



Universidad de Valladolid

Facultad de Ciencias

TRABAJO FIN DE GRADO

Grado en Química

**Monitorización de un proceso biológico de tratamiento de
aguas residuales mediante narices electrónicas**

Autor: MARIO LARGO BARRIENTOS

Tutor/es: Marisol Vega Alegre, Raúl López Sánchez

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría manifestar mi agradecimiento a todas aquellas personas e instituciones gracias a las cuales he podido llevar a cabo el presente Trabajo de Investigación.

En primer lugar, quiero expresar mi especial agradecimiento a mis dos tutores, los profesores Marisol Vega Alegre del Departamento de Química Analítica de la Universidad de Valladolid y Raúl López Sánchez del Instituto Nacional de Técnica Aeroespacial, INTA, por el esfuerzo personal y el tiempo que han dedicado para guiarme y poder completar el Trabajo que en muchos momentos ha ido más allá de su obligación.

Deseo también dar las gracias a la empresa Aguambiente y sus trabajadores del laboratorio, en especial a Roberto Díez Castellanos por su inestimable ayuda. Así mismo, quiero expresar mi agradecimiento al profesor Raúl Muñoz Torre del Departamento de Ingeniería Química y Tecnología del Medio Ambiente de la Universidad de Valladolid por conducirme en nuevas áreas de conocimiento.

Por último, quiero agradecer al Instituto Nacional de Tecnología Aeroespacial por ponerme a disposición uno de sus equipos, así como a la Universidad de Valladolid por los medios humanos y técnicos puestos a mi disposición durante mi ciclo formativo.

ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
1.INTRODUCCIÓN.....	3
1.1 Reactores Anaeróbicos	4
1.1.1 Introducción a los reactores biológicos.....	4
1.1.2 Mecanismo del proceso anaeróbico	6
1.1.3 Microbiología del proceso.....	8
1.1.4 Balance energético	11
1.1.5 Parámetros de operación	11
1.2. NARIZ ELECTRÓNICA	15
1.2.1 Principios fundamentales del sentido del olfato humano.....	15
1.2.2 Sensores Químicos.	16
1.2.2.1 Sensores químicos de óxidos metálicos (MOs).....	16
1.2.2.2 Principio de funcionamiento	17
2. OBJETIVOS.....	21
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	23
4. RESULTADOS	27
4.1. Sensibilidad y respuesta de los sensores a los gases objetivo.....	27
4.1.1. Respuesta al CH ₄	27
4.1.2 H ₂ S	32
4.1.3 CO ₂	33
4.1.4. NO ₂	35
4.1.5 Ácidos Grasos Volátiles	35
4.2 Seguimiento del reactor anaeróbico mediante la nariz electrónica.....	39
4.2.1 Parámetros operativos.	39
5. CONCLUSIONES.....	59
6. BIBLIOGRAFIA	61
ANEXO 1	63
ANEXO 2	64
ÍNDICE DE FIGURAS.	67
ÍNDICE DE TABLAS.....	69

RESUMEN

Durante los procesos biológicos de tratamiento de aguas residuales en un reactor anaeróbico se generan gases y compuestos orgánicos volátiles cuya monitorización permite hacer un seguimiento estrecho del proceso para disminuir la variabilidad y mejorar la eficiencia. Controlar este proceso mediante técnicas analíticas convencionales consume tiempo y recursos económicos, por lo que el desarrollo de sensores capaces de monitorizar el proceso de depuración en tiempo real sin intervención humana tiene gran interés. Es por ello que en el presente TFG se ha investigado el empleo de narices electrónicas para controlar un biorreactor anaerobio a escala piloto.

Las narices electrónicas están constituidas por sensores electrónicos capaces de detectar gases y compuestos volátiles, obteniendo señales analíticas que se pueden tratar matemáticamente para construir un perfil que permite la monitorización continua del proceso.

Para estudiar la viabilidad del presente trabajo se han llevado a cabo primeramente ensayos de laboratorio para medir la respuesta de los sensores a los gases más característicos del proceso anaeróbico.

El reactor anaeróbico monitorizado es un prototipo al cuál se le han realizado modificaciones para mejorar su operatividad, así como su automatización. Mediante la conexión de la nariz electrónica a una salida de gases del reactor anaeróbico se ha estudiado su funcionamiento y su capacidad para eliminar la materia orgánica de aguas residuales. Las señales registradas han sido contrastadas con los resultados de análisis físico-químicos (pH, DQO, ácidos grasos volátiles) para validar las respuestas de los sensores y ver la capacidad real del seguimiento del tratamiento anaeróbico y la viabilidad del uso de las narices electrónicas en este campo.

ABSTRACT

During the biological processes of wastewater treatment in an anaerobic reactor, gases and organic compounds are generated. The monitoring of which allows a close tracking of the process to reduce variability and improve efficiency. Following this process using conventional analytical techniques consumes time and economic resources. Therefore, in this work the anaerobic process will be monitored using an e-nose.

E-noses are made up of electronic sensors capable of detecting volatile compounds by recording analytical signals that can be mathematically processed to build a profile that allows continuous monitoring of the process.

In order to study the viability of this work, laboratory tests have been carried out to measure the response of the sensors to the most characteristic gases of the anaerobic process.

The anaerobic reactor studied is a prototype to which modifications will be made to improve its operability as well as its automation. By connecting the e-nose to a gas exit of the anaerobic reactor, its operation and its ability to remove organic matter from wastewater will be studied. The observations made by conventional analytical tests will be validated to check the effectiveness of monitoring the anaerobic treatment and the viability of the use of e-noses in this field.

1. INTRODUCCIÓN

Se entiende por aguas residuales aquellas cuya calidad se ha visto afectada negativamente por una influencia antropogénica. La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, FAO (*Food and Agriculture Organization*) define aguas residuales como: “agua que no tiene valor inmediato para el fin para el que se utilizó, ni para el propósito para el que se produjo debido a su calidad, cantidad o al momento en que se dispone de ella”.

Las aguas residuales están constituidas por una mezcla de residuos sólidos y líquidos de diferente naturaleza. Teniendo en cuenta su origen se pueden clasificar en:

- Domésticas: se caracterizan por ser ricas en materia orgánica y microorganismos (patógenos, en muchos casos).
- Industriales: sus características dependen del tipo de industria que las genere.
- Ganaderas y agrícolas: se caracterizan por ser ricas en materia orgánica. Las ganaderas poseen elevado contenido de microorganismos, mientras que las agrícolas generalmente contienen fertilizantes y pesticidas.
- Infiltración: Penetran en el sistema de alcantarillado de forma directa o indirecta a través de las tuberías (e.g. empalmes, paredes o materiales defectuosos).
- Aportes incontrolados: incluyen todos los caudales recogidos en la red provenientes de desbordamientos, *bypasses* de estaciones de bombeo, entre otros.
- Aguas pluviales: corresponden al agua de la escorrentía superficial. Su composición cambia con la duración de las lluvias.

Para poder dar una disposición correcta de las aguas residuales, se les debe someter a tratamientos de depuración que permitan remover, eliminar o transformar esos componentes indeseados para poder descargarlas de forma segura a los cuerpos de agua (ríos, lagos, mares). El tratamiento de aguas residuales consiste en una serie de procesos físicos, químicos y biológicos que tienen como fin eliminar los contaminantes presentes en el agua. Los tratamientos físicos se basan en la separación de los contaminantes, que son transferidos a una nueva fase pero no destruidos, precisándose una segunda etapa de tratamiento o almacenamiento de este residuo. Los tratamientos químicos suelen involucrar una oxidación y, por tanto, es un método poco selectivo que solo elimina los contaminantes oxidables. Los tratamientos biológicos eliminan los contaminantes de

forma efectiva, con menor coste de explotación y mantenimiento que los métodos físicos y químicos, transformándolos en biomasa, que puede ser posteriormente valorizada para recuperar biomoléculas de interés, y gases como CO₂ y CH₄. Estas ventajas han posicionado los tratamientos biológicos, en especial los anaerobios o anaeróbicos, como la opción preferida en la depuración de aguas residuales.

1.1 Reactores Anaeróbicos

1.1.1 Introducción a los reactores biológicos.

Los tratamientos biológicos de aguas residuales se basan en la capacidad de distintos microorganismos para usar materia orgánica biodegradable y transformarla en productos que puedan ser separados. Los productos pueden ser sólidos, líquidos o gaseosos. Existen dos vías principales para el tratamiento de estas aguas residuales: el tratamiento aeróbico y el anaeróbico.

Actualmente, el tratamiento anaeróbico es un proceso biológico utilizado para la depuración de efluentes líquidos. Consiste en un proceso realizado por grupos bacterianos específicos que, en ausencia de oxígeno, transforman la materia orgánica en una mezcla de gases, fundamentalmente CH₄ y CO₂, conocida como biogás. Actualmente, su uso se ha extendido gracias a su amplio rango de aplicabilidad, pudiendo tratar aguas residuales urbanas y efluentes procedentes del sector agrario-ganadero, alimentario, farmacéutico e industrial en general. Debido a las características propias de su funcionamiento, que requieren una temperatura de trabajo por encima de los 20 °C, está muy extendido sobre todo en regiones con un clima templado ya que, de lo contrario, es necesario un calentamiento de los reactores [Chernicharo, 2007].

Los reactores anaeróbicos tienen como principal ventaja su simplicidad, así como sus bajos costes operacionales y de mantenimiento. En principio, la mayor parte de los compuestos orgánicos pueden ser degradados mediante un proceso anaeróbico y los residuos producidos son fácilmente biodegradables. Pueden operar en tiempos de retención hidráulicos bajos y bajo condiciones de altos tiempos de retención de sólidos. Necesitan poco espacio y toleran altas cargas orgánicas, manteniendo un consumo reducido de energía. Además, en ellos se produce metano, que puede ser usado como combustible [Technologien & Wirtschaftsberatung, 2001].

A pesar de sus ventajas, existen todavía muchos factores que dificultan la sola aplicación de microorganismos para la depuración de aguas, como por ejemplo que no consiguen remover toda la materia orgánica susceptible de ser oxidada. El proceso puede ser inhibido por una larga lista de factores o su velocidad puede ser menguada en ausencia de un fango microbiológico rico en nutrientes. Además, el efluente de salida no tiene un aspecto, ni olor, agradables.

Los sistemas aeróbicos de tratamiento de aguas residuales aprovechan la capacidad de los microorganismos para asimilar la materia orgánica y los nutrientes (i.e. nitrógeno y fósforo) disueltos en el agua residual para su propio crecimiento, siempre en presencia de oxígeno. Ello implica unos rendimientos energéticos elevados y una importante generación de fangos, consecuencia del mayor crecimiento de las bacterias en presencia de oxígeno que en los sistemas anaeróbicos.

Los procesos aeróbicos y anaeróbicos tienen cada uno sus particularidades, así como sus pros y sus contras. Por ejemplo, y como se observa en la *Figura 1*, en los procesos aeróbicos no se produce biogás que pueda ser utilizado posteriormente como biocombustible, además se obtiene una mayor producción de sólidos (i.e. fangos) que en el proceso anaeróbico [Lettinga, 1995]. La principal ventaja de los procesos aeróbicos, frente a los anaeróbicos, es que normalmente son capaces de eliminar más carga orgánica en el efluente de salida.

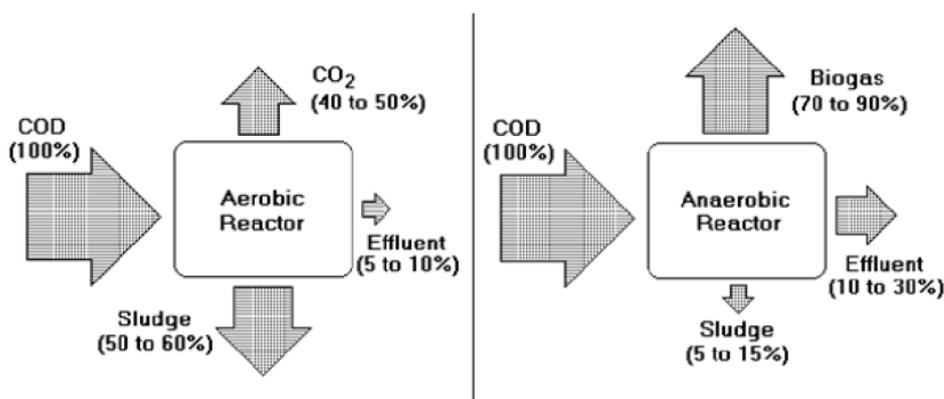


Figura 1. Conversión biológica en un proceso aeróbico y anaeróbico. [G. Lettinga, 1995]).

Por estas razones, ambos reactores se suelen usar conjuntamente para el tratamiento de aguas residuales, siendo habitualmente utilizar el reactor anaeróbico como una primera etapa en la depuración de estas aguas que, posteriormente, pasan a un reactor aeróbico.

1.1.2 Mecanismo del proceso anaeróbico

En los procesos de depuración de aguas residuales, la materia orgánica es un contaminante que debe ser transformado para su eliminación, habitualmente a través de un proceso de oxidación. En los reactores anaeróbicos la materia orgánica es degradada en ausencia de oxígeno, gracias a la acción de microorganismos anaeróbicos formándose tres fases: en la fase sólida se crean nuevos microorganismos, en la fase líquida se suele quedar en suspensión la materia orgánica degradada y, además, se forma una fase gaseosa compuesta principalmente por metano y dióxido de carbono. Las reacciones bioquímicas involucradas pueden resumirse en el esquema de la *Figura 2* [(G. Lettinga, 1995)]:

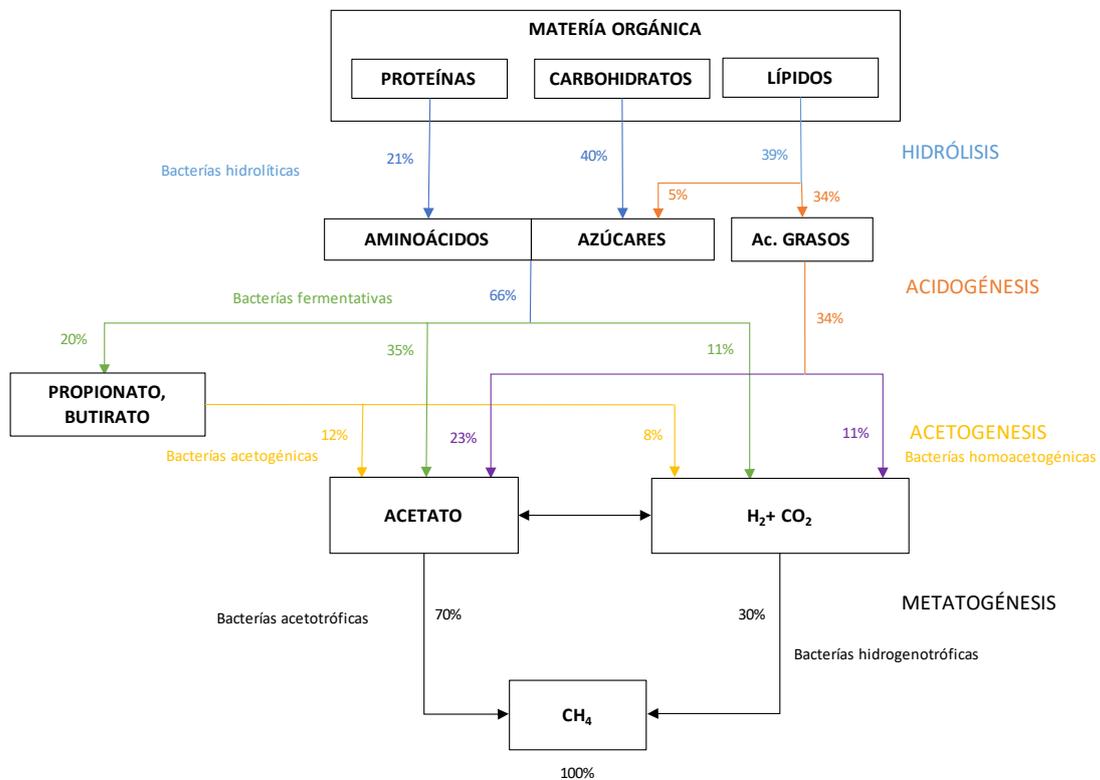


Figura 2. Proceso de digestión anaeróbica. Elaboración propia a partir de [Chernicharo, 2007].

En el proceso de digestión anaeróbica se pueden distinguir cuatro etapas diferentes [Chernicharo, 2007]

- **Fase de hidrólisis:**

Debido a que los microorganismos no son capaces de asimilar las partículas orgánicas, es necesaria una primera etapa en la que se produzca la hidrólisis de la materia orgánica compleja (i.e. polímeros y macromoléculas) en materia disuelta más sencilla (i.e. pequeñas moléculas). Esta tarea es llevada a cabo por bacterias hidrolíticas y es la etapa que limita el proceso de depuración, pues si el efluente de entrada tiene una gran cantidad de sólidos su hidrólisis es necesaria para que los microorganismos puedan actuar sobre la materia orgánica disuelta. En esta etapa, las proteínas, carbohidratos y lípidos se transforman en estructuras moleculares más sencillas como son, respectivamente, los aminoácidos, los azúcares y los ácidos grasos. Durante esta etapa el pH del medio es bajo.

- **Fase ácida (acidogénesis):**

Las bacterias implicadas en esta fase son las encargadas de oxidar los productos formados en la fase de hidrólisis. Transforman los aminoácidos, azúcares y ácidos grasos en productos intermedios como propionato, butirato, CO₂ y H₂. De estos gases, solo el hidrógeno se utiliza directamente en las siguientes fases para producir metano; sin embargo, en esta fase se degrada más del 50% de la materia orgánica y es convertida en ácidos grasos volátiles (i.e. AGV) intermedios los cuales se descompondrán en fases posteriores. Este proceso es más rápido que la hidrólisis previa y se trabaja todavía a un pH bajo.

- **Fase acetogénica (acetogénesis):**

Los ácidos grasos volátiles y otras moléculas orgánicas de pequeño tamaño son transformadas en acetato. De esta tarea se encargan las bacterias acetogénicas.

- **Fase metanogénica (metatogénesis):**

Es la única fase puramente anaeróbica, es decir en la que el oxígeno no juega ningún papel en el proceso. Las bacterias metatogénicas producen metano a través de diversas mezclas de gases como pueden ser CO₂ + H₂ o a través de una ruta

con acetato [Ogbonna et al., 2015] . La cinética de este proceso es mucho más lenta que la del resto de fases y el pH de trabajo para las bacterias metanogénicas ha de ser próximo a la neutralidad, por lo que el control del pH es fundamental para el correcto desempeño de los procesos anaeróbicos [Soubes, 199].

1.1.3 Microbiología del proceso.

Al contrario que por la vía aeróbica, en la que un mismo microorganismo es capaz de degradar una molécula hasta CO₂, en la degradación anaeróbica intervienen familias diferentes de bacterias, que se clasifican en los dos grandes bloques que se indican en la Tabla 1

Tabla 1. Grupos de microorganismos anaeróbicos. [Grabow 2001]

PRINCIPALES GRUPOS DE BACTERIAS PRESENTES EN EL MECANISMO ANERÓBICO	
BACTERIAS PRODUCTORAS DE ÁCIDOS	Bacterias formadoras de ácidos
	Bacterias acetogénicas
BACTERIAS PRODUCTORAS DE METANO	Bacterias metanogénicas acetoclastas (acetofílicas)
	Bacterias metanogénicas (hidrogenofílicas)

• Bacterias productoras de ácidos

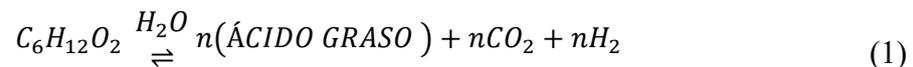
- **Bacterias formadoras de ácidos heptanoico, pentanoico (valérico), butírico, propiónico, etc.**

El proceso consiste en una fermentación de hidratos de carbono que producen CO₂, H₂ y una mezcla de ácidos (acético, butírico, hexanoico, valérico, propiónico, etc.). Dependen de la concentración de hidrógeno presente en el medio y crecen de manera rápida.

Si la concentración de hidrógeno en el digestor es baja (<50 ppm) se produce preferentemente ácido acético. A medida que aumenta la concentración de hidrógeno, disminuye la producción de acético, aumentando la proporción de

ácidos de cadenas más largas debido, principalmente, a que en sus reacciones no se produce como subproducto hidrógeno, mientras que en los de cadena corta sí, por lo que se desplaza el equilibrio hacia el lado de la glucosa, o bien se inhibe la reacción debido al principio de Le Châtelier.

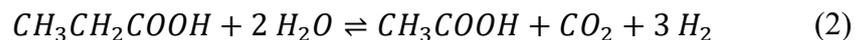
Las reacciones que tienen lugar son de la forma esquematizada en la ecuación 1 [Chernicharo, 2007] :



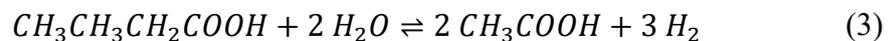
- **Bacterias acetogénicas**

Forman ácido acético e hidrógeno. Al igual que las anteriores, su metabolismo está muy influenciado por la concentración de hidrógeno presente, llegando a inhibirse los mecanismos en el caso de que la concentración de H₂ fuera muy elevada. Su tiempo de doblaje, es decir, el tiempo que tardan las bacterias en duplicar su población, es más elevado. Estas bacterias convierten los ácidos grasos volátiles de cadena larga en ácido acético de acuerdo a las ecuaciones 2 y 3 [Chernicharo, 2007]:

Para el ácido propiónico:



Para el ácido butírico:



- **Bacterias productoras de metano**

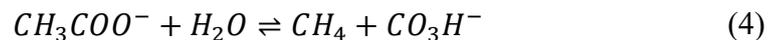
Las bacterias metanogénicas o metanógenas cumplen dos funciones primordiales, producen un gas insoluble (metano), el cual permite eliminar el carbono y mantienen al hidrógeno con una presión parcial baja. Ambos aspectos permiten mantener unas condiciones idóneas en el medio para continuar con la fermentación, lo que da lugar a más productos oxidados solubles como el ácido acético.

