

Treatment landfill leachate in filters anaerobic upflow of two phases (DI – FAFS)

Julio Isaac Maldonado M.^{*,a}, Jarson Alexis Rodríguez Chona^a, Ángela Maritza Cajiao^b

^aIngeniería Ambiental, Facultad de Ingenierías y Arquitectura, Universidad de Pamplona, Pamplona, Colombia

^bLaboratorios Microbiología, Universidad de Pamplona, Pamplona, Colombia

Abstract.-

Leachate landfill have high concentrations of organic matter and heavy metals and other pollutants, which they are high source of contamination of bodies of water, so it was proposed to treat them using a system of anaerobic filters upstream of two phases (DI - FAFS). According to the chemical and physical characteristics of the leachate used, allowed leachate classified as Type III (Intermediate). The DI- FAFS were operated with three volumetric organic loads (VOC): High: 3.71; medium: 2.76, low 1.80 kg COD/m³-day, with temperatures of 20, 27 and 34°C. It was used as a control parameter, the removal efficiency measurement of Chemical Oxygen Demand (COD). The hydraulic retention time for DI- FAFS was 18 ± 0.5 hours and the maximum efficiency obtained in the Di - FAFS was 72.86 % in removing COD, achieved with a temperature of 34 ° C and a height ratio (acid phase/ phase methanogenic) 20/80, which also determines volume ratio of phases (acid phase/phase methanogenic) of 20/80.

Keywords: VOL; EMA; anaerobic filters; Di – FAFS

Tratamiento de lixiviados de rellenos sanitarios en filtros anaerobios de flujo ascendente de dos fases (DI – FAFS)

Resumen.-

Los lixiviados de rellenos sanitarios tienen altas concentraciones de materia orgánica, metales pesados y otros contaminantes que son fuente alta de contaminación en cuerpos de agua, que se trataron empleando un sistema de filtros anaerobios de flujo ascendente de dos fases (DI – FAFS). Según las características químicas y físicas del lixiviado utilizado, permitió clasificarlos como lixiviado joven, con concentraciones intermedias y unidades de pH superiores a 8. Estos filtros en la fase ácida tienen alturas proporcionales al 20, 50 y 80 % de la altura total del filtro y la fase metanogénica con alturas de 80, 50 y 20 % que complementan la altura total del mismo. Los DI-FAFS fueron operados con tres cargas orgánicas volumétricas (COV): alta: 3,71; media: 2,76 y baja: 1,80 Kg DQO/m³-día respectivamente, con temperaturas de 20, 27 y 34°C. Se empleó como parámetro de control, la medición eficiencia en la remoción de la DQO; el tiempo de retención hidráulico en los DI-FAFS fue de 18 ± 0,5 horas y eficiencia máxima obtenida de 72.86 % en la remoción de DQO, logrado con una temperatura de 34°C y con una relación de alturas (fase acida/metanogénica) de 20/80, que determina igualmente relación de volúmenes de la fases ídem de 20/80.

Palabras clave: COV; AME; filtros anaerobios; Di–FAFS

Recibido: julio 2016

Aceptado: marzo 2017

1. Introducción.

El mundo enfrenta una crisis ambiental en términos de cantidad y calidad del agua, a causa del incremento de la población, la industrialización, los altos niveles de vida, el calentamiento

*Autor para correspondencia

Correo-e: jimaldonadam@hotmail.com (Julio Isaac Maldonado M.)

global, el desarrollo y comportamiento antrópico; que ha generado como consecuencia grandes volúmenes de aguas residuales e industriales, vertidas al medio ambiente, causando deterioro de las aguas receptoras (superficiales, subterráneas) y de los suelos; en este sentido es de gran relevancia buscar alternativas para el tratamiento de aguas residuales altamente contaminantes, siendo necesario mejorar los procesos de tratamiento existentes.

Hoy una de las alternativas más estudiadas son los tratamientos que realizan el proceso de estabilización de sustratos en sistemas anaerobios, con buenos resultados en la remoción de la Materia Orgánica (medidos en términos de mg DBO₅/l o de mg DQO/l), reducción del contenido de sólidos, ajustes de pH entre otros; mejorando así la calidad de los vertimientos y reduciendo los impactos. En esta investigación se utilizó un sistema de filtros anaerobios de flujo ascendente separados en dos fases (DI-FAFS), donde el sustrato usado fue el lixiviado del relleno sanitario Los Guayabales, generado por la compactación de grandes cantidad de residuos sólidos vertidos por la ciudad de Cúcuta (Col.) y que cumplieron la función para los cuales fueron adquiridos y cuya eliminación técnica es necesaria para garantizar un ambiente seguro y saludable.

El impacto ambiental de los rellenos sanitarios está asociado principalmente, con la emisión de gases efecto invernadero, como el dióxido de carbono (CO₂), el metano (CH₄) y la producción de lixiviados, drenados como consecuencia de la compactación de residuos y percolación de aguas lluvias, a través de la masa de residuos, de las reacciones químicas y biológicas ocurridas en las celdas que contienen los residuos y del contenido de humedad. Según Torres et al. [1] existen varios antecedentes de tratamiento aerobio y anaerobio de lixiviados, que van desde experiencias a escala laboratorio hasta experiencias a escala real. El tipo de tratamiento aerobio más extendido es el de los lodos activados y el de las lagunas aireadas, como también los reactor de Discos Biológicos Rotatorios; en cuanto al tratamiento anaerobio, el sistema de más utilizado es el reactor UASB, el cual ha reportado muy buenos resultados Álvarez

y Suárez [2], concluyéndose que los sistemas biológicos, como el tratamiento anaerobio solo o combinado con otros procesos son una biotecnología para el tratamiento de los lixiviados, principalmente en países con condiciones climáticas favorables (climas cálidos), que permiten una elevada biodegradabilidad, lo que representa una ventaja técnica y económica, importante, ya que en estos procesos hay una alta reducción de la materia orgánica, menor producción de lodos digeridos, menores requerimientos de área comparados con otros métodos, con generación de subproductos altamente energéticos como el CH₄ contenido en el biogás; adicionalmente, presentan un bajo o nulo requerimiento de insumos químicos, dadas las condiciones adecuadas de pH, alcalinidad y de nutrientes.

