reducirse las sales y la conductividad eléctrica. La producción de biogás aumento a 13 ± 2.6 litros en el digester L y 12 ± 2 litros en el digester L-L (condiciones normales de presión y temperatura), con un porcentaje de metano de 69 ± 6 y 69 ± 4 respectivamente. El porcentaje de remoción de sólidos volátiles (%RSV) fue de $58 \pm 9\%$ en el digester L y de $69 \pm 4\%$ en el digester L-L.

En una operación a escala real, la levadura puede ser diluida con lodo de purga primario y secundario o con efluente de la planta de tratamiento, inclusive con



agua residual cruda. Como una primera recomendación, la conductividad eléctrica debe estar por debajo de 15 mS/cm (aproximadamente 8 g/L de sólidos disueltos fijos). Este hecho podría requerir un cierto aporte de agua de calidad potable, con menor concentración de sales que las corrientes de agua residual cruda o tratada. Además la alimentación al digesor no debe exceder de 3.2 g STV/Ld aproximadamente y mantener TRH cortos (10 a 15 días) para garantizar una adecuada operación



1. INTRODUCCIÓN

Cuando en 1973 se produjeron eventos importantes en el mercado del petróleo en el mundo, que se manifestaron en los años posteriores en un encarecimiento notable de esta fuente de energía no renovable, resurgieron las preocupaciones sobre el suministro y precio futuro de la energía. Además en la década de los ochenta, aparecen las primeras evidencias de un aumento en las concentraciones de gases que provocan el efecto de invernadero en la atmósfera terrestre, las cuales han sido atribuidas, en gran medida, a la quema de combustibles fósiles. Esto trajo como resultado una convocatoria mundial en años recientes para buscar alternativas de reducción de las concentraciones actuales de estos gases, lo que L-Levó a un replanteamiento de la importancia que pueden tener las energías renovables para crear sistemas sustentables.

Como resultado de esta convocatoria, muchos países, establecieron compromisos para limitar y reducir emisiones de gases de efecto de invernadero, renovando así su interés en aplicar políticas de promoción de las energías renovables.

Por su parte, los grandes países consumidores, enfrentados a los altos costos del petróleo y a una dependencia casi total de este energético, han tenido que modificar costumbres y buscar opciones para reducir su dependencia de fuentes no renovables **(Recio G., 2004)**.

Entre las opciones para reducir la dependencia del petróleo como principal energético, se reconsideró el mejor aprovechamiento de la energía solar y sus diversas manifestaciones secundarias tales como la energía eólica, hidráulica y las diversas formas de biomasa; es decir, las L-Lamadas energías renovables.

Hoy en día, más de un cuarto de siglo después de la L-Lamada crisis del petróleo, muchas de las tecnologías de aprovechamiento de energías renovables han madurado y evolucionado, aumentando su confiabilidad y mejorando su rentabilidad para muchas aplicaciones **(Tornel, 2006)**.

La biomasa es un posible candidato a ser una fuente de energía alterna, entendiendo por biomasa al conjunto de materia orgánica renovable de origen animal o vegetal o proveniente de su transformación y no utilizable como finalidad alimentaría o industrial. **(Martínez, 2005)**.

La industria alimentaría genera una gran cantidad de residuos y subproductos, que pueden ser usados como fuentes de energía, los provenientes de todo tipo de carnes, (avícola, vacuna, porcina, etc.) y vegetales (cáscaras, pupas etc.), cuyo tratamiento como desechos representan un costo considerable para la industria. Estos residuos son sólidos y líquidos con un alto contenido de azúcares y carbohidratos, los cuales pueden ser convertidos en combustibles gaseosos.



La levadura de cerveza es un subproducto de la industria alimentaria proveniente de la fermentación del mosto en vino, cebada en cerveza y carbohidratos en dióxido de carbono para hacer pan.

La digestión anaeróbica se ha utilizado hasta ahora por más de 30 años para reducir el contenido orgánico de las aguas residuales procedentes de una amplia variedad de actividades industriales. Digestores anaerobios se han aplicado con éxito para el tratamiento de aguas residuales de la industria **(Neira y Jeison, 2010)**.

La levadura producida como desecho por la industria en muchos casos representa costos de disposición elevados para la empresa, pues no siempre es retirada por eventuales interesados en reutilizarla. Sin embargo la idea de la co-digestión ofrece varias posibles ventajas ecológicas, tecnológicas y económicas, por lo que puede mejorar el tratamiento de residuos orgánicos a través de la digestión anaerobia además de la producción de biogás **(Álvarez et al., 2010)** por lo cual esta se convierte en una alternativa.potencialmente atractiva, además de proporcionar un adecuado tratamiento a la levadura y así reducir su impacto al medio ambiente.



2 MARCO TEORICO

2.1 BIOMASA Y BIOGÁS

Se conoce como biogás al producto (metano, dióxido de carbono, H_2S , etc.) digestión anaerobia (en ausencia de oxígeno) de residuos de origen orgánico (BIOMASA). Su composición depende de la materia prima utilizada y otros parámetros o factores. Contiene un elevado nivel de metano (50 al 70%), dióxido de carbono (30 al 45%), hidrógeno, ácido sulfhídrico, y otros **(Señer A., 2005)**.

Dentro de las energías convencionales, los sistemas de biogás son de inmediata y segura aplicación, a un costo bajo; además presenta una serie de ventajas como:

- Reducen la peligrosidad y la contaminación de los residuos.
- No producen desequilibrio en la naturaleza.
- Como subproducto se obtienen un efluente con aptas propiedades orgánicas para el mejoramiento de suelos.

Se entiende por biomasa al conjunto de materia orgánica renovable ya sea de origen animal o vegetal o procedente de su transformación y no utilizable como alimento o materia prima en la industria. La biomasa es una reserva de energía enorme, sus posibilidades de aprovechamiento son múltiples y su combustión no produce aumento en gases de efecto invernadero ya que el CO_2 que devuelve a la atmósfera lo retiró de ella casi al mismo tiempo, lo que no ocurre con los combustibles fósiles, cuya combustión lo emite un CO_2 retirado hace milenios **(Martínez, 2005)**.

Por otra parte, el estudio de las tecnologías empleadas en el tratamiento de la biomasa requiere la aplicación de técnicas, algunas muy avanzadas, físicas, químicas, bioquímicas.

El aprovechamiento energético, valorización en el lenguaje técnico, de la biomasa implica dos tipos fundamentales de procesos: termoquímicos y bioquímicos.

Los procesos termoquímicos pueden ser la combustión directa de los productos, con la que obtiene un rendimiento energético inmediato, o la pirolisis que engloba un conjunto de procesos en los cuales las cadenas de materia se rompen dando origen a combustibles líquidos. Estas técnicas tienen un escaso impacto ambiental y producen combustibles líquidos u otras materias primas utilizables en posteriores procesos químicos-industriales.



Los procesos biológicos implican, en líneas generales, la descomposición bacteriana de la biomasa. Se trata fundamentalmente de digestión anaerobia o fermentación de los residuos. También son posibles métodos aerobios (**Verruga, 2000**).

Los procesos biológicos pueden ser de cuatro tipos:

- **Procesos aerobios:** Proceso que solo se da en presencia de oxígeno.
- **Procesos anaerobios:** Procesos que solo se dan en ausencia de oxígeno.
- **Desnitrificación anóxica o anaerobia:** proceso por el cual el nitrógeno de los nitratos, se transforma en nitrógeno gas en ausencia de oxígeno.
- **Procesos facultativos:** Proceso en el cual los organismos responsables del mismo son indiferentes a la presencia o ausencia del oxígeno disuelto.

La más usual es la fermentación o digestión anaerobia la cual convierte los compuestos orgánicos en metano, junto con otros productos que en conjunto constituyen el L-Llamado biogás, una mezcla con aproximadamente 60% en volumen. El biogás proporciona 5500 kcal m³, (el volumen siempre se expresa en condiciones normales).

En la tabla 2.1 se muestran los componentes y porcentajes que se pueden esperar en una digestión anaerobia de acuerdo a la biomasa utilizada como sustrato

Tabla 2.1. Componentes del Biogás en función del sustrato utilizado (**Señer R. 2005**)

Componente	Residuos Agrícolas	Lodos de Depuradoras	Residuos Industriales	Gas de ReL-Leno Sanitario
Metano	50-80 %	50-80 %	50-70 %	45-65 %
Dióxido de carbono	20-50 %	20-50 %	30-50 %	34-55 %
Agua	Saturado	Saturado	Saturado	Saturado
Hidrógeno	0-2 %	0-5 %	0-2 %	0-1 %
Sulfuro de Hidrogeno	100-700 ppm	0-1 %	0-8 %	0.5 100 ppm



2.2. DIGESTIÓN ANAEROBIA

La digestión anaerobia, fundamentalmente es un proceso de degradación que convierte materia orgánica a metano y dióxido de carbono en ausencia de oxígeno. Este proceso suele tener lugar en intervalos mesofílico (20 a 40 °C) y termofílico (50 a 60 °C) de temperatura. y se L-Leva acabo en múltiples etapas, con la participación, la hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis.

La materia orgánica es convertida por la combinación de la actividad de diferentes grupos de microorganismos. Durante el proceso intervienen microorganismos facultativos y anaerobios. En la Figura 2.1 se muestra el diagrama de flujo del sustrato durante la degradación anaerobia propuesto por **Gujer y Zehnder (1983)**.

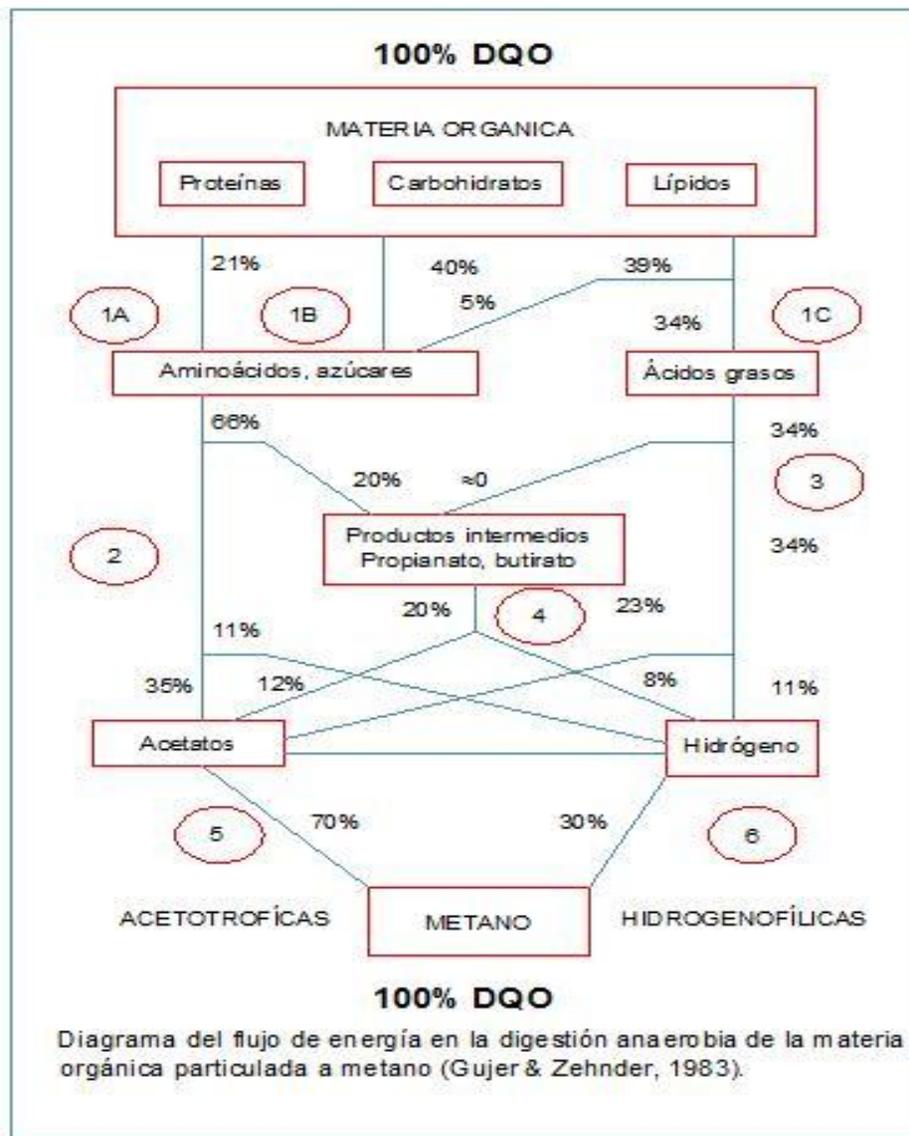




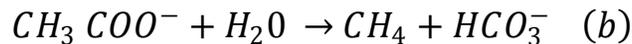
Figura 2.1. Diagrama del flujo de energía en la digestión anaerobia de la materia orgánica particulada a metano (Gujer & Zehnder, 1983).

Las bacterias metanogénicas se dividen en dos grupos tróficos:

Bacterias metanogénicas hidrogenofílicas, que utilizan el hidrógeno producido para reducir el CO_2 en CH_4 .



Bacterias metanogénicas acetoclásticas, que transforman el acetato en CH_4 . Estas bacterias contribuyen con el 70% de la producción de metano en los digestores.



De acuerdo con la figura 2.1, seis son los procesos de conversión identificados en la digestión anaerobia:

- Hidrólisis de biopolímeros (proteínas, carbohidratos y lípidos)
- Fermentación de aminoácidos y lípidos
- Oxidación β - anaerobia de ácidos grasos de cadena larga y alcoholes
- Oxidación anaerobia de productos intermedios como ácidos volátiles (excepto acetato)
- Conversión de acetato a metano; metanogénesis acetoclástica
- Conversión de hidrógeno a metano; metanogénesis reductor

2.2.1. Bioquímica de la digestión anaerobia

El objetivo principal de la digestión anaerobia es la estabilización de la materia orgánica, dándose simultáneamente fenómenos como la producción de energía a través de biogás y la reducción de la masa de sólidos. La estabilización de la materia orgánica se consigue transformándola en biomasa y compuestos inorgánicos en su mayoría volátiles: CH_4 , CO_2 , NH_3 , N_2 y H_2S , todo esto en ausencia de oxígeno molecular. En la figura 2.1 se muestra el diagrama de flujo del sustrato durante la degradación anaerobia propuesto por **Gujer y Zehnder (1983)**.

En general las bacterias son incapaces de alimentarse de material orgánico particulado, por lo que las proteínas, carbohidratos y lípidos son inicialmente hidrolizados por enzimas extracelulares a compuestos más simples y asimilables por las bacterias, como son azúcares, aminoácidos y ácidos grasos.



Durante la hidrólisis, la materia orgánica insoluble y macromoléculas se transforman en compuestos orgánicos solubles. Cuando una fracción sólida importante está presente en el alimento, la hidrólisis puede convertirse en el paso limitante (**Speece 2008, Neira y Jeison 2010**).

El Pre-tratamiento es un enfoque común para mejorar la digestión anaerobia, proporcionando la desintegración de los sólidos y acelerando el paso de hidrólisis. Varios métodos de pre-tratamiento se han informado en la literatura, que puede ser básicamente clasificada como mecánico, térmico o químico (**Speece 2008, Neira y Jeison 2010**).

Estos a su vez son utilizados como sustrato por organismos fermentadores (azúcares y aminoácidos) y por oxidadores anaerobios (ácidos grasos superiores). Los productos de estas reacciones son acetato, hidrógeno, biomasa y productos intermedios como el propionato y butirato. Los productos intermedios son degradados hasta acetato e hidrógeno por un grupo de bacterias L-Lamadas bacterias acetogénicas productoras obligadas de hidrógeno (OHPA, por sus siglas en ingles), las cuales deben existir en relación sintrófica con las metanogénicas que utilizan hidrógeno. El acetato como el hidrógeno son finalmente los verdaderos sustratos de las bacterias metanogénicas.

2.2.2 Factores que inciden en la digestión anaerobia

Algunos de los factores ambientales que inciden en un proceso anaerobio, están relacionados con aqueL-Los parámetros cuyo control permite un buen crecimiento de la biomasa y por consiguiente una mayor eficiencia en la remoción de materia y en la producción de biogás. El conocimiento de estos factores permitirá evitar cualquier faL-La en el proceso y tomar medidas correctivas necesarias cuando así se requiera. Entre los principales, se tiene:

2.2.2.1. *Temperatura*

La actividad de la biomasa microbiana es sensible a la temperatura del medio en que se desarroL-La. Un aumento limitado de temperatura de corta duración hace que la actividad microbiana aumente; sin embargo, si esta temperatura se mantiene, la degradación del complejo enzimático celular y el aumento de la muerte microbiana reduce el número de microorganismos, pudiendo L-Legar a desaparecer especies microbianas completas. Además la temperatura afecta a las constantes de equilibrio químico, produciendo desplazamientos en los valores de varios parámetros, como alcalinidad, pH, precipitaciones o redisoluciones de compuestos inorgánicos, cambios en la composición del gas por efecto de la diferente solubilidad, etc.

La temperatura define a las especies predominantes en los ambientes anaerobios. Las especies termofílicas en intervalos de 50 a 65 °C, siendo la óptima a 55 °C,



mesofílicas entre 20 a 40 °C, siendo la óptima a 35 °C. y las psicofílicas (6 a 20 °C).

2.2.2.2. pH

La digestión anaerobia puede llevarse a cabo dentro de un intervalo de pH comprendido entre 6.2 y 7.8, siendo el óptimo entre 7.0 y 7.2. Fuera de este óptimo, la digestión puede continuar aunque en forma ineficiente hasta un pH de 6.2, en donde las bacterias metanogénicas son afectadas severamente (Noyola, 1998 b); a niveles de pH alcalinos, se afecta principalmente a las bacterias metanogénicas acetoclásticas (**Malina y Pohland, 1992**).

2.2.2.3. Ácidos grasos volátiles

La concentración de AGV's producto de la fermentación, tienen gran importancia en el proceso de digestión anaerobia, ya que estos pueden llegar a acidificar el digester provocando el fallo del proceso. En condiciones normales de operación, la concentración de AGV's en el efluente debe ser baja, inferior a 100 mg/L. El aumento de la concentración de ácidos grasos volátiles puede ser producto de una sobrecarga en la alimentación o una inhibición de las metanogénicas. A su vez, una fuerte concentración puede provocar la destrucción de la capacidad amortiguadora del digester, disminuyendo el pH y, en consecuencia, la inhibición de las bacterias formadoras de metano. La relación AGV's / alcalinidad, también es indicadora de estabilidad; una relación superior a 0.7 es indicadora de fallo inminente (**Noyola, 1998 b**).

2.2.2.4. Alcalinidad

Debido a que las bacterias acidogénicas tienen una mayor actividad que los microorganismos metanogénicos, ante sobrecargas orgánicas son capaces de provocar la acidificación del digester, lo que puede evitarse manteniendo en el digester una óptima capacidad amortiguadora (buffer). Mientras la digestión anaerobia se lleva a cabo con normalidad, la alcalinidad oscilará entre 2000 y 18000 mg CaCO₃/L dependiendo del sustrato a ser degradado (**Álvarez et al., 2010**). Con valores de operación típicos de pH (alrededor de 7) en un digester anaerobio, el sistema buffer presente es el formado por el ión bicarbonato y el ácido carbónico en solución. Sin embargo, al valorar la capacidad reguladora del bicarbonato, se tiene que a pH bajos (hasta 4.3), no se obtienen valores de alcalinidades útiles para controlar la operación de un digester. Además existe la posibilidad de llegar a valorar parte de los AGV's presentes en solución en forma disociada, cuyos pKa están comprendidos entre 4.56 y 4.67 (**Jenkins et al. 1991**). Es por ello que se ha propuesto medir la alcalinidad utilizable en las condiciones de operación del digester; la más aceptada es la propuesta por **Jenkins et al., (1983)** en la cual hay una titulación a un pH superior a 4.3, típicamente 5.75.



2.2.2.5. Relación alfa (α)

Un criterio para verificar si la carga orgánica suministrada al digestor es adecuada para el proceso anaerobio, es la relación alfa (α), que es la alcalinidad debida a los bicarbonatos entre la alcalinidad total; la primera se calcula mediante un procedimiento de titulación de una muestra del contenido del digestor, midiendo su consumo de ácido (H_2SO_4 0.2N) hasta un pH de 5.75 y la segunda, midiendo el volumen total del mismo ácido hasta un pH de 4.3 (**Jenkins et al.1983**); la cual se puede calcular con la siguiente expresión:

$$\alpha = \frac{Alc (HCO_3^-)_{5.75}}{Alc (Total)_{4.3}}$$

Donde:

$Alc(HCO_3^-)_{5.75}$ = Alcalinidad debida a los bicarbonatos, obtenida a partir de la titulación de la muestra con H_2SO_4 hasta un pH de 5.75 (mg $CaCO_3/L$)

$Alc(HCO_3^-)_{4.30}$ = Alcalinidad total, obtenida de la titulación de la muestra con H_2SO_4 hasta un pH de 4.3 (mg $CaCO_3/L$)

El valor de α durante el arranque deberá mantenerse arriba de 0.4. Un valor superior a 0.6 muestra una operación estable, pudiéndose incrementar la carga del digestor (**Noyola, 1994**). La relación α con valores superiores a 0.5, indica que existe un equilibrio entre los bicarbonatos, producidos por la descarboxilación del acetato durante la producción de metano por las bacterias metanogénicas acetoclásticas, y de los ácidos grasos volátiles, producidos durante la etapa de acidogénesis del proceso de digestión anaerobia. Valores de α inferiores a 0.5 son debidos a la acumulación de AGV's, lo que indica que el sistema no tiene la capacidad para consumir la cantidad de sustrato que a él ingresa, debido a que la velocidad de consumo de sustrato de las bacterias fermentativas es mayor que la de las bacterias metanogénicas, consumidoras de AGV's. El valor de α puede emplearse para indicar el ritmo de aumento de carga durante un arranque, así como una adecuada alarma si el digestor está siendo sobrecargado o si existe una inhibición, en particular de los microorganismos hidrogenófilos. (**Noyola, 1994**).

