

Obtención de un inóculo especializado a partir de excretas bovinas con inactivación de microorganismos patógenos

M. Rodríguez De La Luz, N. A. Vallejo Cantú*, A. Alvarado Lassman, J. M. Méndez Contreras
División de Estudios de Posgrado e Investigación
Tecnológico Nacional de México / Instituto Tecnológico de Orizaba
Oriente 9 No. 852, Col. Emiliano Zapata, C.P. 94320, Orizaba, Veracruz
Tel./Fax. (272) 72 4 40 96
*nvallejoc@prodigy.net.mx
Área de participación: Ingeniería Química

Resumen

Se desarrolló a nivel laboratorio un Inóculo Especializado (IE) utilizando excretas de ganado bovino, las cuales se pretrataron térmicamente a 90 °C durante 1 h, con el propósito de inactivar los microorganismos patógenos presentes en la muestra, solubilizar la materia orgánica y aumentar la producción de biogás. El equipo experimental consistió en un reactor anaerobio con 1 L de Inóculo Pretratado Térmicamente (IPT), el cual se arrancó y estabilizó durante un periodo de 17 días. Una vez estabilizado el inóculo se procedió a realizar la reactivación de la actividad metanogénica, esto debido a que con el pretratamiento térmico se eliminaron los microorganismos patógenos así como las bacterias metanogénicas. Los resultados obtenidos comprueban que el pretratamiento térmico del inóculo genera un IE libre de patógenos, lo cual representa un mejoramiento en la eficiencia de la digestión anaerobia.

Palabras clave: Inóculo, Pretratamiento térmico, Digestión anaerobia.

Abstract

A specialized inoculum (SI) was developed at the laboratory level using cattle manure, which were thermally pre-treated at 90 °C for 1 h, with the purpose of inactivating the pathogenic microorganisms present in the sample, solubilizing the organic matter and increasing the production of biogas. The experimental equipment consisted of an anaerobic reactor with 1 L of Thermally Pretreated Inoculum (TPI), which was started and stabilized during a period of 17 days. Once the inoculum was stabilized, reactivation of the methanogenic activity was carried out, due to the fact that with the thermal pre-treatment, the pathogenic microorganisms as well as the methanogenic bacteria were eliminated. The results obtained prove that the thermal pretreatment of the inoculum generates a pathogen-free SI, which represents an improvement in the efficiency of anaerobic digestion.

Key words: Inoculum, heat pretreatment, Anaerobic digestion

Introducción

Un inóculo se define como un consorcio de diversas especies microbianas, como las que se encuentran en los lodos aerobios de las plantas de tratamiento de aguas residuales, o puede ser un cultivo de microorganismos especializados con afinidad por un compuesto, los cuales pueden conseguirse comercialmente o en los laboratorios de centros de investigación en contaminantes. Aunque el riesgo para la salud es mínimo, el uso de estos lodos debe realizarse bajo controles adecuados de operación, debido a la posible presencia de patógenos [Mora y col., 2005].

Dentro de la digestión anaerobia la relación inóculo-sustrato es un factor clave para la optimización del proceso [Parra y col., 2015], debido a que en la inoculación, es necesario emplear un cultivo bacteriano viable que contenga un amplio espectro de microorganismos, ya que el inóculo se reproduce hasta alcanzar una población microbiana lo suficientemente importante como poner en óptimo funcionamiento el proceso de arranque de un reactor [Pérez y col., 1997].

Sin embargo, la presencia de compuestos orgánicos complejos, microorganismos patógenos, sustancias poliméricas extracelulares, y diversos compuestos inhibidores dificultan considerablemente la eficacia del proceso de la digestión anaerobia [Anjum y col., 2016].

Es por ello que la aplicación de un tratamiento térmico puede generar un lodo rico en nutrientes disponibles, los cuales pueden ser aprovechados con mayor facilidad en los procesos anaerobios, debido a que permiten la solubilización de la materia orgánica y facilita la fase de hidrólisis [Coelho y col., 2011], obteniendo de ello una mayor eficiencia en la producción de biogás y permitiendo que esta tecnología sea más sustentable [Appels y col., 2010].

Por tales razones en el presente trabajo se desarrollará un inóculo especializado a nivel laboratorio a partir de excretas de ganado bovino al cual se le aplicará un tratamiento térmico para la inactivación de microorganismos patógenos.