Estas bacterias son las únicas que pueden catabolizar anaeróbicamente acetato e hidrógeno para dar productos gaseosos sin la presencia de energía procedente de la luz solar o de aceptores de electrones que no sean el CO₂. Además, estas bacterias están presentes en la naturaleza en ausencia de oxígeno. Son la última etapa del proceso anaeróbico y representan el factor limitante del proceso de digestión anaeróbica. Es habitual clasificarlas en dos familias principales:

- **Bacterias metanogénicas acetoclásticas (acetofílicas).**

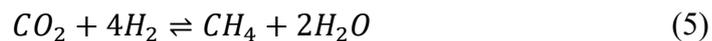
Producen metano a partir del ácido acético. Tienen un periodo de doblaje lento y la concentración de hidrógeno no les afecta. El pH del reactor anaeróbico está controlado por estas bacterias que, a partir de ácido acético, producen CO₂ que forma en disolución una solución tampón de bicarbonato.

La reacción de producción de metano de estas bacterias [Chernicharo, 2007] se representa en la ecuación 4:



- **Bacterias metanogénicas (hidrogenofílicas).**

Utilizan el hidrógeno para producir metano según la ecuación 5



Además de estos dos principales grupos de bacterias, existen muchas otras presentes en el reactor anaeróbico como las homoacetogénicas, que realizan el papel de consumir el hidrógeno, sustituyendo a las metanogénicas cuando estas se encuentran inhibidas por un valor de pH bajo. También, las **sulfobacterias** tienen una gran importancia en los digestores anaeróbicos cuando en el influente hay una presencia de sulfatos, que son reducidos a sulfuros, pudiendo llegar a competir con las bacterias productoras de metano debido a que su reacción esta favorecida por una menor energía libre de Gibbs.

1.1.4 Balance energético

El efluente de entrada al reactor contiene un sustrato que es empleado por los microorganismos en diferentes formas, estableciéndose un balance de energía en el proceso [Chernicharo, 2007] :

$$E_{sustrato} = E_{productos} + E_{mantenimiento} + E_{síntesis\ de\ nuevas\ células} + E_{pérdidas\ caloríficas} \quad (5)$$

Aquí es donde se encuentra una de las principales diferencias entre los procesos aeróbicos y anaeróbicos, como se observa en la *Figura 3*:

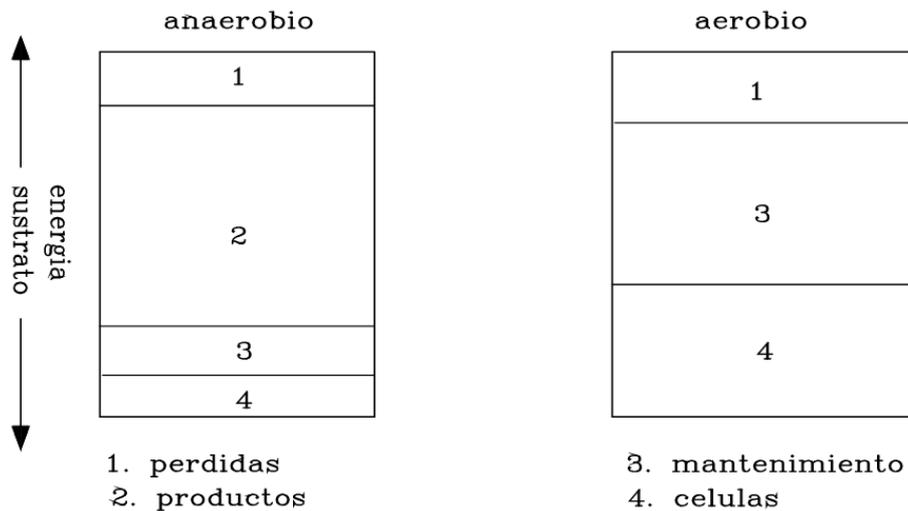


Figura 3. Balance energético de los procesos aeróbico y anaeróbico[Grabow 2001]

Se observa cómo, en el proceso anaeróbico, la energía para el mantenimiento y para regenerar nuevas células es significativamente menor que en el proceso aeróbico.

1.1.5 Parámetros de operación

Para monitorizar de manera adecuada el proceso de depuración del agua residual se debe hacer el seguimiento de una serie de parámetros fundamentales para el correcto funcionamiento del reactor anaeróbico. El reactor usado en este trabajo es de tipo tubular, en el que las bacterias de todas las etapas están juntas, por lo tanto, todos los grupos de bacterias interactúan entre sí produciéndose una asociación sintrófica entre las bacterias

acetógenas y las metanogénicas hidrogenófilas. Esta asociación es importante ya que se forman agregados bacterianos que permiten que el hidrógeno fluya entre distintas especies. Esta asociación entre las bacterias es fundamental en la eficiencia del proceso. Los principales parámetros a controlar en el proceso de operación son:

- **Ácidos grasos volátiles.**

Los productos más importantes resultantes de la descomposición bioquímica de materia orgánica son ácidos volátiles de cadena corta como los ácidos: acético, propiónico, butírico, etc. Estos gases representan productos intermedios a partir de los cuales el metano es producido a través de bacterias metanogénicas.

Cuando existe una población suficiente de estas bacterias y las condiciones del sistema son las adecuadas, las bacterias metanogénicas usan los AGV tan pronto como se forman, por lo que no se acumulan en el medio por encima de la capacidad neutralizante de la alcalinidad del medio, permitiendo que el pH se mantenga en un rango favorable para las bacterias metanogénicas. Una acumulación de AGV provocará una disminución del pH y una disminución en la formación de metano. Por tanto, un detector capaz de monitorizar el pH, la presencia de AGV o liberación de metano permitiría controlar si se está llevando a cabo el proceso anaeróbico de forma correcta. [Rodrigues et al., 2014]. Las narices electrónicas permiten un seguimiento continuo, y por tanto una monitorización en tiempo real, tanto de los AGV como del metano liberado.

Una concentración superior a 5000 mg AGV/L provocaría la inhibición del proceso. Si esto sucede disminuye el pH y el bicarbonato se convierte en CO₂ volátil. Para contrarrestar esto, es necesario en ocasiones adicionar bicarbonato para que el proceso anaeróbico pueda seguir adelante. En caso de que la concentración adicionada de bicarbonato no sea suficiente, el pH del sistema empezará a reducirse lo que inhibirá a las bacterias metanogénicas.

- **Presencia de H₂S.**

Si la alimentación contiene sulfatos es posible que se forme H₂S, teniendo como consecuencia efectos inhibidores para el proceso anaeróbico. Esto se debe a una disminución de la actividad metanogénica al introducir competencia por el hidrógeno, el

cual puede ser transformado en H₂S en vez de en CH₄, resultando poco beneficioso para el proceso.[Chernicharo, 2007]

- **Formación de metano**

Durante los primeros momentos de operación el biogás producido es pobre en metano. De igual forma, cuando el proceso de digestión está inhibido la producción de metano por las bacterias metanogénicas es bastante baja, no pudiendo formarse ni a través ni del ácido acético ni a partir del CO₂ y H₂. Una vez estabilizado el proceso, la producción de metano se mantiene estable hasta que se acaba la materia orgánica susceptible de ser degradada [Chernicharo, 2007] .

- **Temperatura**

Los microorganismos no son capaces de controlar su temperatura interna, por consiguiente, la temperatura dentro de la célula viene determinada por la temperatura exterior. Hay 3 temperaturas que pueden ser asociadas con el crecimiento microbiológico de los diferentes procesos: psicrófilo, $T < 15\text{ }^{\circ}\text{C}$; mesófilo, $15\text{ }^{\circ}\text{C} < T < 45\text{ }^{\circ}\text{C}$; termófilo, $50\text{ }^{\circ}\text{C} < T < 65\text{ }^{\circ}\text{C}$.

La mayoría de las bacterias metanógenas son mesófilas. La temperatura ideal de trabajo para la digestión anaeróbica se sitúa sobre los 35 °C ya que, como se observa en la Figura 4 [Van Lier et al, 1997] es la temperatura de mayor crecimiento mesófilo.

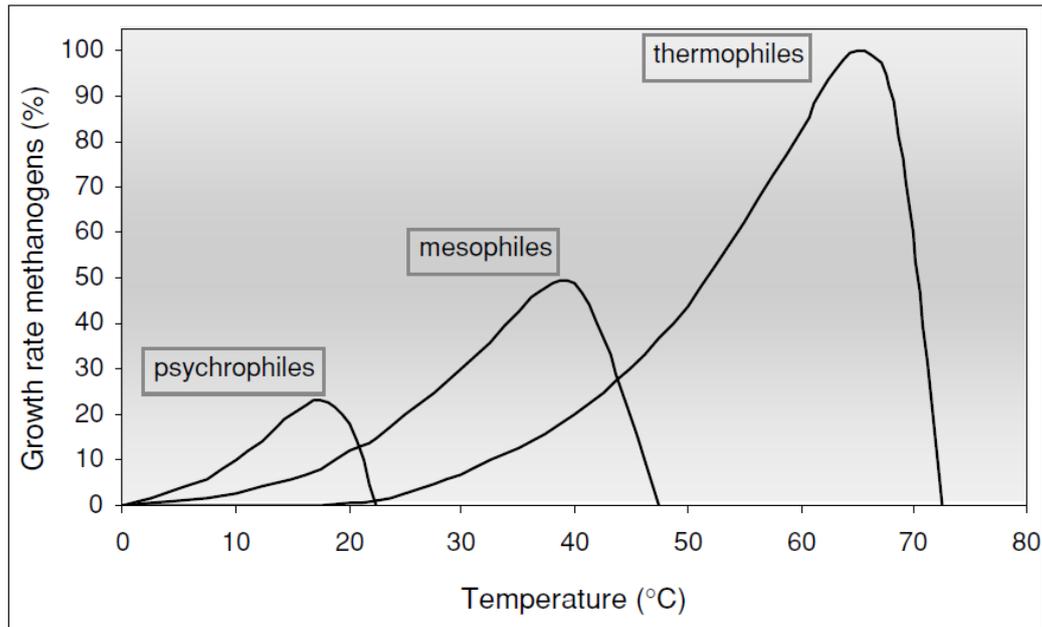


Figura 4. Influencia de la temperatura en el crecimiento de las bacterias metanógenas. [Chernicharo, 2007]

- **Homogenización**

Para que el proceso transcurra de manera idónea es necesario que exista un alto grado de mezcla, con el fin de conseguir valores uniformes de concentración y temperatura facilitando los procesos de transferencia de masa, así como que todo el sustrato entre en contacto con los microorganismos con el fin de ser depurado. Por ello, la homogenización se logra recirculando el líquido.

- **pH**

El rango óptimo de trabajo está comprendido entre 6 y 8. Debido a su facilidad de medida es un parámetro de control utilizado para detectar un cambio brusco en la operatividad del mismo pues, como ya se ha indicado, un descenso del valor del pH implica un mal funcionamiento del reactor [Lettinga, 1995].

- **DQO (Demanda Química de Oxígeno)**

La demanda química de oxígeno es el parámetro crítico que indica el correcto funcionamiento del reactor. La DQO mide la cantidad de materia orgánica susceptible de ser oxidada. La diferencia entre la DQO de entrada y la de salida servirá para estimar el

rendimiento del proceso, entendido como tanto por ciento de materia orgánica eliminada por el tratamiento anaeróbico [Chernicharo, 2007] .

1.2. NARIZ ELECTRÓNICA

Como ya se ha mencionado, la presencia de gases y ácidos grasos volátiles en el proceso de digestión anaeróbica facilita su monitorización mediante el uso de narices electrónicas. Una nariz electrónica (*e-nose*) es un dispositivo que, combinando sensores de gases y técnicas de análisis de patrones, permite la detección, identificación y cuantificación de compuestos volátiles. La respuesta multivariada de un conjunto de sensores de gases con distintas sensibilidades puede ser usado como una “huella dactilar” que permite caracterizar un amplio rango de compuestos químicos volátiles mediante reconocimiento de patrones o pautas [Gutierrez-Osuna, 2002] .

Gardner y Bartlett (1993) definieron la nariz electrónica como: “un instrumento compuesto por un conjunto de sensores químicos electrónicos con especificidad parcial y un apropiado sistema de reconocimiento de patrones, capaz de reconocer olores simples o complejos” [Pearce et al., 1993] .

1.2.1 Principios fundamentales del sentido del olfato humano

El olor es una sensación que ocurre cuando un compuesto estimula los receptores locales del epitelio olfativo en la cavidad nasal. Estos compuestos, llamados olorosos, son hidrofóbicos y volátiles, con un peso molecular menor de 300 Dalton. Los humanos tenemos el sentido del olfato bastante desarrollado; por ejemplo, 40 moléculas de un compuesto (mercaptano) son suficientes para que los humanos perciban su olor; además, algunos experimentados perfumistas son capaces de distinguir más de 10.000 sustancias diferentes por el olfato [Stuiver, 1958] .

Los receptores olorosos dentro de la cavidad nasal son capaces de detectar y discriminar entre miles de sustancias químicas. Las señales inducidas por la interacción de estos compuestos olorosos con los receptores olfativos (ORs) en el epitelio olfativo son transmitidos al bulbo olfatorio y, en última instancia, al cerebro. Patrones específicos de activación de los receptores generan una señal que nos permite discernir entre un gran número de olores ya aprendidos previamente [DeVries, 1961] .

Los compuestos capaces de producir un olor varían en estructura, no dependen de su reactividad química e incluyen una gran gama de compuestos fácilmente volatilizables desde ácidos orgánicos a alcoholes, aldehídos, aminas, amidas, ésteres, éteres, compuestos halogenados, hidrocarburos, nitrilos, fenoles....

El olfato humano tiene bastantes limitaciones, la mayoría de las sensaciones de los olores son producidas por una mezcla de cientos de compuestos olorosos en vez de por uno solo, la señal tiende a ser armonizada en mezclas, tendiendo a percibir la fusión de estos como uno solo. Es por ello que no somos capaces de identificar un compuesto oloroso de manera individual si este se encuentra en una mezcla de más de 3 compuestos distintos [Beets, 1978] .

Estas limitaciones humanas llevan al desarrollo de sistemas capaces de producir una señal analítica ante la presencia de compuestos volátiles para, de esta forma, poderlos identificar, cuantificar y clasificar.

1.2.2 Sensores Químicos.

Un sensor químico es un dispositivo capaz de convertir una señal química en una señal eléctrica y responder a la concentración de manera cuantitativa. [Korotcenkov, 2013]

Para la realización del presente TFG se han usado sensores de óxidos metálicos, denominados en adelante MOs.

1.2.2.1 Sensores químicos de óxidos metálicos (MOs)

Son sensores eléctricos-conductimétricos, basados en la variación de la resistencia de semiconductores de tipo n . Se utilizan óxidos de metal como SnO_2 , ZnO , Fe_2O_3 y WO_3 . Estos materiales son aislantes a temperatura ambiente, pero al incrementar la temperatura (entre 300°C y 500°C) las energías de las bandas de valencia y de conducción se solapan, actuando como semiconductores de tipo n [Pearce et al, 2003] .

El MOs está colocado entre dos electrodos y la corriente eléctrica circula entre ambos atravesando el sensor, de manera que una variación de su resistencia afectará a la señal eléctrica que pasa entre los electrodos.

El cambio de resistencia eléctrica del sensor se mide a través del voltaje. El voltaje (V) y la resistencia eléctrica (R) se relacionan por medio de la intensidad de la corriente (I) a través de la ley de Ohm, ecuación 6:

$$V = \frac{R}{I} \quad (6)$$

La resistencia, se ve afectada por la adsorción de moléculas volátiles sobre su superficie y por reacciones en la superficie con las moléculas adsorbidas [Pearce et al., 1993] .

1.2.2.2 Principio de funcionamiento

A pesar de los recientes estudios en el área de los sensores, a día de hoy sigue habiendo controversia acerca del mecanismo que describa las reacciones en la superficie. El más aceptado es el que explica la influencia de los gases en las propiedades eléctricas de los semiconductores de acuerdo a la combinación de dos modelos, la adsorción y la reducción-oxidación [Mathur, 2012] .

Adsorción del oxígeno y sus iones

En contacto con la atmósfera, las moléculas de oxígeno son adsorbidos sobre la superficie de los semiconductores de tipo n y, como consecuencia, se forma una capa en la superficie del semiconductor. Tras ser adsorbidas, las moléculas de oxígeno extraen electrones de la banda de conducción del semiconductor de tipo n , formándose así las especies iónicas O_2^- , O^- , las cuales pueden existir gracias a la elevada temperatura a la que se encuentra el sensor. En función de la competencia de la adsorción del oxígeno con otros gases, la banda de conducción puede variar en espesor y tamaño, lo que da lugar a un aumento o disminución en la conductividad del semiconductor.

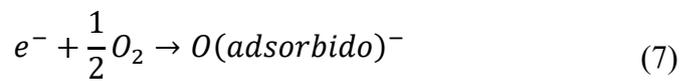
Este modelo plantea una serie de cuestiones acerca del papel que juegan las especies iónicas y cuál es la predominante en el cambio de conductividad. Este modelo se

complementa con el modelo de las vacantes de oxígeno, el cual se basa en reacciones de oxidación y reducción entre el oxígeno y otros gases adsorbidos, modificándose el número de electrones en la capa de valencia.

Modelo de las vacantes de oxígeno (Mecanismo de oxidación-reducción)

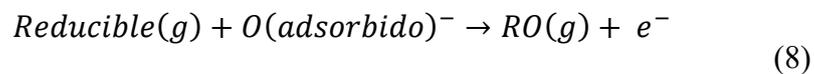
Al reaccionar el oxígeno adsorbido con otros gases, en función de si estos son oxidantes o reductores se donan o se extraen electrones a la capa de valencia. Por tanto, la señal eléctrica que producen los sensores puede describirse en dos etapas:

- Cuando el material está expuesto a la atmósfera, el oxígeno es adsorbido en la superficie del semiconductor, según la ecuación 7



El oxígeno está adsorbido y como consecuencia la conductividad del semiconductor disminuye al aumentar su resistencia al paso de la corriente eléctrica.

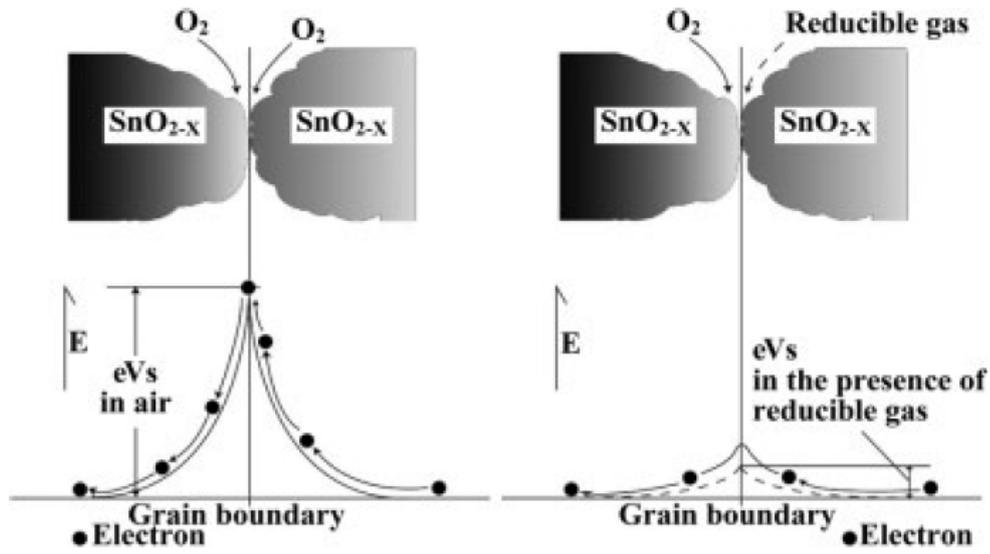
- Cuando el semiconductor está expuesto a gases:
 - Si el gas puede ser oxidado, es decir gases reductores como CO, CH₄ o H₂S, se incrementa la concentración de los transmisores de carga, los electrones, de acuerdo a la ecuación 8, y la conductividad se incrementa ya que se generan electrones que van a la capa de valencia.



- Si el gas es oxidante, *quitará* electrones de la capa de valencia disminuyendo por tanto la conductividad.

Estos mecanismos están esquematizados en la Figura 5. Se observa como la conductividad se incrementa debido a la movilidad de los transmisores de carga. Cuando la atmósfera está libre de otros gases, el oxígeno que está totalmente adsorbido sobre la superficie del semiconductor, en este caso SnO₂, forma una barrera de potencial en los

bordes de grano. Esta barrera restringe el flujo de electrones provocando que la conductividad disminuya. Cuando el sensor se expone a gases reductores que pueden ser oxidados, como CO; CH₄, NO..., se adsorben y reaccionan en la superficie del sensor con el oxígeno adsorbido, provocando un incremento en el número de portadores de carga y una disminución de la barrera potencial que se traduce en un incremento de la conductividad eléctrica [Korotcenkov 2013]



FFigura 5 Esquema del cambio de la conductividad del semiconductor en función de si está expuesto al oxígeno o a un gas que puede ser reducido [Korotcenkov. 2013].

2. OBJETIVOS.

El control del funcionamiento de un reactor biológico precisa la monitorización continua o muy frecuente de numerosos parámetros relacionados con la actividad y crecimiento de los microorganismos como temperatura, pH, demanda química y bioquímica de oxígeno (DQO y DBO), alcalinidad, concentración de ácidos grasos volátiles (AGV), metano, etc., requiriendo la realización de un gran número de costosos y laboriosos análisis, lo que a su vez implica una gran inversión de dinero y tiempo, existiendo además la dificultad de un seguimiento en tiempo real.