2.2.3. Co digestión anaerobia

Co-digestión se define como el tratamiento anaerobio de una mezcla de al menos dos diferentes tipos de residuos con el objetivo de mejorar la eficiencia del proceso de la digestión anaeróbica (**Álvarez et al., 2010**).



La Co-digestión anaerobia de los residuos se aplica comúnmente como una forma de equilibrar el contenido de nutrientes de los diferentes residuos, para compensar la limitación de nutrientes de los residuos. La Co-digestión también ofrece el potencial de dilución de los compuestos tóxicos, mejorando el rendimiento de biogás y la cinética de digestión **(Neira y Jeison 2010)**.

La Co-digestión anaerobia puede aumentar la producción de CH₄ de digestores anaerobios alrededor de 50-200%, dependiendo de las condiciones de funcionamiento y los co-sustratos utilizados **(Álvarez et al., 2010)**.

La Co-digestión se utiliza normalmente para el tratamiento de los residuos sólidos o semisólidos, como lodos de aguas residuales, residuos agroindustriales, los desechos domésticos, estiércol, entre otros **(Romano y Zhang 2008, Neira y Jeison 2010)**.

La co-digestión relacionados con desechos líquidos es menos frecuente, y sólo unos pocos informes están disponibles en la literatura. Por ejemplo, **MA et al. (2008)** estudiaron la co-digestión de las aguas residuales de procesamiento de papa con glicerol en un digestor UASB observando un aumento en la producción de biogás, y **Gavala et al. (1996)** propone el co-tratamiento de aguas residuales estacionales producidos a partir de las industrias agrícolas.

2.2.4. Digestores de lodos

La digestión anaerobia, tanto mesofílica como termofílica, ha probado estabilizar satisfactoriamente muchos tipos de lodos residuales. La tecnología empleada actualmente para el tratamiento de los lodos residuales, tiene más de 50 años. Los digestores son generalmente cilíndricos, con diámetros no mayores a 35 metros, su profundidad varía entre 6 y 14 metros, o inclusive más y el fondo tiene una pendiente variable en función del tipo de digestor.

Los digestores anaerobios de lodos los podemos agrupar en dos tipos: digestores de baja tasa y digestores de alta tasa.

2.2.4.1. Digestores de baja tasa

Esta variante es conocida también como digestores convencionales, ya que en el proceso se lleva a cabo en un tanque sin calentamiento y sin mezclado, lo cual lleva a la estratificación del contenido del digestor, propiciando que la actividad biológica se lleve a cabo solo en aproximadamente en el 50% del volumen. Su aplicación es principalmente en plantas pequeñas. Una mejora en el funcionamiento de este tipo de digestores consiste en la introducción de mezclado, lo que permite una mayor carga de alimentación, al favorecer la transferencia de masa en el digestor y emplear todo el volumen del líquido en la reacción. En estos digestores, los tiempos de retención hidráulica (TRH) son entre 30 y 90 días, con



cargas recomendadas entre 0.5 y 1.0 kg SSV/m³*d. Para digestores convencionales con mezclado, las cargas son de 1.0 a 1.6 kg SSV/m³*d (**Noyola, 1998 b**).

2.2.4.2. Digestores de alta tasa

En este tipo de Digestores se aplica un mezclado al medio de reacción, ya sea mediante agitación mecánica, por la recirculación de gas ó de líquido, o una combinación de ambos. Esta variante cuenta con un sistema de calentamiento que L-Leva la temperatura a rangos mesofílicos o termofílicos. Frecuentemente se une a otro tanque del mismo volumen, con objeto de espesar los lodos digeridos evacuados en el efluente del primer digestor. En los digestores de alta tasa mesofílicos, las cargas van de 1.6 a 3.2 kg SSV/m³*d, con TRH de 10 a 20 días (Noyola, 1998 b).

Un desarrollo en materia de digestión anaerobia de lodos es la introducción de los tanques de forma oval (egg-shaped digester: ESD). Los ESD eliminan las zonas muertas y presentan condiciones óptimas para la circulación y mezclado del lodo, lo cual permite reducir significativamente los requerimientos energéticos para el mezclado. La base cónica del digestor permite la concentración del lodo en la parte inferior del mismo, por lo que éste es fácilmente mezclado o removido mediante un bombeo normal. De esta manera, prácticamente no existen problemas con lodos sedimentados y se asegura la utilización del volumen total del digestor, lo que permite la digestión completa de los lodos. Los digestores convencionales necesitan limpieza periódicamente, en tanto que los ESD pueden operar sin este requerimiento. Adicionalmente, los ESD requieren menor área para su construcción. Son, sin embargo, más costosos en su obra civil.

2.2.4.3. Diseño de digestores anaerobios

Para diseñar un digestor de lodos se utilizan generalmente métodos empíricos que utilizan como parámetro de diseño el tiempo de retención celular o la carga orgánica. Debido a que en un digestor completamente mezclado el tiempo de retención celular es igual al tiempo de retención hidráulico ($\theta = \theta_c$), el volumen de un digestor de alta tasa puede ser calculado con la siguiente formula:

$$V = Q \times \theta_c$$

donde:

V = volumen del digestor (m³)

Q = gasto (m³/d)

θ_c = tiempo de retención celular (d)

Los valores recomendados para θ_c se muestran en la tabla 2.2



Tabla 2.2. Los valores recomendados para θ (Metcalf & Eddy, 1991).

TEMPERATURA °C	θ_c PARA DISEÑO (D)
18	28
24	20
30	14
35	10
40	10

Para el diseño con base en la carga orgánica, se acostumbra utilizar la carga orgánica volumétrica (kg SSV/m³*d). El TRH debe ser siempre considerado para evitar el lavado de los microorganismos activos.

En la operación de digestores anaerobios, se deben tomar en cuenta distintas condiciones ambientales y de operación, (tabla 2.3), para obtener la máxima producción de metano durante la digestión anaerobia de lodos de purga.

Tabla 2.3. Condiciones óptimas ambientales y de operación durante la digestión anaerobia de lodos de purga (Malina y Pohland, 1992).

Variable	Óptimo	Intervalo
pH	6.8-7.4	6.4-7.8
Potencial oxido-reducción (mV)	-520 a -530	-490 a -550
Acidos volátiles (mg/L de ácido acético)	50-500	<2000
Alcalinidad (mg CaCO ₃ /L)	1500-3000	1000-5000
Temperatura:		
Mesófila	32-38°C	20-40°C
Termófila	50-56°C	45-60°C
Tiempo de retención hidráulica (d)	10-15	7-30
Producción de gas (m ³ CH ₄ /kg SSV _{eliminados})		0.75-1.12
Composición del gas:		
Metano (CH ₄)(%)	65-70	60-75
Dióxido de carbono (CO ₂)(%)	30-35	25-40

La geometría de los digestores de lodos es un factor importante, debido a que influye de manera directa en el mezclado, ya que si éste es deficiente propiciará la generación de zonas muertas y la acumulación de sólidos en las paredes del digestor. En la tabla 2.4 se muestran los digestores más comunes y su geometría.



Los más aplicados son cilindros verticales bajos con un fondo ligeramente cónico. Las paredes se construyen de 6 a 12 m de altura, con diámetros de 6 a 40 m. Los digestores con forma de huevo pueden tener alturas mayores.

Tabla 2.4. Geometría de los digestores anaerobios convencionales para lodos de aguas residuales.

GEOMETRÍA DE LOS DIGESTORES ANAEROBIOS		
TIPOS	CARACTERÍSTICAS	CORTE
Geometría clásica	Cual consiste en un cilindro que tiene una relación diámetro-altura igual a 1, con pendientes en la parte superior e inferior. La pendiente de las paredes en la parte superior es de 0.6 a 1.0, mientras que en la parte inferior tienen una pendiente entre 1.0 y 1.7. Esta geometría favorece el mezclado y homogenización de los lodos.	
Geometría americana	Tiene en la parte superior una cubierta flotante para la captación del biogás y el fondo del digestor tiene una pendiente muy suave. Se ha observado que esta geometría presenta problemas respecto al mezclado de los lodos, atribuidos principalmente a que su relación diámetro-altura > 1 , lo que provoca la presencia de zonas muertas, la acumulación de sólidos en el fondo y la generación de natas.	
Geometría europea	Esta geometría tiene eficiencias similares a la geometría clásica, teniendo la ventaja de que su construcción es más económica. Por otro lado, esta geometría, al tener una pendiente baja en el fondo, limita la elección de sistemas de mezclado	
Geometría en forma de huevo	Los ESD (digestores egg-shaped digester) eliminan las zonas muertas y presentan condiciones óptimas para la circulación y mezclado del lodo, lo cual permite reducir significativamente los requerimientos energéticos para el mezclado. La base cónica del digestor permite la concentración del lodo en la parte inferior del mismo, por lo que éste es fácilmente mezclado o removido mediante un bombeo normal. De esta manera, prácticamente no existen problemas con lodos sedimentados y se asegura la utilización del volumen total del digestor, lo que permite la digestión completa de los lodos. Adicionalmente, los ESD requieren menor área para su construcción El fondo cónico se prefiere para evitar en algún grado la acumulación de sedimentos y para facilitar su limpieza.	



2.3. LA LEVADURA (*SACCHAROMYCES CEREVISIAE*)

Desde que el ser humano utiliza las levaduras para elaborar el pan y la cerveza se ha aprovechado la glucólisis, a pesar de que no se ha entendido hasta el siglo pasado. (La definición inicial de fermentación fue “un cambio químico con efervescencia”.) La demostración efectuada por Louis Pasteur en 1856 de que las fermentaciones las realizaban microorganismos constituye un hito en la historia de la ciencia.

Las levaduras son hongos unicelulares, la mayoría pertenecientes a los Ascomicetos. Normalmente son ovales, esféricos o casi cilíndricas y la división es, casi siempre, asimétrica por gemación. En este proceso, la nueva célula se forma como un pequeño bulto en la célula madre que crece hasta separarse de ella. Aunque la mayoría de las levaduras se producen como células aisladas, bajo ciertas condiciones pueden filamentosas.

Las células de levadura tienen un alto contenido de proteínas, entre el 45-65%, son ricas en vitaminas, especialmente en complejo B y minerales esenciales para el organismo animal. El valor nutritivo de la proteína se considera bueno, lo que representa, el 70 a 85% del valor de la caseína. El factor limitante en la proteína para el consumo son los aminoácidos de azufre, metionina más cistina (**Sgarbieri, et al., 1999**).

El grueso de pared celular y el alto contenido de ácidos nucleicos, en especial de ARN, ofrecen ciertas restricciones para la utilización de la levadura, en humanos y animales en general monogástricos. La ingestión de células de levadura seca por encima de 30g o por encima de 2g/día de ácidos nucleicos, pueden injustificadamente aumentar la concentración de uratos en la sangre y los tejidos, lo que resulta en cálculos renales y / o gota.

Las células de levaduras son mucho más grandes que las bacterias y pueden distinguirse de ellas no solamente por su tamaño sino también por poseer sistemas membranosos intracitoplásmicos así como núcleo. Algunas levaduras poseen reproducción sexual por conjugación en la que se fusionan dos células (**Sgarbieri, et al., 1999**).

Las levaduras prosperan típicamente en un hábitat con azúcares, tales como frutos, flores y cortezas de los árboles. Un buen número vive simbiótico con animales, especialmente con insectos y algunos son patógenos para animales incluidos el hombre. La levadura más conocida es *Saccharomyces cerevisiae*. (**Madigan, et al., 2001**)



En las figuras 2.2 y 2.3 se muestra a diferentes tamaños de levaduras vistas a través de en un microscopio.



Figura 2.2. Levaduras *Saccharomyces cerevisiae*. Microscopia de contraste de fases x580 aumentos. (González, et al., 2006)

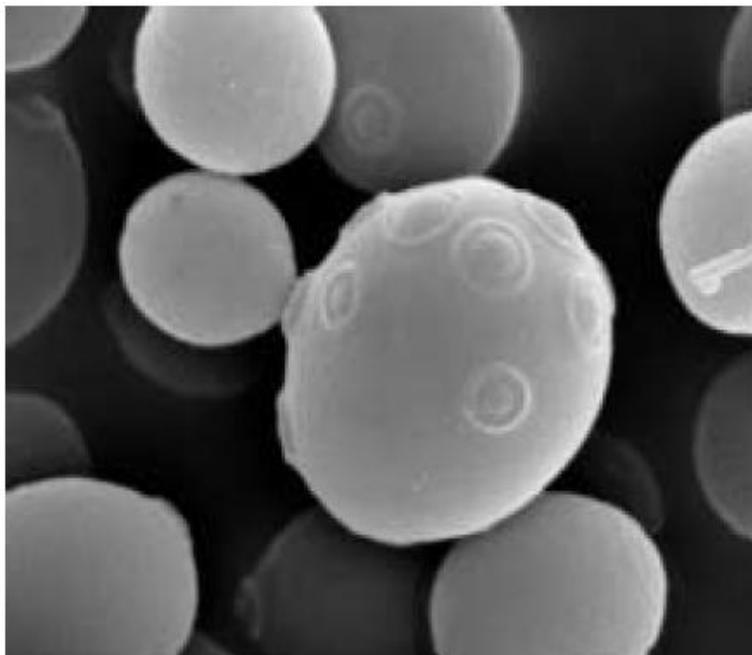




Figura 2.3. Levaduras *Saccharomyces cerevisiae*. Microscopia electrónica de barrido x7040 aumentos. (González, et al., 2006).

2.3.1. Autólisis de levaduras

El término autólisis se introdujo en la literatura en 1875 por Salkowsky (Farrer 1956). En esencia, representa un auto-degradación enzimática de los constituyentes celulares que comienza inmediatamente después de la muerte de la célula (Fleet G., (1993).

La autólisis de levaduras ha sido estudiada por diversos autores, es un proceso que sucede tras la muerte de las levaduras y que consiste en la ruptura y degradación de las estructuras celulares por su propia dotación enzimática. Estos autores plantean cuatro etapas diferenciadas a lo largo del proceso (Charpentier y Freyssinet, 1989).

1. Inicialmente las actividades de las enzimas endo y exo- β -(1-3)-glucanasas liberan una mezcla de polisacáridos que corresponden a las manoproteínas unidas covalentemente al glicano de la pared intacta.

2. Posteriormente, la hidrólisis parcial del glucano provoca una destabilización de la estructura de la pared, que supone una liberación de manoproteínas de elevado peso molecular con bajos contenidos de glucosa y que provienen mayoritariamente de la zona periplasmática.

3. En una etapa mas tardía continúa la degradación de los glucanos de la pared por las β -(1-3)-glucanasas en los restos de pared y en el medio extracelular.

4. Finalmente las exo- β -(1-3)-glucanasas, solubilizadas en el medio, degradan el glucano unido en las manoproteínas y estas ultimas a su vez pueden ser hidrolizadas por α -manosidasas y por otras proteasas que liberan peptidomananos de menor tamaño (Morata, et. al., 2005).

La levadura de residuos del proceso de producción de cerveza presenta bruscamente sabor amargo debido a la adsorción de componentes (resina, taninos, etc.), del lúpulo, utilizado en la fabricación de cerveza (Sgarbieri, et al., 1999).

2.3.1.1. Moléculas liberadas durante la autólisis

La consecuencia de la ruptura y fragmentación del material celular de la levadura es que se liberan moléculas de distinta naturaleza y que afectan a su equilibrio coloidal, estructura, estabilidad de color y perfil aromático, con importantes repercusiones organolépticas. Las moléculas mayoritariamente liberadas se



pueden clasificar como procedentes del interior de la célula o bien de las paredes. En la figura 2.4 se muestran los compuestos liberados al mosto durante la autólisis de las levaduras.

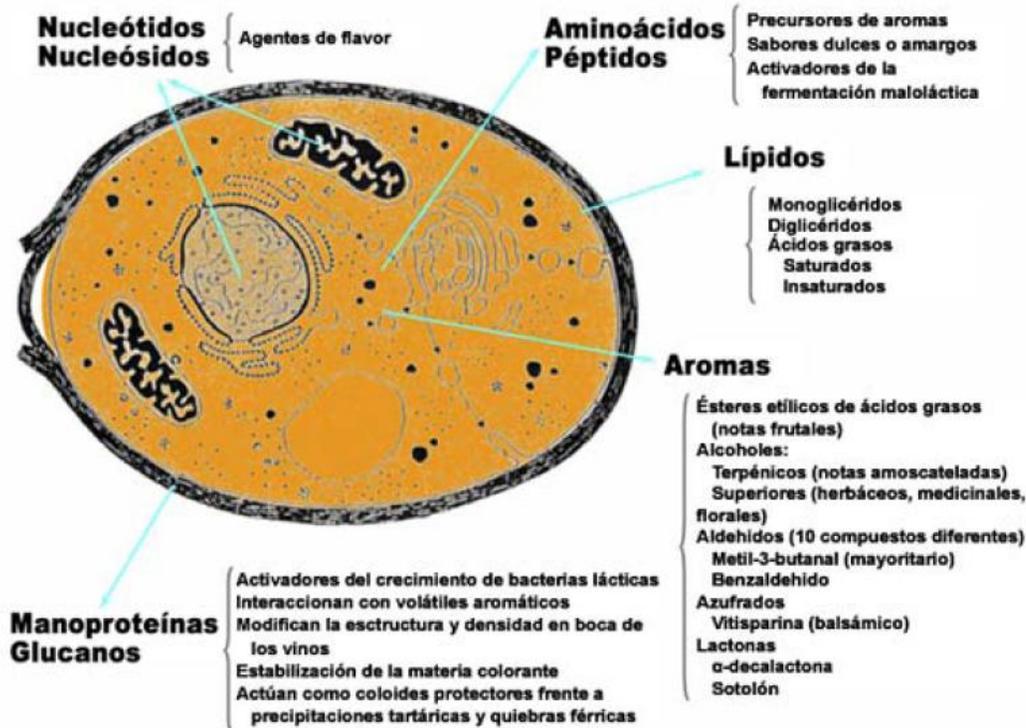


Figura 2.4. Compuestos liberados al mosto durante la autólisis de las levaduras (Mathews, et al., 2002).

Contenido celular: nucleótidos y nucleósidos (se comportan como agentes del sabor), aminoácidos y péptidos (actúan como precursores de aromas, algunos pueden presentar sabores dulces o amargos y juegan un importante papel como activadores de la fermentación maloláctica)

Pared celular: glucanos y manoproteínas (activadores del crecimiento de bacterias lácticas, presentan interacciones con volátiles aromáticos, tienen un importante papel en la modificación de la estructura y densidad en boca de los vinos y actúan como coloides protectores estabilizando el material colorante, evitando precipitaciones tartáricas y quiebras proteicas).

En el estudio de la autólisis en vinos con cepas de *Saccharomyces cerevisiae* (medio hidroalcohólico con 12% de etanol v/v a pH 3.5) a temperaturas de 15-20 ° C o 34-40 ° C, se detectaron entre 80-100 compuestos volátiles que se pueden clasificar en los siguientes grupos (Lubbers, et. al., 1994):

Esteres: identificados hasta 39 compuestos la mayoría esterres etílicos de ácidos grasos y que aportan notas frutales al perfil aromático del vino.



Alcoholes: identificados hasta 15 moléculas que se pueden clasificar en dos grupos mayoritarios. Alcoholes terpénicos, con aromas típicos de las variedades moscatel y alcoholes superiores, con aromas herbáceos, medicinales o florales (2-fenil-etanol).

Aldehídos: identificados hasta 10 compuestos diferentes de los cuales el mayoritario es el metil-3-butanal, que compone un 40% del total y que aparece en cantidades superiores a su umbral de percepción. También otros importantes por su perfil aromático como el benzaldehído.

Compuestos azufrados: aumentan a lo largo de la crianza sobre lías, se han identificado como importantes la vitisparina, derivado norisoprenoide con aromas que recuerdan al eucalipto.

Lactonas: identificados 8 compuestos con aromas similares a los que presenta la nuez de coco (α -decalactona). Otra lactona de gran interés es el sotolón con umbrales de percepción inferiores a 0.1 $\mu\text{g/L}$. El sotolón aparece en vinos que han sufrido largos envejecimientos y crianzas sobre lías como sucede en los champagnes de largo envejecimiento y en los vinos del Jura (**Morata, et. al., 2005**).

2.3.1.2. Autólisis: consideraciones generales

Los primeros estudios, reportados y revisados por Vosti y Joslyn (1954), establecieron claramente que las proteínas celulares y ácidos nucleicos fueron degradados durante la autólisis y que la cinética de estas reacciones fueron influenciadas por las condiciones ambientales. Cuando la levadura en suspensión de células (*Saccharomyces cerevisiae*) fue incubada durante 72 horas a 45 ° C y pH cerca de 5,0, el 75% de nitrógeno y 85% del fósforo de las células fueron solubilizadas y pudieron ser recuperados. Estos autores distinguen dos fases de autólisis:

1. Un periodo de latencia de alrededor de cuatro horas en las que la levadura de glucógeno se degrada y sólo se presenta una débil solubilización de nitrógeno y de fósforo.
2. Una fase posterior de alrededor de 20 h durante el cual existe una intensa liberación de nitrógeno y fósforo de las células. Similar autodegradación y la disolución de los componentes intracelulares se informó por Hough y Maddox (1970) para la producción de cepas de cerveza (*Saccharomyces cerevisiae*).