Metodología

El inóculo fue tomado de un biodigestor anaerobio ubicado dentro del Instituto Tecnológico de Orizaba, el cual utiliza como sustrato excretas de ganado bovino. Se realizó la caracterización fisicoquímica y microbiológica del inóculo, en la Tabla 1 se muestran los parámetros a determinar.

Tabla 1. Parámetros empleados en la caracterización

Fisicoquímicos		
Parámetros	Unidades	Método
Sólidos Totales (ST)	%	2540 B S.M.
Sólidos Totales Volátiles (STV)	%	2540 E S.M.
pH	---	Potenciómetro
Demanda Química de Oxígeno (DQO)	g/L	Micrométodo Colorimétrico 5220 D S.M.
Carbohidratos	g/L	Antrona-Sulfúrico Finleyand et al, 1973
Grasas y aceites	g/L	NMX-AA-005-SCFI-2013
Microbiológicos		
Coliformes fecales	NMP/g ST	NOM-004-SEMARNAT-2002
Salmonella spp.	NMP/g ST	NOM-004-SEMARNAT-2002

Pretratamiento térmico

Se llevó a cabo el pretratamiento térmico del inóculo de acuerdo a la metodología empleada por Hernández y col., [2017]; la cual se describe a continuación:

- Se tomaron muestras del inóculo y se colocaron en matraces Erlenmeyer de 250 mL.
- Los matraces fueron llevados a un sistema de calentamiento denominado "Baño termostático".
- La temperatura y el tiempo de exposición fueron de 90 °C y 1 h respectivamente.

Posteriormente a este pretratamiento el IPT fue caracterizado nuevamente, de acuerdo a los parámetros fisicoquímicos presentados en la Tabla 1.

Arranque y estabilización del inóculo en modo batch

El equipo experimental que se utilizó para la obtención del IE consistió en un reactor anaerobio de vidrio marca SEV con capacidad de 1 L, el cual contó con un motoreductor de corriente directa que proporcionó la agitación al equipo.

Para el arranque del reactor se alimentó con 1 L de IPT y se operó en modo batch durante un periodo de 7 días, con el propósito de continuar con el proceso de hidrólisis previamente efectuado en el pretratamiento térmico y con ello mejorar el proceso de la digestión anaerobia.

El siguiente proceso fue la estabilización, el cual consistió en retirar 700 mL de IPT del reactor dejando únicamente 300 mL en su interior y posteriormente adicionar 700 mL de IPT nuevo, monitoreando dicho proceso durante 10 días.

Durante los proceso de arranque y estabilización, se tomaron muestras para la determinación de ST, STV, pH y DQO.

Reactivación de la actividad metanogénica

Una vez estabilizado el IPT se procedió a realizar una reactivación de la actividad metanogénica con la finalidad de que la comunidad bacteriana no se viera afectada después del pretratamiento térmico. Obteniendo como resultado un IE libre de microorganismos patógenos.

Para ello el inóculo estabilizado fue alimentado con 50 mL de glucosa y se monitorio por 10 días. Posteriormente se alimentó el reactor con la fracción líquida de los Residuos Sólidos Orgánicos (RSO), provenientes del mercado Emiliano Zapata en la ciudad de Orizaba, mediante una relación volumen/volumen de 70/30 (IPT/RSO) durante un periodo de 5 días; debido a que son sustratos fáciles de digerir y con ello podremos hacer que la comunidad bacteriana se reproduzca rápidamente.

De igual manera durante este proceso se tomaron muestras para la determinación de ST, STV, pH y DQO.

Resultados y discusión

La caracterización del inóculo y el IPT se realizaron por triplicado, en la Tabla 2 se muestra el promedio de los resultados obtenidos.

Tabla 2. Caracterización fisicoquímica y microbiológica del Inóculo y del IPT

Fisicoquímicos		
Parámetros	Inóculo	IPT
ST (% m/m)	3.12	3.66
STV (% m/m)	80.71	89.23
pH	6.9	7.51
DQO (g/L)	30.60	31.67
Carbohidratos (g/L)	3.33	5.41
Grasas y aceites (g/L)	1.73	5.08
Microbiológicos		
Coliformes fecales (NMP/g ST)	1.1×10^8	0
Salmonella spp. (NMP/g ST)	4.6×10^8	0

Como se puede observar en la Tabla 2, a partir del pretratamiento térmico todos los parámetros fisicoquímicos presentan un aumento, debido a que el pretratamiento provoca una hidrólisis parcial de los biopolímeros y una disminución en el tamaño de partícula que se manifiesta con el incremento de los ST, pH y DQO [Vigueras y col., 2013].

