



UNIVERSIDAD DE VALLADOLID



ESCUELA DE INGENIERÍAS  
INDUSTRIALES

UNIVERSIDAD DE VALLADOLID  
ESCUELA DE INGENIERÍAS INDUSTRIALES

MÁSTER OFICIAL EN  
INGENIERÍA AMBIENTAL

**Estudio de la actividad hidrogenotrófica de  
un fango EDAR para el enriquecimiento de  
biogás mediante conversión biológica.**

**Santiago Herrera, Mario**

**Tutor Académico:**

**Fdez-Polanco, María**

**Alfaro Borjabad, Natalia**

**Departamento de Ingeniería Química  
y Tecnología del Medio Ambiente**

**Valladolid, julio 2017.**



## Índice:

Resumen: .....	6
1. Introducción.....	7
2. Materiales y métodos.....	12
2.1. Descripción del fango anaerobio.....	12
2.2. Montaje de los test.....	13
2.3. Seguimiento y análisis de los tests.....	17
3. Cálculos.....	19
4. Resultados y discusión.....	20
4.1. Actividad hidrogenotrófica.....	20
4.2. Rendimiento.....	23
4.3. Sólidos, pH y AGV.....	24
4.4. Limitaciones a la transferencia.....	26
5. Conclusiones.....	29
6. Bibliografía.....	31

## Índice de tablas:

Tabla 1. Caracterización del fango EDAR.....	12
Tabla 2. Ácidos Grasos Volátiles del fango EDAR.....	12

## Índice de figuras:

Figura 1. Proceso de digestión anaerobia.....	8
Figura 2. Muestra de fango EDAR.....	13
Figura 3. Detalle del montaje de los tests.....	16

Figura 4. Disposición de botellas en la incubadora.....	17
Figura 5. mg de H <sub>2</sub> a lo largo del test.....	20
Figura 6. mg de CH <sub>4</sub> a lo largo del test. ....	21
Figura 7. Actividad del H <sub>2</sub> .....	22
Figura 8. Actividad del CH <sub>4</sub> . ....	22
Figura 9. Rendimiento en CH <sub>4</sub> . ....	23
Figura 10. mg/L de ácido acético al final del test.....	24
Figura 11. Producción de ácido acético por tiempo. ....	25
Figura 12. pH final por cada concentración. ....	26
Figura 13. Actividad del H <sub>2</sub> a diferentes presiones.....	27
Figura 14. Actividad del CH <sub>4</sub> a diferentes presiones.....	27
Figura 15. Producción de acético final a diferentes presiones.....	28



## Resumen:

Ante los problemas ambientales de nuestros días, causados entre otros motivos por el uso de combustibles de origen fósil, es necesario buscar energías alternativas que sean más limpias y respetuosas con el medioambiente.

Teniendo en cuenta lo anterior, este trabajo está enfocado a conocer la actividad de un fango procedente de la digestión anaerobia de una EDAR, evaluando el proceso de bioconversión de  $\text{CO}_2$  a  $\text{CH}_4$  a través de  $\text{H}_2$  mediante la metanogénesis hidrogenotrófica, con el fin de producir un biogás más limpio y eficiente.

Se ha tomado un método ya desarrollado para realizar los diversos ensayos a diferentes concentraciones, partiendo de un mismo inóculo inicial, evaluando el consumo de  $\text{H}_2$  y la consiguiente producción de  $\text{CH}_4$ , además del rendimiento, registrándose valores más altos en la producción de metano cuanto mayor sea la concentración inicial de biomasa usada. Además, se han analizado los sólidos producidos al final de cada ensayo así como la cantidad de ácido acético, observándose que aumentan cuando las concentraciones son menores, puesto que se produce una fase estacionaria más alargada en el tiempo y mayor acumulación de acético al tener lugar la homoacetogénesis. Así mismo, se ha llevado a cabo un ensayo a diferentes presiones para descartar que hubiera limitaciones a la transferencia.

También se ha podido comprobar que un fango convencional puede aclimatarse a la exposición con  $\text{H}_2$  y realizar la metanogénesis hidrogenotrófica, lo cual es de gran valor por su posible aplicación industrial.

## 1. Introducción.

El mayor problema ambiental de nuestros días es el cambio climático, provocado principalmente por las emisiones de gases de efecto invernadero (CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, NO<sub>x</sub>, CFC's, vapor de agua) de origen antrópico. La sociedad actual depende cada día más del uso de combustibles fósiles, y las emisiones derivadas de estos perjudican en gran medida a la atmósfera, aumentando el calentamiento global.

Según el último informe del IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change), en el hemisferio norte, es probable que 1983-2012 fuera el período de 30 años más cálido de los últimos 1400 años. Y también es probable que para finales de este siglo la temperatura global haya aumentado 1.5°C en relación a la del periodo entre 1850 y 1900. (Quinto Informe de Evaluación del IPCC, 2014)

La mayoría del calentamiento global anteriormente explicado puede ser atribuido al CO<sub>2</sub> y a otros gases procedentes de actividades humanas (NRC, 2010). Por ello, y ante estos datos, es de vital importancia reducir las emisiones de CO<sub>2</sub>.

Por otro lado, será necesario sustituir el uso de combustibles fósiles por fuentes de energía alternativa, debido agotamiento de las reservas disponibles de estos, teniendo para ello opciones como puede ser la producción de biogás mediante la digestión anaerobia de materia orgánica, como por ejemplo, el producido en la depuración de aguas residuales o de residuos biodegradables, entre otros. De esta manera se consigue convertir residuos en un subproducto, produciendo energía de forma limpia.

A continuación, en la Figura 1, se muestra un esquema resumen del proceso de digestión anaerobia:

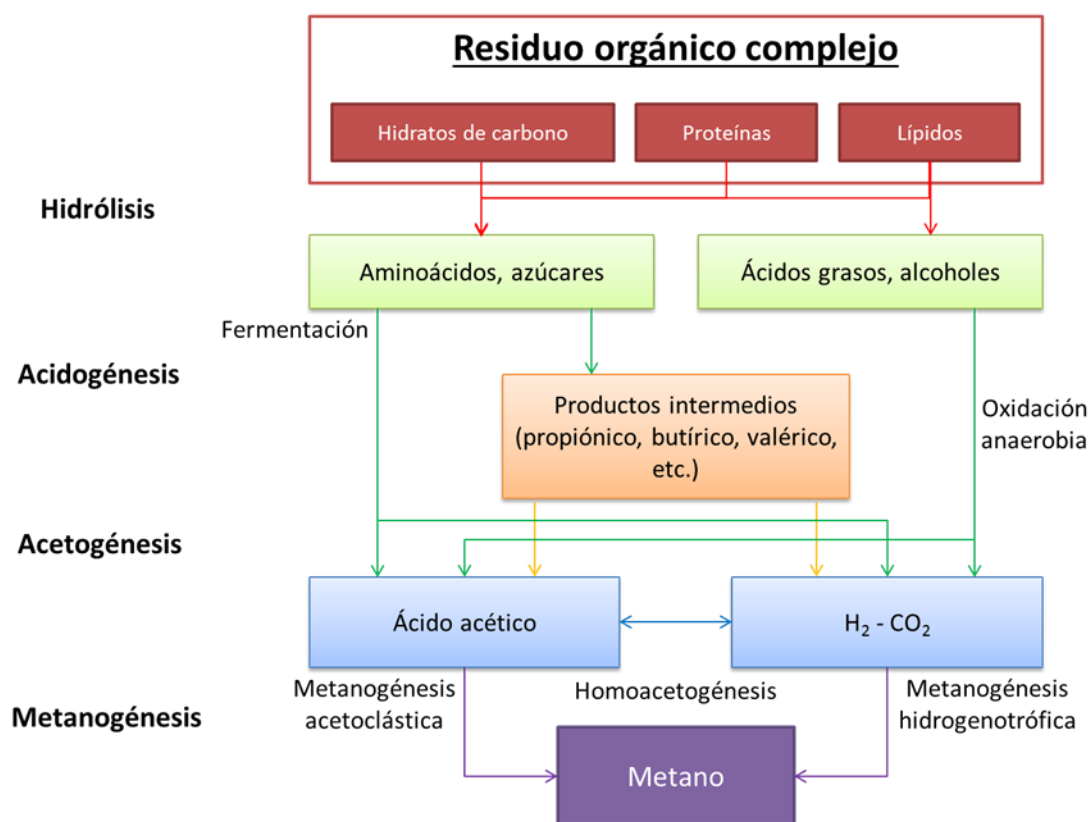


Figura 1. Proceso de digestión anaerobia.