Trabajos posteriores, comunicados por **Arnold (1981)** y **Babayán y Bezrukov (1985)**, indican que la membrana citoplasmática y de la pared celular, desempeña un papel importante durante la autólisis. Esencialmente, el desprendimiento del



material celular de los sistemas dentro de la membrana, influenciados ya sea naturalmente o por medios físicos (por ejemplo, temperatura ó presión) y químicas (por ejemplo, los detergentes ó disolventes orgánicos), que se traduce en pérdidas de la organización celular y de enzimas hidrolizadas causadas al entrar en contacto con el sustrato. Al mismo tiempo, la degradación de los componentes de la pared celular, como los glucanos y proteínas, aumenta la porosidad de la célula, facilitando la liberación de productos de la autólisis al ambiente extracelular de la célula. Así, desde una perspectiva bioquímica, la autólisis se puede considerar que consta de cinco etapas:

- Desorganización de los sistemas de la membrana de la célula (por ejemplo, lisosomas, membrana citoplásmica, organelos y otros) que permite la liberación de enzimas hidrolíticas;
- Inactivación de los inhibidores específicos de estas enzimas por la acción de proteasas o, en su defecto, la activación de enzimas proteolíticas;
- La degradación enzimática intracelular de macromoléculas, que L-Lega a una acumulación de los productos de degradación;
- Un aumento en la porosidad de la pared celular, lo que permite la liberación de los productos de la autólisis al medio extracelular; y
- Degradación autolítica de las sustancias en el medio ambiente extracelular.

Se sabe que a bajo pH (3.0-3.5), bajas temperaturas (a menudo menos de 15 ° C) y en presencia de etanol la tasa de reacciones autolíticas disminuye significativamente, en comparación con condiciones más extremas (45 ° C, pH 5.0) (**Fleet G., 1993**).

Otras condiciones que favorecen la autólisis de la levadura se presentan en una proporción de 1:1 v/v con hidróxido de sodio al 2% p/v y etanol al 17% v/v a una temperatura de 85 ° C (**Sgarbieri, et al., 1999**).

2.3.2. Levadura como sustrato para digestión anaerobia

El sector industrial de alimentos y bebidas, en su conjunto, produce un importante impacto al medio ambiente en zonas geográficas concretas del país, principalmente por los residuos sólidos líquidos o gaseosos generados en la elaboración de su producto. Es el caso de la industria cervecera y vitivinícola que genera grandes cantidades de residuos como son: desperdicios en el mosto fermentado, levaduras, agua residual, etc., los cuales deben ser tratados para disminuir su impacto al medio ambiente.

La levadura de cerveza es un residuo que genera la industria, principalmente en la elaboración de cerveza y vino, el cual debido a que no siempre es posible su reutilización representa un alto costo ya que debe ser tratada antes de ser dispuesta al medio ambiente.



Se han estudiado varios procedimientos para el tratamiento de residuos líquidos incluidos los procesos químicos y/o los procesos biológicos y su característica común es un costo relativamente alto en la operación y creación de sustancias peligrosas y otros subproductos y contaminantes. El tratamiento aeróbico de la levadura de cerveza está asociada con problemas como son: la elevada acidez, la alta demanda de oxígeno, la generación de lodos y alto costo de la operación en términos de consumo de energía (**MaL-Lick, et al., 2010**). Aunque los procesos de tratamiento anaerobio son relativamente lentos, tienen varias ventajas, tales como alto grado de descomposición de sólidos, el manejo de altas cargas orgánicas y la recuperación eficiente de biogás, que representa la energía renovable utilizable para las operaciones de la misma planta de proceso (**MaL-Lick, et al., 2010**).

Moller Chávez G (1999) menciona que los microorganismos (bacterias, protozoarios y parásitos) no sufren reducción significativa en el proceso de digestión anaerobia; su reducción y/o eliminación debe hacerse mediante otros procesos.

Adicionalmente diversos autores han demostrado que dentro de los estimulantes de crecimiento más efectivos para la digestión anaerobia está el extracto de levadura (**Moeller, et al., 2004**) ya que aporta diversos metales y vitaminas que actúan como elementos traza y como factores estimulantes de crecimiento para las bacterias metanogénicas, ya que forman parte constitutiva de enzimas y coenzimas específicas de éstas. **Moller G. et al., 1999** demostró como la digestión anaerobia de lodos primarios aumentaba con la adición de extracto de levadura de cerveza, elevando la producción de metano al doble.

Por lo tanto una alternativa para la reducción del volumen de las levaduras y reducir su impacto, es la digestión anaerobia, la cual realizaría una estabilización de la levadura y generaría biogás, el cual puede ser utilizado como energía.



3. OBJETIVO GENERAL

Determinar la capacidad de generación de biogás (metano) utilizando la levadura como sustrato de un digester anaerobio.

3.1 OBJETIVOS PARTICULARES

- Determinar la degradabilidad de una levadura y una mezcla de levadura-lodo en el proceso de digestión anaerobia.
- Determinar las condiciones de operación y eventuales inhibidores de la digestión anaerobia de levaduras provenientes de la industria cervecera.

3.2 METAS

- Establecer la mejor condición para la degradación de la levadura como sustrato único o en co-digestión con lodos de purga (primario y secundario).
- Determinar si existen inhibidores de la digestión anaerobia de levaduras, y en su caso, determinar, cuales son las condiciones adecuadas para reducir este efecto.



4. METODOLOGÍA

4.1 ARREGLO EXPERIMENTAL.

Se utilizaron dos digestores anaerobios a temperatura mesofílica (35°C) en forma de huevo (Egg-Shaped-Digesters), los cuales se encontraban dentro de un cuarto que controlaba la temperatura y la mantenía a 35 °C \pm 2. La alimentación de los digestores se realizó en semi-batch (alimentación puntual diaria). El volumen total de los digestores fue de 8 L, con un volumen de tratamiento (útil) de 5 L. En la imagen 4.1 se muestra el tipo de digestores que se puso en funcionamiento.



Figura 4.1 Digestor anaerobio mesofílico utilizado (dos unidades)

Los digestores fueron contruidos de fibra de vidrio. En la parte superior del digestor se localiza una cubierta de *Nylamid*. Entre la unión de la cubierta y el digestor se colocó un empaque para sel-Lar y evitar las fugas de biogás. La cubierta presentaba tres perforaciones, dos de éstas (diámetro 2/3"), contaban con arreglos de piezas de cobre; una de estas perforaciones era para recircular el lodo por un tubo de \varnothing 3/8", la otra era para la evacuación del biogás hacia su medición. De la perforación central hacia el interior del digestor se colocó un tubo de \varnothing 1/2" de polipropileno, el cual servía como protección y alineación para el agitador



mecánico, al mismo tiempo que funcionaba como seL-Lo hidráulico, evitando fugas de biogás.

La cuantificación del biogás en cada digestor se realizó mediante un medidor de gas húmedo previamente calibrado: los medidores de gas húmedo se alternaron para la cuantificación del biogás en los digestores aproximadamente cada 2 semanas. En la figura 4.2. se muestra el tipo de medidor utilizado. El sistema estuvo precedido por una trampa de humedad que funcionaba como seL-Lo hidráulico y por un septo de hule para tomar la muestra de biogás, con la finalidad de conocer la composición correspondiente a metano (CH_4) y dióxido de carbono (CO_2) mediante cromatografía de gases.

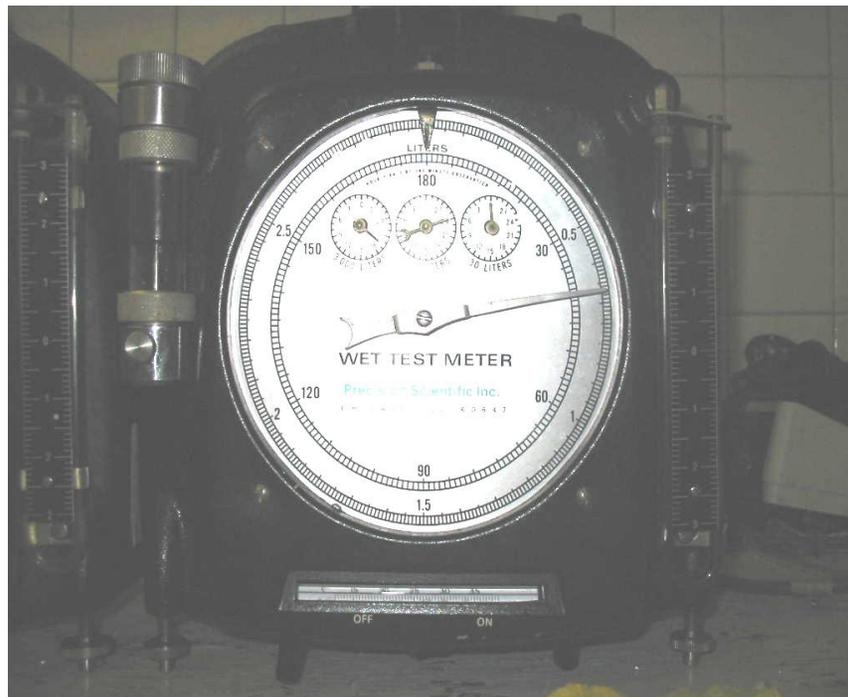


Figura 4.2. Medidor de gas húmedo utilizado (dos unidades).

En la parte inferior de los digestores se tenía un arreglo con base en piezas de cobre conectado a una manguera tramada de plástico con diámetro de 2/3" para la recirculación del lodo, por medio de una bomba peristáltica de la marca Masterflex ajustada a un motor Cole-Palmer de 6-600 RPM con controlador de velocidad (figuras 4.3. y 4.4.) de 6 a 600 rpm (revoluciones por minuto) de la misma marca.



Figura 4.3. Controlador de velocidad de la bomba para la recirculación de lodos utilizado (dos unidades)



Figura 4.4. Arreglo de bomba peristáltica y motor para recirculación de los lodos utilizado (dos unidades).



El mezclado mecánico se realizaba mediante una flecha de agitación con propelas, de diámetro 5/16", la cual trabajaba mediante un motor eléctrico con un controlador de velocidad (figura 4.5.).



Figura 4.5. Motor eléctrico y controlador de velocidad utilizado para la agitación del digestor (dos unidades).

4.2 ARRANQUE Y OPERACIÓN DE LOS DIGESTORES ANAEROBIOS MESOFÍLICOS.

Los dos digestores mesofílicos fueron puestos en funcionamiento previa inoculación con lodos provenientes de un digestor UASB (Digestor anaerobio de flujo ascendente y lecho de lodos) de una planta de tratamiento de agua residual de la industria donde proviene la levadura de cerveza. Los sustratos que se utilizaron en los digestores fueron, un subproducto del proceso de producción de cerveza, pan o vino, y lodo de los sedimentadores primario y secundario de la planta de tratamiento de aguas residuales de la misma industria.

Un digestor anaerobio se alimentó solo con levadura (digestor L) con una carga orgánica inicial aproximada de 0.7 gDQO/Ld (0.8 gSVT/Ld) y otro digestor fue alimentado con una mezcla de levadura-lodo 1:1 en volumen (combinación de lodo de los sedimentadores primario y secundario) (digestor L-L) con el mismo valor de carga orgánica inicial a la del digestor L.



Se estableció como criterio de aumento en la carga orgánica (g STV/L día) a los digestores la relación de alcalinidades (α). Cuando el valor de la relación α descendiera de 0.4, la alimentación de los digestores se detendría y se reanudaría cuando esta alcanzara nuevamente ese valor mínimo establecido. Este valor fue modificado durante la operación de los digestores a 0.3, esto para acelerar el proceso de arranque y posteriormente forzar el funcionamiento del sistema y poder observar su capacidad de adaptación.

La relación de alcalinidades (α) se obtiene al dividir el volumen de ácido sulfúrico al 0.2 Normal (N) utilizado en la titulación del contenido de los digestores hasta pH 5.75 entre el volumen total utilizado para L-Legar a pH final (4.3) (véase el punto 2.2.2.5 de este documento).

Inicialmente en la operación de los digestores no se tomó en cuenta el tiempo de retención hidráulica (TRH), lo cual fue modificado en el día 82 de operación de los digestores fijando el TRH en ambos digestores a 12.5 días esto para evitar la acumulación de sales en el sistema.

La levadura de cerveza pasó por un pre-tratamiento (autólisis) antes de ser alimentada a los digestores para facilitar su degradación. La cual consistió en realizar pruebas a diferentes tiempos y temperaturas en una autoclave, haciendo también mezclas de alcohol etílico y hidróxido de sodio con la levadura para observar si mejoraba la hidrólisis. El pre-tratamiento de la levadura que se utilizó finalmente en los digestores consistió en calentar la levadura sola a 120° C a una atmósfera de presión durante 30 minutos en la autoclave. En las figuras 4.1 y 4.2 se muestra la levadura vista en un microscopio antes y después de la autólisis.

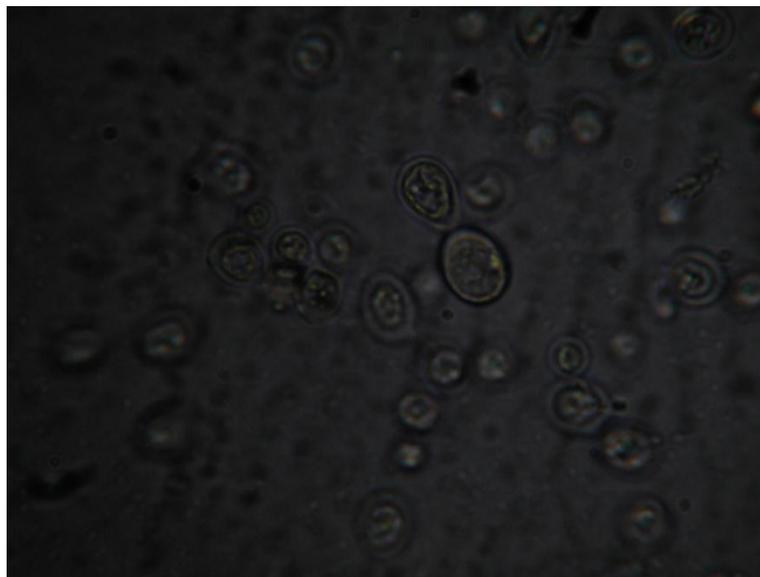


Figura 4.6. Levaduras *saccharomyces cerevisiae* no autolizada.

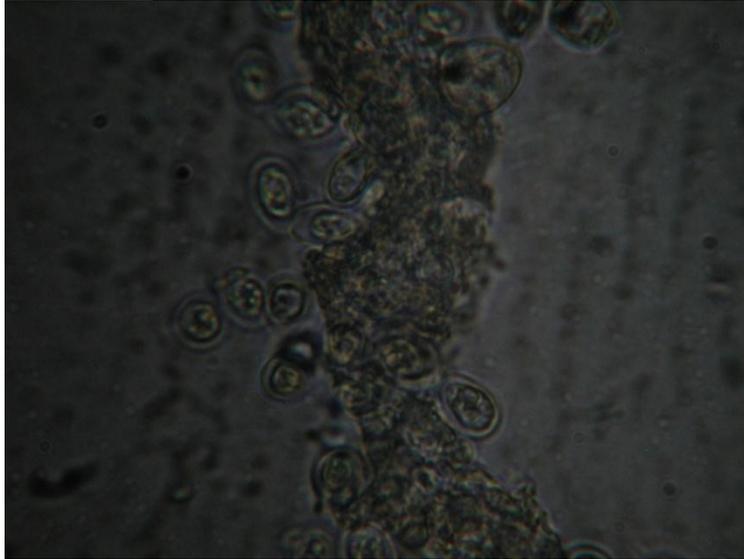


Figura 4.7. Levaduras saccharomyces cerevisiae autolizada.

4.3 TÉCNICAS ANALÍTICAS

En la evaluación del funcionamiento de los digestores durante el periodo de operación se emplearon métodos estandarizados. Los parámetros analizados, la técnica empleada y su frecuencia de medición para ambos digestores son indicadas en la tabla 4.1.

4.3.1. Técnicas analíticas no normalizadas.

La relación de alcalinidades se calculó de acuerdo con **Jenkins et al. (1983)**, como el cociente de la alcalinidad debida a los bicarbonatos entre la alcalinidad total, mediante la siguiente expresión indicada en el capítulo 2.2.2.5 de este escrito.

$$\alpha = \frac{Alc(HCO_3^-)_{5.75}}{Alc(total)_{4.3}}$$

Adicionalmente, en la etapa de operación de los digestores anaerobios L y L-L, se cuantificó la concentración de ácido sulfhídrico (H₂S) en el biogás, la cual se realizó con una bomba de pistón portátil, (figura 4.6), Sensidyne modelo AP-15 con tubo No. 120SF.

Tabla 4.1. Parámetros analizados durante monitoreo en la operación de los digestores anaerobios mesofílicos (35 °C).



Parámetro	Técnica	Frecuencia
Sólidos totales (STT; mg/L) Sólidos totales volátiles (STV; mg/L) Sólidos totales fijos (STF; mg/L)	MS	Tres veces por semana
pH (unidades de pH)	Potenciómetro	Diario
Temperatura (T; °C)	Termómetro	Diario
Alcalinidad (mg CaCO ₃ /L)	MS	Diario
Relación de alcalinidades (α; adimensional.)	CBPA-II	Diario
(DQO _s , mg/L) Demanda Química de Oxígeno Soluble	MS	Una vez por lotes de levadura Autolisada y de lodo de alimentación
Ácidos grasos volátiles (AGV; mg/L)	Cromatografía de gases	Dos veces por semana
Nitrógeno Amoniacal (mgN/L)	MS	3 veces por semana
Sulfuro de Hidrógeno (H ₂ S; ppm v/v)	Bomba pistón Sensidyne modelo AP-15 con tubo No. 120SF.	1 vez a la semana
Producción de biogás (L/d)	Medidor de gas húmedo	Diario
Composición de biogás (CH ₄ %)	Cromatografía de gases	Diario

MS: Métodos Estándar (APHA, 1999); CBPA-II, Manual de técnicas analíticas, Laboratorio de Ingeniería y Bioprocesos Ambientales, Instituto de Ingeniería, UNAM.



Figura 4.8. .Bomba portátil para determinar la concentración de H_2S .



5. RESULTADOS

5.1. PRUEBAS INICIALES.

Se realizaron pruebas de Demanda Química de Oxígeno Soluble (DQOs) y Sólidos Totales (ST) en sus tres formas (totales, volátiles y fijos) a la levadura de cerveza y al lodo (mezcla de primario y secundario) proveniente de la planta de tratamiento de agua de la planta productora donde provenía la levadura. Esta caracterización se utilizó como base para determinar el cálculo del volumen de alimentación de la levadura y la mezcla de levadura-lodo que sirvió como sustrato para alimentación a los digestores.

La levadura presentó alta concentración de DQOs en las primeras pruebas realizadas con respecto a los valores de DQOs de la combinación de lodos, por lo que se hicieron pruebas con diferentes diluciones hasta encontrar la más adecuada. Se realizaron diluciones desde 1:10 mL hasta 1:500 mL. La tabla 5.1 presenta los resultados de DQOs en g/L para el lodo y la levadura más representativos

Tabla 5.1. Resultados obtenidos de DQO_{soluble}.

	LODO	LEVADURA	
Dilución de la muestra v:v	1:100	1:250	1:500
DQOs (g/L)	8	194	127

La Tabla 5.2 muestra los resultados de sólidos totales determinados tanto a la levadura como al lodo. Es notoria aquí también la diferencia en ambos residuos. Estos valores se tomaron como base para determinar la carga orgánica a los digestores durante la experimentación.

Tabla 5.2. Resultados de sólidos totales en g/L.

	STT (g/L)	STF (g/L)	STV (g/L)	% volátil
Levadura	177	37	139	79
Lodo	23	14	9	39



Con el fin de determinar las mejores condiciones para el autolisado de la levadura se realizaron pruebas a diferentes condiciones de temperatura durante 15 minutos en una autoclave; y para eL-Lo diferentes mezclas de levadura, alcohol etílico al 7% v/v (volumen/volumen) y NaOH al 2% p/v (peso/volumen) así como pruebas a la levadura sola. Una vez realizada la autólisis de la levadura, se le hicieron pruebas de DQOs realizando una dilución para su cuantificación de 1:500 de levadura- agua respectivamente, en la tabla 5.3 se muestra los resultados obtenidos.

Tabla 5.3. Resultados de DQOs de la levadura autolisada, a partir de levadura cruda y en combinación con alcohol.

Resultados de la DQOs a diferentes condiciones					
Mezcla en v:v	2:1	1:1	1:1	Levadura	Levadura
Temperatura °C	100	120	100	120	100
DQOs (g/L)	83	96	87	178	158

Nota: En la mezcla v:v de la tabla, el primer número representa el volumen de levadura utilizado y el segundo representa el volumen de la mezcla (alcohol e hidróxido) que se utilizó.

De acuerdo con los resultados que se obtuvieron (tabla 5.3) se realizó una prueba final a la levadura sin dilución y sin ningun reactivo, a una temperatura de 120 ° C durante 30 minutos en autoclave. La levadura así tratada presentó una DQO soluble de 203 g/L (dilución de 1:500).