En general, a temperaturas entre 20 y 45°C se alcanzan eficiencias de reducción de DQO en lixiviados entre el 70 % al 80 % [1] y dependiendo de la edad del lixiviado y la relación DBO₅/DQO se puede cuantificar el índice de Biodegradabilidad que es la capacidad que tiene un grupo de microorganismos de descomponer una sustancia compleja en sustancias más simples; también la alta presencia de ácidos húmicos y fúlvicos indican baja capacidad de biodegradabilidad; esto debido a la liberación de las grandes moléculas orgánicas recalcitrantes en los residuos sólidos. En consecuencia los lixiviados maduros se caracterizan por la baja relación de DBO₅/DQO originada y muy altos contenidos de sales disueltas, en particular de cloruros, sodio, carbonatos y amonio [3].

Pese a la antigüedad de los filtros anaeróbicos de flujo ascendente y otros reactores anaeróbicos y dada la baja biodegradabilidad de los lixiviados, los reactores han recibido poca atención en nuestro medio, especialmente por las limitaciones operativas, como la acidificación asociada a problemas de olores, el atascamiento de sólidos y/o material orgánico y la baja velocidad de la hidrólisis, consideradas como limitantes de la eficiencia en la remoción materia orgánica en reactores anaeróbicos; además la fase No Metanogénica puede desarrollar los bioprocesos de fermentación, formación de hidrógeno y ácido acético a una velocidad mucho mayor que la formación del

CH₄, problemática que se ha venido estudiando y correlacionando con el fin de disminuir los tiempos de biodegradación, acelerar y aumentar la eficiencia del tratamiento.

Por lo anterior, Cohen [4] y Romero [5] han recomendado separar la hidrólisis y formación de ácidos grasos de la fermentación metanogénica a fin de mejorar la eficiencia de estos procesos de tratamiento, de los cuales no se conocen criterios específicos de diseño.

Por lo antes mencionado, este estudio propuso separar la fase metanogénica de las fases no metanogénica (hidrolítica – acidogénica y acetogénica) en el proceso de biodegradación de la materia orgánica, empleando filtros anaerobios de flujo ascendente separados en dos fases (DI-FAFS), trabajo que obtuvo una relación de alturas de DI-FAFS (fase acida/metanogénica), que determina igualmente la relación de volúmenes de las fases ídem.

2. Metodología

Esta investigación se realizó ejecutando las siguientes actividades cuya metodología se detallan a continuación.

Caracterización de los lixiviados. A muestras de lixiviados del relleno sanitario Los Guayabales de Cúcuta durante 12 días en el mes de marzo de 2014 se le valoraron parámetros como pH, DQO, DBO5, ST, SST, SSV, Conductividad, Turbiedad, Cloruros, Dureza Total, Alcalinidad Total, N, NH₃, Nitritos, Fosfatos, Sulfatos, Metales pesados, Grasas – Aceites y Coliformes (totales y fecales).

Actividad Metanogénica específica (AME). A cuatro lodos se les midió la AME siguiendo la metodología indicada por Jim Field [6] y aplicada por Maldonado [7], procedentes de las PTAR de Rio Frio, Campollo, Macpollo y estiércol fresco de cerdo, determinando en todos la cantidad de SST, SSV y la relación SSV/SST mediante análisis estándar [8].

Diseño y construcción de reactores DI-FAFS. Se diseñaron y construyeron las unidades de pre y tratamiento:

Unidades de pretratamiento: Se diseñaron y construyeron las unidades de pretratamiento para los nueve DI-FAFS, para retener las partículas que puedan generar obstrucciones; se dispuso de dos trampas de grasas paralelo como unidades de tratamiento preliminar para remover grasas y aceites, cada una con un largo de 0.16 m, 0.04 m de ancho y una profundidad de 0.08 m, volumen de 0.512 litros y TRH = 0.43 horas y un sedimentador primario de 0.32 m de largo, 0.16 m de ancho y una profundidad de 0.08 m, volumen de 4,096 litros y TRH = 1,73 horas, para un tiempo total de pretratamiento: 2.16 horas.

2.1. Dimensionamiento y Construcción DI-FAFS.

El DI-FAFS es un filtro anaerobio de flujo ascendente de fases separadas diseñado para biodegradar materia orgánica bajo condiciones anaerobias en fases ídem. En esta investigación se planteó separar la fase no metanogénica (Hidrolisis + Acidogénesis + Acetogénesis) en un volumen V_1 en el sentido del flujo y la fase Metanogénica en un volumen (V_2), siendo el volumen total (V_{total}) = $V_1 + V_2$.

Zonas de entrada en cada DI-FAFS: Se dispuso de un falso fondo PVC con un $\Phi = 2 + 1/2''$, una altura de 0.25 m y un volumen de 0.77 litros, sin relleno, con dos racores $\Phi = 3/8$, el primero ubicado en la parte inferior por donde ingresa el lixiviado pretratado e impulsado por bombas peristálticas y el segundo ubicado en la parte lateral que funciona como un salida de purga de lodos generados en el pretratamiento.

Cuerpo de los DI-FAFS: Se diseñaron y construyeron nueve reactores DI-FAFS con tubería de PVC presión (200 PSI) y $\Phi = 2 + 1/2''$ (Figura 1), en tres series, con alturas porcentualmente variables, según la relación entre la altura de la fase metanogénica/fase metanogénica de 80%/20%; 50%/50% y 20%/80%, teniendo como condición que la sumatoria de las dos alturas de las fases en cada reactor debe ser de 1.20 m, altura estándar para filtros anaerobios de flujo ascendente (FAFA) de fase única tomando como base, con un tiempo



Figura 1: Montaje general las tres series de DI-FAFS.

de retención de $18 \pm 0,5$ horas y un caudal de 3.5 ml/min, para volumen total de 4.11 litros.



Figura 2: Medio de soporte de los DI-FAFS.

Las Tabla 1 y 2 muestran las dimensiones de las alturas para cada una de las fases de los DI-FAFS, que se rellenaron utilizando como material soporte, trozos de tubería de CPVC $\Phi = 1/2''$; $L = 1,0\text{cm}$ como se muestra en la Figura 2.