Este biogás es una mezcla de metano (60 - 70%) y dióxido de carbono (40 - 30%) (EuroObserver, 2013) con pequeñas cantidades de otros gases y subproductos, como nitrógeno (0 - 2%), monóxido de carbono (<0.6%), sulfuro de hidrógeno (0.005 - 2%), oxígeno (0 - 1%) y amoníaco (<1%). También se presentan ocasionalmente cantidades de siloxanos (0 - 0.02%), hidrocarburos halogenados (<0.65%) y otros compuestos orgánicos no metánicos como hidrocarburos aromáticos, alcanos, alquenos, etc. (Bailón y Hinge, 2012).

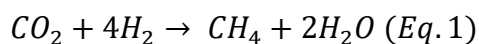
El biogás ya se utiliza actualmente como combustible para calentamiento, generación de vapor y electricidad, como sustituto del gas natural en ciertas industrias y como combustible para determinados vehículos.



Sin embargo, para su uso a través de los gaseoductos de las redes de gas natural son necesarias concentraciones más altas de metano y más bajas de CO<sub>2</sub>, que reduce el poder calorífico, y de H<sub>2</sub>S, ya que este último provoca corrosión en los metales. En España, según la «Resolución de 22 de septiembre de 2011, de la Dirección General de Política Energética y Minas, por la que se modifica el protocolo de detalle PD-01 "medición" de las normas de gestión técnica del sistema gasista», las especificaciones de calidad del gas exigen un 95% de metano, por lo tanto, el biogás “común” no cumpliría.

Existen diferentes tecnologías para eliminar el H<sub>2</sub>S (adsorción con óxidos de hierro (SulfaTreat®, Sulphur-Rite®) o absorción con sales de hierro (Lo-Cat®, SulFerox®, Sulfothane®), y el CO<sub>2</sub> (adsorción por oscilación de presión (PSA), técnicas de “scrubbing”, o de separación por membranas), consiguiendo así una mejora de su calidad y un mayor aprovechamiento energético al enriquecer este biogás en metano (*biogas upgrading*). Estas técnicas requieren condiciones de operación extremas de presión y temperatura, lo que aumenta los costes del proceso, además de requerir más pasos para eliminar estos gases definitivamente, por lo tanto hay que plantear alternativas a estas técnicas comerciales, destacando como mejor opción las biológicas.

Este trabajo se centra en la bioconversión de CO<sub>2</sub> a CH<sub>4</sub> a través de H<sub>2</sub>, basada en la acción de arqueas metanotrofas hidrogenotróficas, que utilizan el CO<sub>2</sub> como fuente de carbón y aceptor de electrones y el H<sub>2</sub> como donador de electrones (Strevett *et al.*, 1995), tal y como se muestra en la Eq.1. Con este proceso se estaría fijando CO<sub>2</sub> y ayudando a reducir las emisiones de gases de efecto invernadero.



En este proceso encontramos involucrados microorganismos de los órdenes Metanobacteriales, Metanococcales, Metanomicrobiales, Metanosarcinales y Metanopyrales, entre otros, y coenzimas como el metanofurano o la tetrahidrometanopterinina (Stams y Plugge, 2010).

En el esquema mostrado en la Figura 1 se puede observar que existen varias rutas para la producción de metano. Para este estudio nos centraremos en la parte final, que aparece indicada como “Metanogénesis”. Las bacterias metanogénicas acetoclásticas transforman el ácido acético a metano y CO<sub>2</sub> produciendo un 70% del metano total mientras que las hidrogenotróficas solo producen el 30% del metano a partir de H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>, en el proceso descrito anteriormente.

Algunas de las características a tener en cuenta de este proceso de metanogénesis hidrogenotrófica son que las especies de bacterias que participan en el proceso son muy importantes, ya que mantienen la presión parcial del H<sub>2</sub> baja (<10 Pa.), lo cual necesario para el buen funcionamiento del proceso (J.D. Coates *et al.*, 1996); pero por el contrario, este H<sub>2</sub> introducido puede no ser utilizado del todo debido a la baja tasa de transferencia de este gas en el líquido (Guiot, Cimpoia, y Carayon, 2011). Además, por otro lado, al eliminarse buena parte del CO<sub>2</sub>, el pH aumenta. (Bassani *et al.*, 2015).

El objetivo general de este trabajo es conocer el proceso biológico que se desarrolla en las metanogénesis hidrogenotrófica para producir metano mientras se elimina dióxido de carbono y evaluar los parámetros que afectan o alteran dicho proceso. Para ello se va a exponer un fango anaerobio a H<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> en un test en batch discontinuo, que se desarrollará en condiciones mesófilas (35°C), ya que de esta

forma se pueden probar diferentes variables. Se busca conocer el consumo de  $H_2$ , la actividad hidrogenotrófica y otras características que afecten a la producción de  $CH_4$ , como la concentración de sólidos inicial, si se produce acumulación de ácido acético o si hay limitaciones a la transferencia. Además, y como objetivo a tener muy en cuenta, se quiere conocer si se produce aclimatación de la biomasa al  $H_2/CO_2$ , puesto que esto resulta importante desde un punto de vista industrial, para conocer si un fango convencional puede adaptarse con éxito y no sea necesario tener que partir de un inóculo específico, que puede no estar disponible o ser muy costoso.

## 2. Materiales y métodos.

En este apartado se van a desarrollar los diferentes materiales utilizados para realizar el montaje, incluido una descripción del fango, así como el funcionamiento de los propios tests y su análisis. El montaje de los ensayos se ha llevado a cabo tomando como referencia los realizados por Coates *et. al.* en 1996.

### 2.1. Descripción del fango anaerobio.

El fango anaerobio a utilizar para el desarrollo de los test es un fango mesófilo procedente de la digestión anaerobia del fango mixto obtenido en el proceso de depuración de aguas residuales en la planta depuradora de aguas residuales de Valladolid. La caracterización del fango se muestra en la Tabla 1, y en la Tabla 2 los valores correspondientes a los ácidos grasos volátiles.

Tabla 1. Caracterización del fango EDAR.

ST	22.01 g/Kg
SV	12.77 g/Kg
SST	21.75 g/L
SSV	12.20 g/L
pH (soluble)	7.4
DQO total	22989.69 mg O <sub>2</sub> /L
DQO soluble	1056.70 mg O <sub>2</sub> /L

Tabla 2. Ácidos Grasos Volátiles del fango EDAR.