Los resultados de la levadura antes y después de ser autolisada (tabla 5.4.) muestran un aumento de 60% del valor de la DQO soluble y 25% de STV. Con este pre-tratamiento se alimentó la levadura a los digestores durante la experimentación. Se considero que el aumento de la los sólidos totales volátiles durante el proceso de autolisado se debió a evaporación de agua durante el proceso.



Tabla 5.4. Resultados de levadura antes y después de ser autolisada

	Primer Lote	
	Sin autolisar	Autolisada
DQOs (g/L)	127	203
STV (g/L)	139	172

La levadura cruda se lisaba en muestras de 1800mL en un matraz erlenmayer de 2000 mL, los resultados de STV y DQO soluble se muestran en la tabla 5.5. Se utilizaron durante la experimentación dos lotes de levadura.

Tabla 5.5. Resultados de levadura autolisada

Autolisado de Levadura		
Numero de Muestra (1800 mL)	Primer lote de levadura	
	STV (g/L)	DQOs (g/L)
1	172	201
2	168	193
3	172	205
4	185	195
5	187	202
6	174	193
7	163	198
8	170	201
Promedio	174±11	199±6
	Segundo lote de levadura	
9	112	123
10	113	119
11	110	119
12	112	124
13	112	122
14	102	118
15	101	120
Promedio	108±5	122±2



5.2. ARRANQUE DE DIGESTORES

El 23 de noviembre de 2007 se pusieron en operación los dos digestores mesofílicos **L y L-L**, utilizando para su inoculación el lodo anaerobio de un digestor UASB de la planta de tratamiento de agua residual de la cervecería.

Durante el periodo de pruebas y arranque (23 de noviembre del 2007 al 7 de enero del 2007), los digestores fueron operados sin alimentación ya que aún presentaban producción de biogás. En este periodo se identificaron y eliminaron fugas en la línea de biogás y se verificó que no existieran problemas en el funcionamiento del equipo (bombas, agitadores y motores) para asegurar una adecuada operación.

El martes 8 de enero del 2008 se inicio la alimentación a los digestores (día 1 de operación). El digestor L se alimentó con levadura sin pre-tratamiento con una carga inicial de 0.8 gSTV/Ld aproximadamente y el digestor L-L se alimentó con una combinación levadura-lodo 1/1 V/V con la misma carga inicial. Para esta carga, los volúmenes alimentados eran 30 mL de levadura para el digestor L y 54 mL de mezcla (27 mL de levadura y 27 mL de lodo) para el digestor L-L.

5.3 OPERACIÓN DE LOS DIGESTORES ANAEROBIOS

5.3.1 Carga orgánica aplicada al sistema, relación alfa (α) y conductividad

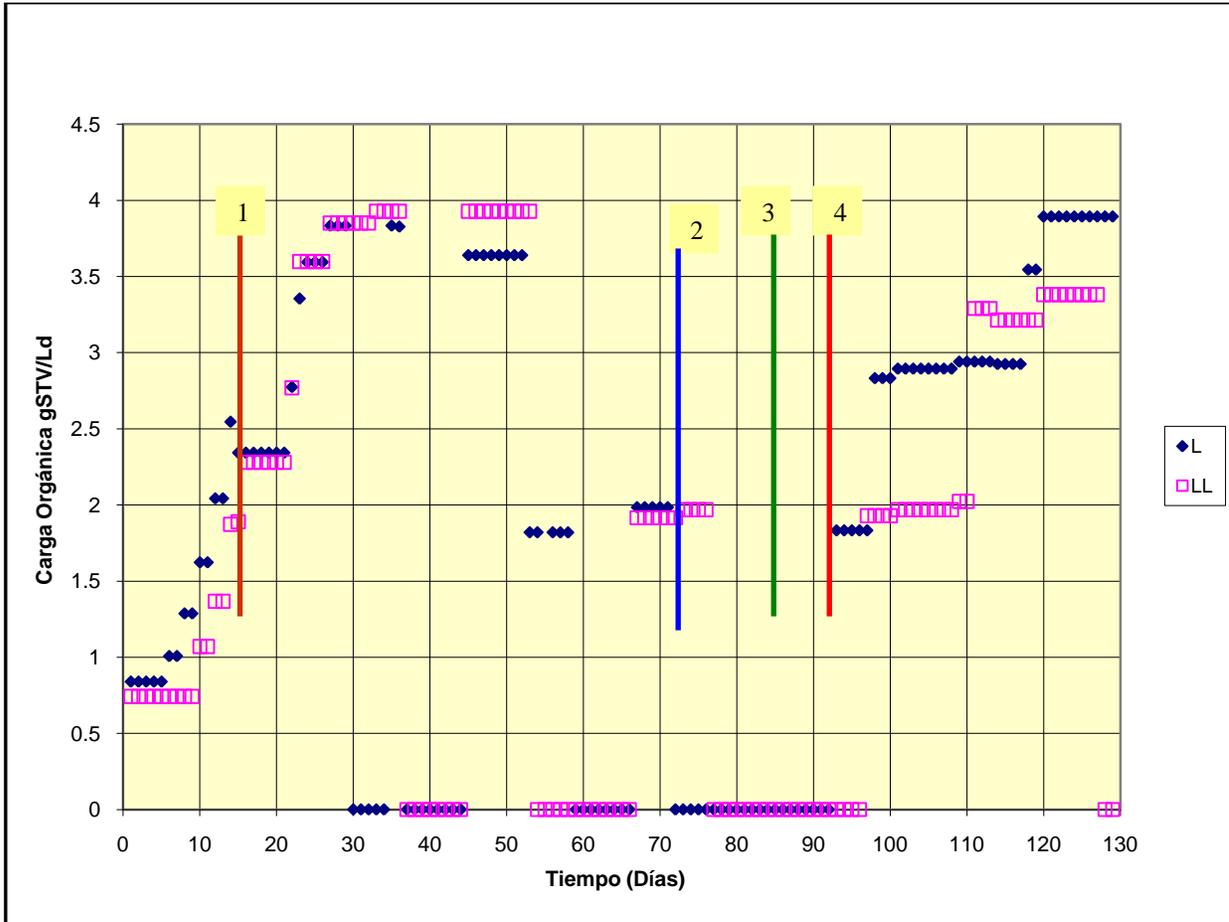
Se realizó el aumento de carga orgánica a los digestores tomando en cuenta la relación α en el sistema como el principal indicador de sobrecarga orgánica. Al principio de la experimentación el criterio fue de una relación α mayor a 0.4 que se aumentaría gradualmente la carga de los digestores; esto es un aumento alrededor del 25% ± 5 de la carga orgánica en la que estaba trabajando. Posteriormente el criterio se modificó a un α de 0.3 con el fin de acelerar el proceso de adaptación de los digestores.. Como se muestra en la figura 5.1, los digestores fueron incrementando su carga orgánica hasta L-Legar a 3.9 gSTV/Ld donde los valores de la relación α disminuyeron a 0.3, lo que indicaba sobrecarga del sistema.

Para esta carga, orgánica a la que se L-Lego (3.9 gSTV/Ld) los volúmenes alimentados eran 112 mL de levadura para el digestor L y 100 mL de levadura con 100 mL de lodo para el digestor L-L, lo que representaba un tiempo de retención hidráulico en los digestores de 45 días y 25 días respectivamente.

El digestor L comenzó con problemas de sobrecarga el día 29, mientras el digestor L-L los presentó hasta el día 36. Por consiguiente, ambos dejaron de alimentarse hasta que su relación α aumentó a un valor mayor de 0.3. La reanudación de alimentación fue con la misma carga orgánica de 3.9 gSTV/Ld. La figura 5.1 muestra las diferentes cargas orgánicas a las que fuera sometidos ambos



digestores. Por su parte la figura 5.2 presenta la evolución del indicador α para ambos digestores.

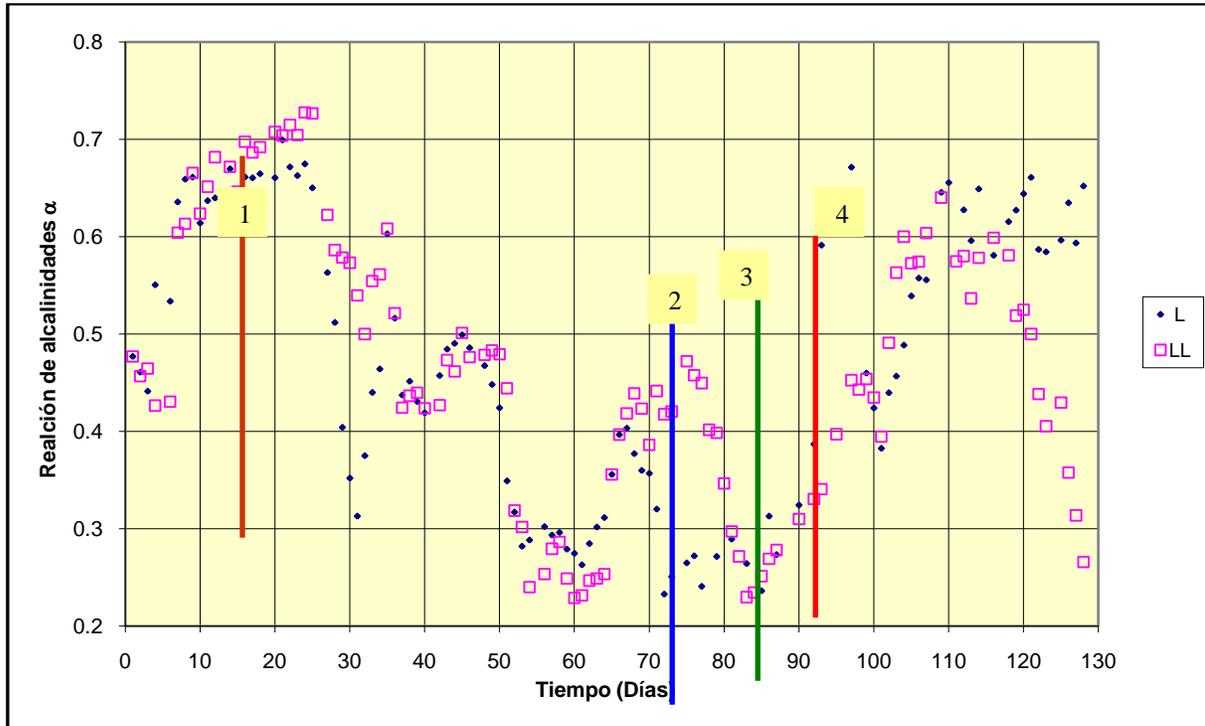


1. Cambio de la levadura cruda a levadura lisada; 2. Adición de solución de metales al digestor L.; 3. Dilución del digestor L a 1:1 en volumen; 4. Dilución del digestor L-L a 1:1 en volumen

Figura 5.1. Carga orgánica de los digestores L y L-L. Los puntos con valor de cero de carga orgánica indican que en esos días no se alimentó el digestor por sobrecarga.

El día 52, cuando el digestor L presentó nuevamente una disminución rápida de la relación α se decidió que la reanudación de la alimentación se relazaría cuando esta fuera mayor a 0.4 y la carga al sistema sería reducida en aproximadamente un 50%. Sin embargo, en el día 59, el digestor L nuevamente presentó un valor de α menor a 0.3 pese a que se había disminuido la carga orgánica al digestor.

Cabe señalar que durante este periodo de la experimentación el digestor L-L presentó los mismos problemas de L, pero algunos días después.



1. Cambio de la levadura cruda a levadura lisada;
2. Adición de solución de metales al digestor L.;
3. Dilución del digestor L a 1:1 en volumen;
4. Dilución del digestor L-L a 1:1 en volumen

Figura 5.2 Relación α de los Digestores L y L-L.

El día 67 se reanudó la alimentación del digestor L-L, esta vez con la carga de 1.9 gSTV/Ld; mientras tanto el digestor L se comenzaba a alimentar nuevamente ese mismo día, con la misma carga 1.9 gSTV/Ld luego el haber alcanzado el valor α de 0.4 después de una semana sin alimentación. Sin embargo, a pesar de la baja carga orgánica alimentada, el día 71 el digestor L descendió su valor de α rápidamente a un valor menor a 0.3.

En las figuras 5.3 y 5.4 se hace un comparativo del comportamiento de la carga orgánica vs relación α , en cual se puede observar el criterio de alimentación del sistema durante la operación de los Digestores L y L-L descrito anteriormente.

Por el comportamiento anterior el día 73 se le adicionó una solución de metales al digestor L **Metcalf & Eddy (1993, 2002)** recomienda la cantidad en mg de metales (cobalto, níquel, fierro y zinc) que por cada gramo de acetato producido debe contener un digestor para mejorar digestión anaerobia. La solución utilizada fue la recomendada por **Noyola y Tinajero, (2006)** (Fe 3 mg/gSV; Ni 0.5 mg/gSV; Co 0.3 mg/gSV y Mo 0.06 mg/gSV alimentado al digestor) pero una doble dosis: 6, 1, 0.6 y 0.12 mg/gSV respectivamente ya que solo se realizó una adición de la solución, para en forma tentativa observar si era por falta de micronutrientes lo que



ocasionaba la faL-La observada del digestor. Sin embargo la adición de la solución de metales al digestor no mejoró su funcionamiento, y por lo tanto este no presentó un aumento de la relación α pese a que el digestor ya no era alimentado.

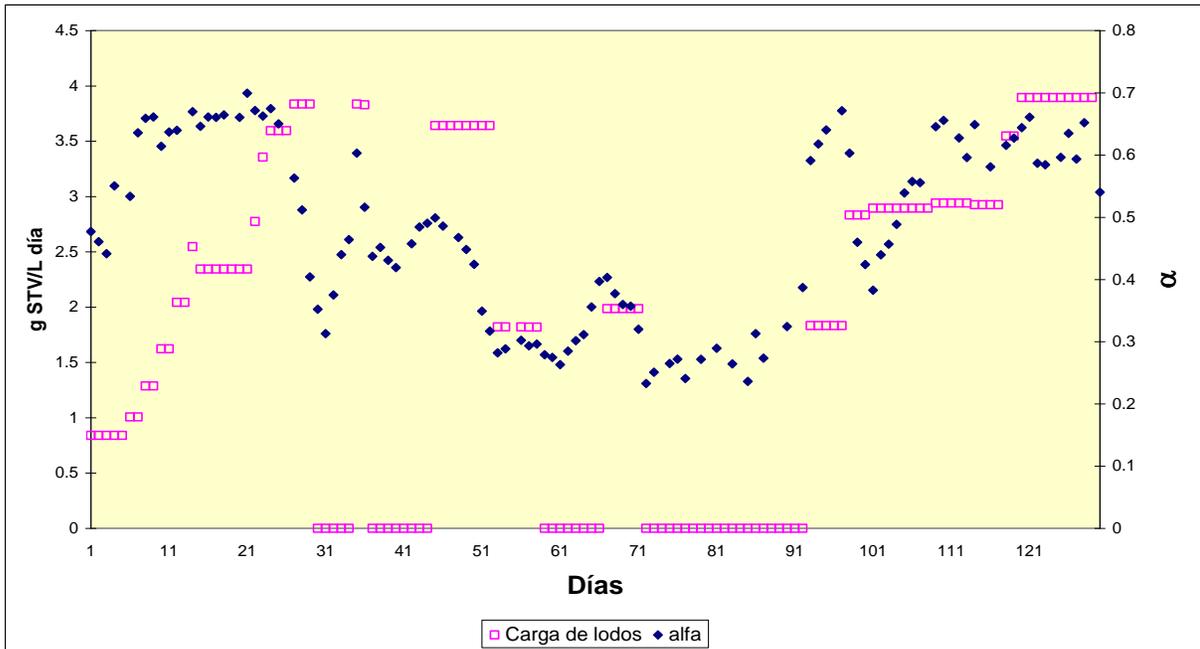


Figura 5.3. Comparativo de la carga orgánica (C.O.) y alfa (α) digestor L.

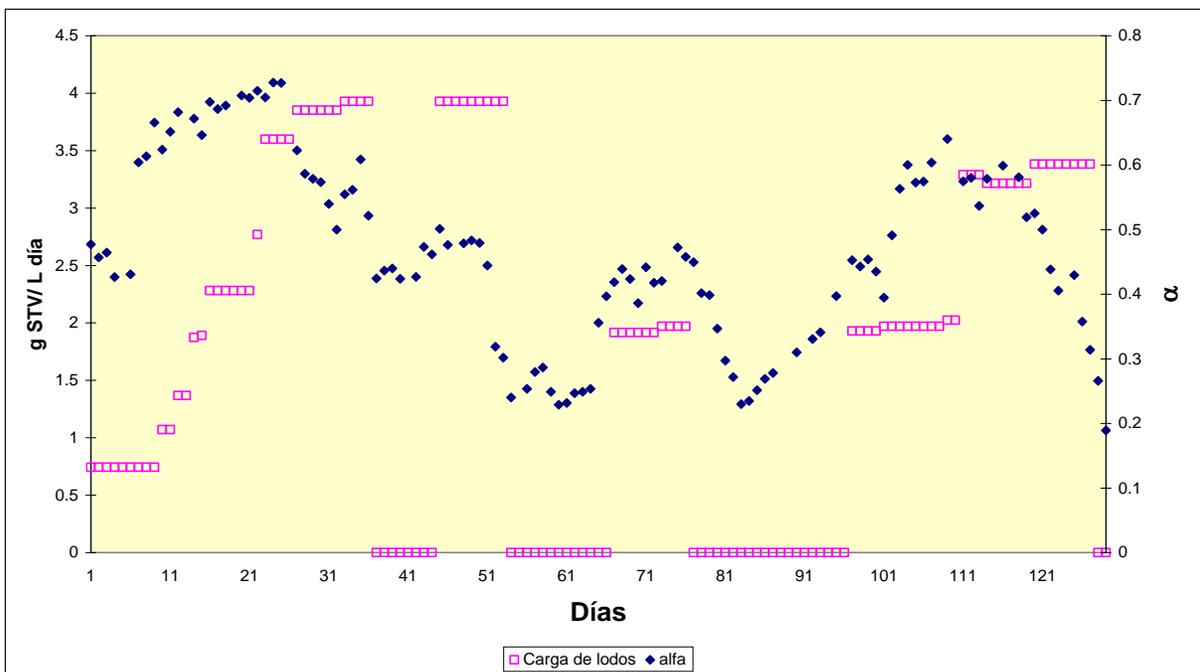


Figura 5.4. Comparativo de la carga orgánica (C.O.) y alfa (α) digestor L-L.



El digestor L-L presentó el mismo problema hasta el día 77, pero a éste no se le adicionó la solución de metales.

Durante este periodo se observó que la alcalinidad del sistema presentaba valores excesivamente altos, alrededor de 26,000 mg CaCO₃/L en el digestor L y de 24,000 mg CaCO₃/L en el digestor L-L. Estos son valores atípicos para una digestión anaerobia de lodos ya que los valores reportados oscilan entre 3000 a 7000 mg CaCO₃/L (**Jenkins et al., 1991 y Malina y Pohland, 1992**), actualmente **Álvarez et al., 2010**, reporta que mientras la digestión anaerobia se L-Leve a cabo con normalidad, la alcalinidad oscilará entre 2000 y 18000 mg CaCO₃/L dependiendo del sustrato a ser degradado.

Las altas concentraciones de alcalinidad y su constante incremento (figura 5.5.) indicaban que había una alta concentración de sales inorgánicas en el sistema. En ese momento se decidió medir diariamente la conductividad de las muestras de lodos de los digestores L y L-L a partir del día 70. En la figura 5.6 se presentan los resultados obtenidos del seguimiento a partir de ese día de los lodos digeridos, y desde el día 92 de alimentación a los digestores **L y L-L**.

Como se puede observar (tabla 5.6), la conductividad del sistema era muy alta, semejante a la del agua de mar, de 57 mS/cm en el digestor L y de 54 mS/cm en el digestor L-L. La levadura, rica en minerales y materia orgánica, incrementó paulatinamente, de acuerdo con los volúmenes alimentados, la concentración de sólidos disueltos fijos inicialmente presentes en el lodo de inóculo, como se verá más adelante, y con eL-Lo la alcalinidad y la conductividad. Es necesario hacer una caracterización de los iones inorgánicos que contribuyen a la conductividad de este residuo, para poder definir con mayor precisión su grado de inhibición.

Este resultado indicó que el efecto inhibitor que estaba impidiendo el mantenimiento de una carga de alimentación razonable era precisamente la alta salinidad del medio. Por este motivo, se decidió diluir el contenido de ambos digestores.

El día 85 se realizó una dilución del volumen del digestor L. Para eL-Lo se retiraron 2500 mL del lodo del digestor y se agregó el mismo volumen de agua. El volumen útil del digestor era de 5000 mL, por lo que se aplicó una dilución 1:1 o del 100%. Para el digestor L-L, en un inicio solo se realizó una dilución parcial, esto es, se retiraron 500 mL de lodo, agregando lo mismo de agua para tener los 5000 mL de volumen de tratamiento. Sin embargo, el día 92 se aplicó la misma dilución de 1:1 al digestor L-L, ya que no presentaba mejoría. Una vez hecha la dilución no se alimentaron los digestores, con objeto de permitir al sistema alcanzar el valor de α indicativo de reinicio de alimentación (0.4). El día 92 el digestor L L-Legó a un valor α mayor 0.4 y el digestor L-L lo hizo el día 97. En esos días, se recomenzó con la alimentación de 1.9 gSTV/Ld. Estos cambios se presentan en la figura 5.1.