Es por ello que se propone el empleo de narices electrónicas para monitorizar, de forma continua, barata y en tiempo real, un reactor biológico anaeróbico para el tratamiento de aguas residuales con alto contenido de materia orgánica. Mediante el uso de dos dispositivos *e-nose*, cada uno de ellos equipados con tres sensores de la serie MQ, se tratará de seguir la operación de un reactor anaeróbico, comparando la señal obtenida de estos sensores como respuesta a los gases formados durante el ciclo anaeróbico, con parámetros reales de medidas de pH y DQO, con el fin de determinar la capacidad de los sensores para controlar el proceso de digestión y detectar en tiempo real cualquier anomalía o disfunción.

Para comprobar que los dispositivos *e-nose* empleados son capaces de dar señales proporcionales a la concentración de gases generados durante la digestión anaeróbica, se investigará la sensibilidad y la especificidad de los sensores a los gases más característicos generados en el reactor anaeróbico

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Para la realización del presente TFG se ha utilizado diverso equipo y material tanto técnico como informático, se ha utilizado un prototipo de un reactor anaeróbico, instrumentos de medida analíticos, y software de programación.

Equipos:

- El reactor anaeróbico empleado es un prototipo de 30L de capacidad elaborado por Roberto Díez Castellanos para Aguambiente ®. Se han ido añadiendo modificaciones en el reactor, introduciendo sensores, motores, válvulas, etc. para mejorar su funcionamiento. Se encuentra controlado por un programa informático, permitiendo un alto grado de automatización. En la Figura 6 se puede observar el reactor anaerobio tubular (derecha de la imagen) así como el resto del equipo.



Figura 6. Fotografía del equipo

- Las narices electrónicas empleadas son los equipos Belerofonte II, dos equipos de análisis de gases “e-nose” fabricadas por Raúl López Sánchez, del INTA. (Instituto Nacional de Tecnología Aeroespacial). La Figura 7, muestra una imagen de los dos dispositivos, situados dentro del volumen de control (cubo de metacrilato).

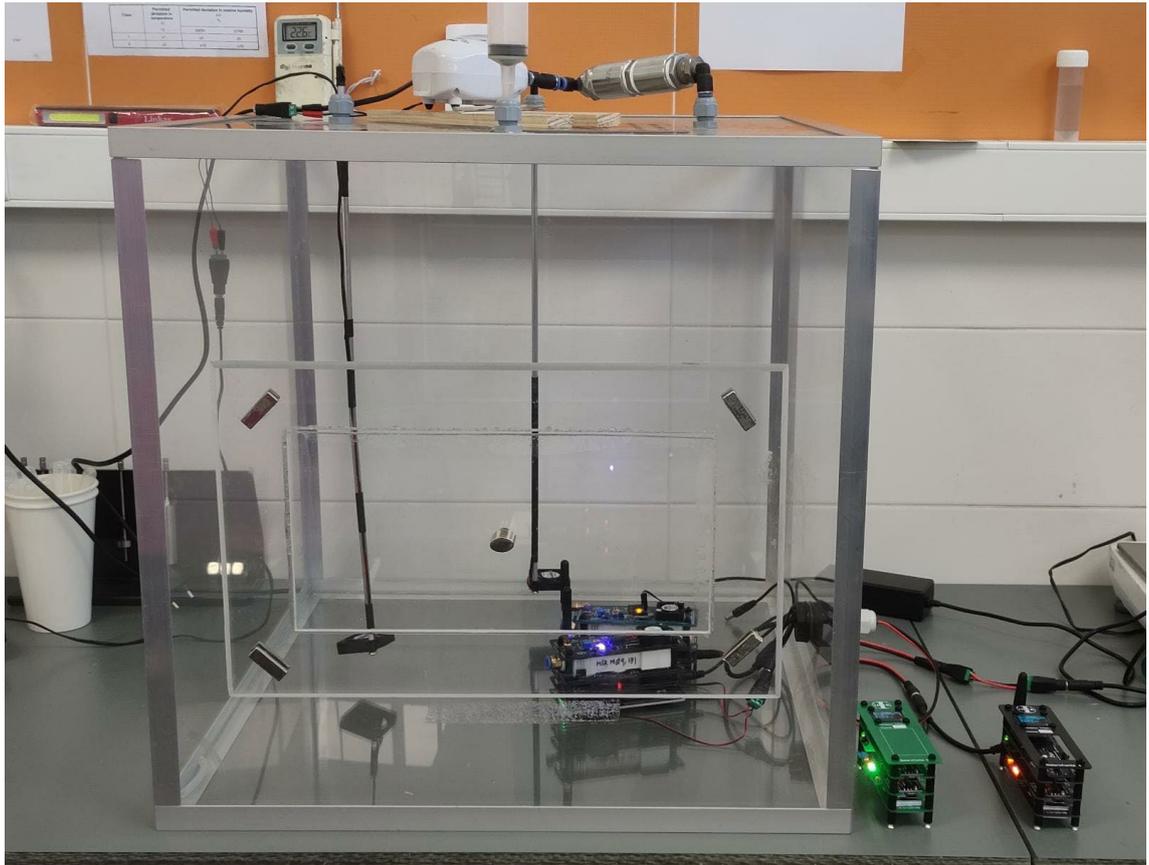


Figura 7. Volumen de control donde se ubican las narices electrónicas para realizar los ensayos de identificación de gases objetivo.

Los sensores que componen la nariz electrónica son de la serie MQ. Una *e-nose* contiene los sensores MQ6, MQ8 Y MQ131.; la segunda aloja los sensores MQ7, MQ9 y MQ131. La Figura 6 muestra el esquema del funcionamiento de los sensores MQ empleados en este trabajo .

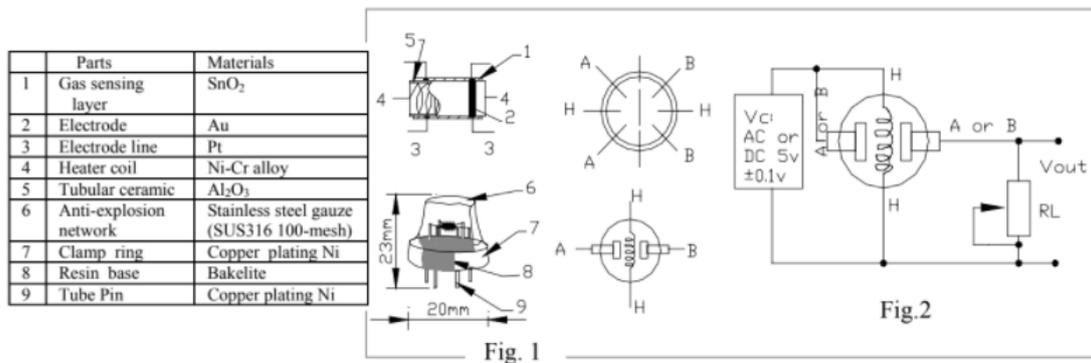


Figura 7 Volumen de control donde se ubican las narices electrónicas para realizar los ensayos de identificación de gases objetivo.

La señal analítica procedente de la nariz electrónica es una señal continua, expresada en Voltios (V) en función del tiempo. Para los sensores MQ7, MQ9 y MQ131 se obtienen aproximadamente 23 valores de medida por minuto, mientras que para los sensores MQ6, MQ8 y MQ135 se obtienen unas 65 medidas por minuto. El número de medidas por minuto es ligeramente variable, pues el reloj interno del dispositivo se ve afectado por cambios en la presión, temperatura y humedad.

Para medir los diferentes gases se hizo uso de un volumen de control consistente en un cubo de metacrilato de 50 cm de lado, con ventiladores movidos por motores para homogenizar la atmósfera. Los patrones gaseosos se inyectan en la caja con ayuda de una jeringuilla graduada. Los patrones líquidos y disoluciones de sustancias patrón sólidas se introducen con ayuda de micropipetas.

Para los ensayos de laboratorio para caracterizar la señal de cada gas, se sigue el siguiente procedimiento: en el cubo de metacrilato utilizado como volumen de control se sitúan las dos narices electrónicas. Mediante un tubo se bombea gas atmosférico al interior del cubo por una apertura. El gas pasa por un filtro de carbono activo con el fin de eliminar la humedad y así tener la atmósfera más pura posible, dentro del cubo se encuentran dos ventiladores que remueven el aire para así tener una atmósfera lo más homogénea posible. Se considera que 30 segundos son suficientes para una completa homogenización.

Tras un tiempo de estabilización (aproximadamente 20 min, aunque variable entre ensayos) se desconecta la bomba de aire y se introduce con una jeringa de gases 20 mL de CH₄, cerrando a continuación la pequeña abertura hasta la siguiente inyección.

Las disoluciones patrón de AGVs y otras sustancias volatilizables empleadas en el estudio de la sensibilidad de las *e-noses* se prepararon disolviendo en agua desionizada la cantidad adecuada de patrones puros, pesados en una balanza analítica. Las disoluciones patrón de menor concentración se prepararon por dilución de las disoluciones madre. Para su análisis la operatividad varió ligeramente a la de las muestras en fase gas: debido a su alto punto de ebullición. Se introduce en el volumen de control una placa metálica calentada, esto servirá para favorecer la evaporación de los AGV. Los líquidos se cogerán de los viales con una micro-pipeta midiéndose el volumen exacto adicionado en cada inyección.

En el reactor anaerobio se determinaron dos parámetros físico-químicos: pH y demanda química de oxígeno, DQO. Estos parámetros se emplearon para dar comprobar que el seguimiento del proceso con la nariz electrónica era adecuado.

- El pH se midió diariamente con un pH-metro (poner marca y modelo, p.e. Crison PH Basic 20), equipado con electrodo de vidrio combinado calibrado con tampones de pH 7 y 4.
- Para medir la DQO se siguió el método SM 5220/D Ed.23 (APHA-AWWS, 2017) basado en la oxidación de la materia orgánica con exceso de dicromato de potasio a reflujo en medio sulfúrico, y posterior medida colorimétrica de la absorbancia de la disolución a 610 nm empleando un fotómetro portátil (Lovibond MD-600). La cuantificación de la DQO se realizó por comparación de la absorbancia medida con patrones comerciales de DQO preparados a partir de hidrógenofalato de potasio. Para calentar los viales a reflujo se usó un digestor convencional (marca, p.e. Velp, Sartorius, Hanna...) con capacidad para 25 viales.

4. RESULTADOS

4.1. Sensibilidad y respuesta de los sensores a los gases objetivo.

Para comprobar la viabilidad del proceso, se estudiará en primer lugar la respuesta de los sensores a los gases objetivo. Debido a que durante el tratamiento anaeróbico se forman una gran variedad de gases resulta inabordable investigar la respuesta de los sensores para todos ellos, por ello se eligen los que son más significativos para monitorizar el proceso. En este trabajo nos hemos centrado en el metano, sulfuro de hidrógeno, dióxido de carbono, dióxido de nitrógeno y tres ácidos volátiles (acético, propiónico y butírico).

4.1.1. Respuesta al CH₄

Primer ensayo

En este primer ensayo, se introdujeron 20 mL de CH₄ cada minuto durante 15 minutos; tras esto, los sensores deberían estar ya saturados y la señal no debería oscilar, introduciéndose 70 mL del gas en tres ocasiones durante los siguientes 3 minutos. En la Figura 8 se observa la señal que producen los 6 sensores ubicados en las dos *e-noses*:

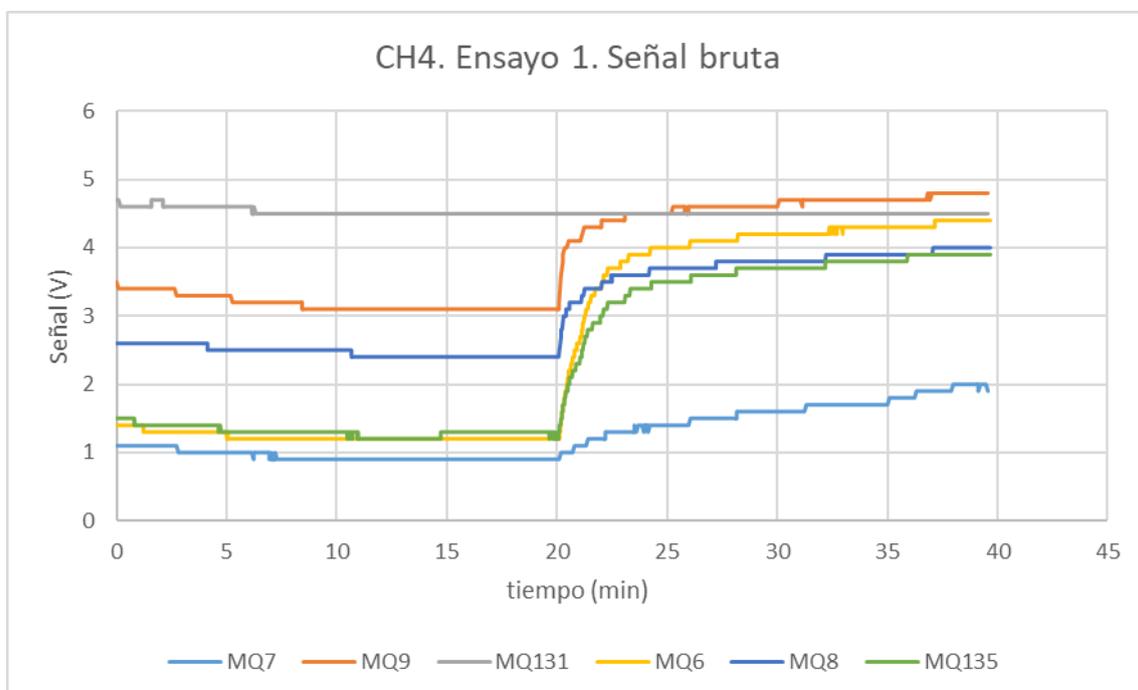


Figura 8. Señal del primer ensayo de metano. Sin tratar

Como no se conocen los procesos que degradan o distorsionan la señal, esta únicamente se puede mejorar para aumentar la relación entre señal y ruido realizando un suavizado.

Se ha elegido el suavizado polinomial o polinómico. Para ello, se toman puntos posteriores y anteriores al punto a suavizar, siendo m el punto central y $2m+1$ los puntos del ancho de ventana. Se busca un modelo polinómico que se ajuste a los $2m+1$ puntos, reemplazándose así el valor central por el predicho por el modelo. El modelo se busca por medio de un ajuste por mínimos cuadrados siendo el grado del polinomio menor de $2m$. Una vez suavizado el dato central, la ventana se desplaza hacia el siguiente valor a la derecha y se calcula de la misma manera, utilizando los m valores originales. Debido a que este proceso sería lento y difícil, se utilizan valores de coeficientes c_j siendo $j = -m, +m$ que permiten calcular el punto suavizado mediante una multiplicación de los mismos valores originales por los puntos de la ventana.

Se han empleado los coeficientes de suavizado polinomial tomados de A. Savitzky y M.J.E. Golay, [Merkle & Discher, 1964]. Se ha seleccionado una anchura de ventana de 25 puntos, y los valores suavizados se han obtenido aplicando los coeficientes que se muestran en la Tabla 2 y la norma que se recoge en la ecuación 9 siendo igual a 5175.

$$NORMA = \sum_{j=-m}^{j+m} c_j \quad (9)$$

Tabla 2: Coeficientes de A. Savitzky y M.J.E. Golay para suavizado polinomial con 25 puntos

Punto	-12	-11	-10	-9	-8	-7	-6	-5	-4	-3	-2	-1	0
Coeficiente	-253	-138	-33	62	147	22	287	322	387	422	447	462	467
Punto	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
Coeficiente	462	447	422	387	322	287	222	147	62	-33	-138	-253	

La señal suavizada de los sensores se representa en la Figura 9

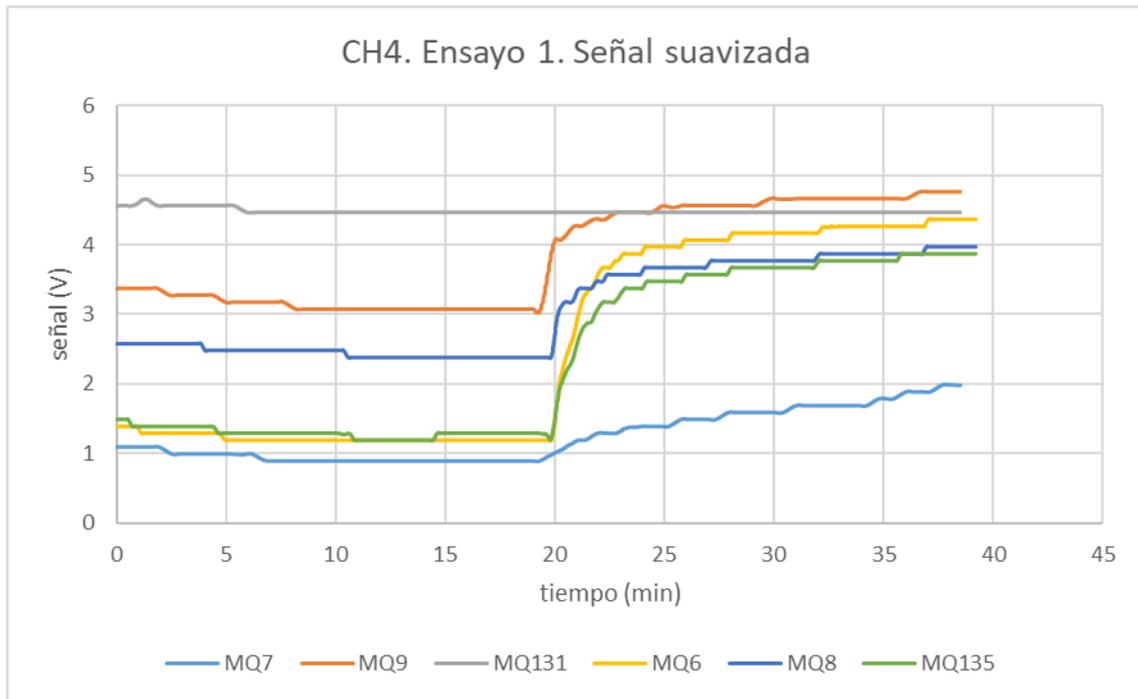


Figura 9. Señal suavizada del primer ensayo del metano

La respuesta típica de los sensores a un analito al que son sensibles tiene forma exponencial.

Con el fin de procesar la señal, se llevan a cabo una serie de transformaciones. En primer lugar, se elimina la línea base mediante uno de los tres métodos habituales [Gutierrez-Osuna & Nagle, 1999]:

- Diferencial: Restar la línea base de cada sensor
- Relativo: Dividir por la línea base de cada sensor
- Fraccional: Una combinación de los dos previos.

Debido a que los tres métodos son igualmente válidos, para todos los cálculos se ha usado el método diferencial:

$$R_{e,s}^B(t_k) = R_{e,s}(t_k) - R_{e,s}(t_1) \quad (10)$$

Siendo:

- t_k la señal de cada sensor para cada tiempo
- t_1 , el promedio de los valores una vez que se considera que se ha estabilizado la señal.

En todos los casos, se considera que existe un tiempo de “ruido” en el que la atmósfera se está aclimatando, por lo que la señal durante ese tiempo se descarta, usándose como línea base una vez que se estabiliza la señal. Para realizar esta operación, y debido al gran número de muestras y datos, se usó una función programada en Matlab (ANEXO 1

Tras esta operación, la señal queda como se observa en la Figura 10.

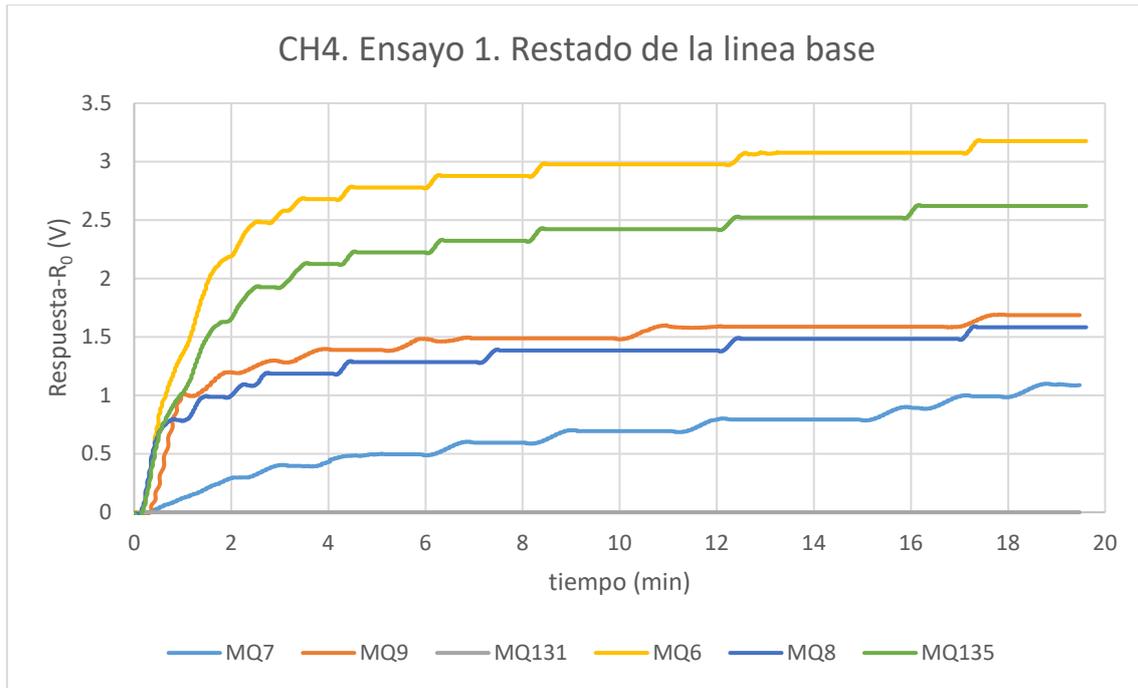


Figura 10. Señal transformada del primer ensayo del metano.