AGVS (mg/L)			
Acético	33.363	Valérico	0
Propiónico	17.551	Isocaprónico	0
Isobutírico	1.159	Hexanoico	0
Butírico	7.767	Heptanoico	13.279
Isovalérico	1.865		

Este fango se almacenará en cámara fría a 4°C, y previo a su uso para la realización de los test se aclimatará en cámara caliente durante 24 horas aproximadamente antes del inicio del ensayo.



Figura 2. Muestra de fango EDAR.

## 2.2. Montaje de los test.

Para la realización del montaje de los test se han utilizado botellas de vidrio de 160ml de capacidad, que fueron previamente calibradas para eliminar el error existente en la realización de los cálculos. El volumen total de líquido introducido en cada una de ellas ha sido de 26.7ml, obteniendo una relación 1/5 con el *headspace* libre dentro de la botella, debido a que es la misma proporción usada en el protocolo de Coates *et. al.* (1996).

Para saber el volumen de inóculo a introducir para cada concentración deseada en cada ensayo será necesario conocer los SV del fango, para calcular la cantidad en

relación con el volumen final de la botella, de la siguiente forma: (Concentración deseada x Volumen Total) / Sólidos Volátiles.

En todos ellos se utilizará una disolución de buffer, que se introducirá en la botella junto al inóculo, hasta llegar al volumen total necesario. Las botellas tendrán, por tanto, una fase líquida compuesta por el inóculo y el buffer.

Los ensayos de actividad para cada concentración se realizarán por triplicado, montando tres tipos de botellas en cada test: unas con las muestras, a cuyos resultados del triplicado se les calculará un promedio; otras que serán los controles, necesarios para conocer la producción de CH<sub>4</sub> endógena procedente de la digestión anaerobia de la materia orgánica que contienen, y otras que servirán como sacrificios, con el objetivo de seguir la concentración de ácido acético durante el ensayo, de cara a conocer si se forma acetato intermedio y por tanto tiene lugar la homoacetogénesis.

Para llevar a cabo el montaje de los test en primer lugar es necesario preparar una gran cantidad de buffer, que sea suficiente para cubrir la realización de todos los ensayos. La manera de prepararlo, basada en el protocolo de Coates *et. al.* (1996) es la siguiente: se mezclan 3.05g de NaHCO<sub>3</sub> por cada litro de agua destilada y después se calienta hasta hervir, para luego dejarlo enfriar mientras se flashea con una mezcla gaseosa de N<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> en proporción 80/20. La cantidad que se suministrará en cada botella será la necesaria para enrasar a 26.7 ml.

En cuanto al propio montaje, la manera de proceder es bien sencilla: se retira el fango de la cámara caliente, y en el momento de montar los ensayos se agita para homogeneizar la muestra y que sea representativa, luego se toma una cantidad de fango, previamente conocida a partir de los cálculos del inóculo necesario para

cada concentración deseada, que se han descrito anteriormente, y se añade a la botella de vidrio, situada sobre una báscula, mediante una pipeta, haciendo una equivalencia entre el volumen necesario a ocupar y el peso, que se asume como equivalente, para después añadir la solución buffer hasta enrasar a los 26.7ml indicados anteriormente. Una vez se haya ocupado el volumen, se cierra la botella con un *septum* (Bellco Glass, Inc. Septum Stopper 20mm.) y este se sella con una cápsula de aluminio (Supelco. Open Center Seals 20 mm).

Los tests denominados como muestras y sacrificios se flashean, mediante unos tubos conectados con botellas de gas y unas agujas al final, que atraviesan el septum, y que introducirán el gas dentro de la botella (ver Figura 3). En primer lugar se introduce una mezcla de  $N_2/CO_2$ , en relación 80-20, durante 6 minutos, que servirá para desplazar el oxígeno contenido en la botella y dejarla en condiciones anaerobias, para a continuación, pasar a flashearle con  $H_2/CO_2$  con una proporción de 80-20 que está relacionada con la estequiometría de la Eq.1, durante 8 minutos. Se dejará una salida al exterior en ambos casos para permitir que escape el gas desplazado. Después se presuriza a unos 830-850mb, realizándose sin la salida de gas al exterior, que son medidos con un aparato transductor de presión portátil (IFM, PN-5007, 0-1000mb).

A continuación, del mismo modo que se ha realizado con las muestras y sacrificios, se realiza la misma operación de flasheado con los controles, en este caso solo con la mezcla de  $N_2/CO_2$ , en proporción 80-20, también durante 6 minutos, y presurizando finalmente entorno a los 830-850mb.

Los tiempos utilizados para el flasheado se toman de ensayos anteriores realizados por el mismo grupo de investigación del Departamento.



Figura 3. Detalle del montaje de los tests.

Tras el montaje, las botellas son llevadas a un shaker orbital incubador (Thermo Scientific, MaxQ 4000) mostrado en la Figura 4, que le proporcionará la temperatura necesaria (se va a trabajar en condiciones mesófilas, de 35°C) y la agitación deseada, de 180 rpm, que es la velocidad óptima que se ha demostrado en ensayos anteriores (Coates *et. al.*, 1996).

Los ensayos se realizarán para distintas concentraciones de SV iniciales, con el fin evaluar la posible influencia de dicha concentración inicial ante la exposición del fango a H<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>. Las concentraciones serán las siguientes: 1, 2, 3.5, 7, 10 y 20 g/L. Para las tres primeras se ha partido de la concentración de SSV y para las siguientes de la de SV. Se parte de la concentración de SV en estos últimos debido a que por la alta concentración no es válido realizarlo con los SSV, al obturarse el poro al filtrar, y el resultado no es correcto. Además, se realizó un ensayo a diferentes presiones (1.3 y 1.5 bar) para la concentración de 20g/L, con el objetivo de saber si existen limitaciones a la transferencia de materia.





Figura 4. Disposición de botellas en la incubadora.

### 2.3. Seguimiento y análisis de los tests.

De acuerdo a la Eq. 1 podemos observar que 5 moles de gas ( $\text{CO}_2 + \text{H}_2$ ) producen 1 mol de  $\text{CH}_4$ , por lo tanto el equilibrio de la reacción se verá desplazado, y la presión en el sistema se reducirá.

Se irá midiendo la presión de cada botella, al mismo tiempo que se realiza cada análisis de composición del gas que contiene. Estas medidas de presión harán que se pierdan cierta cantidad de gas al realizar cada pinchazo, valor ya calibrado que se tendrá en cuenta para los posteriores cálculos.

La presión y composición se medirá de forma continua, según la actividad que se vaya registrando en cada ensayo, para el triplicado de muestras y los controles, y en cuanto a los sacrificios se medirá su composición cuando la presión se haya

reducido hasta el 75% en el primero, hasta el 50% en el segundo y hasta el 25% en el último. Una vez medida su presión y composición se abrirán dichas botellas y se dispondrán para realizar el análisis de AGV (ácidos grasos volátiles) y de sólidos. Estos mismos análisis se realizarán también con el triplicado de las muestras y los controles, una vez que se dé por finalizado el ensayo.

Para los análisis de composición se utiliza una jeringuilla para gases (Hamilton. GC Syringe), de 100µl de capacidad, que se introduce a través del septum de cada botella para extraer una pequeña muestra, que será introducida a continuación en el cromatógrafo de gases (CG-TCD, Varian CP-3800) para ser analizada, y cuyo resultado expresado en valores porcentuales se irá anotando.

A lo largo de los test veremos como la presión en cada botella va disminuyendo con el tiempo, y podremos dar por finalizado el ensayo cuando la presión se sitúa entre 0 y 50 mbar. Tras esto, se realizarán los análisis de pH, para saber cómo ha evolucionado, los AGV's para conocer la posible acumulación de acético tal y como se describe en Díaz *et al.*, (2010) y los ST/SV para conocer el crecimiento, de acuerdo a un método estandarizado (APHA *et al.*, 2005).