Otro ajuste importante en la estrategia de alimentación, fue el alimentar con volumen constante, de 400 mL, para tener también un tiempo de retención hidráulica constante (12.5 días), además como una medida para no permitir incremento de sales en el sistema. Es así que a partir del día 86 los digestores reanudaron su alimentación con una carga de 1.9 gSTV/Ld, lo que representa un volumen de levadura de 50 mL (digestor L). Con la nueva directriz, se agregaron 350 mL de agua, para ser alimentados al digestor 400 mL de muestra diluída y así mantener un TRH de 12.5 días. Cabe señalar que el volumen de levadura alimentada (digestor L) y levadura-lodo (digestor L-L) dependía de acuerdo a los valores que se obtenía al realizar las pruebas de sólidos totales volátiles a la levadura lisada. Cuando el indicador α , permitía el incremento de la carga, se hacían los ajustes de volúmenes. Es así que si la carga era de 3.2 gSTV/Ld, ésta se conformaba de un volumen de levadura de 100 mL y de 300 mL de agua, sumando siempre 400 mL.

El criterio que se siguió para el aumento de la carga a los digestores fue que si su α era mayor a 0.6 se podría aumentar su carga orgánica, manteniendo el criterio de que si el α era menor de 0.3 se detendría la alimentación y se reanudaría hasta que α fuera mayor a 0.4.

A partir de la dilución en la alimentación (día 86) se pudo observar una notable mejoría en los digestores que se tradujeron en la disminución de la alcalinidad (figura 5.5) y de la conductividad (figura 5.6). Todos los indicadores mejoraron a partir de ese momento, como se verá a continuación.

Después de una semana de alimentación con una carga de 1.92 gSTV/Ld en los dos digestores, las condiciones fueron adecuadas para aumentar la carga, por lo cual en el día 98 (digestor L) y día 102 (digestor L-L) se incrementó a 2.90 gSTV/Ld aproximadamente, en ambos digestores.

Durante este periodo, los digestores mantuvieron un comportamiento relativamente estable lo cual permitió L-Legar a una carga en el digestor L de 3.2 gSTV/Ld y 3.5 gSTV/Ld en el digestor L-L.

Por último, el día 120 se decidió aumentar la carga a los digestores para ver su comportamiento en condiciones extremas. La carga a la que se L-Legó al término del estudio fue de 3.9 gSTV/Ld en el digestor L y de 3.4 gSTV/Ld en el digestor L-L.

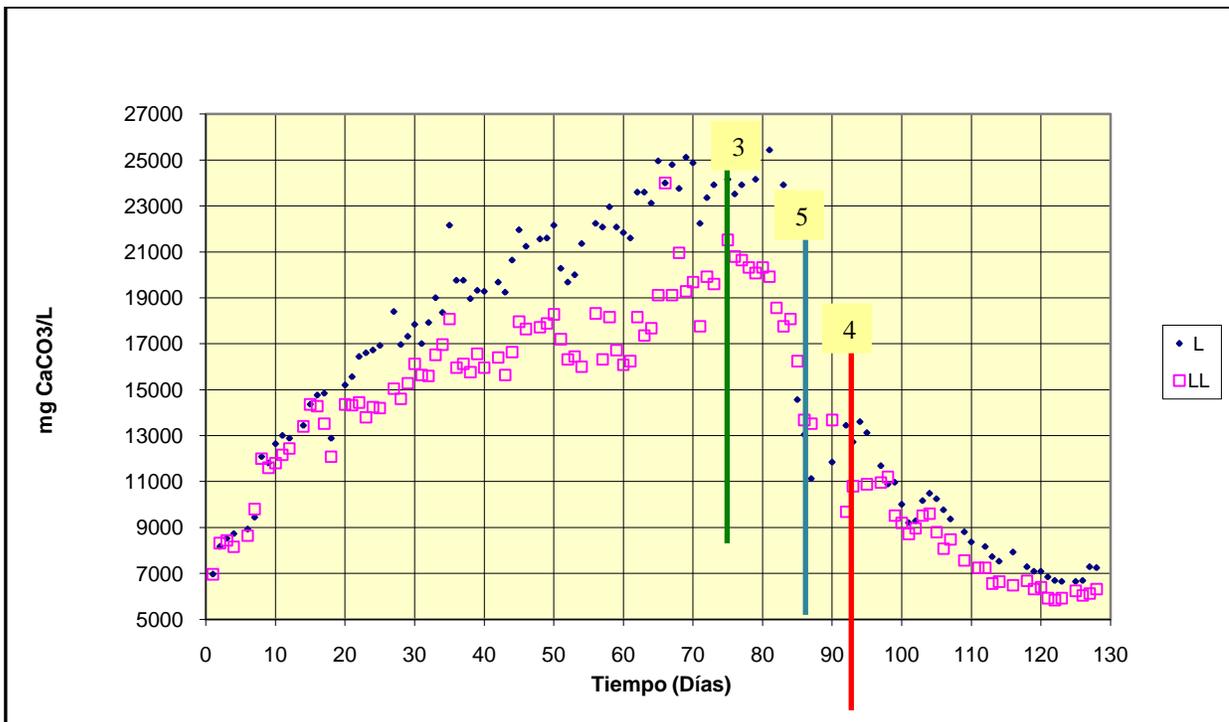
Se pudo observar la sobre carga en ambos sistemas, ya que se presentó una disminución en la producción de biogás, % de metano y %RSV en los digestores L y L-L.



Además el día 128 el digestor L-L presentó problemas en la relación de alcalinidades (α) y pH; por primera vez en toda la experimentación el digestor L-L Legó a valores de pH menores a 6.5 y una relación α menor a 0.2 lo cual indicaba la faL-La eminente del sistema.

5.3.2 Alcalinidad Total y conductividad eléctrica.

Como se puede observar en la figura 5.5, la alcalinidad fue aumentado a lo largo de los días e independiente a la carga orgánica alimentada. El notable aumento en la alcalinidad se debió a la generación de bióxido de carbono, producto normal de la digestión anaerobia, que era en este caso retenido en solución como bicarbonatos, dada la alta concentración de sales presentes en la levadura alimentada, así como la alta concentración de ácidos grasos volátiles en el contenido de los digestores como se verá más adelante. Se puede observar que la alcalinidad del digestor L-L era menor la que de L, lo que se explica por la dilución de la levadura que se efectuaba con el lodo combinación con que se alimentaba a este digestor, que se veía reflejado en tiempos de retención hidráulica (TRH) menores que en el digestor L. Esto resultó en una menor tasa de acumulación de sales, hasta el día 86 donde se modificó la estrategia de alimentación.



3. Dilución del digestor L a 1:1 en volumen; 4. Dilución del digestor L-L a 1:1 en volumen;
5 Alimentación de dilución de levadura a digestores L y L-L (400 ml)

Figura 5.5. Evolución de la alcalinidad total en el lodo digerido.



En efecto, en día 86 se realizó la dilución ya descrita en la alimentación de los digestores y en los días 85 y 92 en el contenido de los digestores L y L-L respectivamente para reducir la concentración de sales en el sistema.

La dilución en los 2 sistemas, así como el cambio de la alimentación, provocó el descenso súbito de la alcalinidad total por la alta dilución aplicada (1:1) y después paulatino y constante al alimentar con una un volumen mayor de agua de dilución. Aunque este descenso no se aprecia realmente en el grado esperado como lo muestra la figura 5.6. Al término del estudio, se alcanzaron valores promedio de alcalinidad de 7300 ± 700 y de 6500 ± 500 mgCaCO₃/L para digestor L y L-L respectivamente (Tabla 5.5).

La figura 5.6 muestra la evolución de la conductividad una vez realizada la dilución del contenido del digestor y de la alimentación, como ha sido mencionado previamente. Se muestra que el lodo digerido presenta valores que descienden paulatinamente, debido a la menor concentración de sales en la alimentación diluida. Eventualmente, la tendencia de ambos valores es a igualarse, lo que sucedería cuando todo el contenido de los digestores hubiera sido totalmente recambiado. Esto no se alcanzó debido a que la experimentación terminó antes. Los valores promedio la conductividad después de la dilución fue de 278 ± 30 mS y 275 ± 45 mS para los digestores L y L-L respectivamente.

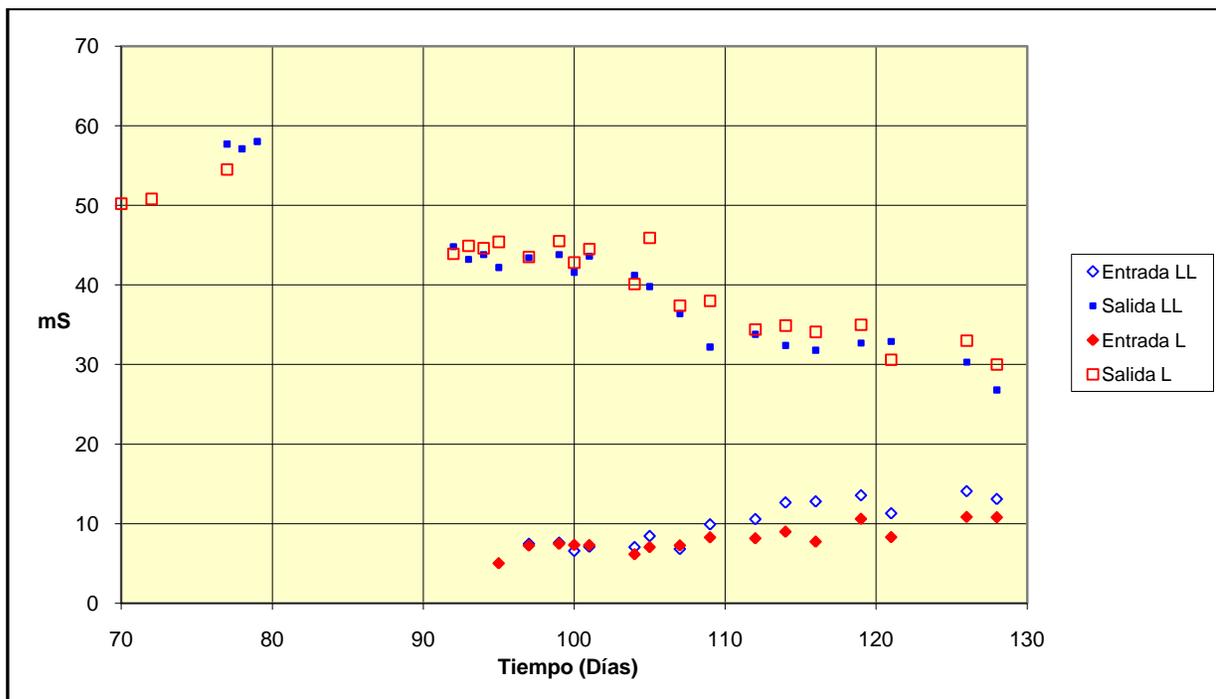


Figura 5.6. Evolución de la conductividad eléctrica después de realizada la dilución en los digestores y en su alimentación. Las entradas de ambos digestores ya eran diluidas a partir del día 86.



5.3.3. pH.

El pH de los digestores se mantuvo en un rango de oscilación durante su operación de 8.5 a 6.5 como lo muestra la figura 5.7. De acuerdo con la literatura, la digestión anaerobia puede llevarse a cabo dentro de un intervalo de pH comprendido entre 6.2 y 7.8, siendo el óptimo entre 7.0 y 7.2. Fuera de este óptimo, la digestión puede continuar aunque en forma ineficiente hasta un pH de 6.2, en donde las bacterias metanogénicas son afectadas severamente.

En esta figura, es claro que el pH del digestor L-L descende cuando la relación α lo hace (Figuras 5.7 y 5.2). Tal comportamiento es menos claro en el digestor L. Sin embargo en ningún caso, la alcalinidad refleja estas variaciones (figura 5.5)

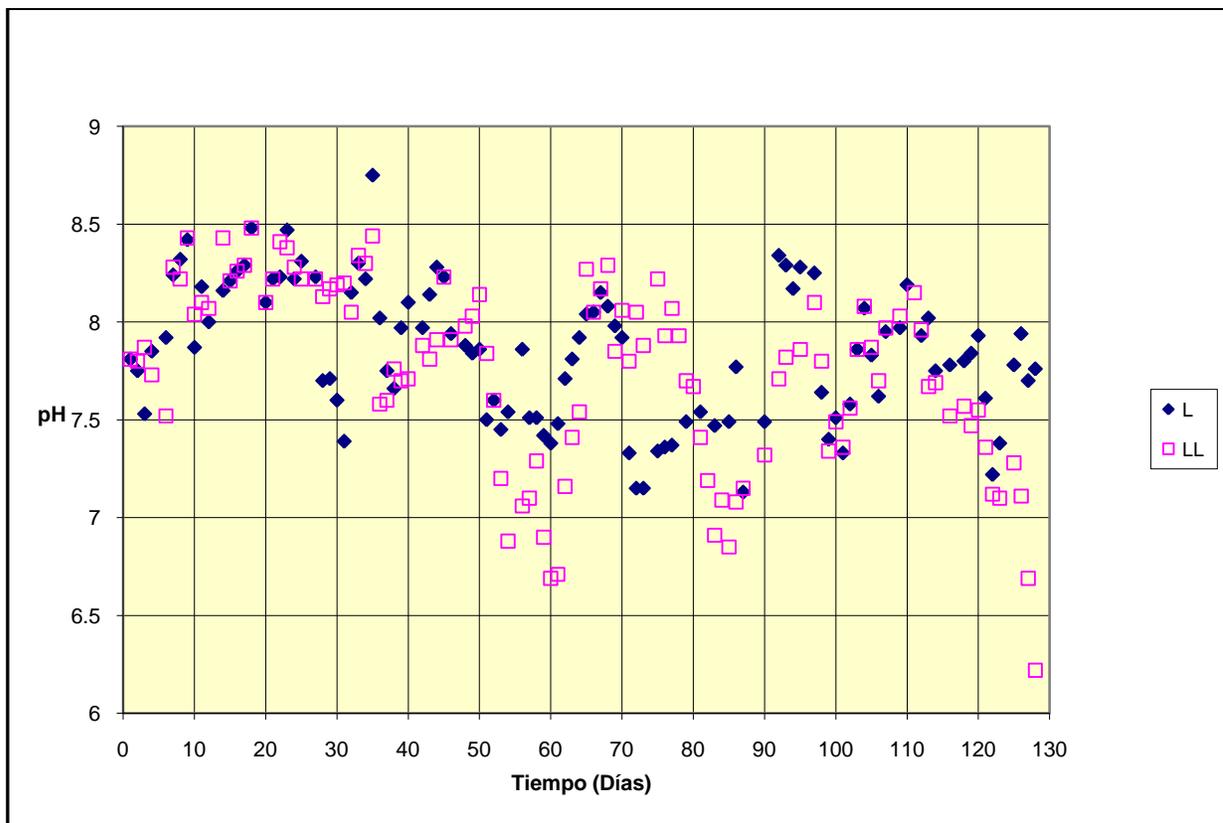


Figura 5.7. Evolución del pH.

5.3.4. Producción y composición del biogás.

Como lo muestra la figura 5.8, la producción de biogás era muy variable debido principalmente a la inestabilidad del sistema y a los paros en la alimentación que indicaba la estrategia de arranque adoptada. El biogás producido por el sistema



alcanzó sus valores más bajos los días 81 a 84 con un volumen de 310 mL de biogás para el digester L y los días 41, 42 y 93 con un volumen del orden 400 mL para el digester L-L. Las variaciones en la producción diaria de biogás son reflejo de los cambios en la carga de alimentación, como puede apreciarse comparando las figuras 5.1 y 5.8.

Después de la dilución de los sistemas (día 85 en el digester L y día 92 en el digester L-L) y la dilución en la alimentación para mantener un TRH constante (día 86) se observa en la figura 5.8 un incremento sostenido e importante en la producción de biogás. Este hecho parece confirmar que la causa principal de inestabilidad era la acumulación de sales y en consecuencia la inhibición de la actividad metanogénica. La producción de biogás alcanzó los 13 ± 2.6 y 12 ± 2 litros por día en promedio para los digestores L y L-L respectivamente (a 35°C y 0.77 atm de presión).

En la figura 5.8 también puede observarse la inestabilidad presentada por el digester L-L al término de la experimentación, correlacionándolo bien con la caída de la relación α (figura 5.2) y con el pH (figura 5.7).

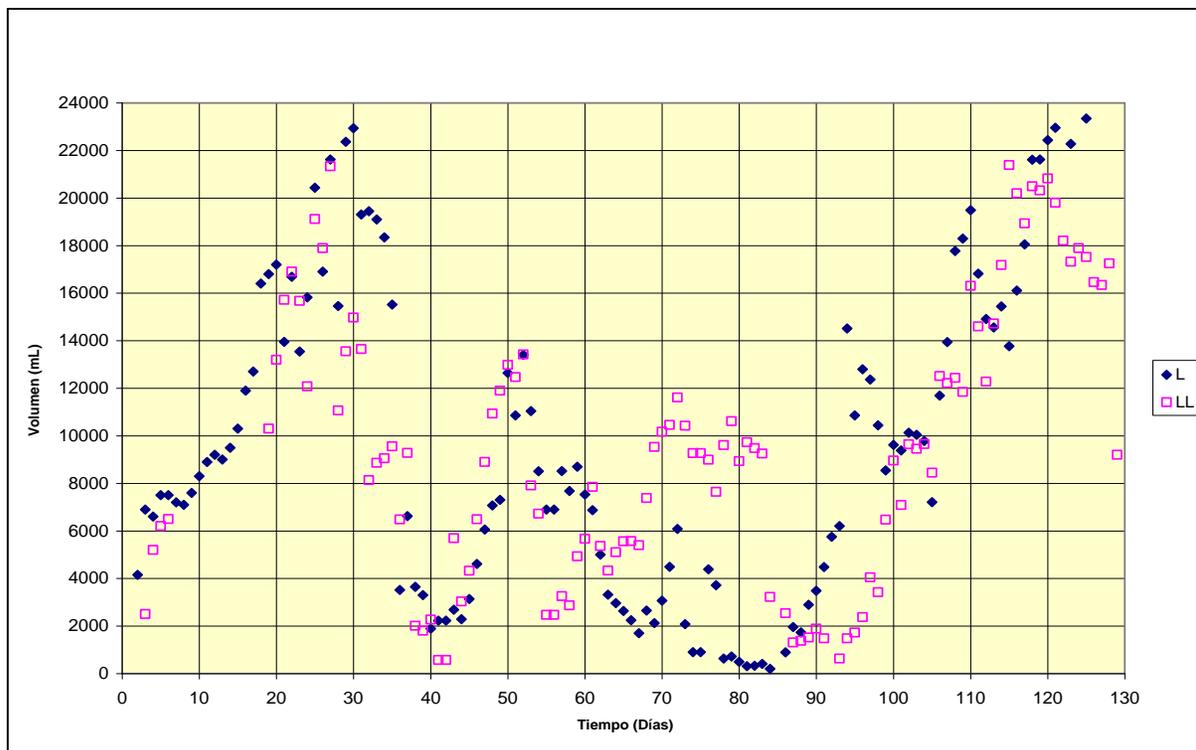


Figura 5.8. Producción de biogás a lo largo del estudio.



El porcentaje de metano (CH_4) en el biogás del sistema se vio afectado al igual que la producción de biogás por la variación en la carga de alimentación. La proporción de metano estuvo relacionada con el valor de pH y la relación α en el sistema, ya que una variación a la baja ocasiona una mayor proporción de CO_2 en el biogás en detrimento del % de metano.

En términos generales cuando el sistema se encontraba inestable la proporción de metano en el sistema era de 35 a 40 % y cuando el sistema se encuentra en mejores condiciones se alcanzaron valores de proporción de metano hasta de 75 a 80 % como se muestra en la figura 5.9. El promedio del % de metano en composición del biogas fue de $69 \pm 6\%$ en el digestor L y de $69 \pm 4\%$ en el digestor L-L.

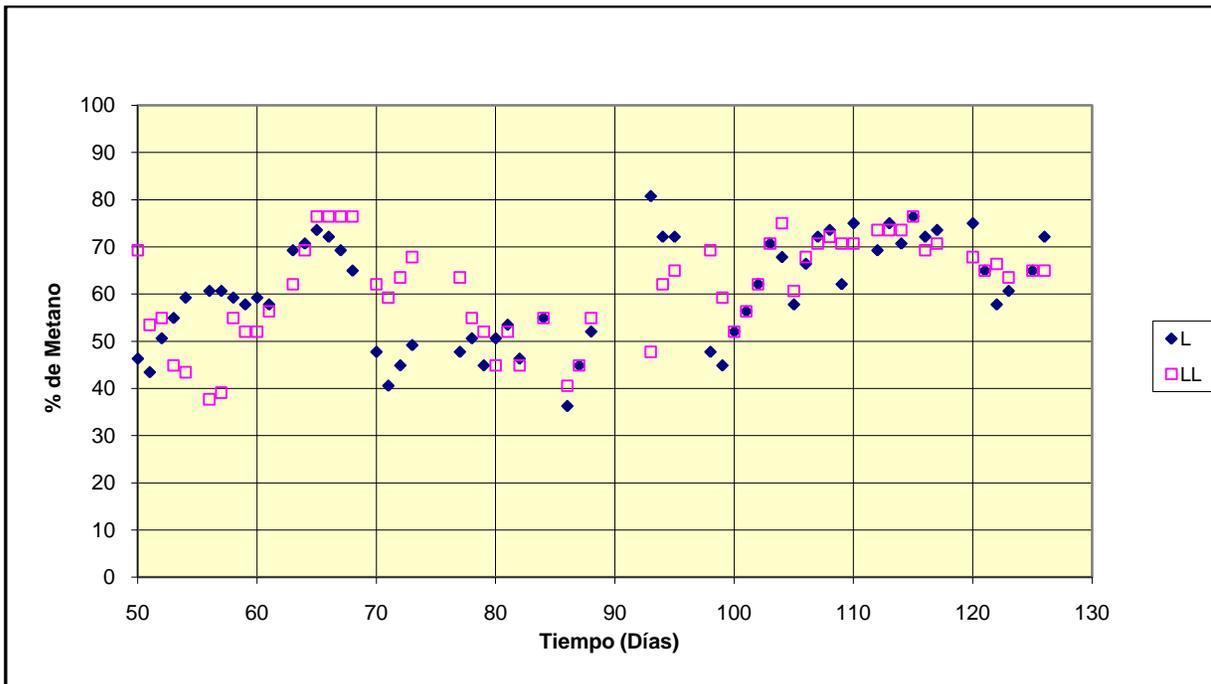


Figura 5.9. Porcentaje de metano en el biogás.