A continuación, se asocia cada señal con la correspondiente concentración de gas añadida. Se tiene en cuenta que se tarda en homogenizar la atmósfera unos 30 segundos tras introducir la muestra, y se toma el promedio de los 30 segundos posteriores como el valor que alcanza la señal tras añadir esa cantidad de analito.

La relación obtenida en los ensayos 1 y 2 entre la señal suavizada y transformada y la concentración de CH₄ se muestra en la Figura 11 y Figura 12:

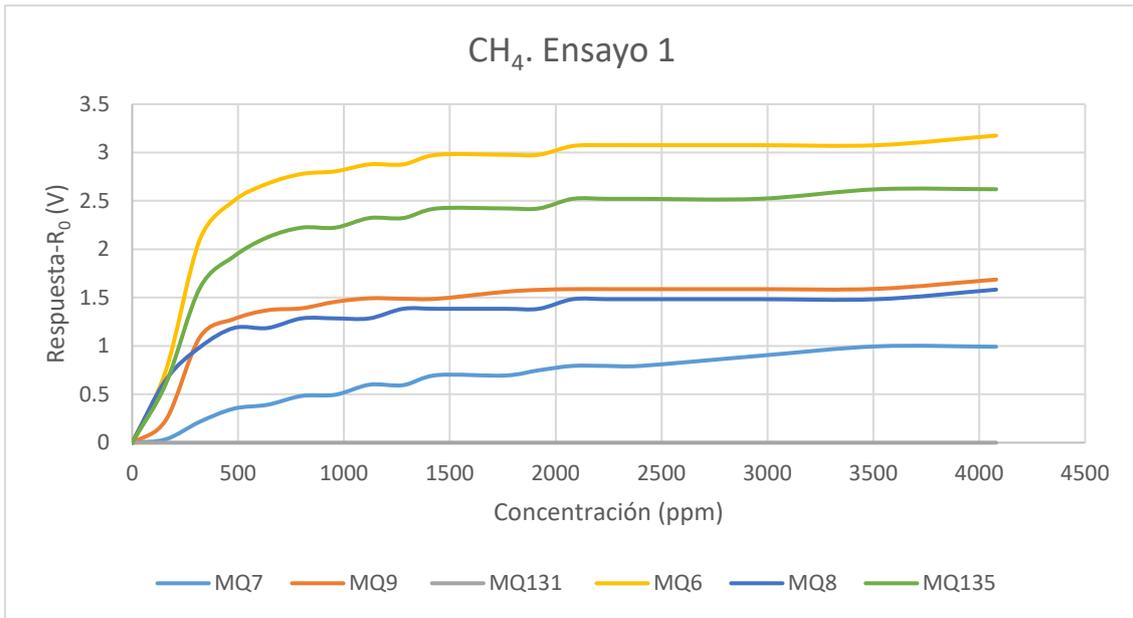


Figura 11. Señal transformada frente a la concentración de metano, ensayo 1

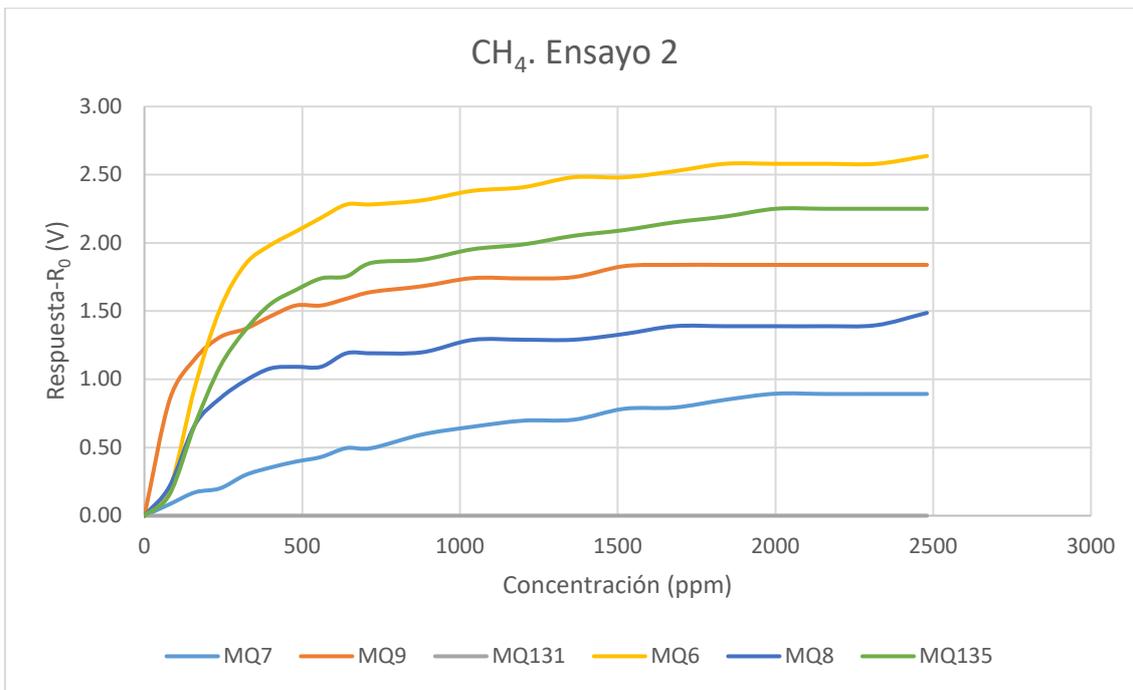


Figura 12. Señal transformada frente a la concentración para el ensayo 2

A concentraciones bajas (<200 ppm) la señal oscila demasiado rápido como para poder asignar una concentración a la señal. Estaría por debajo del límite de cuantificación.

La señal de cada sensor para el metano es en función de la concentración.

Respecto a la no sensibilidad del sensor MQ 131 al CH₄, puede deberse a dos causas: que el sensor efectivamente no sea sensible a la concentración de este gas o que en la atmósfera esté presente algún compuesto volátil que satura la señal del sensor. El resto de

responden al CH_4 en diferente grado, siendo su tiempo de respuesta, la pendiente del tramo lineal de respuesta, el área bajo la curva, la relación entre señales y la señal máxima alcanzada, característicos para la identificación y cuantificación de la presencia de CH_4 .

Se puede observar también como la señal es muy reproducible en ambos ensayos, realizados con metodologías diferentes (diferente tiempo entre inyecciones, volumen inyectado, etc.).

4.1.2 H_2S

La señal suavizada y transformada del H_2S en el primer ensayo se muestra en la Figura 13:

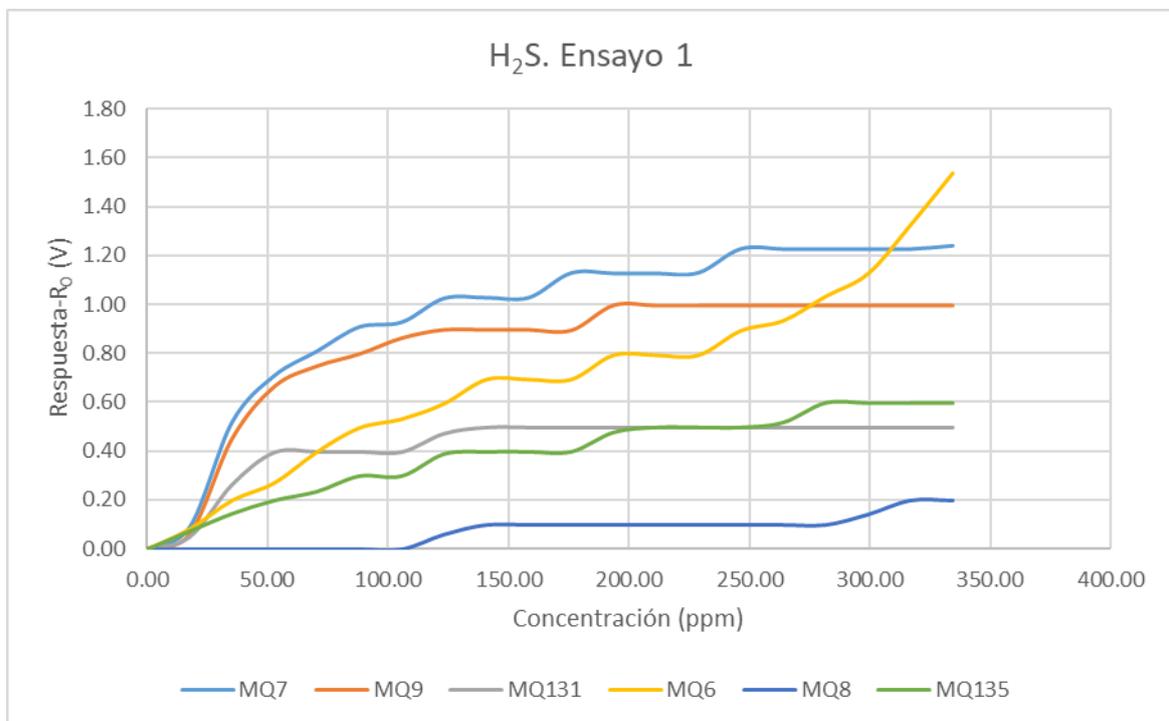


Figura 13. Concentración

La señal transformada del segundo ensayo, realizado a mayores concentraciones viene reflejada en la Figura 14

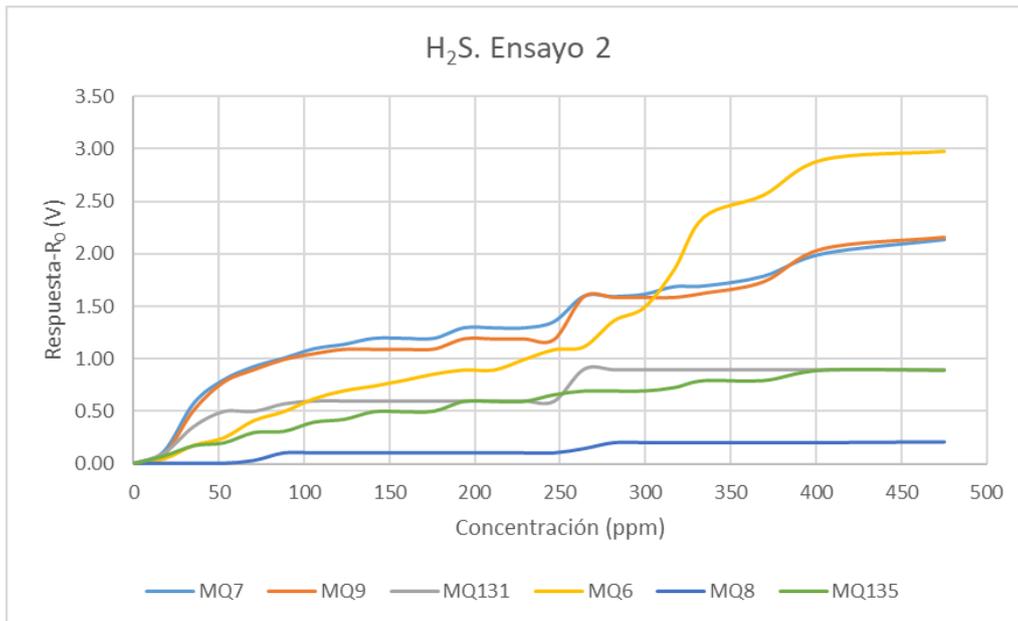


Figura 14. Relación entre la concentración y la respuesta de los sensores. Segundo ensayo del ácido sulfhídrico.

Se observa que el perfil de las curvas de respuesta al H₂S de los seis sensores es similar en ambos ensayos.

4.1.3 CO₂

La Figura 15 muestra la señal transformada obtenida para el CO₂ en el ensayo 1. Se observa la ausencia de señal en los sensores:

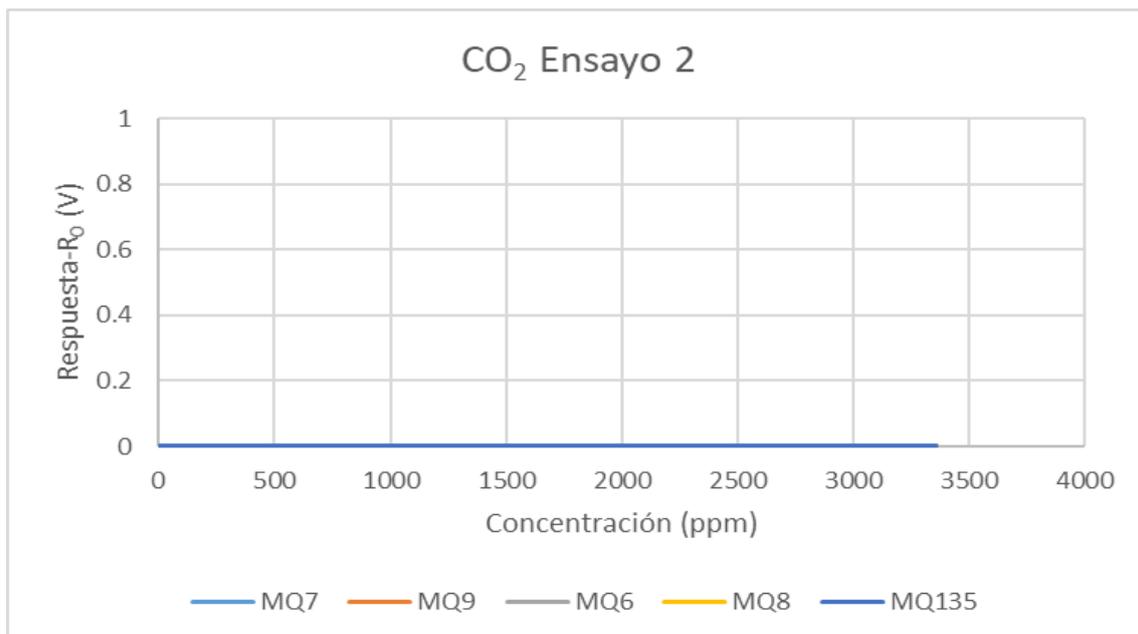


Figura 15. Señal transformada frente a la concentración

Se puede observar, en la Figura 16, como tras aclimatar la atmósfera en el interior del cubo (minuto 10), la señal no varía aun añadiendo 20 mL de CO₂ cada 30 segundos. No se puede afirmar que los sensores no sean sensibles al CO₂ pues, según la Red de Control de la Contaminación Atmosférica del Ayuntamiento de Valladolid, la concentración de CO₂ en el aire oscila alrededor de 400 ppm, por lo que no se puede descartar que estén saturados en CO₂.

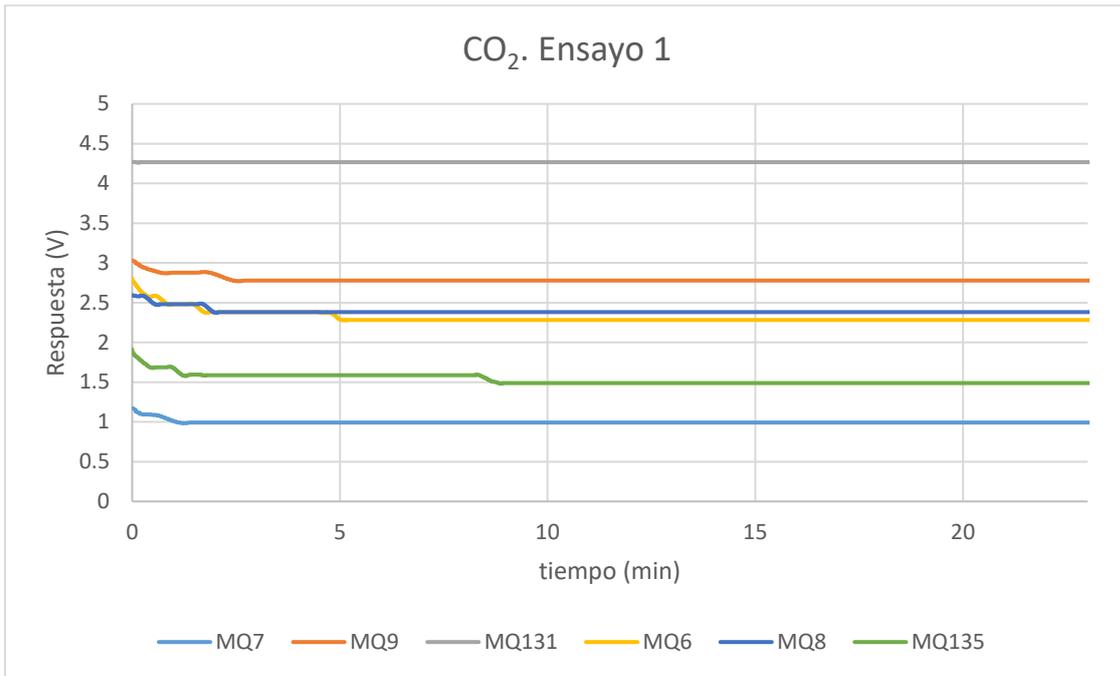


Figura 16. Respuesta de los sensores frente al tiempo, en el primer ensayo del CO₂

4.1.4. NO₂

La señal transformada para el NO₂ se representa en la Figura 17. Al contrario que para el resto de gases estudiados, la señal disminuye a medida que aumenta la concentración.

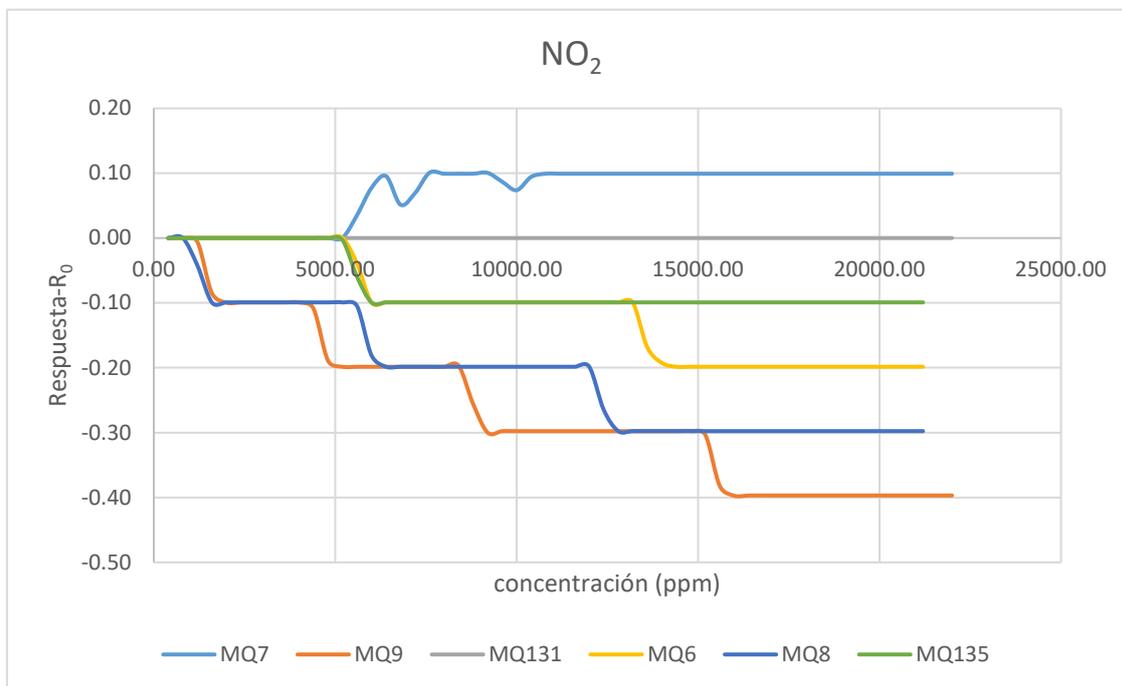


Figura 17. Señal transformada frente a la concentración de NO₂

4.1.5 Ácidos Grasos Volátiles

Los AGV son líquidos a temperatura ambiente. Su punto de ebullición se muestra en la Tabla 3:

Tabla 3 Punto de ebullición y densidad de los principales ácidos grasos. NIST (National Institute of Standards and Technology)

AGV	Punto ebullición (°C)	Densidad (g/cm ³)
Acético	118	1.04
Propiónico	141,2	0.992
Butírico	163,5	0.964

El tiempo de homogenización es distinto para cada ensayo, pues todos tienen diferentes puntos de ebullición. Como ejemplo se observa en la Figura 18 la curva para el ensayo con ácido propiónico. Cada inyección (salvo la última la cual es de 0.1 mL) corresponde

a 0.0125 mL adicionados, lo que corresponde con una concentración añadida de 0.1 ppm. Se observa la gran sensibilidad a una concentración tan pequeña; sin embargo, esto trae el problema de una temprana saturación.