Para realizar el análisis de AGV se toma una muestra representativa del contenido de la botella, y se vierte en un tubo tipo *falcon* que se coloca en la centrífuga a 5000rpm durante 5 minutos. Después, se filtra el sobrenadante en un filtro de 0.7µm, obteniéndose una fase soluble, que se acidifica con sulfúrico concentrado hasta un pH de 2. Con esto se llenan dos *ependorf* que se centrifugan durante 5 minutos a 13000rpm en una microcentrífuga. El sobrenadante resultante se filtra, con un filtro de 0.2 µm, directamente en un vial. La determinación se realiza en un GC-FID.

### 3. Cálculos.

Para poder presentar los resultados obtenidos primero se han de realizar una serie de cálculos a partir de los datos que se han ido tomando durante el trascurso del análisis de los test.

En primer lugar, calcularemos los mmoles totales contenidos en cada botella, a partir de los datos de presión y los obtenidos mediante cromatografía de gases, aplicando la Ley de los gases ideales:  $P \cdot V = n \cdot R \cdot T$

A partir de esta cantidad, y con la composición de cada especie química contenida, se pueden obtener los mmoles de cada sustancia en particular.

A continuación, se calcula el H<sub>2</sub> consumido por cada periodo de tiempo analizado, al cual se le aplica la diferencia de la pérdida producida por cada pinchazo realizado en el momento de medir la presión, para corregir el error producido, y así obtenemos el consumo medio de H<sub>2</sub>, medido en mmoles.

En cuanto al CH<sub>4</sub>, se sigue un similar procedimiento, pero en esta ocasión se resta a esa cantidad el CH<sub>4</sub> endógeno, que es el producido en los controles. Con esto, podemos calcular la producción de CH<sub>4</sub> en mmoles/hora y a partir de ahí, tomando el peso molecular, la concentración inicial del inóculo y el volumen introducido en la botella, obtener la actividad media del CH<sub>4</sub> en mg/mgVSSd.

## 4. Resultados y discusión.

Una vez tomados todos los datos mediante los análisis ya especificados y realizando los cálculos pertinentes tal y como se explican en el apartado anterior, se obtienen una serie de resultados, que se muestran a continuación en una serie de gráficas para su mejor comprensión.

### 4.1. Actividad hidrogenotrófica.

En la Figura 5 se muestra cómo evoluciona el consumo de  $H_2$ , medido en mg, desde el punto inicial del test hasta su finalización. Se observa que la concentración mayor es la que antes reduce su cantidad de  $H_2$ , por tanto es donde dicho consumo se produce con mayor celeridad.

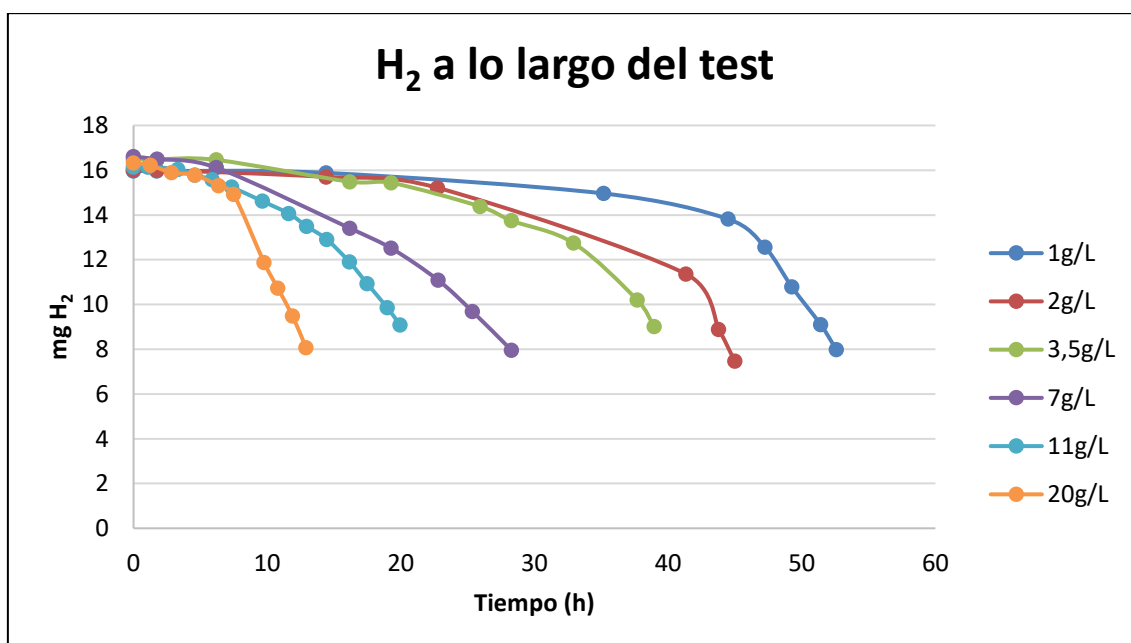


Figura 5. mg de  $H_2$  a lo largo del test.

La reducción en la cantidad de  $H_2$  se debe a que se está produciendo el proceso biológico indicado en la Eq.1, transformándose en  $CH_4$ , de modo que en aquella concentración para la cual el consumo de  $H_2$  es más rápido tendrá también un

crecimiento más acelerado en cuanto a la producción de CH<sub>4</sub>, tal y como se ve en la Figura 6.

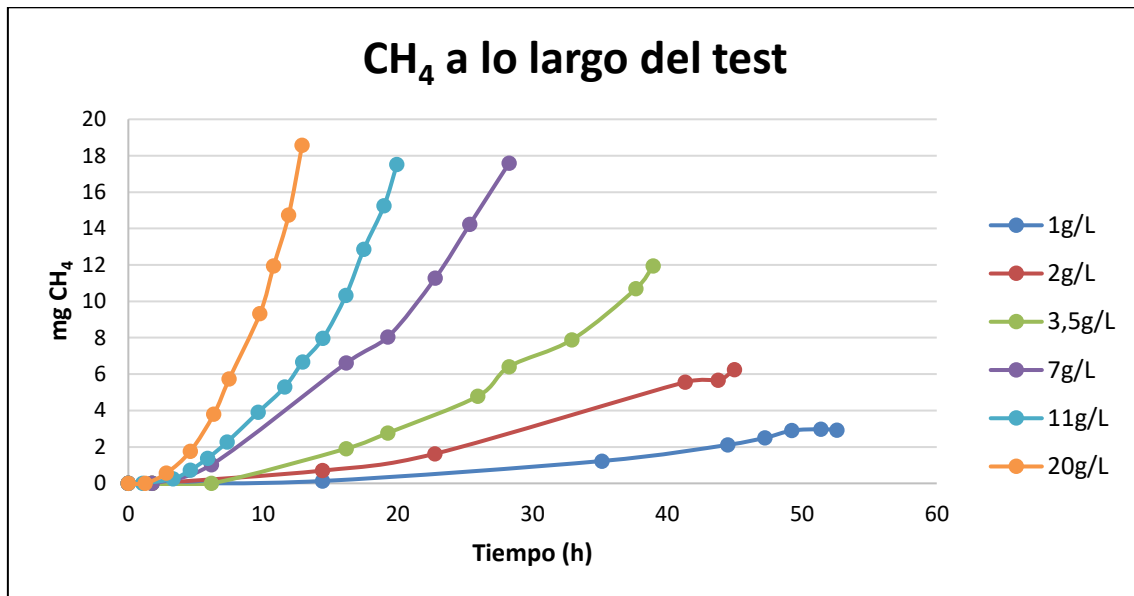


Figura 6. mg de CH<sub>4</sub> a lo largo del test.