Así mismo el aumento en los carbohidratos concuerda con el trabajo de Bougrier y col., [2008] donde reportan que en pretratamientos térmicos menores a 150 °C la solubilización de los carbohidratos es más rápida debido a que estos se encuentran principalmente en los exopolímeros del lodo los cuales son afectados a bajas temperaturas, por lo cual su solubilización es mayor.

De igual manera es muy probable que el aumento en las grasas y aceites del IPT se vean también afectadas por el pretratamiento térmico debido a que la hidrólisis que se lleva a cabo logra solubilizar la materia orgánica contenida en los lodos.

Con respecto a los parámetros microbiológicos se observa en la Tabla 2 que después del pretratamiento térmico se eliminan con éxito los microorganismos patógenos. Lo cual coincide con Martínez [2009], donde reporta que a temperaturas mayores a 80 °C se logra la eliminación total de coliformes y Salmonella, así como la inactivación efectiva de huevos de helmintos.

Arranque y estabilización del inóculo en modo batch

En la Figura 1 se muestra la determinación diaria de los ST y los STV durante las etapas de arranque y estabilización, las cuales tuvieron un promedio de 31.96 g/L y 26.75 g/L de ST respectivamente. Así mismo se obtuvieron promedios de 25.84 g/L y 20.92 g/L de STV para cada etapa respectivamente.

De igual manera en la Figura 1 se observa que existe un ligero incremento en el contenido de ST y STV respectivamente durante la etapa de arranque, pero a medida que transcurre el tiempo se estabiliza, logrando obtener al final un IPT estabilizado. Esto es similar a lo presentado por Zahid y Suthar [2017], en donde argumentan que dicho comportamiento podría atribuirse a diferentes factores como una elevada proporción de componentes inertes (por ejemplo, las paredes celulares bacterianas, fibras, etc.) contenidas en los lodos residuales.

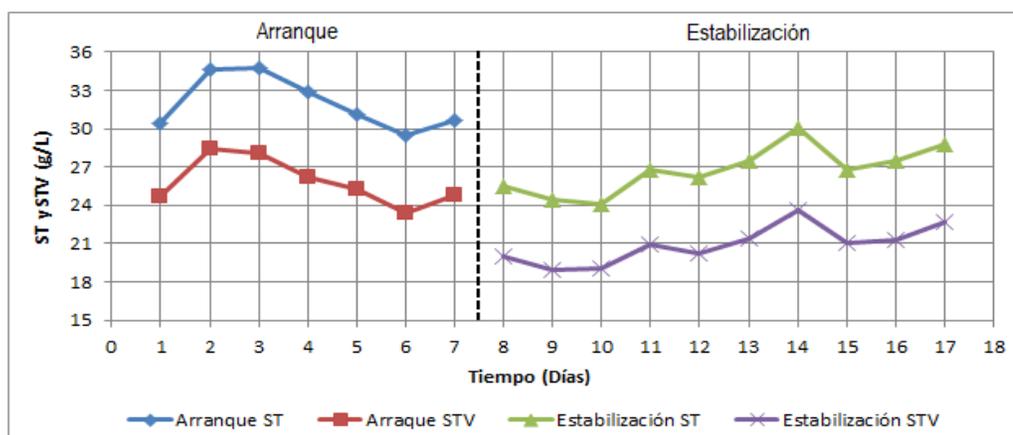


Figura 1. Comportamiento de los ST y STV

En la Figura 2 se muestra el comportamiento del pH durante las etapas de arranque y estabilización del IPT en donde se obtuvo un promedio de 7.5 y 7.4 respectivamente. Esto cumple con lo mencionado por Kaparaju y Rintala [2006], en donde señala que el pH es un parámetro que indica de manera inmediata el funcionamiento de la digestión anaerobia. Es por ello que para el correcto funcionamiento del reactor es necesario un pH neutro.