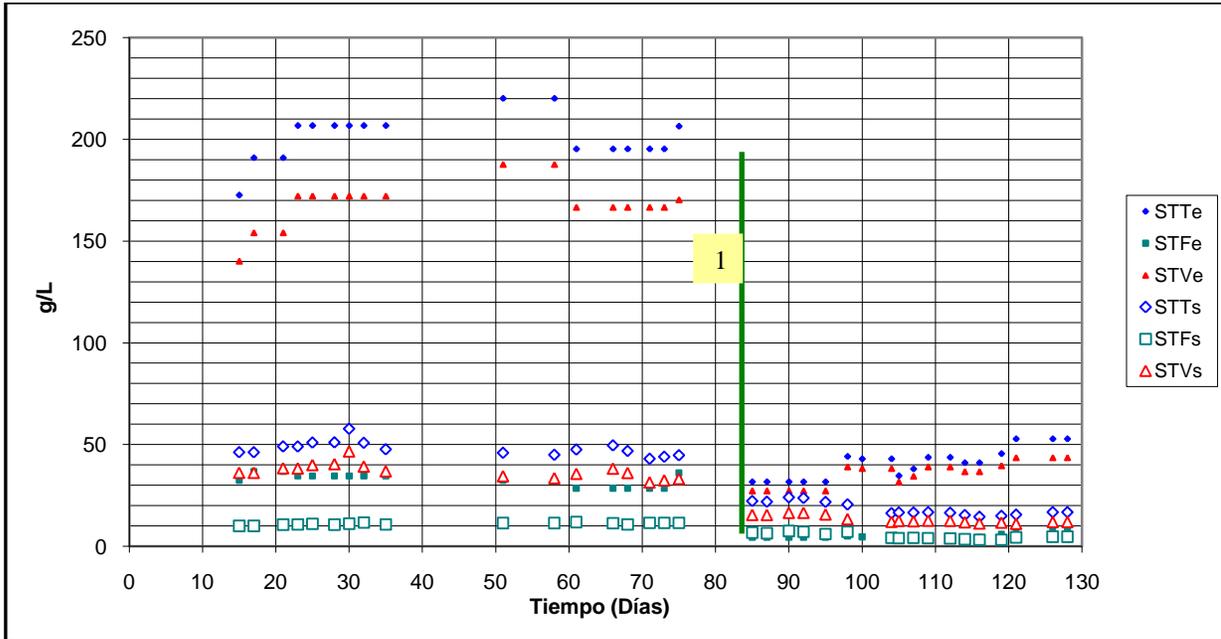
5.3.5. Sólidos totales de los sistemas.

Los valores de sólidos totales (STT) alimentados a los digestores eran muy altos como se observa en las figuras 5.10 y 5.11. La fracción de sólidos totales volátiles era muy significativa, del 86 % en promedio, resultado esperado de un sustrato de naturaleza predominantemente orgánica. Es conveniente señalar que un lodo de purga de una planta de tratamiento convencional, tiene un 70 a 75% de componente volátil.

La consecuencia de la alta concentración y de la elevada proporción de sólidos totales volátiles en la levadura, L-Levó a alimentar los sistemas con volúmenes

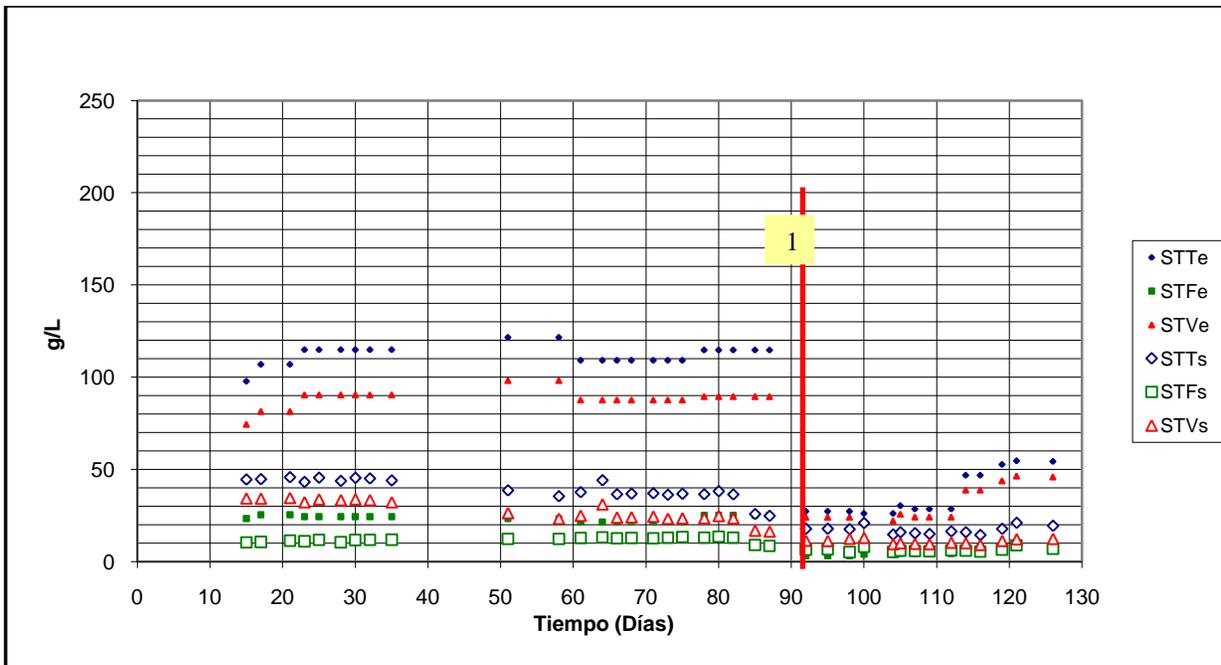


muy reducidos, como ya fue señalado, lo que resultaba en TRH muy largos. Al cambiar la estrategia de alimentación y diluir el sustrato, los TRH disminuyeron a valores más convencionales en digestores de lodos, (12.5 días).



1. Dilución del digester L 1:1 en volumen

Figura 5.10. Sólidos totales en sus tres formas para el digester L.



1. Dilución del digester L-L 1:1 en volumen

Figura 5.11. Sólidos totales en sus tres formas para el digester L-L.



Al término del estudio, la fracción volátil promedio de los lodos alimentados fue de 88 ± 3 % y 85 ± 2 % y de los lodos 75 ± 2 % y 64 ± 2 % para los digestores L y L-L respectivamente.

5.3.6. Porcentaje de Remoción de Sólidos Volátiles (%RSV).

El % de remoción de sólidos totales volátiles (%RSV) se mantuvo en aumento durante los primeros días de la operación de ambos digestores alcanzando una estabilidad alrededor del día 50 donde alcanzó un valor de remoción casi constante. Se puede observar en la figura 5.12 que el digestor L-L presentaba mayor remoción y constancia en su % de remoción que el digestor L. Esta diferencia puede tener una explicación en el diferente contenido de sales, dada la dilución que proporcionaba el lodo en la mezcla de alimentación al digestor L-L.

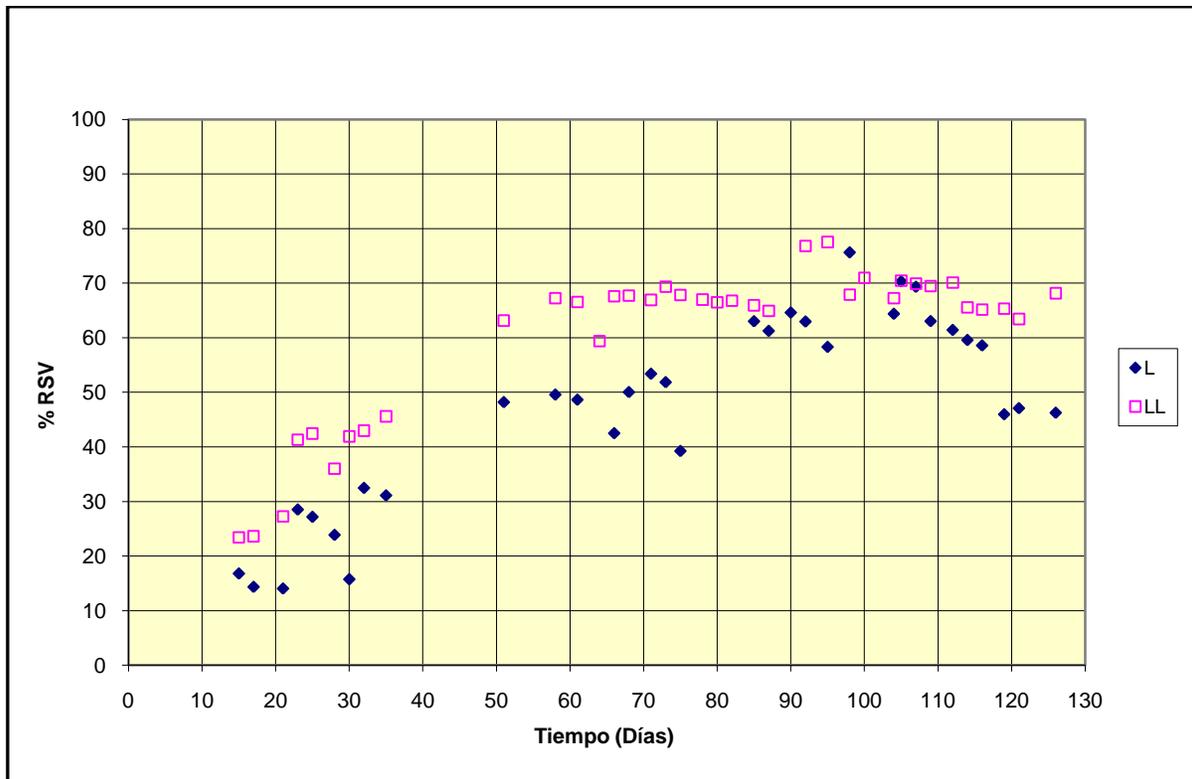


Figura 5.12. Porcentaje de remoción de sólidos totales volátiles (%RSV).

Después de realizar la dilución 1:1 en los digestores y de alimentar con un volumen de levadura más diluido, se logra un mayor %RSV en ambos, aunque en forma limitada. Los valores alcanzados fueron 58 ± 9 % y 69 ± 4 % para los digestores L y L-L respectivamente, los cuales son superiores a los comúnmente encontrados en digestores de lodos convencionales, que se limitan a un 50% en el mejor de los casos.



5.3.7. Ácidos Grasos Volátiles (AGV's).

Los ácidos grasos volátiles durante al operación del sistema de digestores L y L-L, presentaron valores muy altos comparados por los reportados por la literatura (tabla 2.3) en particular el digestor L. Los valores mas altos se presentan en los días 52 y 79 con un valor alrededor de 8000 mg/L de ácido acético en el digestor L (Fig. 5.13) y días 63 y 65 con un valor de 3500 mg/L de ácido acético en digestor L-L (Fig. 5.14). Estos valores hacen evidente que durante la operación y debido a la acumulación de sales se estaban presentando periodos de inhibición en los digestores como se explica anteriormente.

El ácido propiónico presenta concentraciones semejantes a las del ácido acético a partir de el día 40 en el caso del digestor L y en el caso del digestor L-L a partir del día 60, como se observa en la figuras 5.13 y 5.14.

Después de que se realiza la dilución en los digestores, los valores de AGV's en el sistema disminuyen significativamente y paulatinamente, L-Legando a valores de 500 a 650 mg/L y de 800 a 1000 mg/L de ácido acético en el digestor L y digestor L-L respectivamente.

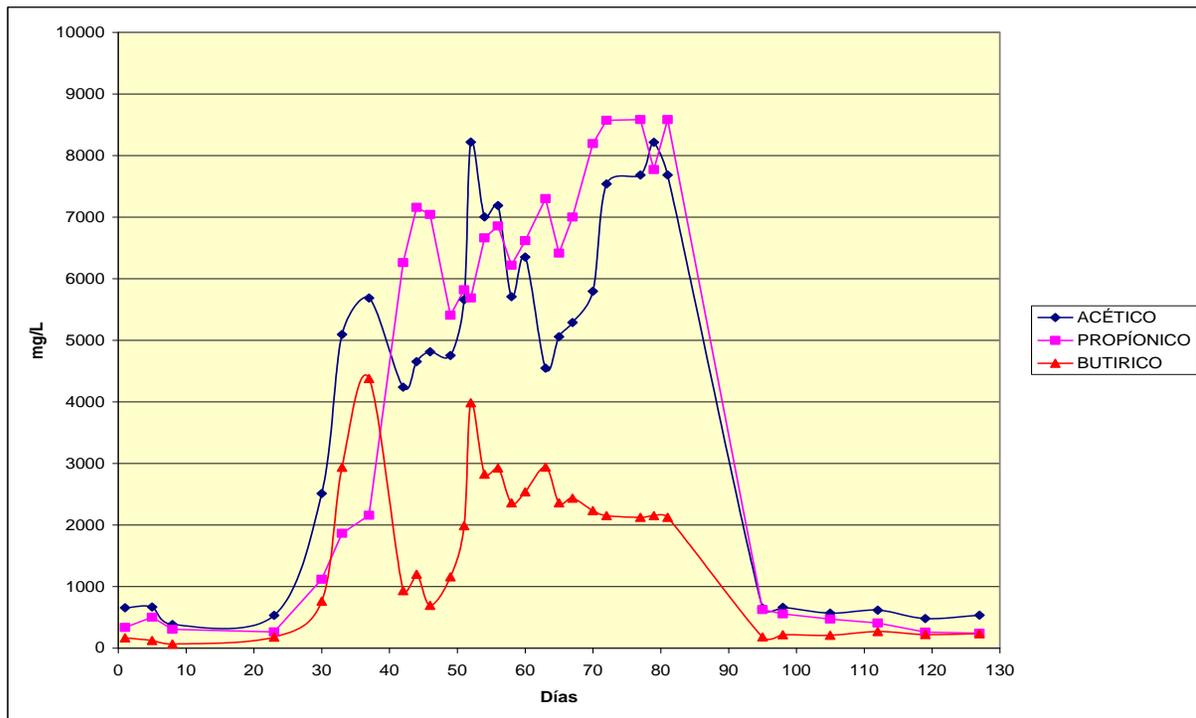


Figura 5.13. Valores de AGV's durante la operación del sistema. Digestor L.

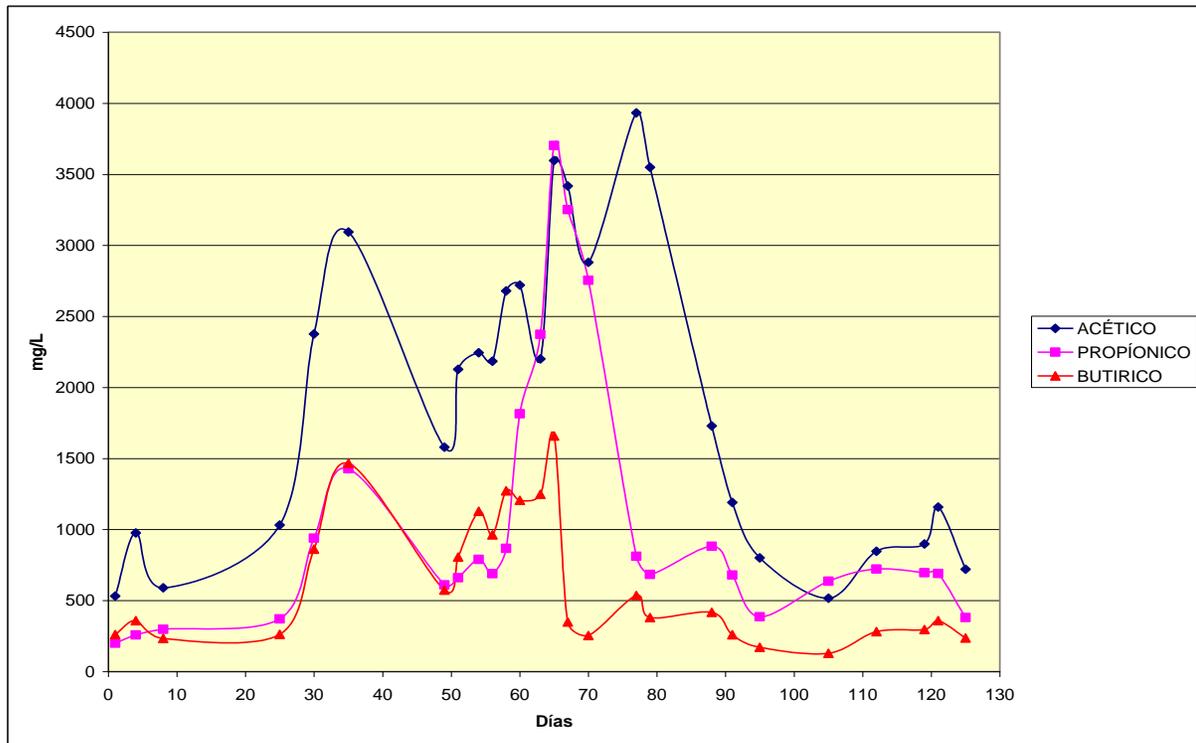


Figura 5.14. Valores de AGV's durante la operación del sistema. Digestor L-L.

Los valores promedio de ácido acético después de la dilución fueron de 580 ± 70 mg/L y 800 ± 210 mg/L, de ácido propiónico fueron de 401 ± 151 mg/L y 565 ± 159 mg/L y de ácido butírico fueron de 220 ± 28 mg/L y 232 ± 85 en el digestor L y digestor L-L respectivamente.

5.3.8. Sulfuro de Hidrógeno (H_2S) y Nitrógeno Amoniacal ($N-NH_3$).

Las pruebas de sulfuro de hidrógeno (H_2S) y de nitrógeno amoniacal ($N-NH_3$) se realizaron para verificar la concentración y eventual inhibición de estos productos en la digestión anaerobia de la levadura. Se ha reportado en la literatura que el nitrógeno amoniacal y el sulfuro de hidrógeno pueden provocar problemas en los microorganismos metanogénicos. Para ambos compuestos, el grado de inhibición estará en función de su concentración y del pH.

Con lo que respecta a la producción de H_2S (tabla 5.6), en ambos digestores las concentraciones medidas en el biogás son bajas, lo que demuestra que en el medio líquido también lo serán (equilibrio líquido gas, de acuerdo con la ley de Henry). Este compuesto no causaría problemas de inhibición en la digestión anaerobia de levaduras. Es de notar que el biogás de digestores de lodos



convencionales alcanza valores del orden de 10 veces mayores a los registrados en este estudio. La dilución aplicada en ambos (día 85 y 92 para digestores L y L-L respectivamente) tuvo efectos en el contenido de H₂S en el biogás, con una marcada reducción en su presencia, alcanzando los mismos valores en ambos digestores.

Tabla 5.6. Concentración (volumen/volumen) de sulfuro de hidrógeno (H₂S) en el biogás.

Día muestra	Digestor L (ppm)	Digestor L-L (ppm)
57	100	50
65	50	50
72	150	50
79	0	50
95	50	0
105	25	25
120	25	25

En el caso del día 79 para el digestor L, este no presentó concentraciones de sulfuro de hidrógeno debido principalmente a que el digestor se encontraba en su etapa más baja de producción de biogás (alrededor de 500 mL), lo que explica que el sulfuro de hidrogeno se encontraba en concentraciones no detectables por la prueba realizada.