La actividad se puede definir como la cantidad de una determinada especie química por la concentración de sólidos inicial en función del tiempo. En las figuras 7 y 8 se muestra la actividad y como ha sido el consumo de H<sub>2</sub> y producción de CH<sub>4</sub>, respectivamente, medidos en mg de cada especie química en relación a los mg de sólidos de cada inóculo, en función del tiempo transcurrido.

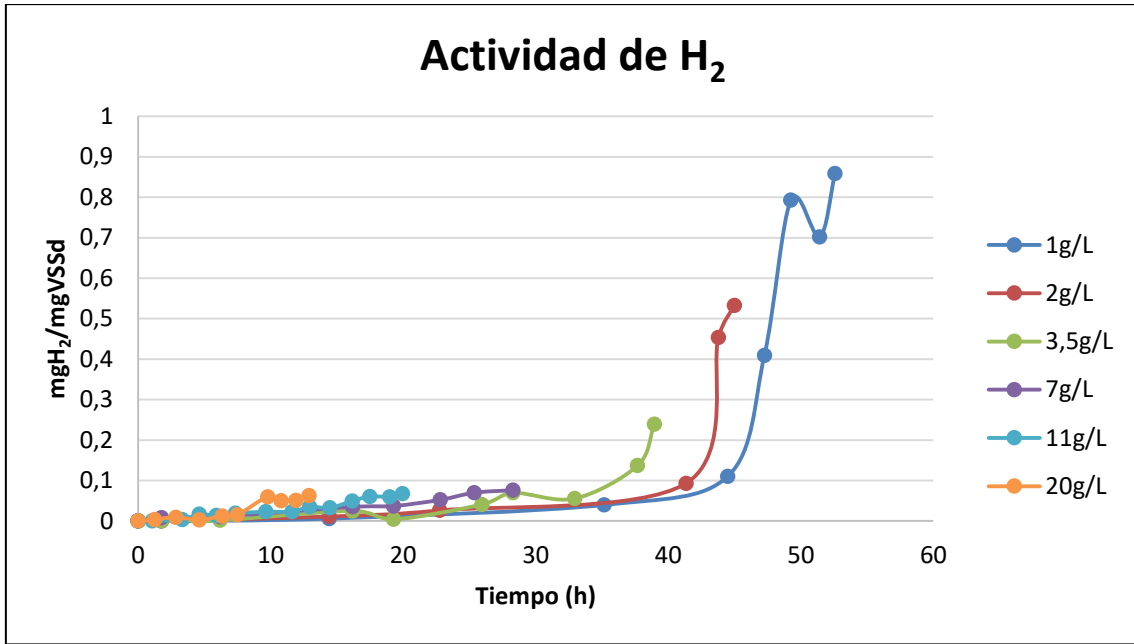


Figura 7. Actividad del H<sub>2</sub>.

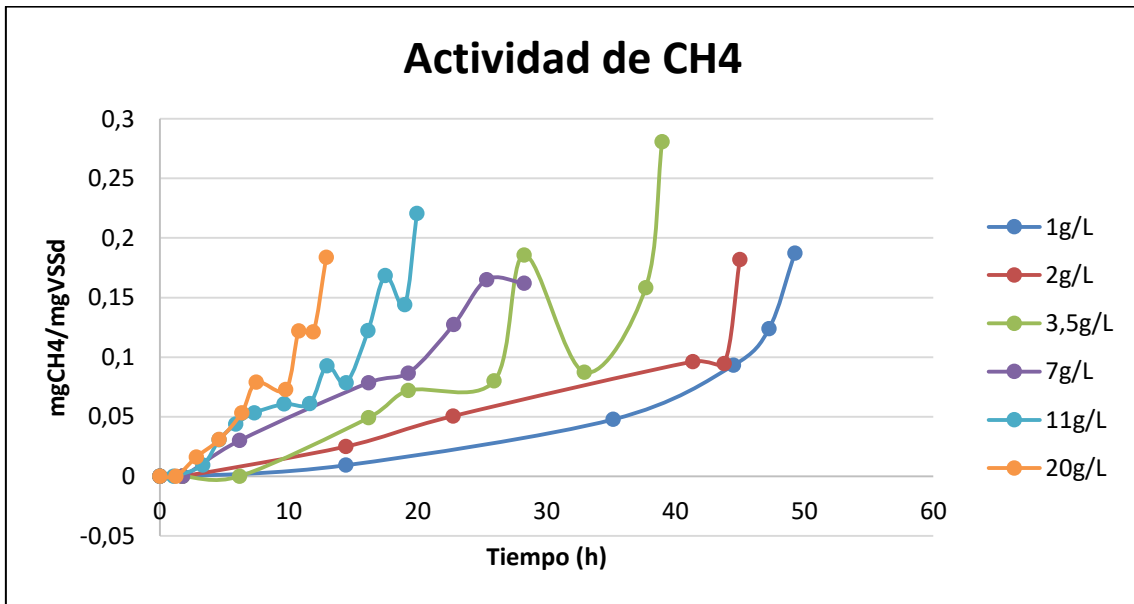


Figura 8. Actividad del CH<sub>4</sub>.

Para finalizar el análisis de estas gráficas se puede concluir que, tal y como se observa en la figura 6, la concentración inicial de biomasa (SSV o SV según cada caso) afecta a la producción de metano obteniendo valores mayores cuanto mayor sea la concentración inicial de biomasa usada, obteniendo así mismo mayores velocidades de producción de metano a más sólidos iniciales y por lo tanto mayor tasa de producción de metano específica (o actividad de metano) como se ve en la

Figura 8. Además, en todas las anteriores gráficas podemos observar una fase de latencia o *lag phase*, que resulta más importante para las pequeñas concentraciones, puesto que a partir de 7g/L se reduce.

#### 4.2. Rendimiento.

En la siguiente gráfica (Figura 9), se disponen los datos del rendimiento, en valor porcentual, relacionando los mg de CH<sub>4</sub> finales obtenidos con los que teóricamente se pueden obtener, es decir, los correspondientes al H<sub>2</sub> inicial descontándole las pérdidas producidas por cada medida de presión. Realizando estos cálculos se refleja en la anterior figura que la concentración con un mayor rendimiento es la de 11g/L, precisamente la que coincide con el inóculo real procedente de la EDAR. Con concentraciones mayores a 7g/L el rendimiento se sitúa en un intervalo del 62-64%, y para concentraciones menores disminuye hasta situarse entre el 9 y el 40%.