Zona de salida y sistema de recolección de

Tabla 1: Dimensiones de las unidades de pretratamiento

Unidad	C (L/h)	L (m)	A (m)	P (m)	V Litros	TRH horas
Trampa de grasas	1,1825	0,16	0,04	0,08	0,512	0,43
Sedimentador	2,365	0,32	0,16	0,08	4,096	1,73
Tiempo total						2,16

Notación: C: caudal, L: Longitud, A: ancho, P: profundidad útil, V: Volumen

Tabla 2: Dimensiones de los DI-FAFS

Volumen Fase	Dimensiones de los DI-FAFS			Diámetro (m)
	DI-FAFS (1) Altura (m)	DI-FAFS (2) Altura (m)	DI-FAFS (3) Altura (m)	
Acida (Hidrolisis-Acidogenesis- acetogenesis)	0,24	0,60	0,96	0,0635
Metanogénesis	0,96	0,60	0,24	0,0635

gases: La zona de salida del efluente se realiza en cada una de las nueve fase metanogénicas, por medio de un racor de bronce ubicado en la parte superior del filtro, conectado a una manguera plástica de $\Phi = 1/4''$ que entrega la mezcla (líquido – gas) a un separador de fases, donde el efluente tratado sale por otro racor ubicado en la zona lateral media y el gas sale por otro racor localizado en la parte superior, y por una manguera es conducido a un filtro de hierro (fibras finas de acero-hierro) donde se remueve el H_2S , para ser finalmente introducida en un recipiente con una solución alcalina 0.1N que remueve el CO_2 y donde el CH_4 desplaza el volumen de NaOH según producción.

Inoculación y Adaptación. Construidas los reactores y conociendo el lodo de mejor AME, con él se inocularon los DI-FAFS agregando un volumen de lodo equivalente al 30% del volumen de cada fase y se inició la formación de biopelícula adherida al soporte, recirculando 8 días agua residual municipal doméstica ARD (DQO: 250–800 mg/L).

Aclimatación. Se procedió a suministrar una mezcla volumétrica de ARD y Lixiviados que se reducía cada 24 hora el volumen del ARD en un

5 % y se incrementaba el volumen de lixiviados en el mismo porcentaje, lixiviados diluidos con concentraciones constantes en cada una de las tres series de los DI-FAFS así: Serie baja: 1700 mg/L; Serie 2 media 2600 mg/L y Serie 3, alta 3500 mg DQO/L.

Tabla 3: Porcentaje de volúmenes de los DI-FAFS por fase y serie

FASES	Series 1 – 2 – 3		
	DI-FAFS (1)	DI-FAFS (2)	DI-FAFS (3)
Hidrolisis + Acidogénesis + Acetogénesis	$V_1=20\%*V_t$	$V_1=50\%*V_t$	$V_1=80\%*V_t$
Metanogénesis	$V_2=80\%*V_t$	$V_2=50\%*V_t$	$V_2=20\%*V_t$

$V_t=Volumen\ Total = V_1+V_2$

La Tabla 3 detalla los porcentajes volumétricos de la mezcla de ARD y lixiviados aplicado en los 20 días de aclimatación, de acuerdo a las concentraciones de DQO indicados anteriormente en cada serie, precisando que diariamente se prepararon 36 litros del agua mezclada, hasta aplicar finalmente en todos los reactores solo lixiviado.

Arranque. Se inició el tratamiento de los lixiviados con una temperatura constante de 20°C (en todas series) y con Cargas Orgánicas Volumétricas (COV) variables en cada una de ellas así; Serie 1 COV baja de 1,80, Serie 2 COV media de 2.76 y Serie 3 COV alta de 3,71 DQO kg/m³– día.

El sistema de alimentación siempre se mantuvo mezclado por medio de un sistema de agitación construido con un moto–reductor eléctrico que inicialmente agitaba la mezcla del lixiviado + ARD y finalmente la de solo los lixiviados, depositados en los tanques de almacenamiento del sistema, mientras que la temperatura fue controlada mediante el montaje de un controlador digital que se construyó e instaló.

Diseño Experimental. Es de tipo factorial 33, siendo las variables independientes la temperatura, la carga orgánica volumétrica y el volumen del reactor; por lo tanto cada variable tiene tres niveles cuantitativos fijos, lo que conlleva al diseño y construcción de tres series con tres DI-FAFS cada una, como se indica en la Tabla 3, por fase y serie

Una vez logradas la condiciones estables en cada carga, se incrementó la temperatura a la media de 27°C y posteriormente a la alta de 34°C, monitoreando siempre las concentraciones del DQO afluente y efluente en todos los DI-FAFS, proceso que demandó monitoreo por cien días y un periodo total de investigación discontinua de dos años.

2.2. Aislamiento e Identificación presuntiva de microorganismos metanogénicos

Trabajo microbiológico complementario que se desarrolló en el laboratorio de investigación GIMBIO de la Universidad de Pamplona, utilizando como medios selectivos utilizados por microorganismos como fuente de energía para su crecimiento y metabolismo

2.3. Procesamiento Estadístico de Resultados

Aquí se empleó la metodología de superficies de respuesta (MSR), por ser una estrategia experimental y de análisis matemático y estadístico que permitió encontrar las condiciones óptimas de operación de los DI-FAFS. La condición del proceso corresponde a aquellos factores o variables cualitativas o cuantitativas que producen un efecto en la variable respuesta que corresponde a una cantidad medible cuyo valor se ve afectado al cambiar los niveles de los factores y cuyo objetivo es optimizar dicha variable.

3. Análisis y discusión de resultados

La Tabla 4 presenta los resultados de la caracterización del lixiviado utilizado como sustrato, con las concentraciones promedio y valores máximos y mínimos de los parámetros determinados en las seis (6) muestras analizadas.