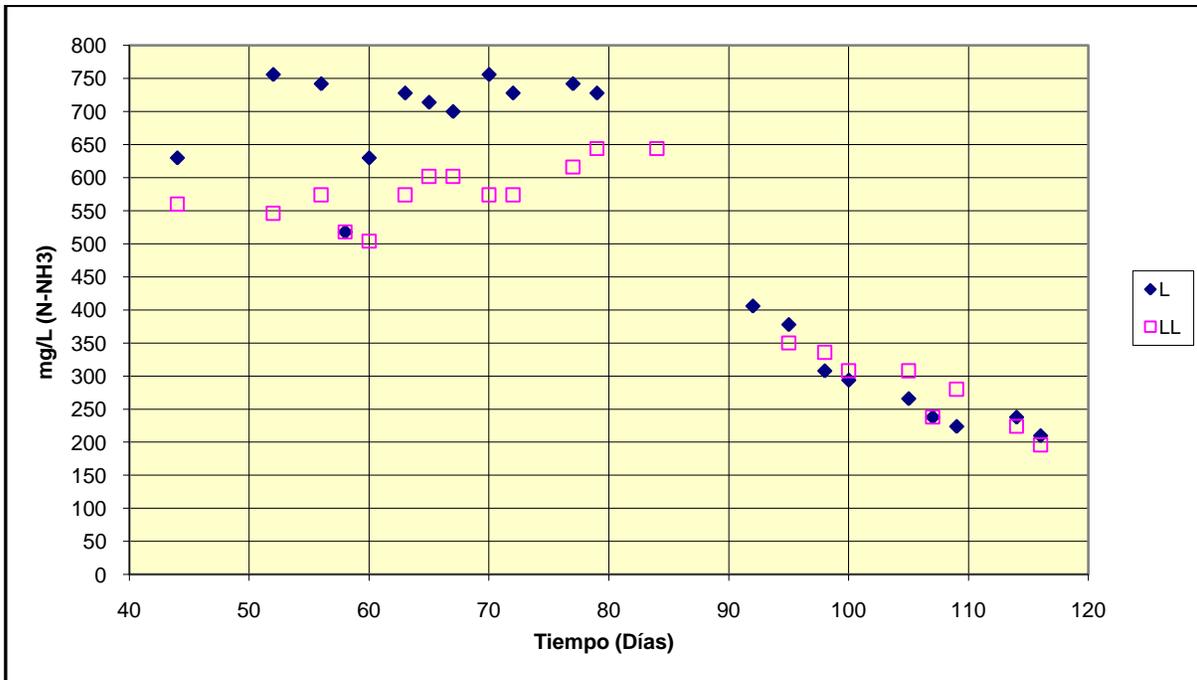


Figura 5.15. Concentración de nitrógeno amoniacal en los lodos digeridos



En el caso del nitrógeno amoniacal, la figura 5.15 presenta las concentraciones obtenidas en los lodos después de la digestión. En este caso, también es notoria la reducción en la concentración después de aplicar la dilución en los digestores y en su alimentación, igualándose para los dos casos. Los valores de $N-NH_3$ se mantuvieron relativamente constantes y por debajo de los valores considerados inhibitorios (arriba de 1500 mg/L en términos generales para un pH alrededor de 7.5 como fue el caso en este estudio).

Tabla 5.7. Datos de operación y caracterización en la etapa final del estudio (después de la dilución)

DIGESTOR	L	L-L
TRH (d)	12.5	12.5
Temperatura (°C)	35.0	35.0
Volumen de alimentación (mL/d)	400	400
Carga orgánica alimentada (g SV/Ld)	3.5	3.3
pH	7.79± 0.25	7.53± 0.34
Alcalinidad (mg CaCO ₃ /L)	7355 ±711	6486 ±534
Relación de alcalinidades (a)	0.62 ±0.03	0.51 ±0.08
RSV (%)	58 ±9	69 ±4
Biogás TPN (mL/d)	13221 ±2584	11827 ±1931
CH ₄ (%)	69 ±6	69 ±4
Conductividad mS (entrada)	8 ±2	10 ±3
Conductividad mS (salida)	38 ±6	36 ±6
Dilución alimentación (levadura-agua)	1:1.8	1:1:0.35
Sólidos volátiles influente (g SV/L)	35 ±6	39 ±9
(SV/ST) % influente	88 ±3	85 ±2
Sólidos volátiles efluente (g SV/d)	13 ±2	13 ±5
(SV/ST) % efluente	75 ±2	64 ±2
H ₂ S en ppm v/v y (%)	25 (0.0025%)	25 (0.0025%)
E digestor (%) (remoción de sólidos totales totales)	70	75
m ³ CH ₄ TPN/kg SV alimentado	0.56	0.53

Notas: 1.- La dilución en el digestor L-L es en V/V donde el primer número es la cantidad de levadura en mL, el segundo es la cantidad de lodo en mL y el tercero es la cantidad de agua en mL. 2.- Temperatura y presión normales (TPN)



En la tabla 5.7 se presenta un resumen de los principales resultados de este trabajo. Se realizó un análisis estadístico y los datos se refieren a la última etapa de la operación de los digestores, cuando ya se aplicaba la dilución en la alimentación (día 85).

Como se muestra en la tabla 5.7 el pH indica que ambos digestores se encontraban en operación estable de acuerdo a la tabla 2.3. La relación de alcalinidad α también presenta valores que indican que los digestores operan adecuadamente, de acuerdo a lo reportado por **Noyola, 1994**. Los valores de la alcalinidad total siguieron siendo altos, entre 6500 y 7500 mg/CaCO₃, pero esto no afectó la operación de los digestores.

El porcentaje de remoción de sólidos volátiles RSV(%) en ambos digestores presentó un valor alto, superior al mínimo requerido por la **NOM-004-SEMERNAT-2002** (anexo I) en el tratamiento de lodos por digestión anaerobia que es de 38%. Esto se ve reflejado en el alto volumen de biogás producido en ambos digestores.

De acuerdo con los resultados observados durante la experimentación, en una operación a escala real, la levadura puede ser tratada realizando una dilución con lodo de purga primario y secundario o con efluente de la planta de tratamiento, inclusive con agua residual cruda, siempre que se garantice que la conductividad eléctrica no exceda de 15 mS/cm (aproximadamente 8 g/L de sólidos disueltos fijos) para garantizar una adecuada operación del digester y no presente problemas de operación por inhibición de acumulación de sales.



6 CONCLUSIONES

Existe poca información en la literatura con relación tratamiento de levaduras y utilizando la levadura como sustrato en digestión anaerobia.

La levadura de cerveza en términos generales presento una alta degradabilidad utilizando la digestión anaerobia, ya que redujo considerablemente los sólidos volátiles presentes en la levadura, que se vio reflejada en los valores de %RSV que fueron en el orden de 58 ± 9 y 69 ± 4 en el digester L y L-L respectivamente, obteniendo valores de generación de biogás alrededor de 13 L/d y un % de metano del 69%. Además se encontró que el principal inhibidor de la digestión anaerobia de las levaduras (sin dilución) es el contenido de sales minerales (sólidos fijos totales) en la levadura, característico de este subproducto. Los sulfuros (o sulfuro de hidrógeno) y el nitrógeno amoniacal se presentan en concentraciones por debajo de valores considerados como inhibitorios.

Una vez aplicada una dilución de 1:1.8 v/v levadura-agua en el digester L y de 1:1:1.35 levadura-lodo-agua en el digester L-L, se presentaron condiciones adecuadas para su degradación por digestión anaerobia en cargas orgánicas del orden de 3.5 g STV/Ld y un tiempo de retención hidráulica de 12.5 días.

El digester que fue alimentado solo con levadura (digester L) presenta un menor porcentaje de remoción de sólidos volátiles (%RSV) que fue en el orden de 58% vs 69% que presentó el digester alimentado con la combinación levadura lodo (digester L-L) además de mayor producción de biogás en el orden de 13 litros por día vs 11 litros por día que produjo el digester L-L. Para el digester L el proceso parece ser más estable, pues el valor de la relación α fue más constante y se estabilizó en un valor mayor, además que soporto mayores cargas orgánicas. La carga del digester L al final de esta experimentación fue de 3.9 g STV/Ld y aun mantenía su estabilidad mientras el digester L-L L-Lego a una carga de 3.2 g STV/Ld y su comportamiento era relativamente inestable.

En la digestión anaerobia de levaduras con una dilución del orden de 1:2 v/v se puede esperar una reducción de sólidos totales volátiles del orden del 65%, una producción de metano de 0.55 m^3 por kg de sólidos totales volátiles alimentados (metano a condiciones normales de temperatura y presión) con un porcentaje de 66% en el biogás. La producción de biogás en términos de volumen de digester sería de casi 3 volúmenes por día.

En una operación a escala real, la levadura puede ser diluida con lodo de purga primario y secundario o con efluente de la planta de tratamiento, inclusive con agua residual cruda. Como una primera recomendación, la conductividad eléctrica debe estar por debajo de 30 mS/cm (aproximadamente 16 g/L de sólidos disueltos fijos) lo que implica una dilución de la levadura en el orden de 1:2.5 v/v considerando que esta levadura presentaba una conductividad eléctrica alrededor



de 55 mS/cm. Este hecho podría requerir un cierto aporte de agua de calidad potable, con menor concentración de sales que las corrientes de agua residual cruda o tratada.

Se debe mantener alimentaciones al digestor de 3.2 g STV/Ld aproximadamente, independiente del tipo de alimentación, que puede ser con levadura cruda o en combinación con lodos (primario y secundario) y cuidar que los TRH sean cortos (10 a 15 días) esto para garantizar una adecuada operación del digestor.



ANEXO

Técnicas analíticas utilizadas



1. NITRÓGENO AMONIACAL

Determinación de nitrógeno amoniacal (Adecuación de la técnica descrita en el Standard Methods para utilizarse en el equipo Büchi).

Material

- ✓ Aparato de destilación Büchi
- ✓ Tubos Büchi

Soluciones

Solución Buffer de boratos: Se Adicionaron 88 ml de una solución de NaOH 0.1 N a 500 ml de una solución de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0.025 M (9.5g de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$ en 1000 ml de agua) y se diluyeron a 1000 ml con agua destilada.

Solución indicadora de ácido bórico: Se disolvieron 20g de H_3BO_4 en agua destilada libre de amonio. Se adicionaron 10 ml de la solución indicadora mixta y se diluyó a 1000 ml. Esta solución debe prepararse mensualmente.

Solución estándar de H_2SO_4 0.02N: Se diluyeron 5.6 ml de H_2SO_4 concentrado en 1000 ml de agua destilada o desionizada. Posteriormente esta solución se estandarizó con 100 ml de una solución de Na_2CO_3 (40 ml de una solución de Na_2CO_3 0.05 N y 60 ml de agua). Se tituló hasta alcanzar un pH = La solución de hirvió de 3 a 5 minutos tapándose con un vidrio de reloj. Finalmente se dejó enfriar a temperatura ambiente.

Cálculo de la normalidad de la solución:

$$N = \frac{(A \times B)}{(C \times 53)}$$

Donde:

A = g de Na_2CO_3 que se encuentran en el matraz volumétrico de 1000 ml

B = ml de la solución de Na_2CO_3 tomados para la titulación

C = ml de ácido usados en la titulación

1 ml de ácido 0.1 N = 5 mg de CaCO_3

Procedimiento

1.- Se lavó el equipo de destilación (equipo Büchi) con un blanco (tubo Büchi con 100 ml de agua destilada y 10 ml de buffer de boratos y pH ajustado a 9.5)



2.- Se colocaron 100 ml de la muestra diluida (20/100) en un tubo tubo Büchi. Se le adicionarón 10 ml de la solución buffer de boratos y se le ajustó el pH a 9.5.

3.- Se destiló la muestra para ser recibida en 25 ml de solución de ácido bórico. El tiempo de destilación fue de 5 minutos.

4.- Posteriormente se tituló con H_2SO_4 0.02N.

5.- Para la titulación fueron preparados dos blancos, el correspondiente al lavado y el correspondiente a muestra problema.

Determinación de nitrógeno total (Adecuación de la técnica descrita en el Standard Methods para utilizarse en el equipo Büchi).

Material

- ✓ Aparato de destilación Büchi
- ✓ Tubos Büchi
- ✓ Aparato de digestión Büchi

Soluciones

Solución de Hg_2SO_4 : Se disolvieron 8 g de HgO rojo en 100 ml de H_2SO_4 6 N

Reactivo de digestión: Se disolvieron 134 g de K_2SO_4 en 650 ml de agua destilada y 200 ml de H_2SO_4 concentrado. Posteriormente fueron adicionados con agitación 25 ml de la solución de Hg_2SO_4 . La solución combinada fue diluida a 1000 ml. Está solución se conservó a 20°C para evitar su cristalización.

Solución de NaOH – $Na_2S_2O_3$: Se disolvieron 500 g de NaOH y 25 g de $Na_2S_2O_3$ * 10 de H_2O y se aforaron en un matraz de 1000 ml con agua destilada.

Solución Buffer de boratos: Se Adicionaron 88 ml de una solución de NaOH 0.1 N a 500 ml de una solución de $Na_2B_4O_7$ 0.025 M (9.5g de $Na_2B_4O_7$ * 10 H_2O en 1000 ml de agua) y se diluyeron a 1000 ml con agua destilada.

Solución de NaOH 6 N

Solución indicadora mixta: Se disolvieron 200 mg de indicador rojo de metilo en 100 ml de alcohol etílico. Se disolvieron además 100 mg de azul de metileno en 50 ml de alcohol etílico. Ambas soluciones fueron combinadas y preparadas mensualmente.

Solución indicadora de ácido bórico: Se disolvieron 20g de H_3BO_4 en agua destilada libre de amonio. Se adicionaron 10 ml de la solución indicadora mixta y se diluyó a 1000 ml. Esta solución debe prepararse mensualmente.



Solución de $\text{Na}_2\text{CO}_3 \pm 0.5 \text{ N}$: Se secaron de 3 a 5 g de Na_2CO_3 (estándar primario) a 250°C por 4 horas en una estufa, posteriormente se dejaron enfriar a temperatura ambiente en un desecador. Ya seco el reactivo, se pesaron 2.5 ± 0.2 g y se transfirieron a un matraz volumétrico de 1000 ml donde fue disuelto poco a poco con agua destilada para finalmente ser aforados.

Solución estándar de $\text{H}_2\text{SO}_4 0.02\text{N}$: Se diluyeron 5.6 ml de H_2SO_4 concentrado en 1000 ml de agua destilada o desionizada. Posteriormente esta solución se estandarizó con 100 ml de una solución de Na_2CO_3 (40 ml de una solución de $\text{Na}_2\text{CO}_3 0.05 \text{ N}$ y 60 ml de agua). Se tituló hasta alcanzar un $\text{pH} = 8.3$. La solución de hirvió de 3 a 5 minutos tapándose con un vidrio de reloj. Finalmente se dejó enfriar a temperatura ambiente.

Procedimiento

- 1.- Se colocó 50 ml de muestra diluida (10/50) en un tubo Büchi y se agregaron 25 ml del reactivo de digestión. Se corrió un blanco que fue tratado de la misma manera que la muestra.
- 2.- Se precalentó el digestor Büchi por 10 minutos.
- 3.- Se calentó la muestra en el digestor Büchi
- 4.- Cuando se observaron vapores blancos emanando de la muestra se reguló el nivel del digestor para que el burbujeo de la muestra no llegue al cuello superior del tubo Büchi.
- 5.- En el momento que no se observó emanación de vapores blancos de la muestra o hasta que se formó una pastilla en el fondo del tubo se detuvo la digestión.
- 6.- Se dejó enfriar la muestra a temperatura ambiente para que posteriormente fueran agregados 100 ml de agua destilada y se mezcló cuidadosamente.
- 7.- Con mucho cuidado fueron adicionados 25 ml del reactivo $\text{NaOH} - \text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$. Se mezcló suavemente hasta disolver la pastilla previamente formada en el fondo del tubo hasta obtener un precipitado de color negro.
- 8.- Se destiló la muestra en el digestor Büchi la cual fue recibida en un matraz Erlenmeyer con 25 ml de solución de ácido bórico
- 9.- Se tituló con $\text{H}_2\text{SO}_4 0.02\text{N}$

Cálculos



$$\text{mg nitrógeno amoniacal} = \frac{(A - B)(280)}{\text{ml de muestra}}$$

Donde:

A = ml de H₂SO₄ 0.02 N para titular la muestra

B = ml de H₂SO₄ 0.02 N para titular la muestra

Potencial de Hidrógeno (pH)

Material

- ✓ Potenciómetro
- ✓ Soluciones tampón de pH 4 y 7
- ✓ Vaso de precipitados de 50 ml
- ✓ Agua destilada

Procedimiento

Calibrar el potenciómetro con las soluciones buffer

Introducir el electrodo en la muestra problema y medir el pH

2. DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO (DQO)

Introducción

La demanda química de oxígeno es ampliamente utilizada como una forma de medir la carga contaminante de desechos domésticos e industriales. El análisis de la DQO se basa en el hecho de que todos los compuestos orgánicos, con algunas excepciones, pueden ser oxidados por la acción de un agente oxidante fuerte bajo condiciones ácidas hasta bióxido de carbono y agua, sin considerar la biodisponibilidad de las sustancias. Una de sus ventajas es la rapidez con que se obtiene la información, sin embargo, no evalúa si la materia orgánica es biodisponible.

Fundamento

La muestra se somete a reflujo en un medio fuertemente ácido con un exceso conocido de dicromato de potasio. Después de la digestión, el dicromato no reducido que quede se determina con sulfato ferroso amoniacal para determinar la cantidad de dicromato consumido y calcular la materia orgánica oxidable en términos de equivalente de oxígeno. El tiempo estándar de reflujo es de dos horas.

Interferencias



Los cloruros, pueden precipitar los iones plata, eliminando su efecto catalítico. Esta interferencia se puede eliminar con la adición de sulfato mercúrico a la muestra antes de la adición de otros reactivos.

Manejo de muestras

Para el manejo adecuado de las muestras problema, se deben considerar los siguientes puntos:

- Las muestras se pueden contenerse en recipientes de vidrio o plástico con tapa
- La cantidad de muestra problema debe ser de 100 ml
- Analizar la muestra de inmediato, de no ser posible, acidificar con H_2SO_4 hasta un pH de 2
- Una muestra a pH de 2, puede ser almacenada en refrigeración de 7 a 28 días

Material

- Tubos de borosilicato de 20x 150 mm con cueL-Lo roscado y tapa recubierta de teflón
- Embudo de filtración rápida
- Papel Whatman GF/A 5.5 cm de diámetro o equivalente
- Material
- Tubos de borosilicato de 20x 150 mm con cueL-Lo roscado y tapa recubierta de teflón
- Embudo de filtración rápida
- Papel Whatman GF/A 5.5 cm de diámetro o equivalente
- Estufa a 150 °C
- Bureta
- Matraces volumétricos de 100 ml



- Pipetas volumétricas de 3 y 5 ml
- Matraces erlenmeyer de 50 ml
- Piseta
- Propipeta de hule
- Espátula
- GradiL-La metálica
- Goggles
- Guantes de asbesto

Soluciones

- Ácido sulfúrico con plata. Añadir 10.12 g de Ag_2SO_4 , ya sea en cristales o en polvo (grado analítico) por cada litro de H_2SO_4 concentrado. Permitir su disolución de uno a dos días a temperatura ambiente.
- Solución estándar de dicromato de potasio 0.25N. Disolver 12.25 g de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, previamente secado a 103°C por dos horas, en 500 ml de agua destilada y posteriormente aforar a 1000 ml.
- Solución indicadora de ferroína. Disolver 1.485 g de 1,10-fenantrolina monohidratada y 695 mg de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ en 80 ml de agua destilada. Aforar a 100 ml. Puede utilizarse la solución disponible comercialmente.
- Solución FAS (sulfato ferroso amoniacal). Disolver 39.2 g de $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ en 600 ml de agua destilada. Agregar cuidadosamente 20 ml de H_2SO_4 concentrado, enfriar y aforar a 1000 ml con agua destilada. Esta solución tiene una concentración aproximada 0.1N, su concentración exacta se conoce cuando se titula el “blanco frío”, el cual se corre junto con las muestras.
- Sulfato mercúrico (HgSO_4).

Procedimiento



Como medida de precaución se recomienda utilizar guantes y lentes de protección (goggles) cuando se adicionen los reactivos que contienen H_2SO_4 .

Lavar previamente los tubos y tapones nuevos a utilizar con H_2SO_4 al 20% para evitar contaminación de las muestras. Para análisis subsecuentes, lavar los tubos con agua de la L-Lave y agua destilada, secar perfectamente antes de adicionar los reactivos.

En un tubo de 20 x 150 mm, adicionar 5 ml de muestra o de su dilución. Si se desconoce completamente la DQO de la muestra, se prueban diluciones 1:100 y 5:100 ; la dilución más recomendable será aqueL-La

Agregar 3 ml de dicromato de potasio. Con la punta de una espátula agregar una pequeñísima porción de sulfato mercúrico (montículo de 1 a 1.5 mm de diámetro).

Adicionar cuidadosamente 7 ml del reactivo de ácido sulfúrico, permitiendo que resbale por las paredes internas del tubo. Si es necesario, colocar el tubo en un baño de agua fría para disipar el calor de la reacción.

Cerrar herméticamente los tubos, invertir cada tubo varias veces para mezclar completamente y verificar que no haya fuga. En caso de haber fuga preparar otro tubo con la muestra correspondiente.

Colocar los tubos en la gradiL-La y L-Levarlos a la estufa a $150^{\circ}C$ y digerir durante 2 horas.

Preparar un tubo adicional que servirá como “blanco frío” para conocer la concentración exacta de la solución FAS. Este tubo se prepara con agua destilada en lugar de muestra simultáneamente a las muestras y se mantiene bien tapado a temperatura ambiente.

Dejar enfriar los tubos a temperatura ambiente, retirar las tapas y verter su contenido en los matraces.

Enjuagar el tubo con un volumen de agua destilada igual a la muestra hasta eliminar residuos de dicromato y adicionarla al matraz.

Agregar dos gotas del indicador de ferroína y titular con la solución FAS agitando constantemente, hasta el vire del indicador de azul-verdoso a café rojizo.

Cálculos

Para conocer el valor de DQO total y soluble de una muestra, siga el siguiente ejemplo de cálculo.