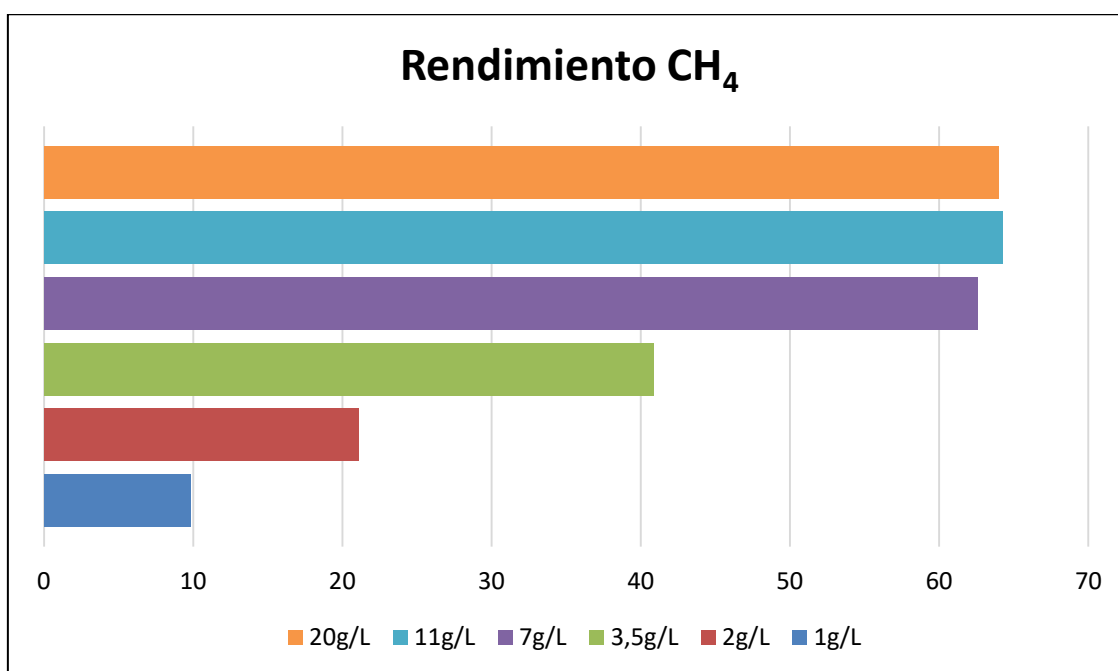


Figura 9. Rendimiento en CH<sub>4</sub>.

### 4.3. Sólidos, pH y AGV.

En cuanto a los análisis de sólidos, pH y ácidos grasos volátiles realizados una vez finalizados los test, los datos obtenidos se muestran a continuación.

En la Figura 10 se muestra cuál ha sido la producción de ácido acético en cada concentración, medido en mg/L.

En el análisis realizado al inóculo se determinó un valor de ácido acético de en torno a 33 mg/L, por lo tanto se observa con claridad que para los tres ensayos con menor concentración el aumento de este parámetro ha sido muy considerable.

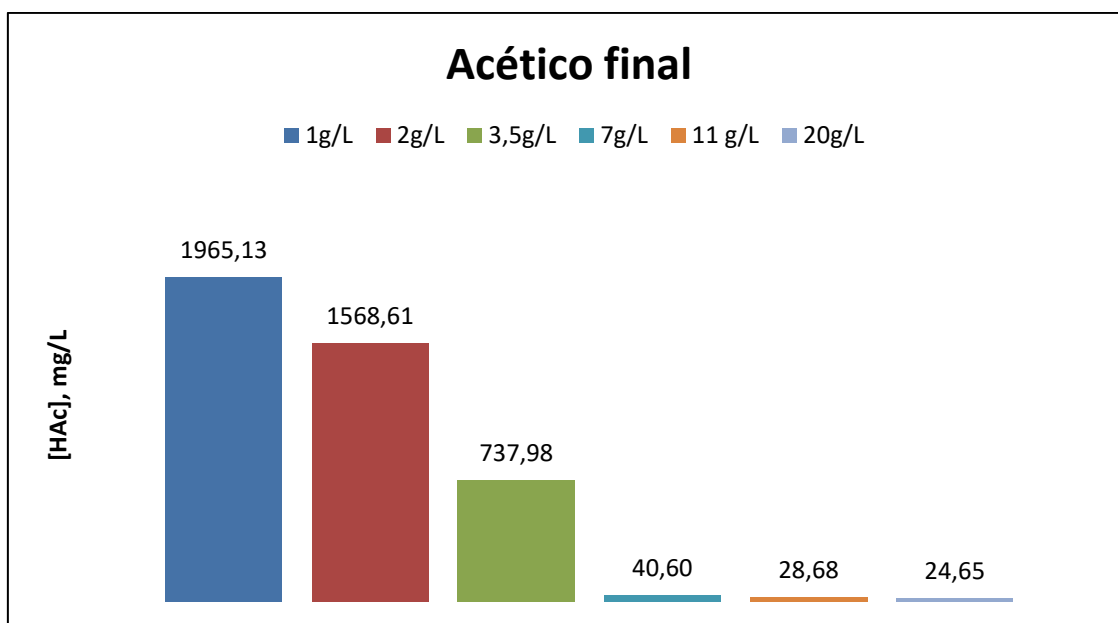


Figura 10. mg/L de ácido acético al final del test.

Para mostrar los análisis de ácidos grasos volátiles realizados a los sacrificios de cada test se disponen en la Figura 11 los correspondientes a las concentraciones de 3.5, 7 y 11 g/L. Los tres primeros puntos de cada línea corresponden a cada uno de los diferentes sacrificios y el último punto se corresponde con la media del triplicado al acabar el ensayo. Como se puede observar también en la Figura 10, la concentración de ácido acético es mayor cuanto menor sea la concentración inicial del inóculo. Esto es debido a que cuando se usan concentraciones iniciales de



biomasa bajas, se produce una acumulación de ácido acético durante el ensayo debido a la producción de acetato que aún no ha sido transformado a metano totalmente y por tanto no se ha podido acumular en la fase líquida, que está directamente relacionado con las producciones de metano más bajas obtenidas y comentadas antes a esas mismas concentraciones. En este caso se estaría produciendo la homoacetogénesis, ya indicada anteriormente en la Figura 1.

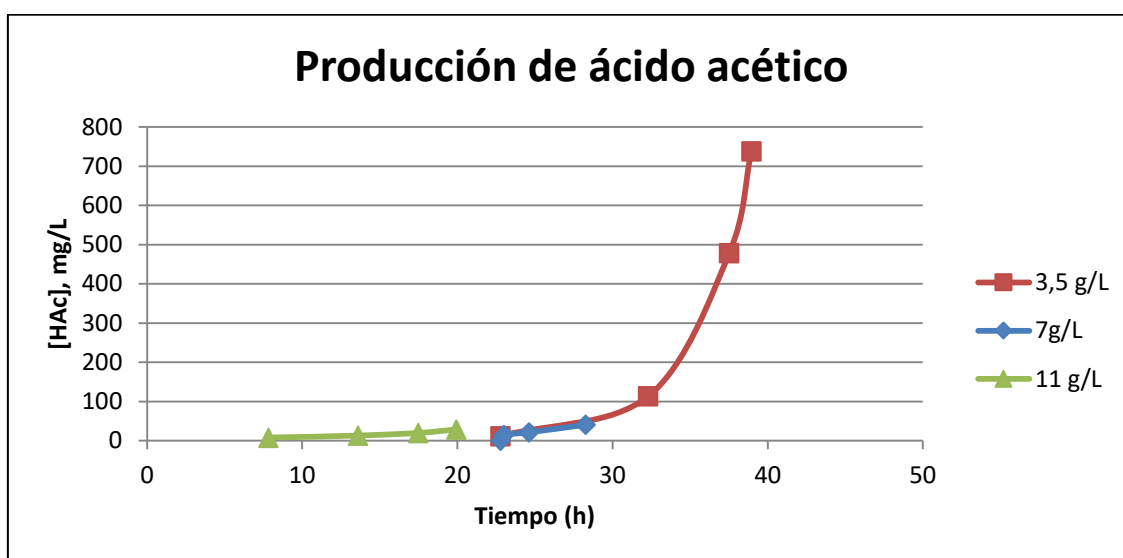


Figura 11. Producción de ácido acético por tiempo.

En lo relativo al pH, partiendo de un valor inicial de 7.4, tal y como está indicado en la línea roja sobre la Figura 12, se observa como todas las concentraciones han aumentado su pH, muy ligeramente en el caso de 1g/L y con un amplio aumento en el caso de la concentración de 7g/L. El aumento del valor del pH es causado por la eliminación del CO<sub>2</sub>, que acidifica el pH.