La variación de pH entre muestras es poca, tiene condiciones ligeramente básicas que pueden ser un factor de inhibición durante el tratamiento. Según Nájera et.al. [9] los valores de pH y la alcalinidad corresponden a un lixiviado tipo 3 o intermedio, siendo bajas las concentración de materia orgánica tanto en términos de DQO, como de DBO₅, lo ubican dentro de los rangos típicos para un lixiviado de vertedero nuevo según Salgado y Trujillo [10],

Tabla 4: Caracterización de lixiviados relleno sanitario Los Guayabales

Parámetro	Unidad	Promedio	Valor Mínimo	Valor Máximo	Desviación
pH		8,47	8,29	8,60	0,14
DQO	mg/L O ₂	9438,33	6440,00	12100,00	2424,66
DBO5	mg/L O ₂	2925,00	2200,00	4500,00	1125,94
ST	mg/L	13562,92	12930,00	14320,00	574,92
SST	mg/L	1015,83	670,00	1420,00	339,48
SSV	mg/l	5337,08	4860,00	5840,00	333,01
Conductividad	ms/cm	21,43	20,60	22,30	0,70
Turbiedad NTU	UNT	695,88	510,40	1051,20	215,08
Cloruros	mg/L Cl-	2147,86	746,28	3455,00	1201,82
Dureza Total	mg/L CaCO ₃	2142,39	1128,40	3210,00	829,61
Alcalinidad Total	mg/L CaCO ₃	9736,81	8942,00	10730,40	730,79
N - NH ₃	mg/L NH ₃	33,33	20,00	60,00	15,06
Nitritos	mg/L NO ₂	1,95	0,22	3,70	1,39
Fosfatos	mg/L PO ₄	284,50	132,00	437,00	114,06
Sulfatos	mg/L SO ₄	200,00	190,00	210,00	14,14
Cobre	mg/L Cu	0,51	0,06	1,04	0,45
Plomo	mg/L Pb	0,59	0,10	1,21	0,44
Cromo	mg/L Cr	0,76	0,54	0,94	0,18
Zinc	mg/L Zn	0,58	0,05	1,02	0,41
Manganeso	mg/L Mn	0,87	0,26	1,77	0,63
Hierro total	mg/L Fe	20,19	18,45	21,53	1,27
Potasio	mg/L K	2381,00	309,00	3208,00	1123,00
Sodio	mg/L Na	1056,87	808,40	1227,80	172,04
Calcio	mg/L Ca	182,42	156,14	223,20	30,74
Magnesio	mg/L Mg	220,39	172,18	251,60	75,11
Grasas y Aceites	mg/L	8,00	5,00	9,50	1,76
Coliformes Totales	NMP/ 100 ml	2150,00	500,00	3000,00	1029,08
Coliformes Fecales	NMP/ 100 ml	1300,00	300,00	3000,00	1033,44

pero por el funcionamiento del relleno se puede describir que presenta una mezcla de lixiviados provenientes de celdas jóvenes e intermedias, ya que el relleno sanitario Los Guayabales tiene alrededor de 10 años de operación.

El índice de biodegradabilidad es bajo de solo 0,35 y según Luo et.al. [11] registros entre 0,1 - 0,5 considera que el lixiviado es de tipo intermedio con un índice de biodegradabilidad media. Además reportó baja concentración de metales, con presencia de materiales orgánicos recalcitrantes que son parcialmente estables y biológicamente resistentes.

La Tabla 5 muestra las concentraciones de metales pesados encontrados en caracterizaciones de lixiviados de diferentes rellenos sanitarios del mundo reportados por [12, 13, 9, 14, 15] y los reportes de la caracterización hecha en 2014 a los lixiviados del Relleno Sanitario Los Guayabales de Cúcuta, donde se encontraron las concentraciones del plomo, cromo, hierro en valores intermedios; mientras que los valores para zinc, potasio y sodio se encuentran por

Tabla 5: Presencia de metales pesados en cinco lixiviados de rellenos sanitarios diferentes

Parámetro	Unidad	(Estudio Actual) Relleno Sanitario Guayabales, Cúcuta, 2014.	Vertedero de Guanabacoa, la Habana 2014	Relleno Sanitario Doña Juana, 2011	Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México 2008.	Relleno Sanitario Mérida; Yucatán, México 2002-2003.	Relleno Sanitario el Carrasco, Santander, Colombia. 2001.
Cobre	mg/L Cu	0,51	1,4	0,067	0,19	0,214	0,16
Plomo	mg/L Pb	0,59	0,71	0,23	1,851	0,236	ND
Cromo	mg/L Cr	0,76	0,12	ND	0,827	6,98	0,79
Zinc	mg/L Zn	0,58	6,2	0,59	3,425	3,2	4
Manganeso	mg/L Mn	0,87	ND	0,17	ND	0,81	ND
Hierro total	mg/L Fe	20,19	ND	17,73	21,159	64,05	312,5
Potasio	mg/L K	2381	ND	ND	ND	10252	ND
Sodio	mg/L Na	1056,87	ND	ND	ND	11850	ND
Calcio	mg/L Ca	182,42	ND	ND	ND	ND	ND
Magnesio	mg/L Mg	220,39	ND	ND	ND	ND	ND

debajo de los rangos encontrados; y el manganeso ligeramente por encima de estos valores medios, aclarándose que los análisis de calcio y magnesio no se pudieron comprar.

Torres et al. [1] indica el rango de los valores de los ST para los lixiviados jóvenes, intermedios y maduros, que comparados con los datos del RS los Guayabales clasifican a éste lixiviado como de tipo Intermedio es decir para RS con una edad entre 5–10 años.

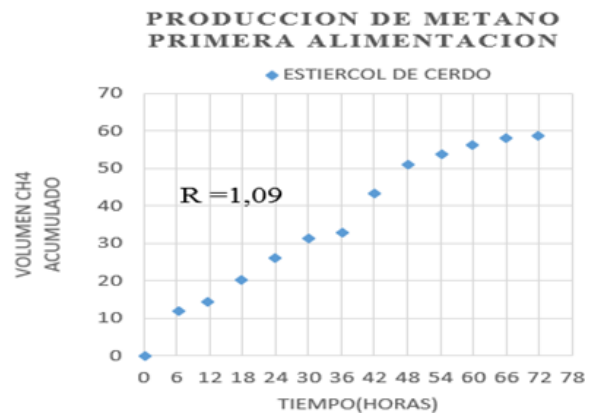


Figura 3: Producción de metano AME1 – Estiércol de cerdo.