Así mismo podemos observar que debido al pretratamiento térmico el pH no tuvo que ser ajustado en ninguna de las dos etapas del proceso ya que se mantuvo constante dentro de los parámetros de neutralidad los primeros 14 días, sin embargo en el día 15 el pH empieza a descender hasta alcanzar un valor de 7.05.

En la Figura 3 se muestra el porcentaje de remoción de la DQO durante las etapas de arranque y estabilización. Obteniendo una remoción máxima en la etapa de arranque de 42% y un 26% de remoción en la etapa de estabilización. Lo cual coincide con Martínez [2009], en donde señala que después de un pretratamiento térmico la remoción de DQO incrementa con respecto a un lodo sin pretratar. Sin embargo en la fase de estabilización no se presenta dicho aumento, esto puede atribuirse a la carga de IPT nuevo que se realizó en dicha etapa.

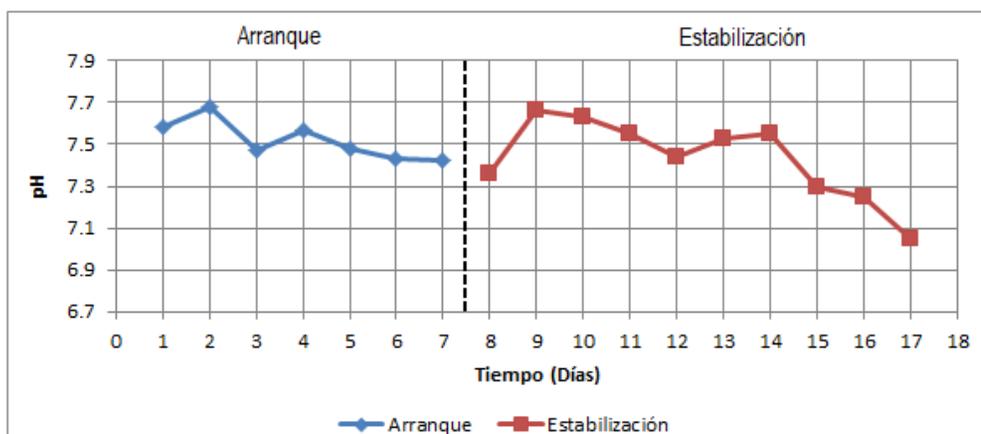


Figura 2. Comportamiento del pH

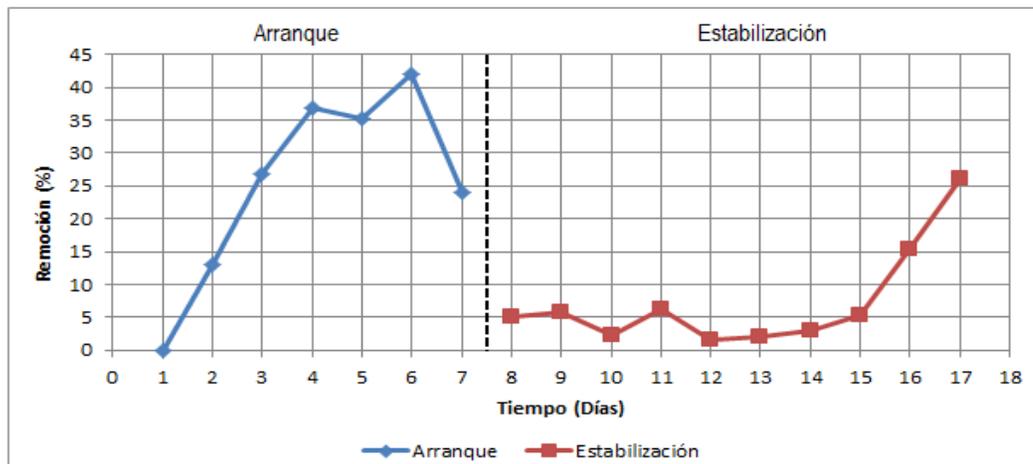


Figura 3. Remoción de la DQO

Reactivación de la actividad metanogénica

En la Figura 4 se observa el comportamiento de los ST y STV durante el proceso de reactivación de las bacterias metanogénicas mediante la alimentación de glucosa y RSO.