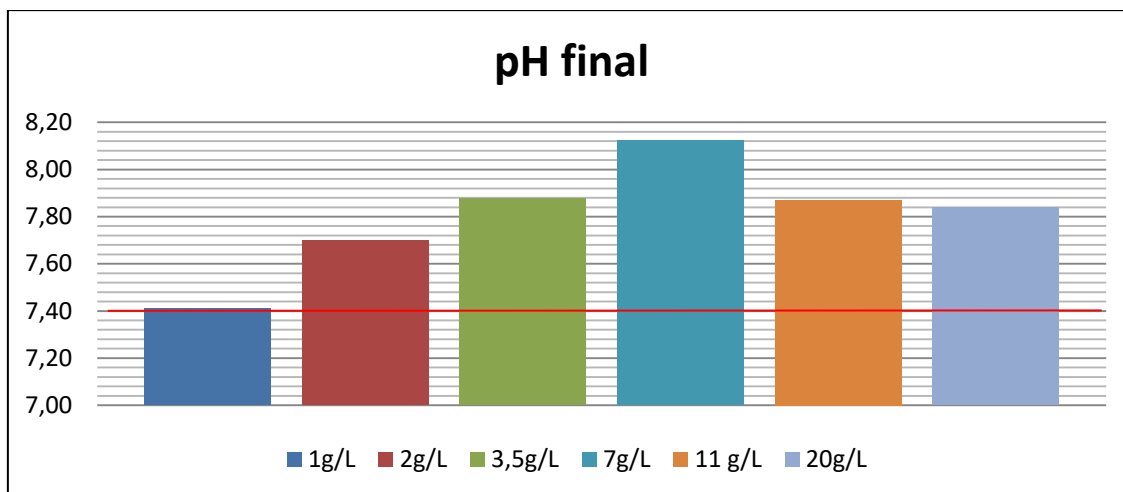


Figura 12. pH final por cada concentración.

En cuanto a la cantidad de sólidos suspendidos volátiles determinada en los posteriores análisis, solo se muestra crecimiento significativo para las concentraciones de 1g/L, donde aumenta un 31%, y en 2g/L donde aumenta un 16.5%. Este crecimiento está relacionado con la gran lag phase señalada y comentada con anterioridad.

#### 4.4. Limitaciones a la transferencia.

En lo referente a los ensayos a diferentes presiones, los resultados obtenidos se muestran a continuación:

A la vista de las dos siguientes figuras (Figura 13 y Figura 14) podemos concluir que no existen limitaciones a la transferencia puesto que las tendencias de las líneas indicadas son muy similares tanto para el CH<sub>4</sub> como para el H<sub>2</sub>, con mayor similitud entre la de 1 y 1.5bar.

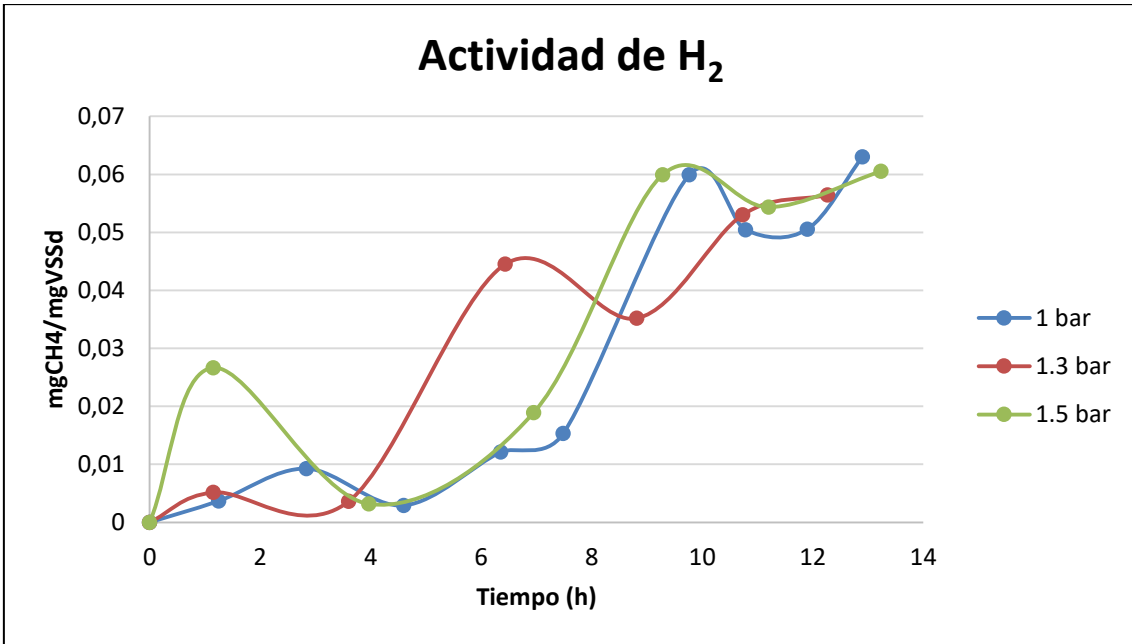


Figura 13. Actividad del H<sub>2</sub> a diferentes presiones.

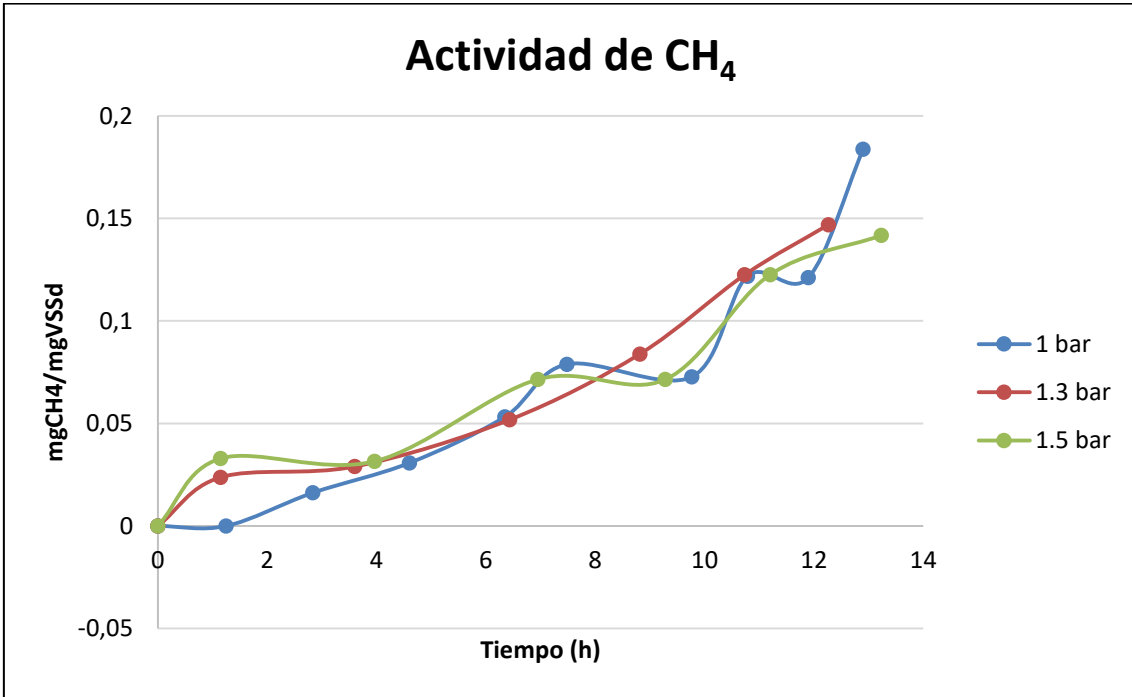


Figura 14. Actividad del CH<sub>4</sub> a diferentes presiones.