Tabla 6: Caracterización de lodos

LODO	SSV mg/L	SST mg/L	SSV/SST mg/L
MACPOLLO	18659	28750	0,65
CAMPOLLO	18150	33350	0,54
PTAR RIO FRIO	14800	24600	0,60
ESTIERCOL CERDO	14550	18590	0,78

Tabla 7: Valores para Ensayo de AME

LODO	AME 1	AME 2	ITEAA	IOAA	2 ITEAA	IOAA < 2 ITEAA	ESTADO
PTAR Macpollo	0,04	0,06	4,70	0,70	9,40	SI	Crecimiento
PTAR Campollo	0,04	0,06	4,70	0,54	9,40	SI	Crecimiento
PTAR Rio Frio	0,04	0,09	4,73	0,97	9,47	SI	Crecimiento
Estiércol de Cerdo	0,05	0,04	4,03	0,22	8,06	SI	Crecimiento

Se caracterizó y se realizó el ensayo de AME para cuatro lodos donde se obtuvieron los resultados indicados en la Tabla 6. La relación de SSV con respecto a SST indica que la biomasa presente en los lodos es alta, que permite buenos rendimientos en la biodegradabilidad de sustratos orgánicos y producción de metano, siendo el estiércol de cerdo el que reportó la mayor SSV/SST = 0,78. La Tabla 7 muestra los resultados de la medición de la AME donde se observa en todos los lodos que la AME se debe a crecimiento bacteriano, siendo la AME 1 la que se debe seleccionar y es el estiércol de cerdo el que reportó la mayor (AME1= 0.05). La Figura 3 detalla la producción de CH₄ durante la medición de la AME1 del estiércol de cerdo.

Los resultados anteriores permitieron seleccionar el estiércol de cerdo como lodo inóculo de los DI-FAFS por ser el que registró mejor AME1, inoculando cada DI-FAFS con un 30 % del volumen en cada una de sus fases. Ver figura 4.

Hecha la inoculación se hizo recircular agua residual con contracciones desde 250 mg/L hasta 800 mg/L de DQO; posteriormente se aclimataron los DI-FAFS mediante la alimentación con una mezcla de agua residual y lixiviados cuyo porcentaje de éstos últimos se fue incrementando en el tiempo, mientras que el porcentaje volumétrico del agua residual se disminuyeron, verificando la concentración del lixiviado mediante ensayos de DQO simultáneos.

Aclimatados los DI-FAFS se inició el tratamiento de lixiviados de manera simultánea con diferentes COV simultáneamente en cada serie y una temperatura inicial de 20°C (baja), que se incrementó a 27°C y por último a 34°C a medida que se lograban condiciones de estado estable, que se media teniendo como variable de control la eficiencia en remoción de la materia orgánica en términos de DQO.

Tabla 8: Eficiencias en los DI-FAFS

T°C	COV								
	3,71			2,76			1,80		
	DI-FAFS 1 EF%	DI-AFS 2 EF%	DI-FAFS 3 EF%	DI-FAFS 1 EF%	DI-FAFS 2 EF%	DI-FAFS 3 EF%	DI-FAFS 1 EF%	DI-FAFS 2 EF%	DI-FAFS 3 EF%
	80-20	50-50	20-80	80-20	50-50	20-80	80-20	50-50	20-80
20	27,50	37,50	48,75	40,38	42,31	44,23	31,25	43,75	37,50
27	41,73	53,30	66,45	55,77	63,25	70,00	46,40	52,00	60,45
34	59,42	63,77	65,22	62,26	64,15	72,86	52,94	59,45	68,57

Los resultados en cuanto a eficiencias en cuanto a la remoción de materia orgánica como mg DQO/l en cada DI-FAFS, en las diferentes condiciones de volúmenes, cargas y temperaturas de operación se muestran en la Tabla 8; observándose que las mayores eficiencias se obtuvieron cuando se aplicaron COV entre media y alta, operados entre 27°C y 34°C y con volúmenes no metanogénicos de medios a bajos (20 %Vt - 50 %Vt) y volúmenes metanogénicos de medios a altos (50 %Vt - 80 %Vt), lo que guarda relación con los tiempos de duplicación de los grupos bacterias presentes en cada fase.

La identificación de microorganismos metanogénicos se realizó mediante aislamiento presuntivo con medios selectivos y según características macroscópicas y microscópicas de los microorganismos obtenidos en los bioreactor de flujo ascendente de dos fases (DI-FAFS); los aislados en Barker-Taha (MB) evidenciaron que los crecimientos reportados eran de bacterias con características compatibles con la *Methanobacterium* spp., porque las colonias que crecieron fueron redondas, grandes, pegajosas, brillantes, que toman el color del medio café-traslucidas y la verificación morfológica se dió mediante coloración de Gram. En la Figura 4 con Tinción Gram se visualizan las cepas aisladas, donde en A y B se presenta las colonias obtenidas en el agar MB.

Las características macroscópicas de las colonias obtenidas en el agar Stadtman-Barker (MC) para *Methanococcus* spp mostraron la presencia de colonias puntiformes, pequeñas de color azul, en tinción Gram cocos, diplococos disformes Gram (-) como se muestra en la Figura 4 de Tinción Gram para las cepas aisladas; donde las

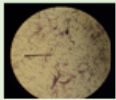
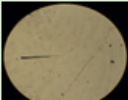


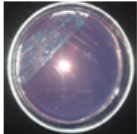
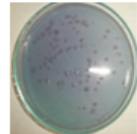
	MEDIO MB	MEDIO MC
1 Muestreo	Bacilos Gram(+) 	Cocos Gram(-) 
2 Muestreo	Bacilos Gram(+)	Diplococos Gram(-)
3 Muestreo	Bacilos Gram(+)	Cocos Gram(-)
	A  B 	C  D 

Figura 4: Tinción Gram para las cepas aisladas y cultivos

C y D corresponden a las colonias obtenidas en el agar MC.

	BACTERIAS TOTALES	SPS
1 MUESTREO	Coco Bacilos Gram(-)	Bacilos esporulados Gram(+)
	E 	G 
	F 	H 

Figura 5: Tinción Gram para cepas aisladas totales, mesófilos anaerobios y sus cultivos

En la prueba de aislamiento e identificación presuntiva de anaerobios totales y mesófilos totales, se utilizó un medio para bacterias totales y el aislamiento de las colonias se realizó en agar nutritivo más glucosa con una posterior tinción de Gram para la diferenciación bacteriana. Características microscópicas: Coco bacilos Gram-negativos; Características macroscópicas: Colonias amarillas claras, pequeñas, brillantes y cremosas, de bordes lisos y convexas (Ver Figura 5 E-F-G-H).