En donde cabe hacer mención que existe una elevación en los ST y STV en la etapa de alimentación de la glucosa, lo cual se asemeja con lo reportado por Luis [2015], donde señala que al adicionar sustrato al inóculo se produce una elevación en los sólidos, sin embargo a pesar de este efecto las bacterias posteriormente se adaptan e inician la degradación de los sólidos de manera constante. Lo cual se observó en la Figura 4, en donde se alcanzó una remoción del 28% de ST y 31% de STV.

De igual manera se observa un comportamiento similar en la etapa de alimentación de los RSO, donde se observa un incremento en los ST y STV, sin embargo posteriormente las bacterias comienzan la degradación de los sólidos hasta alcanzar una remoción de 30% de ST y 38% de STV.

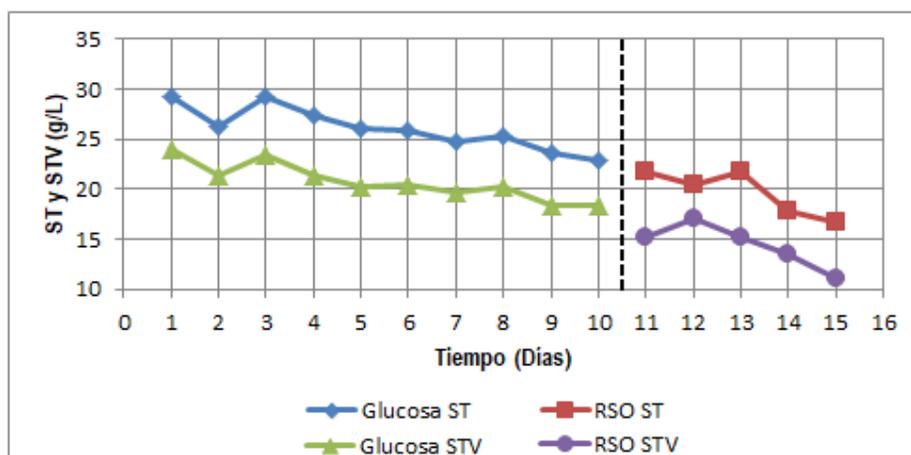


Figura 4. Remoción de ST y STV

En la Figura 5 se muestran los valores de pH obtenidos para la glucosa y el RSO, en donde se observa que el pH de la glucosa se mantiene oscilando entre valores de 6.9 y 7.2, los cuales son los rangos óptimos en los que la digestión anaerobia se puede llevar a cabo satisfactoriamente. De igual forma se observó un ligero incremento conforme avanzaba el tiempo, lo cual es similar a lo presentado por Luis [2015], quien evaluó la codigestión de excretas bovinas con residuos de la industria citrícola obteniendo un pH ligeramente elevado a medida que transcurría el tiempo, esto sin causar inhibición en el proceso.

Sin embargo para el RSO el pH tuvo que ajustarse debido a que presentaba un valor inicial de 5.9, es por ello que se añadió bicarbonato de sodio 1 M hasta alcanzar un pH de 6.91, logrando mantenerse entre los rangos óptimos para el desarrollo de la digestión anaerobia.

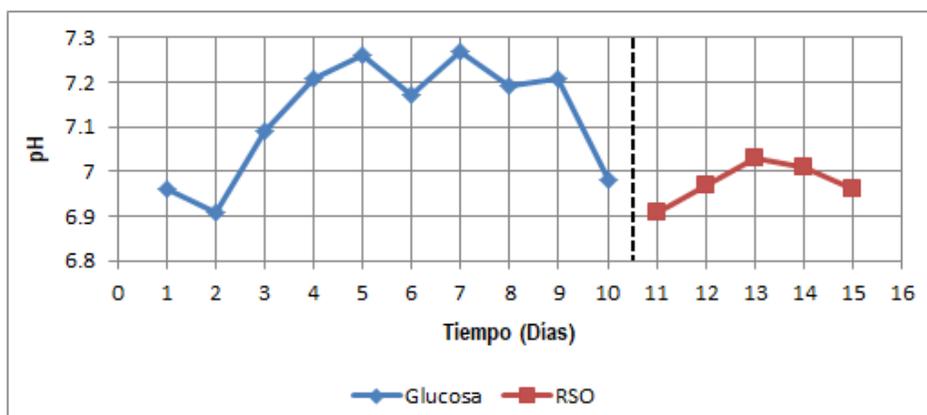


Figura 5. Monitoreo del pH

En la Figura 6 se presenta la remoción de la DQO con respecto a los sustratos de glucosa y RSO alimentados al reactor, donde podemos hacer mención que en la primera etapa se alcanza una remoción máxima de 32% para la glucosa y del 60% para el RSO. Por lo cual se determinó que las bacterias tienden a degradar el RSO con mayor facilidad.