Así mismo, también se realizaron análisis finales de sólidos, pH y ácido acético para estos test, que se muestran a continuación:

En la Figura 15 se muestra la producción de ácido acético medida al final del test, dando como resultado una mayor cantidad, con gran diferencia sobre el resto, para el test a 1 bar de presión.

En cuanto a la producción de sólidos volátiles no se produjo crecimiento de los mismos.

Para la medida de pH resulta algo mayor en el caso del test a menor presión, pero no es una diferencia realmente significativa puesto que solo se diferencia en la segunda cifra decimal.

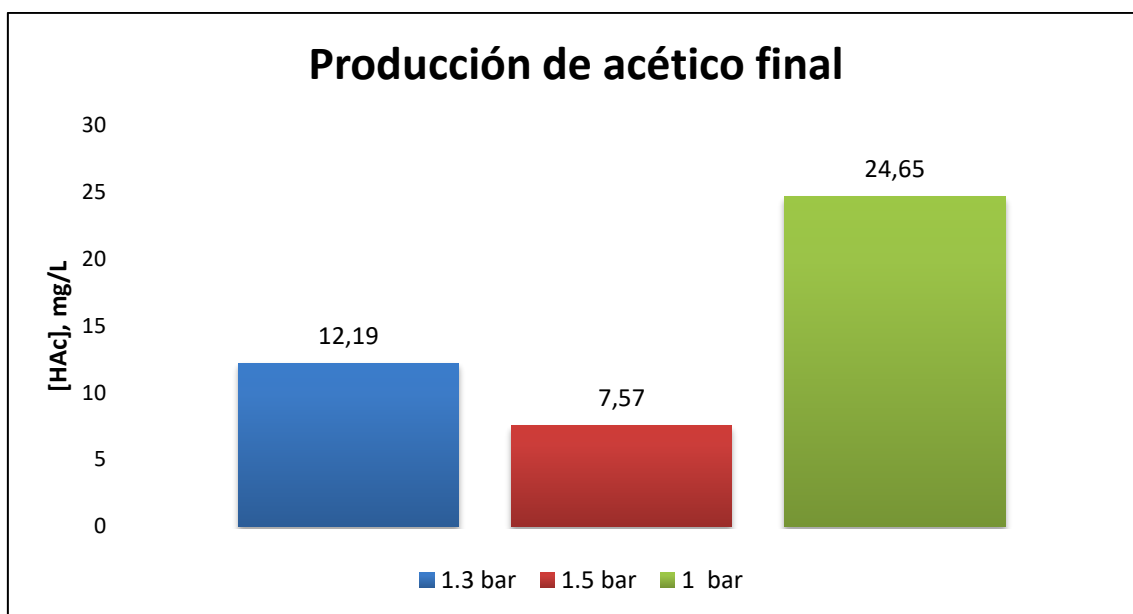


Figura 15. Producción de acético final a diferentes presiones.

## 5. Conclusiones.

Con este trabajo se ha conseguido conocer cómo funciona el proceso de conversión biológica, conocido como metanogénesis hidrogenotrófica, al exponer un fango anaerobio procedente de una EDAR a una mezcla gaseosa de  $H_2$  y  $CO_2$  a una serie de tests de batch en discontinuo.

Con los diferentes procedimientos realizados, se ha podido constatar que el consumo de  $H_2$  se da con mayor rapidez para aquellas concentraciones de inóculo inicial mayores, por lo tanto es en estas donde la actividad hidrogenotrófica de conversión del  $H_2$  consumido en  $CH_4$  será mayor en un rango de tiempo menor.

Se ha observado acumulación de ácido acético en el caso de las concentraciones menores (1, 2 y 3.5 g/L) debido a la fase de latencia que experimentan. Además, son estas mismas concentraciones donde se aprecia un crecimiento significativo de los sólidos al final del ensayo, que es también causado por el *lag phase*.

Por tanto, las mejores condiciones para la realización de este ensayo se sitúan en aquellas concentraciones mayores, como las de 7, 11 y 20 g/L, además de poderse realizar a diferentes presiones, puesto que se ha demostrado que no existen limitaciones a la transferencia.

Puesto que el método usado para estos ensayos ha sido el desarrollado por Coates *et. al* en 1996, hay que indicar que llevar a cabo experimentos con la realización descrita provoca acumulación de acético y el desarrollo de la homoacetogénesis, sobre todo a bajas concentraciones de inóculo.

Además, se ha obtenido un mayor rendimiento de producción de  $CH_4$  para el inóculo con igual concentración al de partida procedente de la EDAR, lo cual puede

indicar que la aclimatación de este fango convencional ha sido exitosa. Por tanto, las condiciones desde un punto de vista industrial serían ventajosas, ya que no sería necesario adquirir un fango hidrogenotrófico específico.

## 6. Bibliografía.

APHA, AWWA, WPCF, 2005. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 21st ed., Washington, DC.

Bailón L., Hinge J. (2012). Report: Biogas and bio-syngas upgrading. Danish Technological Institute.

Bassani I., Kougias P., Treu L., De Francisci D., Angelidaki I. (2015). Biogas upgrading by injection of hydrogen in a two-stage Continuous Stirred-Tank Reactor system. Abstract from 14th World Congress on Anaerobic Digestion, Viña del Mar, Chile.

Coates J. D., Coughlanb M. F., Colleran E. (1996). Simple method for the measurement of the hydrogenotrophic methanogenic activity of anaerobic sludges. *Journal of Microbiological Methods* 26 (1996) 237-246.

Díaz, I., Lopes, A.C., Pérez, S.I., Fdz-Polanco, M. (2010). Performance evaluation of oxygen, air and nitrate for the microaerobic removal of hydrogen sulphide in biogas from sludge digestion. *Bioresour. Technol.* 101, 7724–7730.

Díaz, I., Pérez, C., Alfaro, N., Fdz-Polanco, F. (2015). A feasibility study on the bioconversion of CO<sub>2</sub> and H<sub>2</sub> to biomethane by gas sparging through polymeric membranes. *Bioresource Technology* 185 (2015) 246–253

EurObservER, L'Observatoire des énergies renouvelables, (2013). The state of renewable energies in Europe. ISSN 2101–9622.

Guiot S. R., Cimpoaia R., Carayon G. (2011). Potential of Wastewater-Treating Anaerobic Granules for Biomethanation of Synthesis Gas. *Environmental Science and Technology* 45, 2006–12.

NRC, The National Research Council. (2010). *Advancing the Science of Climate Change*. A report from The National Academies, Washington, DC.

Stams, J.M., Plugge, C.M. (2010). The microbiology of methanogenesis. *Methane and Climate Change*, 14-26.

Strevett K.A., Vieth R.F., Grasso D. (1995). Chemo-autotrophic biogas purification for methane enrichment: mechanism and kinetics. *Chem Eng J Bioch Eng* 58:71-79.



## **Aprendizaje personal**

La posibilidad de poder desarrollar este trabajo me ha brindado la oportunidad de trabajar en un laboratorio, desarrollando nuevas técnicas analíticas que desconocía, conocer cómo funciona el trabajo dentro de un equipo de investigación y sobre todo entender como funciona el proceso de metanogénesis hidrogenotrófica y aprender nuevos conocimientos así como reforzar otros ya visto durante el curso.