Para los anaerobios mesófilos totales se evidenció crecimiento de colonias en agar SPS, de color negro, anaerobias, con producción de gas, seca y opaca, que correspondía presuntivamente a *Clostridium* spp considerado como un patógeno humano; el aislamiento de las colonias se realizó en agar nutritivo más glucosa con posterior tinción de Gram para la diferenciación bacteriana (Ver Figura 5 E-F-G-H), microorganismos ampliamente distribuidos en el medio ambiente, que se puede encontrar como un componente normal de la vegetación en descomposición, sedimentos marinos, tracto intestinal de los seres humanos y otros vertebrados, y el suelo; las esporas del microorganismo persisten en el suelo, sedimentos y las zonas con contaminación fecal humana o animal, siendo muy resistentes al calor, puesto que han reportado que pueden sobrevivir a la ebullición durante varias horas; en general los *Clostridium* spp puede crecer a temperaturas entre 15–50°C, y valores de pH entre 5.0–8.0.

El uso del medio selectivo y de enriquecimientos entre medios líquidos y sólidos, resultado efectivo para el aislamiento de bacterias utilizadoras de formato, metanol, metal-aminas o acetato, obteniendo al final del proceso de aislamiento en medios selectivos, dos bacterias morfológicamente distintas, un bacilo Gram+ y un coco Gram+.

Para las pruebas bioquímicas confirmativas realizadas para las bacterias, contrastadas con las bioquímicas teóricas tomada de una cepa de referencia *Methanococcus deltae* (ATCC) # 35294 y *Methanobacterium ruminantium* (ATCC) # 35063; según los resultados del aislamiento hecho a las muestras de los DI-FAFS en estudio, se aplicó un porcentaje de afinidad contrastando los resultados prácticos con los teóricos, de donde se obtuvo una relación en cuanto al resultado para *Methanobacterium* spp del 88.8 % que corresponde a una alta tasa de identificación de este género, de igual manera para *Methanococcus* spp se obtuvo un porcentaje de afinidad del 77.7 % lo que indica que probablemente se encuentra ese microorganismo, siendo necesario aplicar más adelante pruebas de identificación más específicas, para así establecer con exactitud la caracterización de los microorganismos.

Las pruebas de motilidad RM/VP (+/-) y H₂S negativas, asociadas a la estricta anaerobiosis y a la incapacidad para reducir nitratos, aportaron las primeras señales bioquímicas a la posible identificación de las cepas aisladas como bacterias celulíticas ruminales anaerobias totales que comparando los patrones de fermentación de carbohidratos se observaron que las características bioquímicas de la cepa corresponden a la ya reportada bacteria *Ruminococcus aslbus*.

Las cepas aisladas en este estudio, se compararon con los patrones de clasificación establecidos por el Laboratorio de Referencia para Anaerobios, para lo cual la morfología aislada en el medio AT arrojó un porcentaje de afinidad del 88,8 % mostrando una alta tasa de identificación y por consiguiente para el medio SPS la bacteria aislada para este caso evidenció un alto porcentaje plenamente identificable con la cepa *Clostridium* spp, mostrando una afinidad del 100 % por la misma, pero aclarando que fueron necesarios estudios posteriores de identificación para ambos microorganismos aislados con el fin de verificar su identificación con más exactitud.

Para medir la producción de CH₄ se realizó primero la cuantificación de la población microbiana presente en cada punto, para tener valor de la biota metanogénica presente en cada sitio de muestreo, obteniéndose en biodigestor 1, punto de muestreo 1 o (V_1P_1) = 23×10^3 UFC/ml de sustrato; en el V_2P_1 = 12×10^3 UFC/ml de sustrato y en el V_3P_1 = 85×10^1 UFC/ml de sustrato y luego se procedió a medir la capacidad metabólica de los microorganismos para producir metano, verificando el aumento del volumen desplazado del KOH en las probetas, que es directamente proporcional al gas producido por los microorganismos aislados en este caso de los *Methanococcus* spp y *Methanobacterium* spp.

La medición de la producción metabólica de gas metano, se le realizó a los inóculos provenientes de los 9 puntos de muestreo de cada bioreactor fase metanogénica y mediante el armado, disposición y uso de los elementos que componían el sistema de medición de producción de metano conformado por 9 tubos \times 150 mm con desprendimiento lateral, tapones de algodón con parafina, mangueras en

látex de 20 cm y beaker de 50 ml más los tubos de centrifugación de 13 ml, muestras que se depositaron en los tubos que contenían una solución A (0.1 % NH₄Cl, 0.04 % K₂HPO₄, 0.01 % MgCl₂, 2 % acetato de calcio, y 1 % metanol, pH 7.0), luego se sumergieron los Tubo II en solución de 0.1N KOH, para recoger el CH₄ producido y por desplazamiento de la solución que se midió a diferentes temperaturas en cada muestra (20, 27 y 34°C), realizándoles seguimiento durante 8 días continuos.

Se observó que tanto la actividad biológica y la producción de gas aumenta con la temperatura; por lo que al no generarse calor en el proceso, la temperatura deberá ser lograda y mantenida mediante energía exterior, teniendo mucho cuidado con la mayor sensibilidad que presentan las bacterias termofílicas a las pequeñas variaciones de temperatura, ya que éstas bacterias intervinientes pertenecen a la fase metanogénica, comienzan a optimizar el funcionamiento como tal a medida que sube la temperatura y a producir biogás; no obstante cabe aclarar que dicha formación de metano se da a una baja tasa de producción.



Figura 6: Producción microbiológica de metano a 20°C.



Figura 7: Producción microbiológica de metano a 27°C.

Las Figuras 6, 7 y 8 muestran la producción de CH₄ a diferentes temperaturas y en ellas se determina que la menor producción de metano

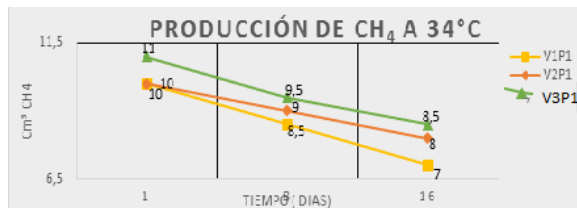


Figura 8: Producción microbiológica de metano a 34°C.

está relacionada con bajas temperaturas, esto teniendo en cuenta que la población microbiana metanogénica presente en el sistema productora de gas metano son de índole mesófilas, en la que su actividad metabólica comienza alrededor de 27°C alcanzando la temperatura óptima a los 34°C.