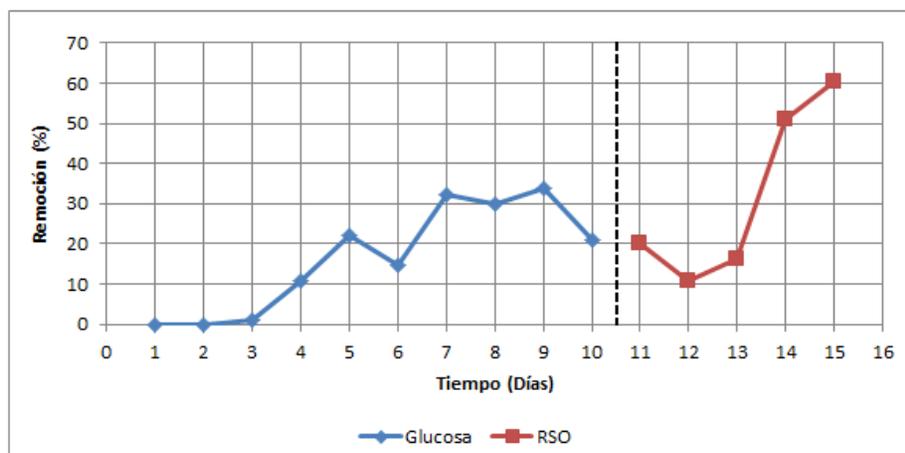


Figura 6. Remoción de la DOQ

La cuantificación del biogás producido durante la reactivación de la actividad metanogénica se presenta en la Figura 7, en donde se observa que se alcanzó un volumen de biogás de 1330 mL.

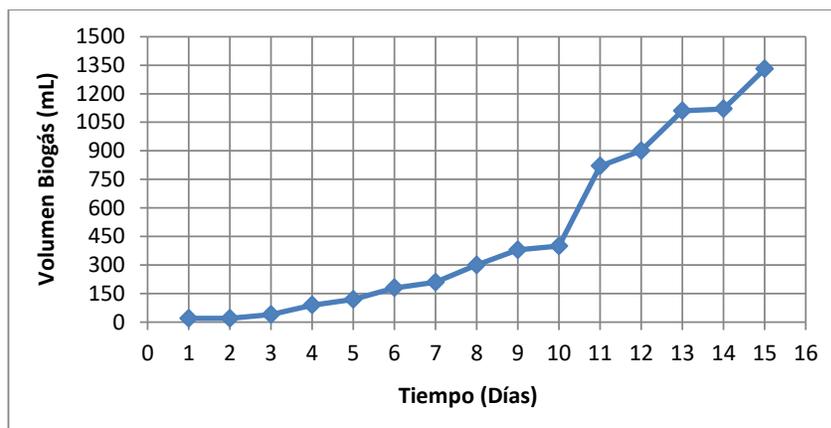


Figura 7. Monitoreo de biogás

Trabajo a futuro

Algunos trabajos futuros que se pueden desarrollar como resultado de esta investigación, podrían ser el aumento del periodo de la reactivación de la actividad metanogénica para observar el comportamiento y las variaciones que sufren los ST, STV, pH y DQO T con respecto a largos periodos de tiempo.

Así mismo podría llevarse a cabo la caracterización de proteínas en el inóculo y el IPT; y a su vez realizar prueba de Helmintos respectivamente, con la finalidad de descartar completamente la presencia de microorganismos patógenos en el IE. Por ultimo podría emplearse el IE generado para la degradación de sustratos complejos, con la finalidad de evaluar y monitorear su comportamiento en la remoción de materia orgánica.

Conclusiones

Los resultados obtenidos en este trabajo concuerdan con los reportados por la literatura, respecto a que un pretratamiento térmico mejora la hidrólisis de la materia particulada, elimina microorganismos patógenos, reduce la viabilidad de parásitos e incrementa la producción de biogás en la etapa de digestión anaerobia posterior.