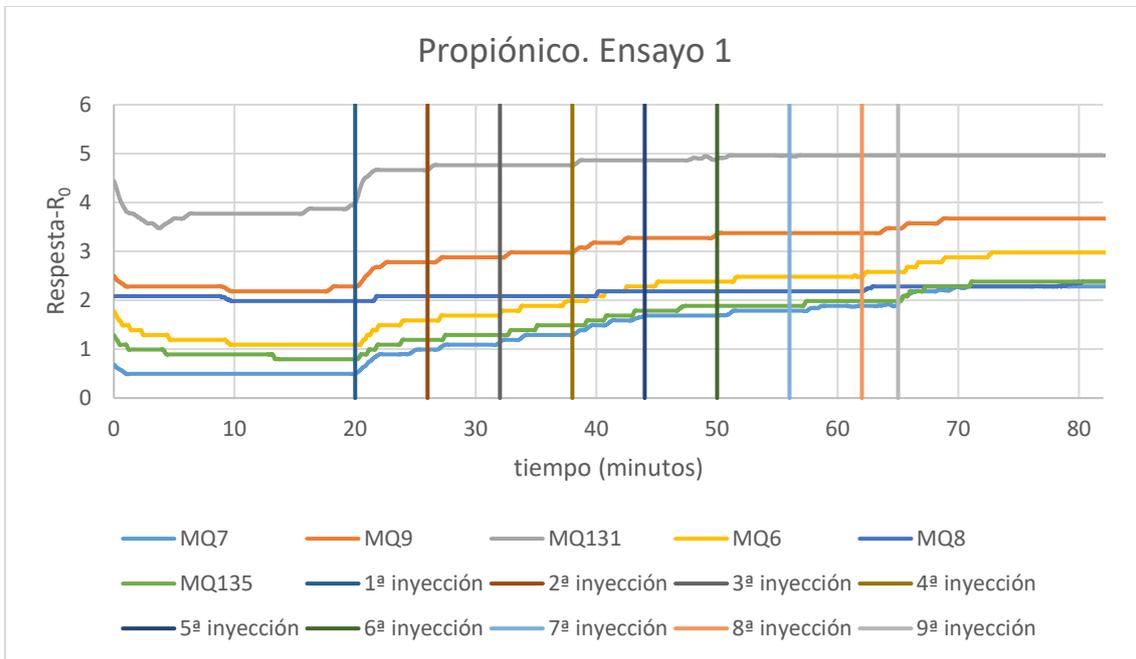


Figura 18

Debido a estas razones, se han podido realizar menos ensayos a distintas concentraciones por lo que las curvas de la respuesta transformada frente a la concentración son más imprecisas.

Para el ácido acético se realizan dos ensayos los cuales aparecen en las Figuras 19 y 20:

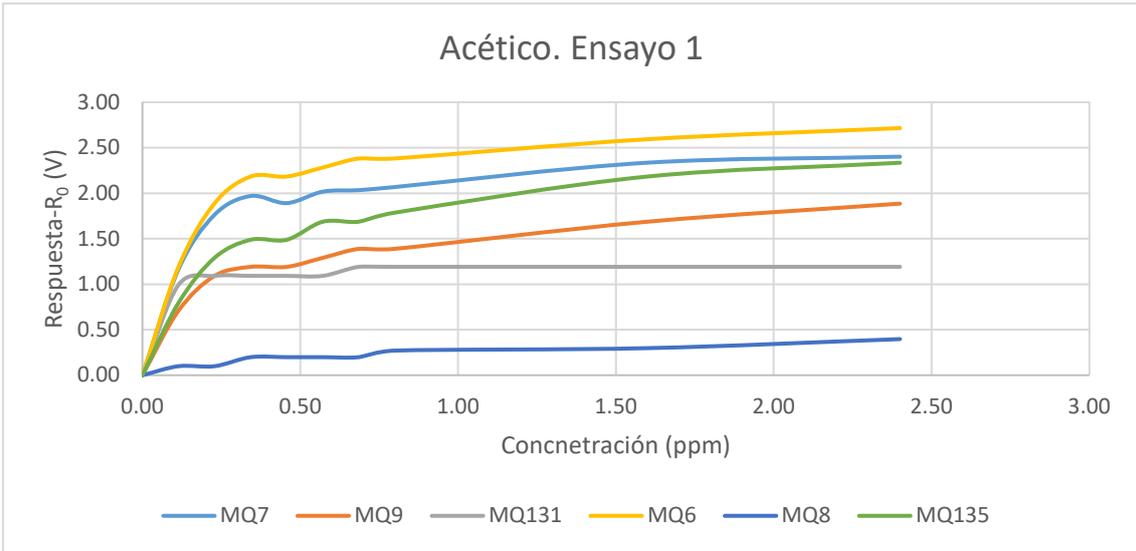


Figura 19. Señal transformada frente a concentración para el acético

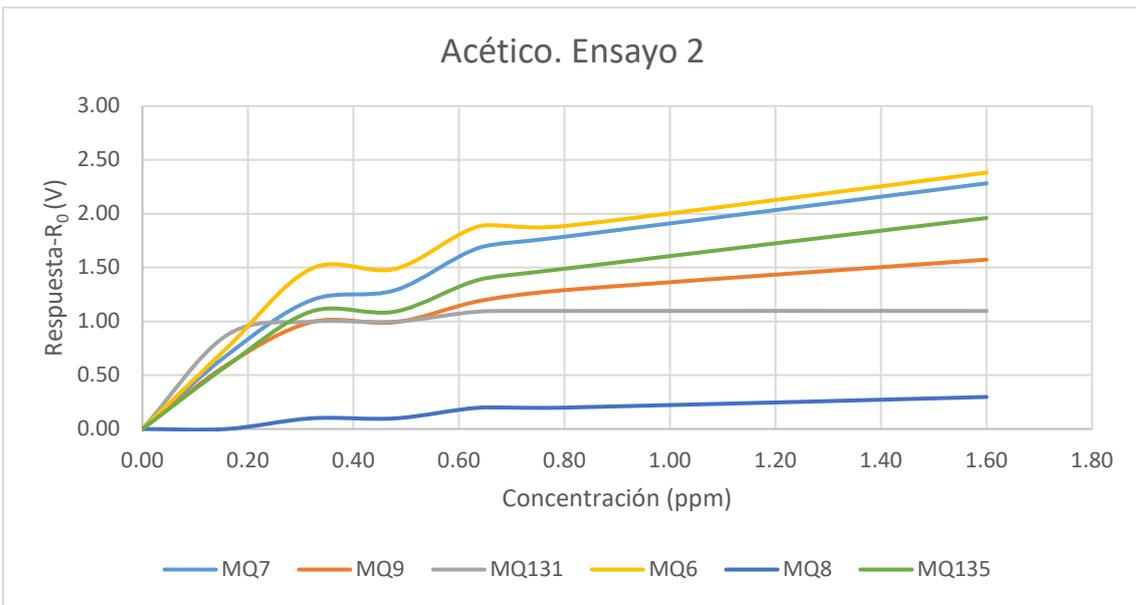


Figura 20. Señal transformada frente a concentración en el segundo ensayo del acético

Para el ácido propiónico se realizaron dos ensayos inyectando diferentes concentraciones en cada caso; los resultados aparecen en las Figuras 21 y 22:

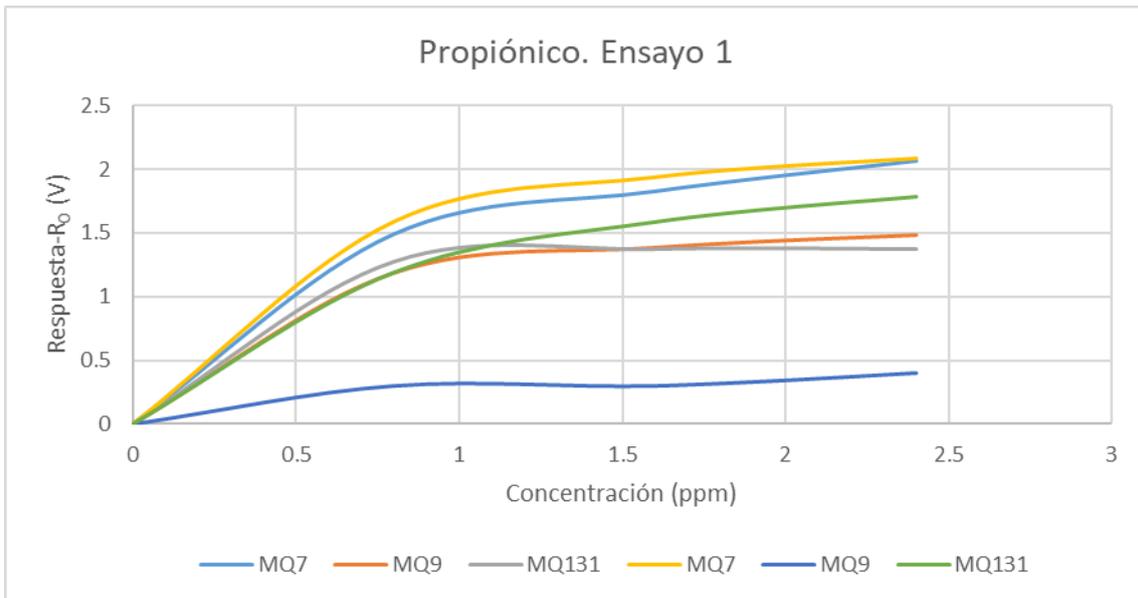


Figura 21. Propiónico primer ensayo. Señal transformada frente a concentración

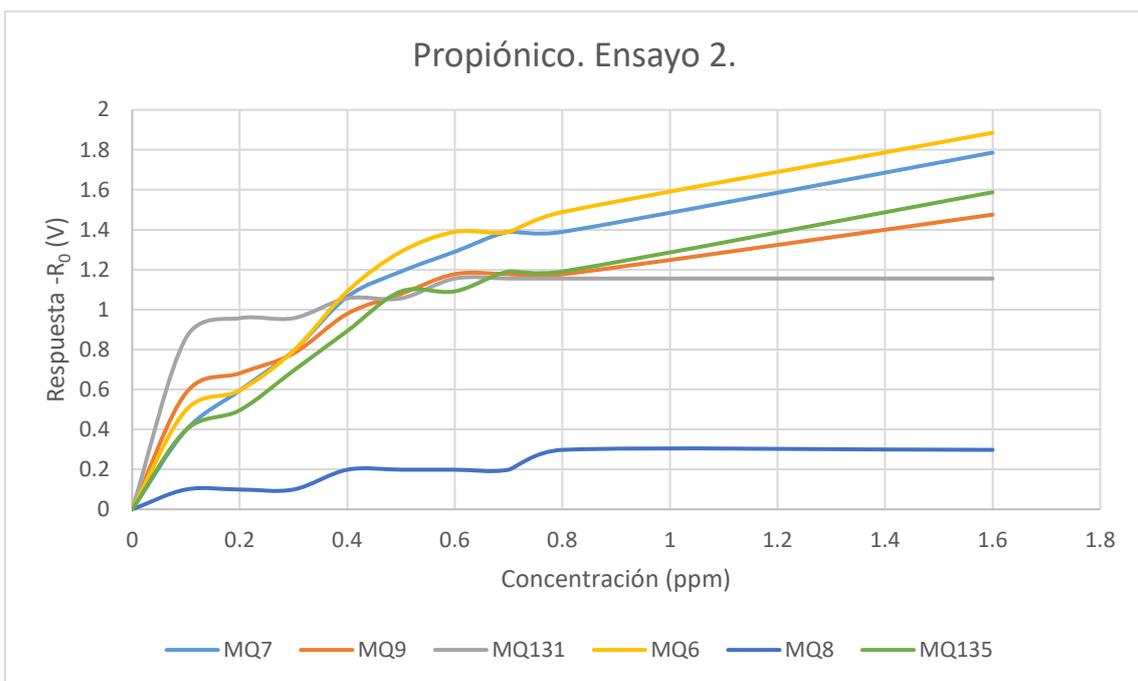


Figura 22. Propiónico. Ensayo 2

Tanto para el acético y el propiónico, en el *Ensayo 2*, se lleva a cabo la adición de un volumen menor que en el *Ensayo 1*, por eso la forma de la curva es diferente en ambas experiencias.

Para el ácido butírico se realizó una única réplica del ensayo (Figura 23), pues debido a su punto de ebullición tan elevado se observó una gran dificultad para su completa volatilización.

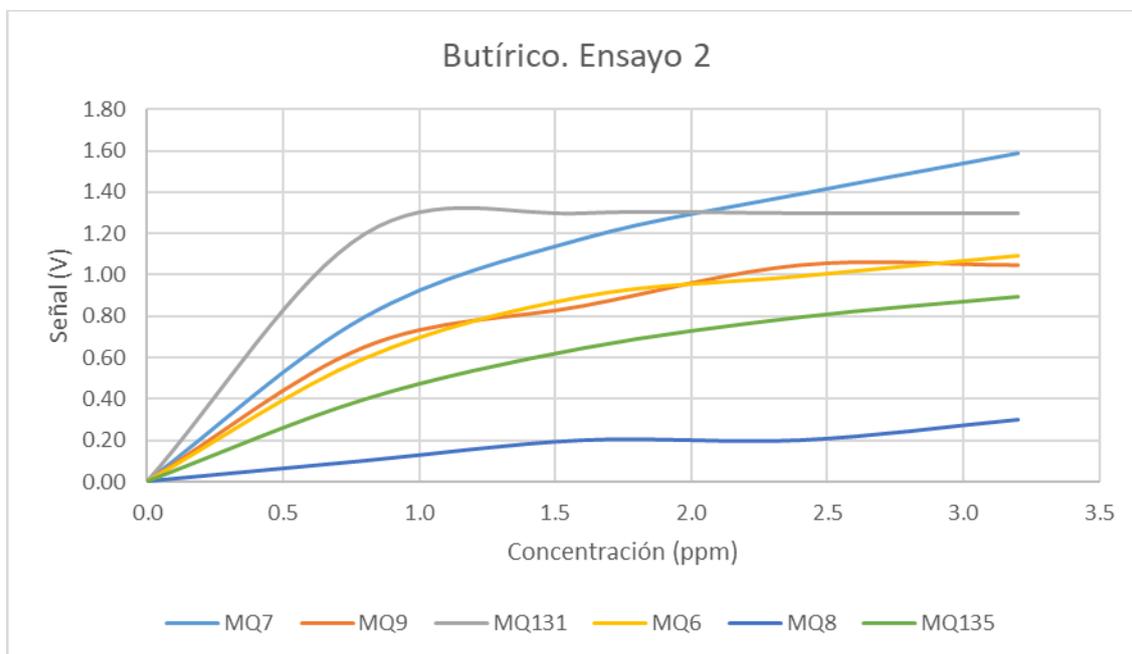


Figura 23. Ensayo butírico. Señal transformada frente a concentración

Tras la realización de estas pruebas en el laboratorio se puede concluir, por un lado, que las e-noses construidas son sensibles a una variedad de gases y compuestos volatilizables producidos en los procesos de digestión anaeróbica y, en segundo lugar, que es posible diferenciar la señal del CH_4 y H_2S con estos detectores, no siendo posible diferenciar los AGV entre sí pues la señal de los tres ácidos grasos de cadena corta estudiados es muy similar. Una elevada presencia de estos producirá una gran saturación en los sensores, que han demostrado ser muy sensibles a pequeñas concentraciones.

4.2 Seguimiento del reactor anaeróbico mediante la nariz electrónica.

Con el fin de realizar el seguimiento operativo del reactor anaeróbico, se controlan una serie de parámetros.

4.2.1 Parámetros operativos.

4.2.1.1 Preparación de la alimentación de entrada.

Se prepara la alimentación de entrada con el fin de tener un influente capaz de ser biodegradado y de composición conocida.

Se prepara una disolución de cereales, de 900 gramos en 60 litros de agua, formándose una papilla líquida. Los nutrientes de la alimentación se recogen en la Tabla 4.

Tabla 4. Nutrientes de la alimentación

Nutrientes	Por 100 gramos (sólido)	Disolución (%)
Grasas	2.0g	0.03
Hidratos de carbonos	76g	1.14
de los cuales azúcares	6.0g	0.09
Fibra alimentaria	6.2g	0.093
Proteínas	11g	0.0165
Sal	0.03g	0.00045

4.2.1.2. Fase de arranque. Inóculo inicial

El inóculo bacteriano inicial está constituido por biomasa procedente de un digestor de aguas residuales de la industria. Antes de comenzar con los ciclos operativos, el inóculo se debe adaptar a las nuevas condiciones de operación, así como a la alimentación que se usará. Para ello se introduce un pequeño volumen de la alimentación (2 L aproximadamente) y se deja durante dos días aclimatándose.

4.2.1.3 Control y seguimiento automático del proceso.

Con el fin de optimizar y automatizar el tratamiento anaeróbico, se diseña un código en Arduino (ANEXO 2) que permitirá controlar todos los procesos del reactor.

Se programa la temperatura del mismo a 35°C, ya que es la temperatura óptima de trabajo para los organismos mesófilos predominantes en el biorreactor.

Se programan ciclos de tratamiento del efluente de entrada de 24 horas, tiempo estimado suficiente para la degradación de la carga orgánica del influente. El tratamiento realizado en cada ciclo puede variar ligeramente con el fin de ajustarlo para optimizar su funcionamiento. Con el fin de poder analizar mejor la señal, también las mediciones de la nariz electrónica se controlan mediante el mismo programa.

El esquema básico del ciclo de tratamiento del agua residual en el reactor anaeróbico, el cual trabaja en serie con un reactor aeróbico que recoge el efluente de salida para seguir con el tratamiento de depuración, viene recogido en la siguiente tabla.

Tabla 5. Esquema básico del ciclo de tratamiento realizado.

0:00:00	Inicio del ciclo, inicio toma de datos de la nariz electrónica.
0:05:00 - sensor de vaciado	Evacuación del reactor aeróbico
0:07:40 - sensor de vaciado/llenado	Alimentación del reactor aeróbico (evacuación del anaeróbico)
00:10:30 - 00:10:45	Alimentación del reactor anaeróbico (~2 litros)
00:12:00 - 00:14:30	Agitación del reactor anaeróbico
1:15:00 - 1:15:30	Agitación del reactor anaeróbico
3:15:00 - 3:15:30 (cada dos horas hasta 21:15:30)	Agitación del reactor anaeróbico

La agitación del biorreactor anaeróbico se realiza por medio de unas bombas que permiten una recirculación del sobrenadante del reactor.

El llenado y vaciado del reactor se realiza también con unas bombas de líquidos, las cuales actúan conectadas a un controlador de flujo el cual, mediante unos sensores de llenado y vaciado (redundantes), detiene el llenado o vaciado según llega al límite máximo (o mínimo) establecido.

La nariz electrónica está conectada mediante un divisor de flujo a dos tubos. Uno de ellos conduce la salida de gases del reactor anaeróbico, mientras que el otro está conectado a una bomba de aire, el cual pasa por un purificador antes de llegar a la nariz. Esto se realiza para no saturar la señal que recibe la nariz electrónica, así como para poder realizar la sustracción de la línea base a la señal con mayor precisión.

Mediante un relé, el programa que controla el reactor también controla de que parte se produce la toma de muestras, si del reactor (medida) o del aire purificado (lavado). Estos

lavados se programan cada 30 o 45 minutos con una duración de 30 o 15 minutos, llevándose a cabo durante las 24 horas del ciclo.

Durante la realización del TFG se ha ido refinando el funcionamiento del sistema hasta su completa optimización, siendo por tanto una constante los cambios en el sistema de control del reactor. Durante todo este tiempo, la señal ha sido monitorizada por los sensores con el fin de ver cómo afecta el funcionamiento a la señal analítica registrada.

Los ensayos realizados se describen a continuación.

Experiencia 1.

Con el fin de comprobar cómo varía la señal durante la recirculación (agitación) del biorreactor anaeróbico, se realizó un ensayo en el que, tras cargar el reactor en el minuto 10, se agitó el mismo en el minuto 57 y el minuto 67.

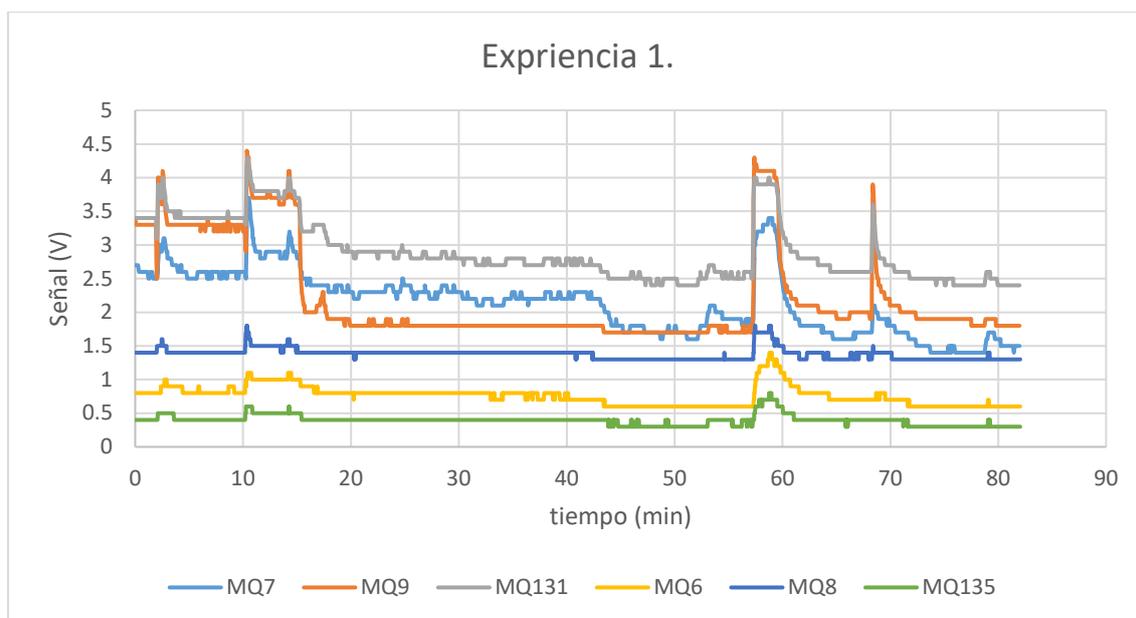


Figura 24. Experiencia 1

La señal se ve alterada al agitar el reactor, formándose picos característicos pues se liberan más gases, como se muestra en la Figura 24. Por tanto, durante las agitaciones es conveniente que la nariz esté midiendo los gases muestreados del reactor.