Aquí para mejorar la remoción de la materia orgánica y por ende la producción de biogás (metano) en el reactor anaerobio se trató de operar con una temperatura de 34°C (temperatura óptima para la reacción anaerobia) arrojando valores más significativos que indica que la variación con relación a las 2 primeras temperaturas 20°C y 27°C se explica debido a que se realizó bajo condiciones donde la población metanógena presente metabólicamente no estaba completamente activa, siendo la temperatura un factor determinante para la producción de metano, factor determinante en el arranque del sistema como tal.

Existen varios mecanismos mediante los cuales se puede describir la oxidación de la materia orgánica en un consorcio microbiano; siendo cuatro las etapas que ya están bien definidas, de reacción de acuerdo con los microorganismos presentes en el sistema, dándole a la etapa de la metanogénesis la mayor relevancia por ser la más prolongada en el tiempo y donde ocurren los cambios más notables de transformación.

Inicialmente se puede establecer según los datos obtenidos, un crecimiento lento de *Methanobacterium spp* analizado bajo esta condición de temperatura, mostrando así su mejor actividad metabólica es transcurrida las 24 horas, con una población inicial de $4,07 \times 10^9$ una tasa máxima de crecimiento de $1,7 \times 10^7$ UFC/ml, y con una población final de $5,6 \times 10^9$ UFC/ml, lo que muestra que el factor temperatura es un límite donde las

proteínas y ácidos nucleicos se pueden inactivar de manera reversible, y por ende a más bajas temperaturas este tipo de microorganismos limitan su crecimiento.

Para cada microorganismo existe una temperatura mínima por debajo de la cual no tiene lugar la proliferación o éste manifiesta en un crecimiento retardado como sucede este caso con la temperatura de 20°C, factor que influye en el desarrollo metabólico, haciendo de este sea un proceso aletargado; inicialmente se partió de una población inicial de $4,1 \times 10^9$ UFC/ml, manifestando una tasa de crecimiento de $1,8 \times 10^8$ UFC/ml y una población final de $4,1 \times 10^9$ UFC/ml de acuerdo a los valores anteriores, porque esta bacteria tuvo un comportamiento poco significativo, mostrando el mayor punto de desarrollo metabólico en un periodo de incubación de 24 horas con referencia al crecimiento de *Methanobacterium spp*; este comportamiento sugiere que los organismos no estaban trabajando a temperatura óptima.

A medida que la temperatura aumenta a 27°C, se incrementan como también las reacciones enzimáticas y la tasa de reproducción, por lo que al emplear una temperatura cercana a su punto óptimo de crecimiento estas bacterias aceleran su metabolismo y la curva de crecimiento traza un comportamiento más simoidal; partiendo de una población inicial de $5,3 \times 10^9$ UFC/ml, con una tasa máxima de crecimiento en su fase exponencial de 9×10^9 UFC/ml llegando a una población final de $5,8 \times 10^9$, demostrando que ya la bacteria en estudio comienza a favorecerse para la proliferación debido a que comienza la actividad metabólica ya un poco más acelerada, con una mayor proliferación que *Methanobacterium spp* partiendo con una población inicial de $5,4 \times 10^{10}$, mostrando una tasa máxima de crecimiento de $1,5 \times 10^8$ y llegando a una población final de $6,0 \times 10^9$, que coloca al *Methanococcus spp* en mejores términos de adaptación y crecimiento en estos procesos anaerobios como mejor alternativa en la fase Metanogénica.

Aun cuando la biota anaerobia puede crecer en un amplio rango de temperaturas, en este estudio se ha realizado la cinética a tres valores de temperaturas diferentes dentro del rango mesófilo;

como se sabe, ésta es una de las variables ambientales primordiales, ya que dicta los límites de viabilidad del proceso pues afecta a todos los microorganismos de manera diferente llegando incluso a lesionar la integridad celular de la población microbiana.

Experimentalmente observó además, que la actividad del consorcio bacteriano a 34°C está en el punto óptimo de crecimiento; no obstante, el comportamiento es en general el más activo de las cinéticas aquí analizadas, ya que pese a haber mostrado en pocos días de actividad, la cantidad poblacional de microorganismos resultaron ser las más importantes de todos los ensayos realizados, llegando a ser al final de 14×10^4 UFC/ml, demostrando un nivel efectivo de este microorganismo en la fase metanogénica que conlleva a una muy buena biodegradación de la materia al interior de este tipo de procesos.

Los efectos de la temperatura mesofílica para el proceso cinético durante la fase metabólicas referente al crecimiento de dichos consorcios microbianos experimentados a temperaturas comprendidas entre 27°C y 34°C, muestran una alta tasa de crecimiento poblacional en comparación con los operados a temperaturas bajas de 20°C, donde muestran una tendencia en cuanto a la multiplicación de este tipo de microorganismos bastante lenta, concluyéndose que tanto la temperatura como las condiciones estrictas de anaerobiosis, juegan un papel fundamental en este tipo de bacterias, en cuanto a la activación metabólica de estos se refiere, haciendo de la temperatura una de las variables más eficaz para tener en cuenta en este tipo de procesos anaerobios, si se quiere conseguir una producción óptima de la biomasa.

Antes de incorporar modelos de crecimiento microbiano en evaluaciones cuantitativas se debe considerar la validez de las investigaciones, ya que no todos los modelos están validados bajo condiciones reales, por lo que resultaría incorrecto suponer que las predicciones del modelo son correctas, si los puntos estimados son reemplazados por distribuciones de probabilidad en los parámetros que constituyen las variables de entrada del modelo.

El procesamiento estadístico en esta investi-

gación se realizó aplicando la metodología de superficies de respuesta (MSR) como estrategia experimental y de análisis matemático y estadístico, que permitió encontrar las condiciones óptimas de operación de los DI-FAFS, donde la variable dependiente fue la eficiencia (variable cuantitativa) y los factores fueron tres: la temperatura con tres niveles (20, 27, 34°C); la distribución volumétrica de los reactores con tres niveles (20, 50, 80 %) y la carga COV aplicada, con niveles factoriales de 1.80, 2.76 y 3,71 kg DQO/m³-dia.