Por lo anterior, se puede decir que el pretratamiento térmico a 90 °C durante 1 hora, favoreció la solubilización de la materia orgánica presente en el inóculo, incrementando los ST y STV, así como el pH, DQO, carbohidratos y grasas y aceites. De igual manera dicho pretratamiento resulto ser adecuado para la eliminación total de los microorganismos patógenos como Coliformes y Salmonella.

Finalmente se observó que durante la reactivación de la actividad metanogénica existió una degradación mayor cuando se alimentó el reactor con el RSO que con la glucosa. Lo cual se reflejó también en la producción de biogás, en donde se observó un incremento en el volumen de biogás cuando se alimentó el reactor con el RSO.

Agradecimientos

Agradezco a mis asesores la MIQ. Norma Alejandra Vallejo Cantú y al Dr. Alejandro Alvarado Lassman por el asesoramiento al realizar esta investigación, así como al CONACYT por la beca otorgada para el desarrollo de este proyecto.

Referencias

1. Anjum, M.; Al-Makishah, H. and Barakat, M-A. (2016). Wastewater sludge stabilization using pre-treatment methods. *Process. Saf. Environ. Protec.* **(102)** 615-632.
2. Appels, L.; Degréve, J.; Bruggen, B-V.; Van, J. and Dewil, R. (2010). Influence of low temperature thermal pre-treatment on sludge solubilisation, heavy metal release and anaerobic digestion. *Bioresour. Technol.* **(101)** 5743-5748.
3. Bougrier, C.; Philippe, J. and Helene, D. (2008). Effects of thermal treatments on five different waste activated sludge samples solubilisation, physical properties and anaerobic digestion. *Chem. Eng. Journal.* **(139)** 236-244.
4. Coelho, M-G.; Droste, R. and Kennedy, K. (2011). Evaluation of continuous mesophilic and temperature phased anaerobic digestion of microwaved activated sludge. *Water Research.* 45 **(9)** 2822-2834.
5. Hernández, L-A.; Vallejo, N-A.; Alvarado, A. and Méndez, J-M. (2017). Tratamiento de un inóculo anaerobio para su pre-hidrólisis y eliminación de patógenos. Coloquio de Inv. Multidisc., Evento Intern. CIM-Orizaba.
6. Kaparaju, L-N. and Rintala, J. (2006). Thermophilic anaerobic digestion of industrial orange waste. *Environ. Technol.*, 27 **(6)** 623-633.
7. Luis, A-L. (2015). Codigestión de residuos sólidos de la industria citrícola en un digestor anaeróbico a nivel piloto. Tesis de Maestría en Ciencias en Ingeniería Química. Instituto Tecnológico de Orizaba, México.
8. Martínez, E-B. (2009). Pretratamiento térmico y digestión anaerobia mesofílica de lodos residuales para la producción de biosólidos clase A. Tesis de Maestría en Ingeniería Ambiental, Universidad Nacional Autónoma de México.
9. Mora, A.; Chávez, H.; Fonseca, G.; Cabra, A. and Carmona, Y. (2005). Desarrollo de un inóculo microbiano empleando lodos activados para la remoción de ácido sulfhídrico (H₂S) mediante biofiltración. *Rev. Colomb. de Biotecn.* VII **(2)** 26-34.
10. Parra, B-A.; Torres, P.; Marmolejo, L-F. and Cárdenas, L-M. (2015). Efecto de la relación sustrato-inóculo sobre el potencial bioquímico de metano de biorresiduos de origen municipal. *Ing. Inv. y Technol.* 16 **(4)** 515-526.
11. Pérez, M.; Romero, I. and Sales, D. (1997). Tecnologías anaerobias para la depuración termofílica de vertidos de destilerías vínicas. *Ing. del Agua.* **(4)** 7-16.
12. Viguera, S-E.; Zafra, G.; García, M.; Martínez, M-A. and Pérez, J. (2013). Efecto del pretratamiento sobre la biodegradabilidad anaerobia y calidad microbiológica de los lodos residuales secundarios. *Rev. Mex. de Ing. Quím.*, 12 **(2)** 293-301.
13. Zahid, R. and Suthar, S. (2017). Anaerobic digestion of activated sludge, anaerobic granular sludge and cow dung with food waste for enhanced methane production. *J. Clean. Prod.* **(164)** 557-566.