FAS (ml) gastados en la titulación:

Blanco caliente: 3 ml

Blanco frío: 3 ml

Muestra: 2.3 ml

Volumen de muestra: dilución 1 en 10

Normalidad del dicromato : 0.25

La normalidad de la solución FAS se calcula una vez titulado el blanco frío, de la muestra siguiente:

$$N_{FAS} = \frac{(ml_de_solución_de_dicromato)(N_{dicromato})}{ml_de_solución_FAS_gastados_para_titular_el_blanco_frío}$$

Sustituyendo:

$$N_{FAS} = \frac{(3ml)(0.25N)}{3ml} = 0.25N$$

2. La DQO expresada en mg O₂/l se calcula a partir de la siguiente fórmula:

$$\frac{(ml\ FAS_{bc} - ml\ FAS_{muestra}) (N_{FAS}) (8) (1000)}{ml\ muestra} \times dilución$$

Sustituyendo:

$$\frac{(3-2.3)(0.10)(8)(1000)}{5ml} \times 10 = 1120mgO_2 / l$$

donde:

ml FAS_{muestra} = volumen de la solución FAS empleado para titular la muestra

ml FAS_{bc} = volumen de la solución FAS empleado para titular el blanco caliente

N_{FAS} = normalidad de la solución FAS obtenida al titular el blanco frío

8 = peso equivalente del oxígeno

1000 = factor para convertir ml a litros

Recomendaciones

Homogeneizar la muestra antes de tomar cada alícuota.



Procurar que al adicionar el H_2SO_4 la pérdida de material volátil sea mínima, esto se logra agregando muy despacio el H_2SO_4 .

Si al agregar la muestra, el dicromato torna a color verde, descartar este matraz, diluir la muestra y preparar de nuevo el ensayo.

El punto de equivalencia en la titulación será el primer vire de azul-verdoso a café-rojizo aún cuando el primer color vuelva a aparecer.

3. ALCALINIDAD

Introducción

La alcalinidad es la capacidad de un agua para neutralizar ácidos, normalmente se expresa como miligramos por litro de carbonato de calcio.

Principio

Los iones hidroxilo (OH^-) presentes en una muestra como resultado de la disociación o hidrólisis de los solutos reaccionan con la adición de ácido estándar. Por tanto, la alcalinidad depende del pH del punto final utilizado en la titulación.

Interferencias

Los jabones, las materias oleosas y los sólidos en suspensión o precipitados pueden recubrir el electrodo de vidrio y causar una respuesta retardada. Déjese un tiempo adicional entre las adiciones del reactivo para permitir que el electrodo recupere el equilibrio, o límpiense éste en su caso. No se debe filtrar, diluir, concentrar o alterar la muestra.

Manejo de muestras

La muestra puede ser colectada en recipientes de plástico o vidrio

La cantidad de muestra debe ser de 200 ml como mínimo

La muestra puede ser preservada en frío a $4^\circ C$

La muestra no debe ser almacenada por más de 24 horas

Material

Pipeta volumétrica de 25 ml

Vaso de precipitados de 100 ml

Propipeta de hule

Bureta de 50 ml

Soporte universal



Potenciómetro
Soluciones buffer de pH 7.0 y 4.0
Solución de H₂SO₄ 0.02 N
Pinzas para bureta
Piceta con agua destilada
Barra magnética de agitación
Agitador magnético

4. DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS

Introducción

La materia suspendida o disuelta contenida en un agua residual recibe el nombre de sólidos, de los cuales se pueden distinguir tres categorías:

- a. Sólidos Totales (ST): Incluye los sólidos suspendidos más los sólidos disueltos.
- b. Sólidos Suspendidos Totales (SST): Es la porción retenida por el papel filtro.
- c. Sólidos Disueltos Totales (SDT): Es la porción que pasa a través del papel filtro.

Dentro de estas tres categorías hay además dos subdivisiones:

Fijos: aquellos-Los residuos que quedan después de la ignición de la muestra durante un tiempo a 550°C.

Volátiles: corresponde a la pérdida de peso de la muestra durante la ignición a las condiciones anteriores.

La determinación de los sólidos es una prueba indispensable para la operación de digestores biológicos, ya sean aerobios o anaerobios; que junto con otros parámetros proporciona información de la eficiencia de remoción del proceso e indirectamente de la concentración de biomasa bacteriana en el digestor.

Manejo de muestras

El manejo adecuado de las muestras es importante para mantenerlas con sus características originales. A continuación se mencionan algunas recomendaciones:

- Almacenar las muestras en recipientes de vidrio o plástico con tapa
- El tamaño de la muestra problema debe ser tres veces la cantidad que se requiere en la técnica
- Preservar las muestras problema en refrigeración
- Conservar las muestras no más de 7 días
- Una vez a peso constante, evitar tomar directamente con la mano crisoles, charolas de aluminio o papel filtro

Sólidos Totales



Principio

Se evapora una muestra correctamente mezclada en una cápsula de porcelana a peso constante en un horno a 103-105oC. El aumento de peso sobre la cápsula vacía representa los sólidos totales.

Para la determinación de la fracción volátil y fija de la muestra, el residuo obtenido después del secado a 103-105oC se incinera en un horno o mufla a una temperatura de 550+/-50oC. Los sólidos remanentes representan los sólidos totales fijos (cenizas), mientras que la pérdida de peso por ignición representa los sólidos volátiles.

La determinación es útil para el control de las operaciones en plantas de tratamiento de aguas residuales, porque ofrece un cálculo aproximado de la cantidad de materia orgánica, representada por los sólidos volátiles, presente en la fracción sólida del agua residual, biomasa y residuos industriales.

Interferencias

El agua fuertemente mineralizada con una concentración significativa de calcio, magnesio, cloruro y/o sulfato puede ser higroscópica y requerir un secado prolongado, una desecación adecuada y un pesado rápido.

Material

- Cápsulas de porcelana de 70 ml
- Balanza analítica
- Mufla
- Estufa de secado
- Pinzas para crisol (de aproximadamente 50 cm de largo)
- Pipetas volumétricas y graduadas
- Piceta
- Propipeta de hule
- Desecador
- Guantes de asbesto

Procedimiento

1. Para poner a peso constante las cápsulas de porcelana, colocarlas limpias en la mufla 550°C por una hora. Transferir con pinzas a la estufa durante 15 min. y después al desecador para permitir que se enfríen (1 a 2 horas). Pesar cada cápsula en la balanza analítica y anotar su peso exacto (P1).
2. Colocar 25 ml de muestra homogénea (lodo) o 50 ml (líquido)
3. Introducir a la estufa a 103 oC hasta que el agua se haya evaporado totalmente
4. Transferir las cápsulas al desecador hasta que se enfríen y pesarlas, registrando su peso (P2)
5. L-Levar las cápsulas a la estufa durante 15 min.; posteriormente introducir las cápsulas a la mufla a 550 oC durante 30 min y después a la estufa a 103 oC durante 15 min.
6. L-Levarlas al desecador para permitir que se enfríen.
7. Pesar las cápsulas y anotar su peso (P3).



Cálculos

Ejemplo: En la determinación de los sólidos totales del efluente de un digestor anaerobio se obtuvieron los siguientes datos:

Cápsula a peso constante = 30.10 g (P1)

Cápsula más muestra seca (103oC) = 31.0 g (P2)

Cápsula más muestra calcinada (550oC) = 30.3 (P3)

Aplicar una de las siguientes fórmulas de acuerdo al tipo de sólido que se quiera calcular:

$$mgST / L = \frac{P_2(g) - P_1(g)}{vol. muestra(ml)} (1000)(1000)$$

Sustituyendo:

$$mgS_{ST} = \frac{(31.0g - 30.10g)}{100ml} (1000)(1000) = 9000mg / l$$

$$mg \xi_{STF} = \frac{31.0 - 30.3}{100} (1000)(1000) = 7000mg / l$$

$$STV = 9000 - 7000 = 2000 mg/l$$

Sólidos Suspendidos

Principio

Se filtra una muestra bien mezclada por un filtro estándar de fibra de vidrio y el residuo retenido en el mismo se seca a peso constante a 103-105oC. El aumento de peso del filtro representa los sólidos totales en suspensión.

Para la determinación de la fracción volátil y fija de la muestra, el residuo obtenido después del secado a 103-105oC se incinera a una temperatura de 550-650oC. Los sólidos remanentes representan los sólidos suspendidos fijos, mientras que la pérdida de peso por ignición representa los sólidos suspendidos volátiles.

Interferencias

Elimínese de la muestra las partículas gruesas flotables o los aglomerados sumergidos de materiales no homogéneos, si se decide que su inclusión no es deseable en el resultado final. Para las muestras ricas en sólidos disueltos, lávese el filtro con agua destilada para asegurar la eliminación del material disuelto que pudiera retenerse en las fibras del filtro.

Evite tocar directamente los crisoles y/o filtros.



Material

Para determinar sólidos suspendidos se emplea el mismo material que en la determinación de sólidos totales, además de:

- Papel filtro Whatman GF/A 5.5 cm o equivalente
- Matraz kitazato
- Crisol Gooch (charolas de Aluminio)
- Alargadera de hule o embudo mL-Lipore
- Bomba de vacío

Procedimiento

• Preparación de filtro:

1. Colocar el papel filtro de fibra de vidrio en el crisol Gooch y este en el kitazato. Lavar el papel filtro con tres porciones de 20 ml de agua destilada, continuar con el vacío unos momentos más.

2. Para poner a peso constante primeramente se coloca el crisol con el papel filtro en la estufa por 15 min. a 103°C, posteriormente se introduce a la mufla a 550 oC durante 30min. Transferir nuevamente los crisoles a la estufa por 10 min y posteriormente transferirlos al desecador para su enfriamiento. Cuando los crisoles se encuentren a la temperatura ambiente pesarlos y anotar su peso exacto (P1)

• Filtrar la muestra de la siguiente manera:

1. Colocar el crisol en la alargadera sobre el kitazato, aplicar vacío y humedecer las orificios con una pequeña cantidad de agua destilada para fijar el papel.

2. Si la muestra es lodo, filtrar 10 ml de muestra perfectamente homogénea tomada con pipeta despuntada

3. Si la muestra es líquida, filtrar el mayor volumen posible sin sobrecargar el filtro; en ambos casos distribuir la muestra en toda la superficie del papel.

4. Transferir los crisoles con la muestra a la estufa y secarlo a 103°C una hora aproximadamente, dos o tres horas para muestras de lodos.

5. Enfriar los crisoles en desecador y pesarlos. Registrar su peso (P2)

6. Meter los crisoles a la estufa 15 min y luego a la mufla a 550°C durante 30 min.

7. Pasarlos a la estufa 15 min.

8. Trasladarlos al desecador para enfriar

9. Pesarlos y registrar el peso (P3).

Cálculos

Aplicar una de las siguientes relaciones de acuerdo con la fracción de sólidos que se quiera calcular:



$$mgSST / l = \frac{P_2(g) - P_1(g)}{vol. muestra(ml)} (1000)(1000)$$

$$mgSSV / l = \frac{P_2(g) - P_3(g)}{vol. muestra(ml)} (1000)(1000)$$

$$mg SSF/l = mg SST - mg SSV$$

Sustituir de la misma forma que en la determinación de los sólidos totales. Una variante al uso de crisoles Gooch, es la de utilizar un equipo filtrante MiL-Lipore o similar, en donde el dispositivo de soporte de la membrana filtrante y el vaso que se coloca sobre el, hacen la función de crisol Gooch. En tal caso, el filtro a peso constante, se coloca sobre el soporte (rejilla en inoxidable) con unas pinzas; se pone el vaso, se asegura. Se acciona la fuente de vacío y se vierte lentamente la muestra. Cuando la filtración se ha terminado, se retira el vaso y se toma el filtro con la muestra por medio de unas pinzas, para depositarlo en una cápsula de aluminio o porcelana, la cual servirá como contenedor del filtro durante su paso por la cadena de determinación de sólidos.

Recomendaciones

La reproducibilidad y exactitud de esta prueba depende de algunos puntos de suma importancia, tales como:

- Para muestras de lodo, se deben emplear pipetas despuntadas.
- La muestra se debe homogeneizar perfectamente entre cada toma de muestra.
- Respetar los tiempos fijados en estufa, mufla y desecador.
- Los tiempos en el desecador deberán determinarse previamente con el mismo número de crisoles con los que de rutina se van a trabajar. No introducir crisoles calientes al desecador antes de tomar alguno para su pesada.
- Mantener la sílice del desecador seca, cuando ésta retiene humedad vira de azul a rosa. Secarla en la estufa una vez a la semana.
- Las muestras se deben introducir a la mufla hasta que la temperatura indicada haya sido alcanzada.
- Cuando se emplea papel filtro, se debe tener cuidado de que el vacío aplicado se ejerza en toda la superficie del papel filtro. Esto se logra cuando los bordes del papel filtro se encuentran perfectamente sellados al perímetro del crisol Gooch.

5. ÁCIDOS GRASOS VOLÁTILES

PROCEDIMIENTO.

1.- Se toma 1 gota de ácido Clorhídrico en una relación de 1:1 (Agua destilada con un pH de 7 aproximadamente + ácido clorhídrico con una pureza del 98%) y se coloca en el eppendorf y se agrega 2-3 mL de lodo se agita y se centrifuga 14 000 rpm por 30min.



- 2.- Se toma el sobrendante y se filtra.
- 3.- Se pone el filtrado en viales y se refrigeran a una temperatura de 4°C.
- 4.- Se toma muestra del filtrado y se pasa en un cromatografo de gases.



7. BIBLIOGRAFÍA.

Álvarez, J. A., Otero, L., Lema, J. M. (2010). A methodology for optimising feed composition for anaerobic co-digestion of agro-industrial wastes. Department of Chemical Engineering, School of Engineering, University of Santiago de Compostela, Spain. *Bioresource Technology* 101 (2010) 1153–1158

APHA, AWWA, WEF (1999). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 20th Edition, American Public Health Association, Washington, DC

APHA, AWWA, WPCF (1992). Métodos Normalizados. Para el análisis de aguas potables y residuales. 17 Edition. Ediciones Díaz de Santos, S. A. Madrid España.

Calderón M. A. González F. Suárez B. (2005). Crianza sobre lías, chips y microoxigenación, utilización conjunta en el envejecimiento de vinos tintos. Ventajas del uso de levaduras seleccionadas. Universidad Politécnica de Madrid. Publicación Revista Enólogos nº 34.

Charpentier C., Freyssinet M. (1989). The mechanism of yeast autolysis in wine. *Yeasts*. 5:5181-5186. 1989.

Gavala, H. N., Skiadas, I. V., Bozinis, N. A. & Lyberatos, G. (1996). Anaerobic codigestion of agricultural industries wastewaters. *Water Sci. Technol.* 34(11), 67–75.

González A. Valenzuela L. (2006). La levadura *Saccharomyces cerevisiae*: un modelo de estudio hace más de cien años. Departamento de Genética Molecular, Instituto de Fisiología Celular. UNAM

Fleet Graham H. (1993). Wine microbiology and biotechnology. Edited by CRC Press Londres Inglaterra. Pp 225-242.

Gujer W. Zehnder J.B. (1983). Conversión processes in anaerobic digestión. *Water Science and Technology*. pp 127-167.

Hough J. S. (1990). Biotecnología de la cerveza y de la malta. Ed. Acribia. Zaragoza, España.

Jenkins S.R., Morgan J.M. Sawyer C.L. (1983). Measuring anaerobic sludge digestion and growth by a simple alkalimetric titration. *Jour. of Wat. PoL-Lut. Cont. Fed.* 55, pp. 448-453.

Jenkins S.R., Morgan J.M. Zhan X. (1991). Measuring the usable alkalinity of operating anaerobic digesters. *Res. Jour. Wat. PoL-Lut. Cont. Fed.* 63. pp 28-34.



López J. (2004). “Concreta FEMSA alianza con Heineken”, Reforma, Sección Negocios, Versión Internet, 22 Junio, 2004.

Lubbers S. Charpentier C. Feuil-Lat M. Voil-Ley A. (1994). Influence of yeast waL-Ls on the behavior of aroma compounds in model wine. Am. J. Enol. Vitic.: pp 29-33. 1994.

Ma, J. Van Wambeke, M., Carbal-La, M. & Verstraete, W. (2008). Improvement of the anaerobic treatment of potato processing wastewater in a UASB digester by co digestion with glycerol. Biotechnol. Lett. 30, 861–867.

Madigan M. T. Martinko J. M. Parter J. (2001). Biología de los microorganismos (Brock). 10ª Edición Editorial Pearsón. México.

Malina J.F. Pohland F.G. (1992). Design of anaerobic precesses for the treatment of industrial and municipal wastes. Technomic Publishing Co. USA. pp. 167-207.

MaL-Lick, P., Akunna, J.C., Walker, G.M. (2010). Anaerobic digestion of distil-Lery spent wash: Influence of enzymatic pre-treatment of intact yeast ceL-Ls. School of Contemporary Sciences, University of Abertay. Dundee, England. Bioresource Technology 101 (2010) 1681–1685.

Martínez J. A. (2005). Biomasa como fuente de energía renovable. Anales de real academia española de química. Universidad de Alcalá. España

Mathews Christopher K. Van Holde K. E. Ahern Kevin G. (2002). Bioquímica. 3rd edición Editorial Pearsón. Madrid España 2002.

Metcalf & Eddy, (1985). Ingeniería Sanitaria, tratamiento, evacuación y reutilización de aguas residuales. Editorial Labor. España.

Metcalf & Eddy, (1991). Wastewater engineering: treatment, disposal and reuse 3rd Edition. Mc Graw-HiL-L.

Metcalf & Eddy, (2003). Wastewater engineering: treatment and reuse 4^{ta} Edition. Mc Graw-HiL-L.

Moller G. Ferat C. Escalante V. (2004). Utilización de un bioestimulante para incrementar la eficiencia de un digester anaerobio de lodos. Instituto Mexicano de Tecnología del Agua. Facultad de Ingeniería, UNAM. Morelos, Mexico.

Moller G. Gonzalez S (1999). Two combined techniques to enhance anaerobic digestion of sludge. Mexican Institute of Water Technology (IMTA). Institute of Engineering, National University of Mexico. Water Science and Technolgy. Tech 46 No.10



Moller Chavez Gabriela Eleonora (1999). Mejoramiento de digestión anaerobia de los lodos residuales primarios por medio de estimulación y tratamiento. Facultad de ingeniería U.N.A.M. México D.F. 1999

Morata A. Calderón F. González M. Colomo C. B. Suárez J. A. (2005) Crianza sobre lías, chips y microoxigenación, utilización conjunta en el envejecimiento de vinos tintos. Ventaja del uso de levaduras seleccionadas. Universidad Politécnica de Madrid.. Enólogos nº 34. **2005.**

Neira, K and Jeison, D. (2010). Anaerobic co-digestion of surplus yeast and wastewater to increase energy recovery in breweries. Water Science & Technology—WST. Universidad de La Frontera, Chile. pp 1129 -1134.

Nom-004-Semarnat-2002. Lodos y biosólidos: Especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final. Diario Oficial. 15 de Agosto del 2003.

Noyola A. (1994). Diseño, inoculación y arranque de digestores UASB. Tratamiento anaerobio memoria del III TaL-Ler y Seminario Latinoamericano “Tratamiento Anaerobio de Aguas Residuales”. Universidad de la República. Montevideo, Uruguay. pp. 331-340.

Noyola A. (1998 b). Digestión anaerobia de lodos. Memorias del curso “Digestión anaerobia de lodos y aguas residuales”. Federación Mexicana de Ingeniería Sanitaria y Ciencias Ambientales A.C. México.

Noyola A. Tinajero A. (2006). Effect of biological additives and micronutrients on the anaerobic digestion of physicochemical sludge. Institute of Engineering. UNAM. Water Science & Technology Vol 52 No 1-2 pp 275–281.

Recio G. (2004). El nacimiento de la industria cervecera en México, 1880-1910. Segundo Congreso Nacional de Historia Económica. Facultad de Economía de la UNAM. Center for

Romano, R. T. & Zhang, R. H. (2008). Co-digestion of onion juice and wastewater sludge using an anaerobic mixed biofilm digester. Bioresour. Technol. 99, 631–637.

Señer A. Rodrigo (2005) Obtención de Biogás mediante la Fermentación Anaerobia de Residuos Alimentarios. Dpto. Calidad y Medio Ambiente. Procesos fermentativos en la I. A. Madrid España.

Sgarbieri V. Alvim I. Vilela S. Baldini V. Bragagnolo N. (1999). Produção Piloto de Derivados de Levadura (*Saccharomyces* sp.) para Uso como Ingrediente na



Formulação de Alimentos. Pilot Plant Production of Yeast (*Saccharomyces* sp.) Derivatives for Use as Ingredients in Food Formulations. Instituto de Tecnologia de Alimentos. Centro de Química de Alimentos e Nutrição Aplicada. Brazil.

Sgarbieri V.C. Alvim I.D. Vilela ES.D. Balidni B.L.S. Bragagnolo, N. (1999). Pilot plan production of yeast *Saccharomyces cerevisiae* derivatives for use as ingredient in food formulations. Brazili-Lian Journal of Food Technology. pp. 119-125.

Speece, R. E. (2008). Anaerobic Biotechnology and Odor/Corrosion Control and Industries. Archae Press, Nashville, Tennessee.

Tinajero T. A. (2004). Aplicación de aditivos enzimáticos y micronutrientes para la estabilización anaerobia de lodos fisicoquímicos. UNAM. México D.F. 2004

Tornel R. (2006). Industria y Medio Ambiente. VI Conferencia Mundial "Toward Carfree Cities". Bogota Colombia. US-Mexican Studies University of California, San Diego. pp. 4-40.

Verruga F. Jaspe R. San José S. (2000). Aprovechamiento de subproductos y tratamiento de los vertidos de quesería. Conserjería de economía y empleo. Edit. Comunidad de Madrid primera edición. España (2000).