Durante esta experiencia también se midió la DQO en el efluente filtrado. Durante todos los ensayos, el parámetro físico-químico a seguir para comprobar el buen funcionamiento del reactor y para relacionar éste con la señal de la nariz es la DQO del efluente filtrado. Este parámetro indica la cantidad de materia orgánica susceptible de ser degradada que

está disuelta en el agua residual tratada, sin importar aquella que pueda estar presente en forma de sólidos, ya que puede ser separada fácilmente en un paso posterior por filtración o decantación.

Los valores de DQO medidos fueron:

- DQO a la entrada del reactor anaeróbico (minuto 10): 10.500 mg/L
- DQO medida 1 minuto tras la agitación (minuto 60): 9720 mg/L

La eliminación de DQO se calcula mediante la ecuación 11.

$$\%DQO_{remov} = \frac{DQO_{entrada} - DQO_{salida}}{DQO_{entrada}} = 7.43\% \quad (11)$$

Se aprecia una remoción de materia orgánica mediante un tratamiento menor de una hora del 7,43%; si bien no es muy alto, indica una buena estabilización del inóculo inicial.

Experiencia 2.

Se realiza un ciclo completo, con agitación a la hora de alimentar el reactor anaeróbico, y después con agitaciones sucesivas cada dos horas. La Figura 25 muestra las señales registradas por las *e-noses*.

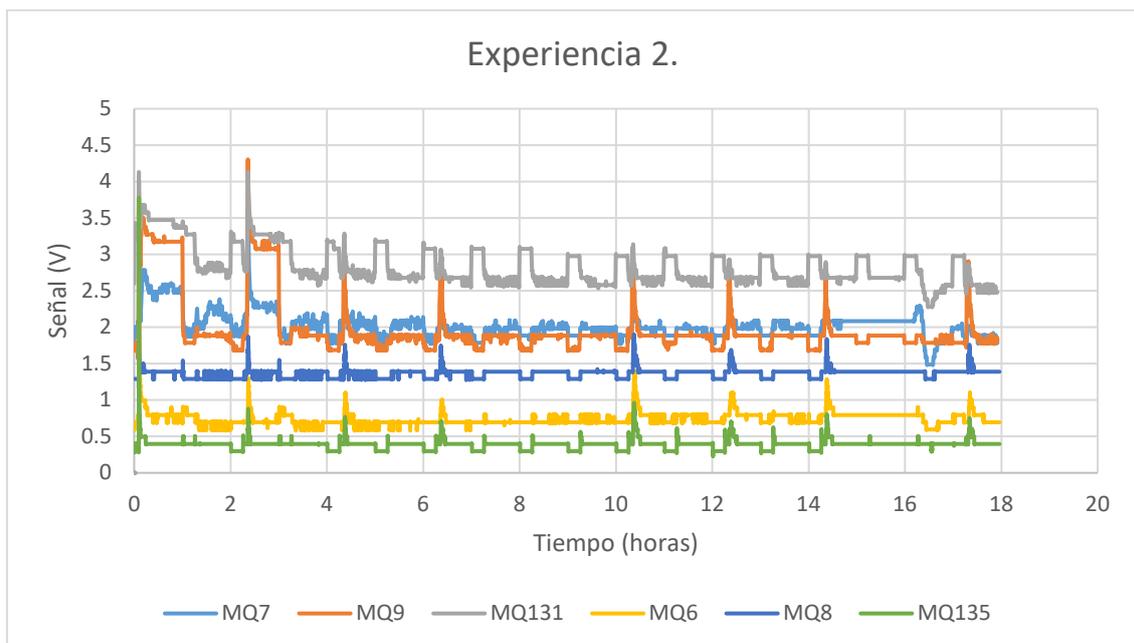


Figura 25. Señal durante la experiencia 2, sin tratar.

Con este primer ciclo se observa como la señal de los sensores es mayor al inicio del ciclo anaeróbico, la cual va disminuyendo con el tiempo, viéndose incrementada únicamente si se agita el reactor, aunque también cada vez en menor medida. En esta experiencia todavía no está optimizado el divisor de flujo de aire, lavándose el sensor de manera irregular, así como a veces no coincidiendo con la agitación del mismo.

Los valores de DQO medidos son:

- DQO a la entrada: 10.720 mg/L
- DQO a la salida: 9.740 mg/L

La DQO eliminada, en este caso, fue del 9.14 %

Tras esta experiencia se concluye que es necesario tener una línea base estable a la que poder referir las medidas, para evitar la deriva de la señal y el ruido del ambiente, por lo que en las siguientes experiencias se usará de manera programada el lavado del sensor cada 30 minutos con una bomba de aire que pasa previamente por un purificador.

Experiencia 3

Se realiza un ciclo completo, esta vez con los lavados del sensor programados en ciclos de 15 minutos de lavado y 45 minutos de medida, coincidiendo estos con las agitaciones del reactor.

Las señales brutas de la experiencia 3 se muestran en la Figura 26. La Figura 27 muestra las señales tratadas, tras realizar el suavizado y restar la línea base:

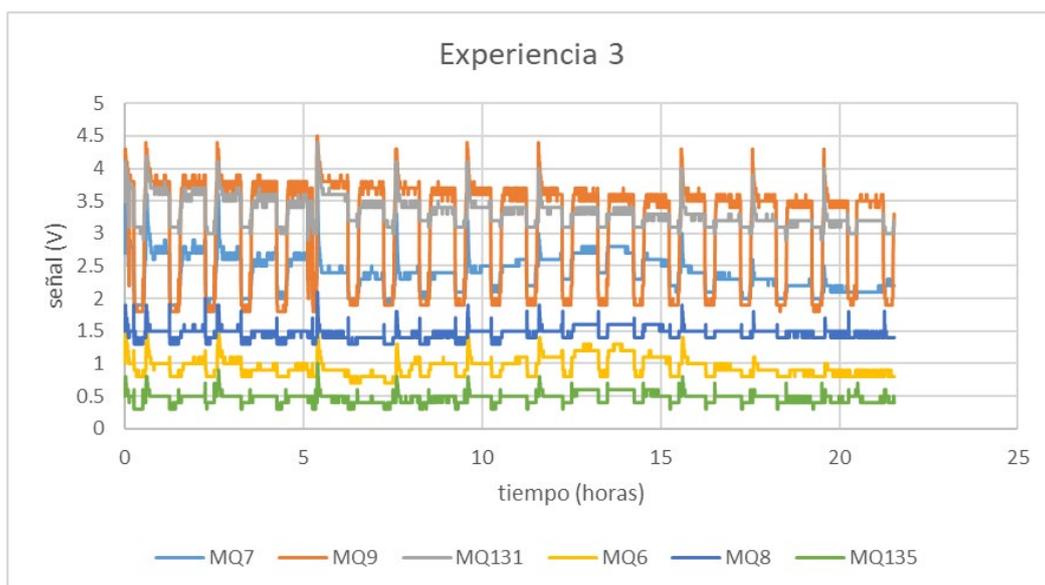
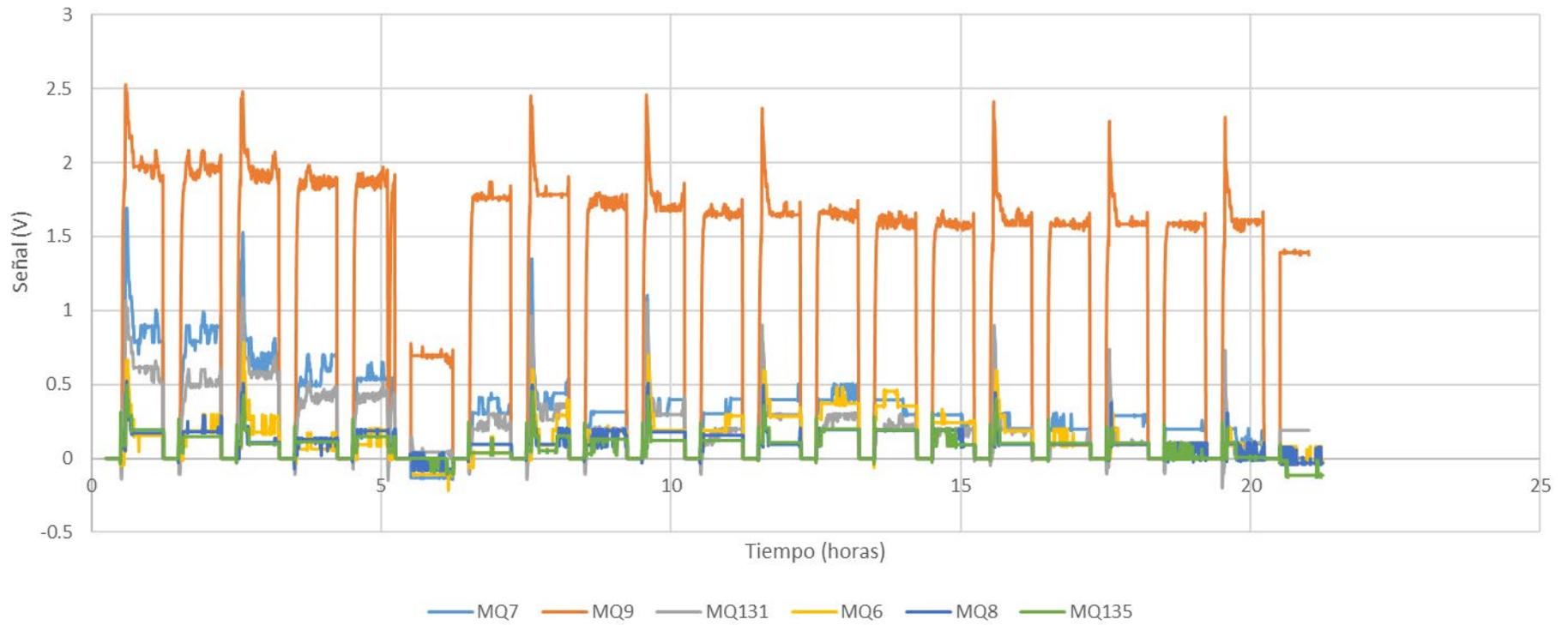


Figura 26. Señal de la experiencia 3, sin tratar.

Experiencia 3. Señal tratada



Como se observa en la Figura, la señal va disminuyendo con el tiempo. Sin tener en cuenta los valores anómalos obtenidos a las 5 horas debidos probablemente a un error en la limpieza de los sensores, se puede observar como a partir de las 7 horas la señal de los sensores MQ6 y MQ8 y MQ135 aumenta ligeramente, para estabilizarse y disminuir de nuevo, como se observa en la Figura. Esto es probablemente debido a la formación de CH₄. Esta afirmación se puede corroborar observando la tendencia del sensor MQ131, el cual no es sensible al CH₄ y se observa que continua su tendencia descendente.

Las DQO medidas durante este ciclo son:

- DQO a la entrada (hora 0): 10400 mg/L
- DQO al final del ciclo (22 horas): 9090 mg/L

El rendimiento en la eliminación de materia orgánica soluble continúa aumentando, siendo en este caso del 12.59% de la DQO

Experiencia 4

Se realizan 3 ciclos consecutivos de 24 h cada uno que se llevarán a cabo durante el fin de semana, por lo que los procesos serán controlados de manera automática. Se medirá la DQO al inicio, a las 8 horas y a las 72 horas

La señal suavizada de los sensores viene representada en la Figura 27:

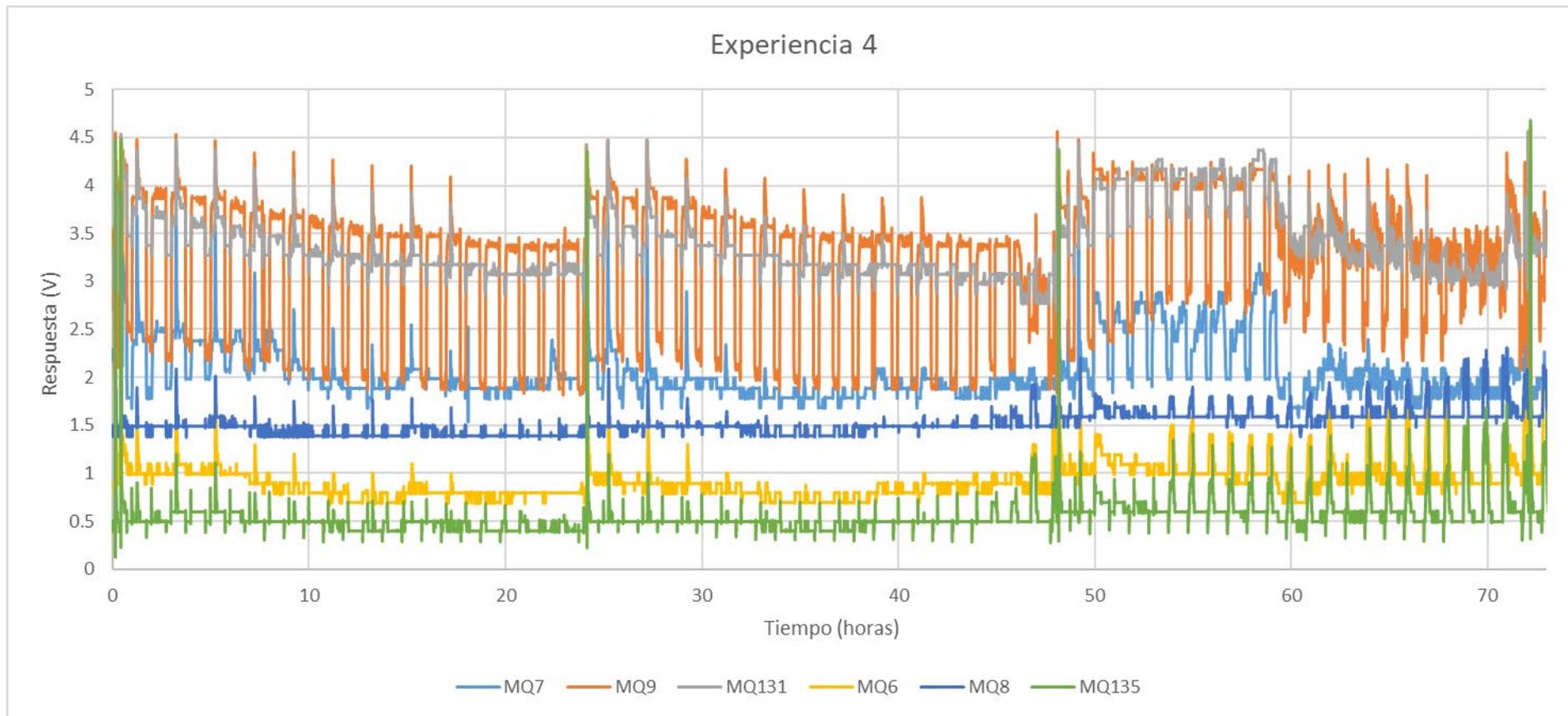


Figura 27. Experiencia 4. Señal solo suavizada.

Con el fin de tener una mejor visualización de los datos, se ha representado la señal de dos sensores individualmente, MQ6 (Figura 28) y MQ7 (Figura 29). La alimentación del reactor es claramente visible en ellas, a las 24 horas, a las 48 horas y a las 72 horas. Esto es debido a que en ese momento se produce una elevada liberación de todo tipo de gases, llegando a la saturación de los sensores (la primera vez, correspondiente al tiempo 0, no se ha representado)

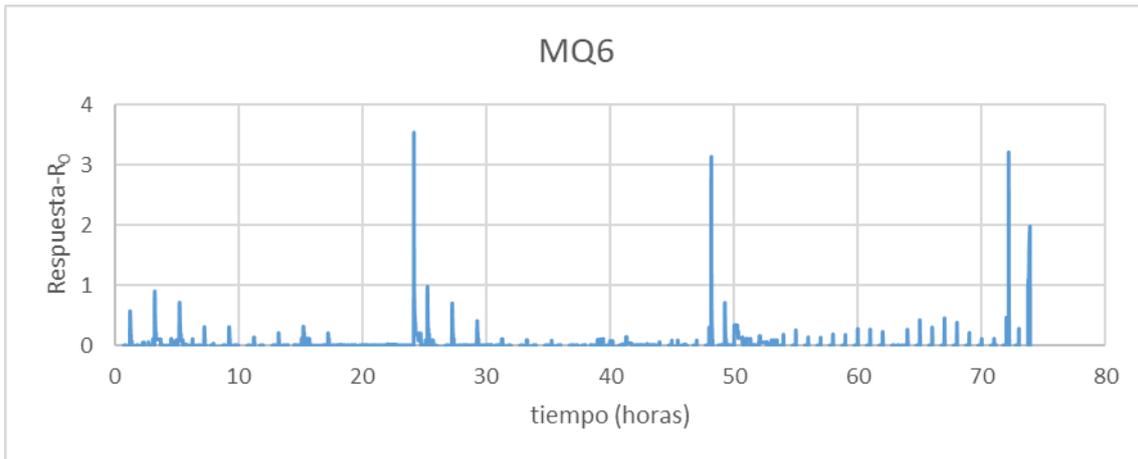


Figura 28. Detalle de la señal transformada del sensor MQ6

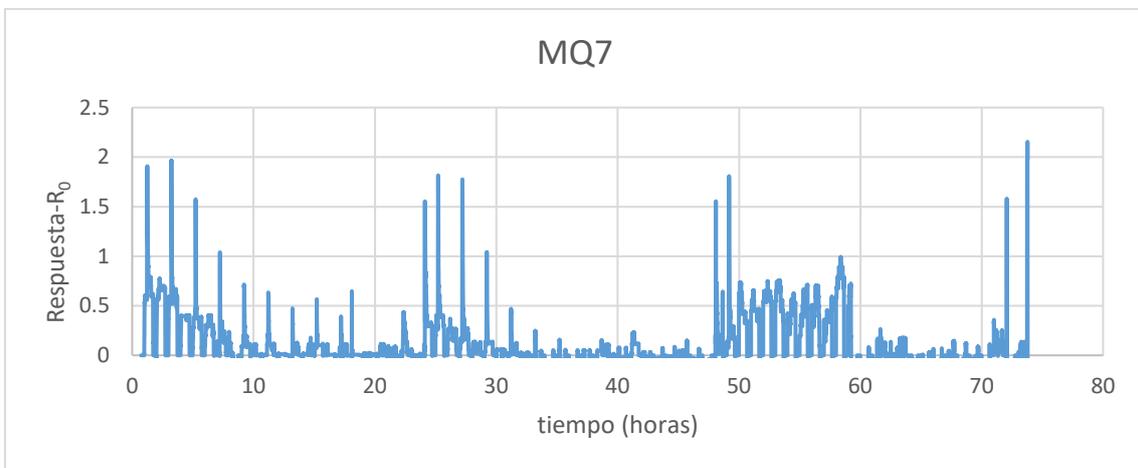


Figura 29. Detalle de la señal transformada del sensor MQ7

También se puede observar nítidamente como en los dos primeros ciclos de 24 horas la señal de estos sensores es muy reproducible, disminuyendo según avanza el ciclo, es decir, la materia orgánica se va degradando paulatinamente. Sin embargo, tras el tercer llenado del reactor (hora 48), se observa una anomalía en la señal. En esta anomalía se puede ver una elevada producción de gases durante las primeras horas de este tercer ciclo, seguido por un brusco descenso de la señal. Esta observación es corroborada por medio de los valores de la DQO medidos mostrados en la Tabla 6:

Tabla 6. DQO de la experiencia 4

Tiempo (horas)	DQO (mg/L)
Inicio (t=0 horas)	10700
7,67 horas (primer ciclo)	9700
70 horas (fin del tercer ciclo)	11600

Se puede afirmar que el proceso transcurría con normalidad durante el primer ciclo, notándose una reducción de la DQO del 10,7% en las primeras 7 horas. La DQO realizada a las 70 horas (fin del tercer ciclo) indica la presencia de una gran cantidad de materia orgánica no degradada presente en el efluente de salida del reactor anaerobio. Esto implica que en algún momento del fin de semana el reactor funcionó de manera errónea.

Tanto la señal analítica procedente de los sensores como el valor de la DQO indican una anomalía en el proceso. Mediante la observación de la señal electrónica se puede concluir que hay una anomalía en la hora 48, la cual se prolonga durante todo el ciclo. Conociendo que en la hora 48 se debería haber vaciado el reactor para llenarse de nuevo, se estima que hubo un fallo en el vaciado del reactor, sobrecargándose y no pudiendo eliminar la materia orgánica de la alimentación.

Experiencia 5

Se programa otro ciclo, esta vez de mayor tiempo de retención, cargándose el reactor con la alimentación y permaneciendo en él durante 42 horas. Con el fin de evaluar un mayor número de parámetros del reactor se medirá también el pH de las muestras tomadas en varios momentos del ciclo. Las muestras analizadas han sido:

Tabla 7. Hora de la toma de muestras, valor de la DQO y pH medidos en la experiencia número 5.

Hora toma de muestra	DQO (mg/L)	pH
Inicio ciclo (hora 0)	10600	4.22
5.13	10800	4.87
17.43	10100	4.89
18.66	10900	4.92
23.16	11100	4.95
25.83	10700	5.05
41.33	10500	5.11

La señal procedente de la nariz electrónica se recoge en la Figura 30:

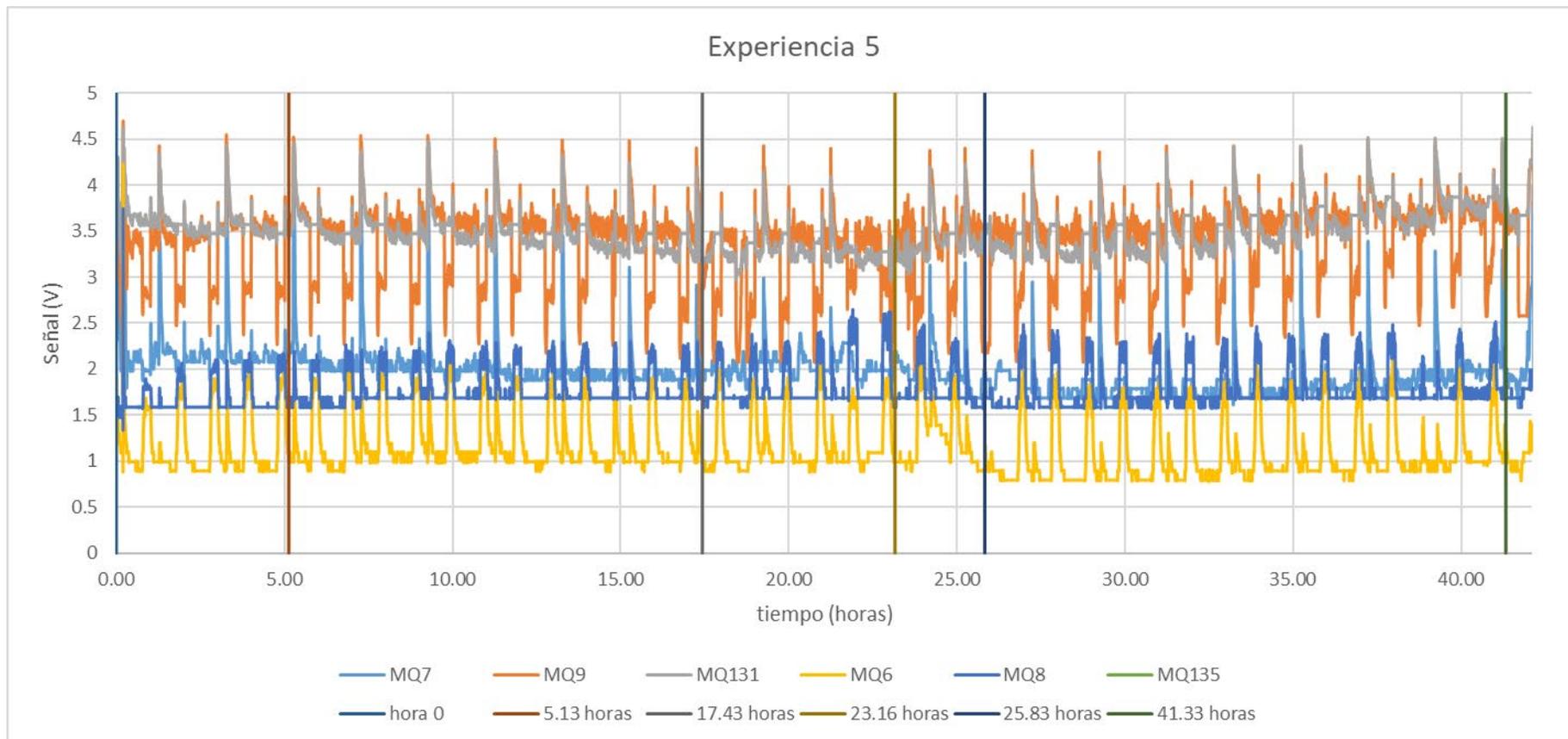


Figura 30. Experiencia 5, señal sin transformar y hora de las tomas de muestras.

Se observa en la Figura como la señal (suavizada) apenas varía a lo largo del tiempo. Este hecho es coherente con los resultados obtenidos en las DQO, en las que no se observa ningún porcentaje de disminución de la DQO durante el tratamiento anaeróbico.

Esta estabilidad en la señal, junto con un nulo porcentaje de disminución de la DQO, así como con unos valores de pH inferiores a 5.1 en todo momento del ciclo, implican el incorrecto funcionamiento del reactor. Por los valores obtenidos en las medidas del pH se puede concluir también que el medio es demasiado hostil para el correcto desempeño de las bacterias metanogénicas, siendo improbable la producción de metano durante el mismo. Estos valores de pH anómalamente bajos en el reactor pueden implicar que solo se está llevando a cabo la primera parte del ciclo anaeróbico, la hidrólisis.

La nariz electrónica por sí misma ha sido capaz de identificar esta circunstancia debido a que la señal de los 6 sensores no varía a lo largo de todo el ciclo.

Tras esta experiencia, todos los datos indican un incorrecto funcionamiento del reactor, Se llevarán a cabo una serie de modificaciones en el mismo con el fin de intentar una correcta degradación de la materia orgánica introducida en él.

Experiencia 6.

Cambios en los parámetros operativos del reactor

- Se introduce un nuevo inóculo bacteriano con una mayor concentración de microorganismos, procedente del reactor anaerobio de la EDAR (Estación Depuradora de Aguas Residuales) de Valladolid, centrifugado en el Departamento de Ingeniería Química y Tecnología del Medio Ambiente de la UVA.
- Se ha observado que la alimentación puede ser demasiado ácida para las bacterias del reactor, por ello se introduce bicarbonato sódico en la propia alimentación, con el fin de poder aumentar y tamponar el pH a un valor próximo a 7.
- Se incrementa el ciclo de lavado de los sensores, pasando a ser de 30 minutos de medida de la toma de gases del reactor anaeróbico y 30 minutos de lavado con aire purificado.
- Cambio en la bomba de vaciado del reactor anaerobio con el fin de que no se produzcan nuevos fallos de vaciado.
- La agitación pasa a ser más suave, dejándose de ver los picos característicos que se veían cada dos horas

- Se disminuye la carga orgánica introducida. Se introducen menos litros de agua residual en cada ciclo.

Tras descongelar el fango activo de la EDAR, este se deja durante 1 semana aclimatándose a sus nuevas condiciones de trabajo y a la alimentación que va a recibir. Tras esto se lleva a cabo el primer ciclo del mismo.

Se toman muestras al inicio tras alimentar el reactor (tiempo 0) y al final del ciclo (hora 22) con el fin de tener una primera idea de cómo está funcionando el reactor, los valores vienen recogidos en la Tabla 8:

Tabla 8. Valores de pH y DQO de la experiencia 6.

Hora	pH	DQO (mg/L)
Inicio de ciclo	6,22	8020
Fin de ciclo	6,33	7800

La señal de los sensores, viene recogida en las Figuras 31 y 32:

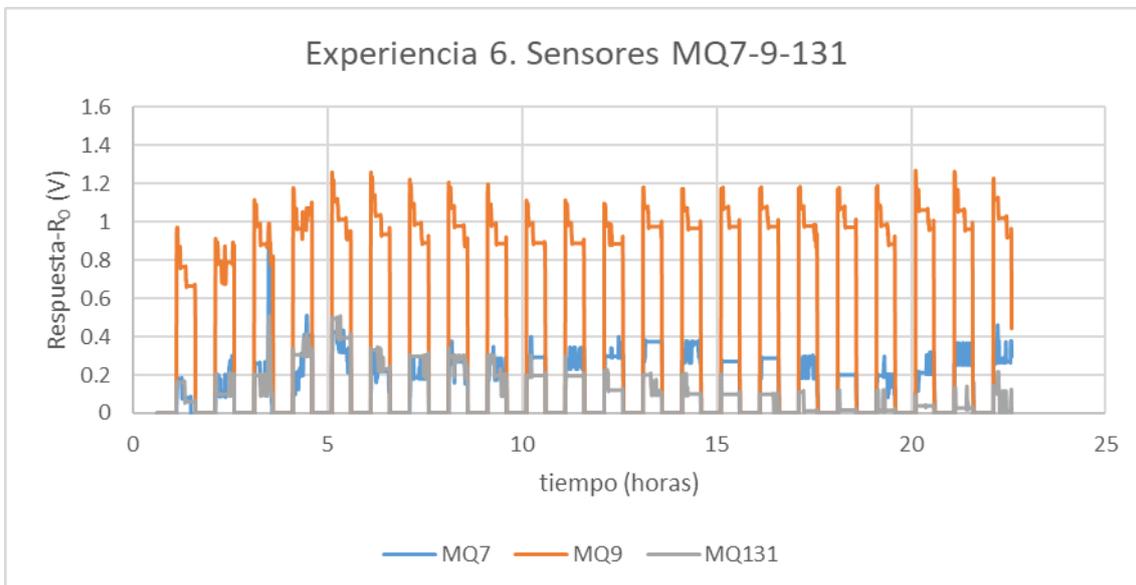


Figura 31. Señal de los sensores transformada MQ7,9 y 131

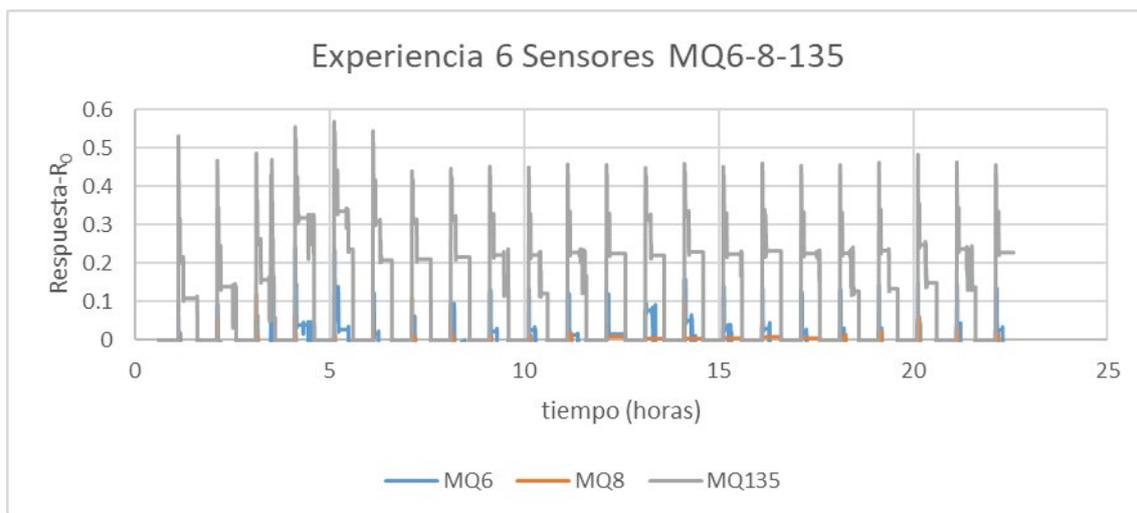


Figura 32. Detalle de los sensores MQ6, 8 y 135. Señal transformada

Los valores de pH han mejorado considerablemente, estando ya en un rango (6-7) que puede ser favorable para la producción de metano por las bacterias metanogénicas. Sin embargo, los valores de DQO no son todavía satisfactorios, teniendo un porcentaje de eliminación de materia orgánica muy pobre.

Interpretando la señal de la nariz electrónica se observa como la producción de gases se va incrementando hasta llegar a la hora 5, a partir de la cual disminuye ligeramente para estabilizarse. Aunque todavía es pronto para afirmarlo, se puede observar cómo se recobra ligeramente el ciclo anaerobio.

Experiencia 7:

Se prepara otro ciclo, esta vez de mayor duración y de una alimentación de entrada mucho menor, de aproximadamente 1 litro. Se programa un ciclo largo con una sola carga del reactor, con el propósito de no saturarlo.

La señal transformada de los sensores se observa en las Figuras 33 y 34:

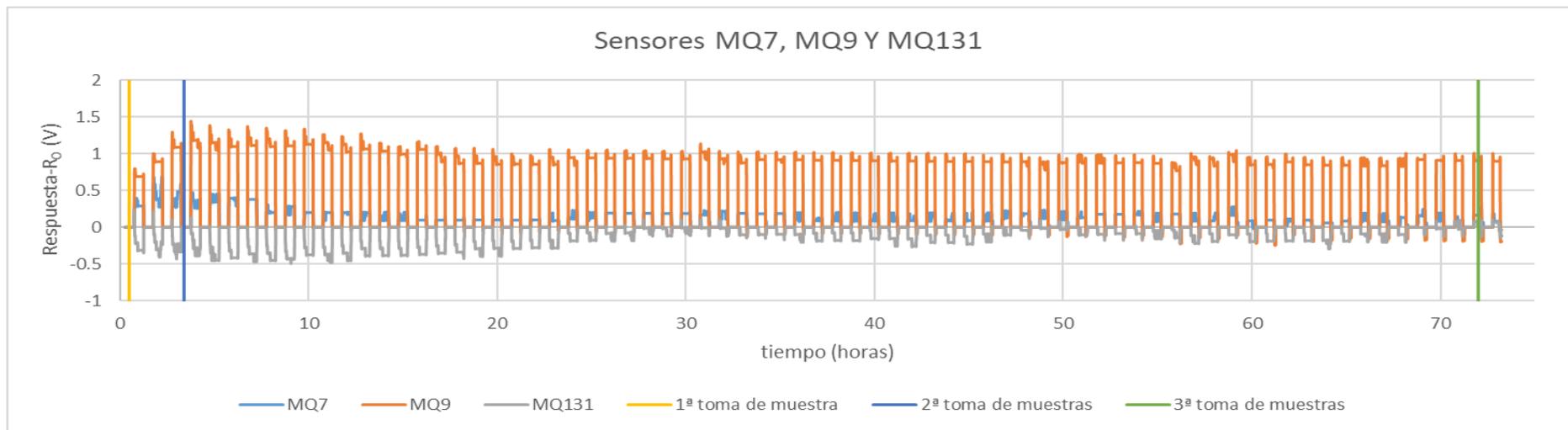


Figura 33. Señal transformada de los sensores MQ7, MQ9 y MQ131

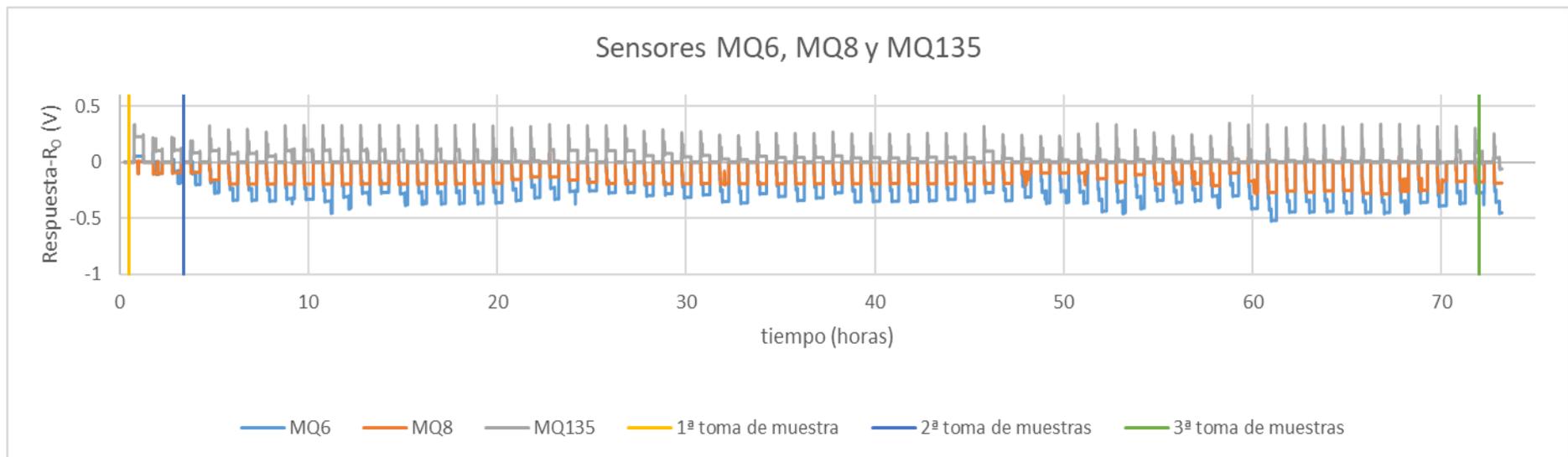


Figura 34. Señal transformada de los sensores MQ6, MQ8 y MQ135

Los valores de pH y DQO vienen recogidos en la Tabla 9:

Tabla 9. Valores de la DQO de la experiencia número 7

Hora de toma de muestra	pH	DQO
00:45	6.7	7270
01:45	6.65	6660
72:00	7.15	5230

Conclusiones tras la experiencia número 7:

- Tras un periodo de adaptación del nuevo fango inoculado, el reactor vuelve a funcionar de manera adecuada, con una disminución de la DQO del 28,6%.
- Los valores del pH se encuentran en un rango óptimo para el correcto desempeño de las bacterias. Se observa como el pH se incrementa a medida que se avanza en el ciclo anaeróbico, siendo más bajo durante el periodo de hidrólisis que durante la fase final.
- La señal de los sensores es significativamente menor que en las anteriores experiencias debido a la menor alimentación introducida al reactor. Este hecho lleva al caso de que la atmósfera, en teoría limpia, de la sala donde se encuentra el reactor da una señal mayor que la del propio reactor anaerobio. Esto se observa en las Figuras 33 y 34, las cuales presentan valores negativos. Aun así, se puede afirmar que siguen los mismos patrones que en las anteriores experiencias: un incremento de la señal inicial, hasta aproximadamente la hora 4-5 del ciclo, a partir de la cual la señal decrece progresivamente hasta estabilizarse.

Experiencia 8.

Se programa un ciclo de 24 horas con una alimentación de 2 L del agua residual sintética.

Se controlarán más parámetros esta vez, haciendo uso de nuevas técnicas.

- Se estudiará el fango por microscopía óptica con el fin de observar bacterias vivas que indiquen un fango activo.
- Se analizarán dos muestras por cromatografía de gases con el fin de determinar los ácidos grasos volátiles presentes al principio y al final del ciclo y comprobar la disminución de la concentración de estos.

Las fotografías del fango en microscopía de barrido se han caracterizado haciendo uso de la guía ilustrada “Free-Living” *Freshwater Protozoa*. D.J. Patterson”

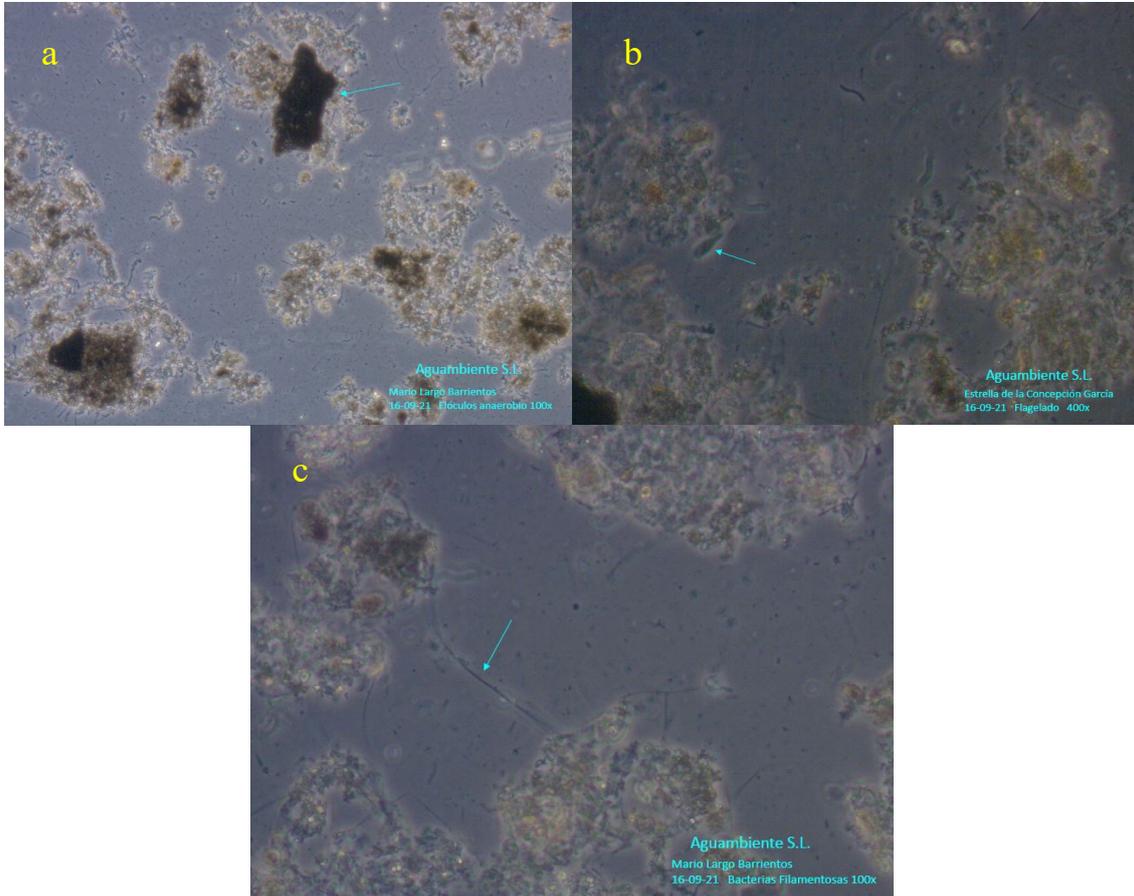


Figura 35. Fotografías del fango anaerobio. (a) Flóculo anaerobio x100 aumentos. (b) Bacterias flageladas (c) Bacterias filamentosas

En la Figura 35 (a) se observa el flóculo anaerobio (x100 aumentos) en (b) se observan bacterias flageladas (x400 aumentos) y en (c) las bacterias filamentosas (x100 aumentos).

Los estudios microscópicos realizados muestran predominancia de microorganismos flagelados (*Petalomonas* sp, *Bodo*), presencia de bacterias filamentosas y de espiroquetas. Se observan también abundantes bacterias dispersas. Se comprueba que el fango de la EDAR introducido en las últimas semanas ha funcionado correctamente, existiendo un número elevado de bacterias capaces de consumir la materia orgánica. Sin embargo, esta técnica no es capaz de detectar la concentración de bacterias metanogénicas.

En la Tabla 10 se muestran los parámetros medidos durante la experiencia 8.

Tabla 10. Parámetros medidos durante la experiencia 8.

Hora de la toma de la muestra	pH	DQO	Acético (mg/L)	Propiónico (mg/L)	Butírico (mg/L)
00:30	6.94	6670	1550.323	123.073	83.317
1:45	6.87	6630			
22:45	7.20	5970	1460.459	1110.518	63.073

La señal transformada de los sensores viene representada en las Figuras 36 y 37:

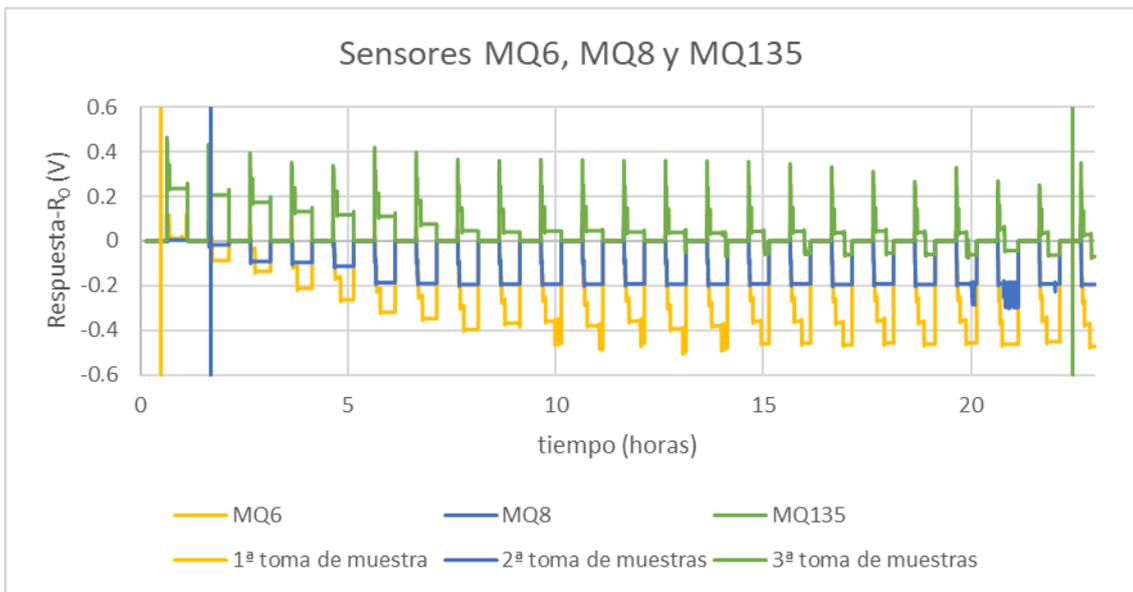


Figura 36. Señal transformada de los sensores MQ6, 8 y 135 durante la experiencia 8.

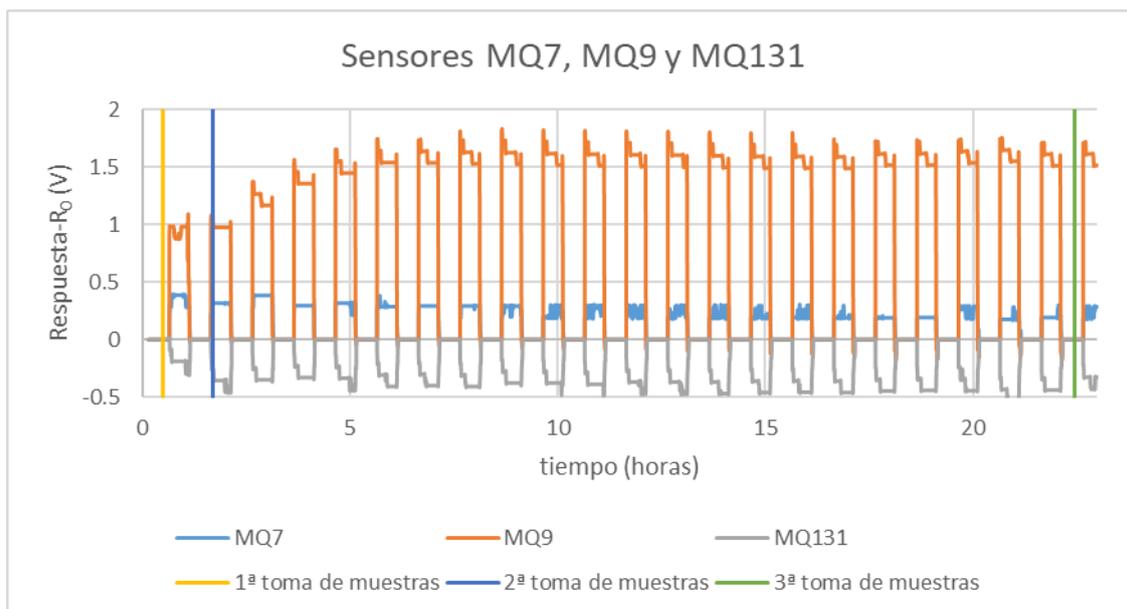


Figura 37. Señal transformada de los sensores MQ7, 9 y 131 durante la experiencia 8.

Al igual que en la anterior experiencia con el lodo del EDAR, la señal es inferior a las primeras experiencias realizadas con lodo industrial del tratamiento de aguas residuales industriales.

La señal de los sensores MQ6, MQ8 y MQ7, al igual que en el resto de experiencias, disminuye según avanza el ciclo, estabilizándose llegadas las 10 horas. Esto es consecuente con el comportamiento encontrado hasta ahora.

Por último, se observa que el sensor MQ9 presenta una tendencia creciente hasta aproximadamente la hora 5, estabilizándose su señal.

5. CONCLUSIONES

En base a los ensayos realizados en laboratorio y con un biorreactor anaerobio se puede concluir que:

- Los gases producidos durante el proceso anaerobio producen una señal identificable en los sensores de la gama MQ.
- La respuesta de los sensores está relacionada con la concentración de estos gases.
- Las señales continuas de las narices electrónicas obtenidas son diferentes en cada experiencia, dependiendo de muchos factores externos (mal funcionamiento por sobrecarga, por acidificación del reactor, etc.). Sin embargo, su forma y tendencia son similares en caso de un correcto funcionamiento.
- El funcionamiento de los sensores MQ obliga a intercalar ciclos de lavado para evitar su saturación, y a trabajar en atmósferas exentas de gases interferentes. Se ha podido demostrar la utilidad de las narices electrónicas para monitorizar los procesos anaeróbicos de tratamiento de aguas residuales sin necesidad de intervención humana. Es posible detectar un funcionamiento incorrecto del reactor sin necesidad de realizar continuados análisis químico-físicos, reduciendo drásticamente los costes derivados de la monitorización.
- No obstante, las ventajas de las narices electrónicas para controlar procesos que involucran gases y sustancias fácilmente volatilizables, su uso está limitado por la pobre selectividad de las señales analíticas registradas. La ausencia de selectividad podría resolverse tratando las señales con técnicas quimiométricas de reconocimiento de pautas, como el análisis en componentes principales, o aplicando técnicas de calibración multivariante

6. BIBLIOGRAFIA

- Beets, M. G. J. (1978). Structure-activity relationships in human chemoreception (Ed. Applied Science Publishers). ISBN-10: 0853347468
- Carpenter, M. A.; Mathur, S. and Kolmakov, A. (Editors). (2013) Metal oxide nanomaterials for chemical sensors. Springer. DOI 10.1007/978-1-4614-5395-6
- Chernicharo, C. A. de L. (2007). Anaerobic Reactors (IWA Publishing). ISBN: 1843391643.
- Grabow, W. (2001). Water Science and Technology: Water Supply. 1(4). ISSN: 16069749
- Gutierrez-Osuna, R. (2002). Pattern analysis for machine olfaction: A review. IEEE Sensors Journal, 2(3), 189–202. <https://doi.org/10.1109/JSEN.2002.800688>
- Gutierrez-Osuna, R. and Nagle, H. T. (1999). A method for evaluating data-preprocessing techniques for odor classification with an array of gas sensors. IEEE Transactions on Systems, Man, and Cybernetics, Part B: Cybernetics, 29(5), 626–632. <https://doi.org/10.1109/3477.790446>
- Korotcenkov, G. (2013). Handbook of Gas Sensor Materials: Properties, Advantages and Shortcomings for Applications, Volume 1: Conventional Approaches, Springer, New York. In Springer Science & Business Media (Vol. 1). <http://link.springer.com/10.1007/978-1-4614-7388-6>
- Lettinga, G. (1995). Anaerobic digestion and wastewater treatment systems. Antonie van Leeuwenhoek, 67, 3–28. DOI: 10.1007/BF00872193
- Merkle, F. H. and Discher, C. A. (1964). Controlled-Potential Coulometric Analysis of N-Substituted Phenothiazine Derivatives. Analytical Chemistry, 36(8), 1639–1643. <https://doi.org/10.1021/ac60214a048>
- Ogbonna, C.; Berebon, D. and Onwuegbu, E. (2015). Relationship between Temperature, Ph and Population of Selected Microbial Indicators during Anaerobic Digestion of Guinea Grass (*Panicum Maximum*). American Journal of Microbiological Research, 3(1), 14–24. <https://doi.org/10.12691/ajmr-3-1-3>

Pearce, T. C.; Gardner, J. W.; Friel, S.; Bartlett, P. N. and Blair, N. (1993). Electronic nose for monitoring the flavour of beers. *The Analyst*, 4(118), 371–377. <https://doi.org/10.1039/AN9931800371>

Pearce, T. C.; Schiffman, S. S.; Nagle, H. T. and Gardner, J. W. (Editors). (2003). *Handbook of Machine Olfaction*. Wiley-VCH, Weinheim.

Rodrigues, L. S.; Silva, I. J.; Oliveira, P. R.; Pinto, A. C. A. and Lima, C. A. (2014). Influence of the Ratio IA/PA and Volatile Acids in the Monitoring of UASB Reactor in the Treating of Swine Waste Water. *Journal of Water Resource and Protection*, 6. <http://dx.doi.org/10.1002/0471468967>

Soubes M (1994). *Microbiología de la digestión anaerobia*. III Taller y Seminario Latinoamericano. Tratamiento Anaerobio de Aguas Residuales. Montevideo Uruguay, pp. 15-28

Stuiver, M. (1958). *Biophysics of the sense of smell*. Thesis (University of Groningen).

Technologien, N. and Wirtschaftsberatung, B. (2001). Anaerobic treatment of slaughterhouse waste and wastewater. 49(0), 1–12. <http://www.gtz.de/gate/gateid.afp>

Vries Hessel De, S. M. (2012). The absolute sensitivity of the human sense of smell. in *Sensory Communication*. Chapter 9, 159–167. DOI:10.7551/mitpress/9780262518420.003.0009

ANEXO 1

Código en Matlab para eliminar la línea base.

```
function outdata = removenoise(csvfile, starttime, noisetime, datatime,
changetime)
    indata = rmmissing(readtable(csvfile)); % Read file to data table
    finishtime = table2array(indata(end, 1)); % Experiment total time
    indata = selecttime(indata, starttime+changetime/2, finishtime); %
Delete data from the booting time
    % Repeat for each noise detection
    period = noisetime+datatime;
    for i = 0:round((finishtime-starttime)/period)-1
        % Select interval to detect noise
        noisedata = selecttime(indata, starttime + i*period + changetime/2,
starttime + i*period + noisetime - changetime/2);
        noise = mean(table2array(noisedata(:, 2:end))); % Get background
noise
        % Fill clean data with 0
        indata = copytotime(indata, starttime + i*period - changetime/2,
starttime + i*period + noisetime + changetime/2, 0);
        % Select data interval
        data = selecttime(indata, starttime + i*period + noisetime +
changetime/2, starttime + i*period + noisetime + datatime - changetime/2);
        data = table2array(data(:, 2:end)) - noise; % Data without noise
        % Copy data to table
        indata = copytotime(indata, starttime + i*period + noisetime +
changetime/2, starttime + i*period + noisetime + datatime - changetime/2,
data);
    end
    outdata = indata;
end

% Auxiliary functions to manage tables
function outdata = selecttime(indata, st, et)
    times = table2array(indata(:, 1));
    outdata = indata(and(st <= times, et >= times), :);
end

function outdata = copytotime(indata, st, et, array)
    times = table2array(indata(:, 1));
    selectedcells = and(st <= times, et >= times);
    indata(selectedcells, 2:end) = array2table(array);
    outdata = indata;
end
```

ANEXO 2

Código en Arduino para controlar el reactor.

```
/*
  Agitación cada dos horas,(la 2ª a la hora) empezar según acaba el llenado
  del anaerobio. Duración: Primera 2:30 min, después 0:30min
*/
//Alarma rele1 agitacion anaerobio
Alarm.alarmRepeat(5,15,0, Agitacion);
Alarm.alarmRepeat(5,15,30, Noagitacion);
Alarm.alarmRepeat(7,15,0, Agitacion);
Alarm.alarmRepeat(7,15,30, Noagitacion);
Alarm.alarmRepeat(9,15,0, Agitacion);
Alarm.alarmRepeat(9,15,30, Noagitacion);
Alarm.alarmRepeat(11,15,0, Agitacion);
Alarm.alarmRepeat(11,15,30, Noagitacion);
Alarm.alarmRepeat(13,15,0, Agitacion);
Alarm.alarmRepeat(13,15,30, Noagitacion);
Alarm.alarmRepeat(15,15,0, Agitacion);
Alarm.alarmRepeat(15,15,30, Noagitacion);
Alarm.alarmRepeat(17,15,0, Agitacion);
Alarm.alarmRepeat(17,15,30, Noagitacion);
Alarm.alarmRepeat(19,15,0, Agitacion);
Alarm.alarmRepeat(19,15,30, Noagitacion);
Alarm.alarmRepeat(21,15,0, Agitacion);
Alarm.alarmRepeat(21,15,30, Noagitacion);
Alarm.alarmRepeat(0,12,0, Agitacion);
Alarm.alarmRepeat(0,14,30, Noagitacion);
Alarm.alarmRepeat(1,15,0, Agitacion);
Alarm.alarmRepeat(1,15,30, Noagitacion);
Alarm.alarmRepeat(3,15,0, Agitacion);
Alarm.alarmRepeat(3,15,30, Noagitacion);

//Alarma rele2 control de gases en los sensores
Alarm.alarmRepeat(8,0,0, Medida);
Alarm.alarmRepeat(8,30,0, Lavado);
Alarm.alarmRepeat(9,0,0, Medida);
Alarm.alarmRepeat(9,30,0, Lavado);
Alarm.alarmRepeat(10,0,0, Medida);
Alarm.alarmRepeat(10,30,0, Lavado);
Alarm.alarmRepeat(11,0,0, Medida);
Alarm.alarmRepeat(11,30,0, Lavado);
Alarm.alarmRepeat(12,0,0, Medida);
Alarm.alarmRepeat(12,30,0, Lavado);
Alarm.alarmRepeat(13,0,0, Medida);
Alarm.alarmRepeat(13,30,0, Lavado);
Alarm.alarmRepeat(14,0,0, Medida);
Alarm.alarmRepeat(14,30,0, Lavado);
Alarm.alarmRepeat(15,0,0, Medida);
Alarm.alarmRepeat(15,30,0, Lavado);
Alarm.alarmRepeat(16,0,0, Medida);
Alarm.alarmRepeat(16,30,0, Lavado);
Alarm.alarmRepeat(17,0,0, Medida);
Alarm.alarmRepeat(17,30,0, Lavado);
Alarm.alarmRepeat(18,0,0, Medida);
Alarm.alarmRepeat(18,30,0, Lavado);
Alarm.alarmRepeat(19,0,0, Medida);
Alarm.alarmRepeat(19,30,0, Lavado);
```

```

Alarm.alarRepeat(20,0,0, Medida);
Alarm.alarRepeat(20,30,0, Lavado);
Alarm.alarRepeat(21,0,0, Medida);
Alarm.alarRepeat(21,30,0, Lavado);
Alarm.alarRepeat(22,0,0, Medida);
Alarm.alarRepeat(22,30,0, Lavado);
Alarm.alarRepeat(23,0,0, Medida);
Alarm.alarRepeat(23,30,0, Lavado);
Alarm.alarRepeat(0,0,0, Medida);
Alarm.alarRepeat(0,30,0, Lavado);
Alarm.alarRepeat(1,0,0, Medida);
Alarm.alarRepeat(1,30,0, Lavado);
Alarm.alarRepeat(2,0,0, Medida);
Alarm.alarRepeat(2,30,0, Lavado);
Alarm.alarRepeat(3,0,0, Medida);
Alarm.alarRepeat(3,30,0, Lavado);
Alarm.alarRepeat(4,0,0, Medida);
Alarm.alarRepeat(4,30,0, Lavado);
Alarm.alarRepeat(5,0,0, Medida);
Alarm.alarRepeat(5,30,0, Lavado);
Alarm.alarRepeat(6,0,0, Medida);
Alarm.alarRepeat(6,30,0, Lavado);
Alarm.alarRepeat(7,0,0, Medida);
Alarm.alarRepeat(7,30,0, Lavado);
//Alarma rele3
Alarm.alarRepeat(0,10,30, Alimentacion_anaerobio); //15 seg
Alarm.alarRepeat(0,10,45, Noalimentacion_anaerobio);

//Alarma rele4
Alarm.alarRepeat(0,7,40, Alimentacion_aerobio);
Alarm.alarRepeat(0,10,10, Noalimentacion_aerobio);// 2min 30 seg

//Alarma rele5
Alarm.alarRepeat(21,0,0, Noaireacion);
Alarm.alarRepeat(0,3,0, Noaireacion); // 3 horas
Alarm.alarRepeat(0,15,0, Aireacion);

//Alarma rele6
Alarm.alarRepeat(0,5,0, Evacuacion); // 2 min
Alarm.alarRepeat(0,7,0, Noevacuacion);

```


ÍNDICE DE FIGURAS.

Figura 1. Conversión biológica en un proceso aeróbico y anaeróbico. [G. Lettinga, 1995]).	5
Figura 2. Proceso de digestión anaeróbica. Elaboración propia a partir de (Chernicharo, 2007).	6
Figura 3. Balance energético de los procesos aeróbico y anaeróbico[Grabow 2001]	11
Figura 4. Influencia de la temperatura en el crecimiento de las bacterias metanógenas. [Chernicharo, 2007].	14
Figura 5 Esquema del cambio de la conductividad del semiconductor en función de si está expuesto al oxígeno o a un gas que puede ser reducido [Korotcenkov. 2013].	19
Figura 6. Fotografía del equipo	23
Figura 7 Volumen de control donde se ubican las narices electrónicas para realizar los ensayos de identificación de gases objetivo.	24
Figura 8. Señal del primer ensayo de metano. Sin tratar	27
Figura 9. Señal suavizada del primer ensayo del metano.	29
Figura 10. Señal transformada del primer ensayo del metano.	30
Figura 11. Señal transformada frente a la concentración de metano, ensayo 1	31
Figura 12. Señal transformada frente a la concentración para el ensayo 2	31
Figura 13. Concentración	32
Figura 14. Relación entre la concentración y la respuesta de los sensores. Segundo ensayo del ácido sulfhídrico.	33
Figura 15. Señal transformada frente a la concentración	33
Figura 16. Respuesta de los sensores frente al tiempo, en el primer ensayo del CO ₂	34
Figura 17. Señal transformada frente a la concentración de NO ₂	35
Figura 18.	36
Figura 19. Señal transformada frente a concentración para el acético	37
Figura 20. Señal transformada frente a concentración en el segundo ensayo del acético	37
Figura 21. Propiónico primer ensayo. Señal transformada frente a concentración	38
Figura 22. Propiónico. Ensayo 2	38
Figura 23. Ensayo butírico. Señal transformada frente a concentración	39
Figura 24. Experiencia 1	42
Figura 25. Señal durante la experiencia 2, sin tratar.	43
Figura 26. Señal de la experiencia 3, sin tratar.	44
Figura 27. Experiencia 4. Señal solo suavizada.	47
Figura 28. Detalle de la señal transformada del sensor MQ6.	48
Figura 29. Detalle de la señal transformada del sensor MQ7.	48
Figura 30. Experiencia 5, señal sin transformar y hora de las tomas de muestras.	50
Figura 31. Señal de los sensores transformada MQ7,9 y 131	52
Figura 32. Detalle de los sensores MQ6, 8 y 135. Señal transformada	53
Figura 33. Señal transformada de los sensores MQ7, MQ9 y MQ131	54
Figura 34. Señal transformada de los sensores MQ6, MQ8 y MQ135	54

Figura 35. Fotografías del fango anaerobio. (a) Flóculo anerobio x100 aumentos. (b) Bacterias flageladas (c) Bacterias filamentosas..... 56

Figura 36. Señal transformada de los sensores MQ6, 8 y 135 durante la experiencia 8.57

Figura 37. Señal transformada de los sensores MQ7, 9 y 131 durante la experiencia 8.58

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Grupos de microorganismos anaeróbicos. [Grabow 2001]	8
Tabla 2: Coeficientes de A. Savitzky y M.J.E. Golay para suavizado polinomial con 25 puntos	28
Tabla 3 Punto de ebullición y densidad de los principales ácidos grasos. NIST (National Institute of Standards and Technology).....	35
Tabla 4. Nutrientes de la alimentación	40
Tabla 5. Esquema básico del ciclo de tratamiento realizado.....	41
Tabla 6. DQO de la experiencia 4	49
Tabla 7. Hora de la toma de muestras, valor de la DQO y pH medidos en la experiencia número 5.....	49
Tabla 8. Valores de pH y DQO de la experiencia 6.	52
Tabla 9. Valores de la DQO de la experiencia número 7	55
Tabla 10. Parámetros medidos durante la experiencia 8.	57