Tabla 9: Resumen las variables estadísticas descriptivas

Design Summary											
File Version 9.0.6.2											
Study Type Response Surface											
Design Type Central Composite											
Design Mode Quadratic											
Factor	Name	Units	Type	Subtype	Minimum	Maximum	Coded Values	Mean	Std. Dev.		
A	Temperatura	°cent	Numeric	Continuous	20	34	-1.000+20	1.000+34	27	5.82435	
B	COV	Kg/m ³ dia	Numeric	Continuous	1.8	3.71	-1.000+1.8	1.000+3.71	2.75667	0.794612	
C	Volumen	%	Numeric	Continuous	20	80	-1.000+20	1.000+80	50	24.9615	
Response	Name	Units	Obs	Analysis	Minimum	Maximum	Mean	Std. Dev.	Ratio	Trans	Model
R1	Eficiencia	%	27	Polynomial	27.5	72.86	53.0059	12.5004	2.64945	None	Quadratic

Tabla 10: Valores infladores de la varianza

Term	StdErr1	VIF	Ri-Squared	Power at 5% alpha level to detect signal/noise ratios of		
				0.5 Std. Dev.	1 Std. Dev.	2 Std. Dev.
A	0.24	1.00	0.0000	17.0 %	51.6 %	97.9 %
B	0.24	1.00	0.0000	17.0 %	51.6 %	97.9 %
C	0.24	1.00	0.0000	17.0 %	51.6 %	97.9 %
AB	0.29	1.00	0.0000	12.9 %	37.3 %	90.4 %
AC	0.29	1.00	0.0000	12.9 %	37.3 %	90.4 %
BC	0.29	1.00	0.0000	12.9 %	37.3 %	90.4 %
A ²	0.41	1.00	0.0000	21.2 %	63.7 %	99.6 %
B ²	0.41	1.00	0.0000	21.2 %	63.7 %	99.6 %
C ²	0.41	1.00	0.0000	21.2 %	63.7 %	99.6 %

La Tabla 9 presenta el resumen de las variables empleadas en el análisis estadístico desarrollado a través del software Design Expert que genera una matriz de diseño, que evalúa las superficies de respuesta, según la información suministrada en cada factor. En la Tabla 10 se observan los valores obtenidos del VIF a través de design expert, donde los errores estándar son asimilados como un tipo de coeficiente, de tal manera que entre más pequeño y cercanos a uno del coeficiente de correlación entre las variables independientes significa que las variables están más correlacionadas entre sí, así que los VIF deben ser iguales a 1.0 pues cuando son superiores a 10 son motivo

de alarma y los resultados estadísticos serán inútiles, es decir, significa esto que hay problemas de multicolinealidad, pero aquí se muestra la existencia de multicolinealidad, es decir que la variable indendientes presentan comportamiento lineal con los demas factores del diseño.

Tabla 11: Resultados de la regresión

Summary (detailed tables shown below)					
	Sequential	Lack of Fit	Adjusted	Predicted	
Source	p-value	p-value	R-Squared	R-Squared	
Linear	< 0.0001		0.7987	0.7590	
2FI	0.8752		0.7761	0.6503	
<u>Quadratic</u>	<u>0.0012</u>		<u>0.8937</u>	<u>0.7970</u>	<u>Suggested</u>
Cubic	0.1118		0.9309	0.7634	Aliased

La Tabla 11 presenta los resultados de la regresión, lineal, cuadrática y cúbica, donde el mismo software Design Exper sugiere ajustar a un modelo de segundo orden o modelo cuadrático a fin de para calcular la eficiencia óptima con las variables independientes; se observa el valor de R^2 del 89,37 % y un p -valor ($p < 0,05$), indicando que las variables COV, Temperatura y Volumen modifican los valores de la eficiencia. Además, presenta un posible modelo aliado que es el polinomio cúbico.

Tabla 12: Estadísticas resumidas del modelo - Regresión lineal según modelos valorados

Model Summary Statistics						
Source	Std. Dev.	R-Squared	Adjusted R-Squared	Predicted R-Squared	PRESS	
Linear	5.61	0.8219	0.7987	0.7590	979.23	
2FI	5.91	0.8278	0.7761	0.6503	1420.60	
<u>Quadratic</u>	<u>4.08</u>	<u>0.9305</u>	<u>0.8937</u>	<u>0.7970</u>	<u>824.57</u>	<u>Suggested</u>
Cubic	3.29	0.9734	0.9309	0.7634	961.05	Aliased

Model Summary Statistics: Focus on the model maximizing the "Adjusted R-Squared" and the "Predicted R-Squared".

En regresión lineal según de modelos valorados, cuyos resultados se presentan en la Tabla 12 confirman el modelado de las variables a través de un polinomio cuadrático, donde las variables independientes están haciendo variar a la eficiencia en

un 89.37 % y se estima que el R^2 estimado iría a ser de aproximadamente el 79.70 % indicando una alta confiabilidad del modelo que tiene la particularidad que se enfoca en el modelo que minimiza la suma de cuadrados del error predichas "PRESS" con el menor valor y el mayor valor de R^2 ajustado.

Tabla 13: Resultados estadísticos de la ANOVA - Superficie de respuestas del modelo cuadrático

ANOVA for Response Surface Quadratic model					
Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III]					
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p-value
Model	3780.38	9	420.04	25.29	< 0.0001 significant
A-Temperatu	2578.90	1	2578.90	155.26	< 0.0001
B-COV	7.13	1	7.13	0.43	0.5211
C-Volumen	751.92	1	751.92	45.27	< 0.0001
AB	3.21	1	3.21	0.19	0.6659
AC	0.039	1	0.039	2.320E-003	0.9621
BC	20.77	1	20.77	1.25	0.2790
A ²	173.85	1	173.85	10.47	0.0049
B ²	242.40	1	242.40	14.59	0.0014
C ²	0.98	1	0.98	0.059	0.8109
Residual	282.37	17	16.61		
Cor Total	4062.75	26			

Std. Dev.	4.08	R-Squared	0.9305
Mean	53.01	Adj R-Squared	0.8937
C.V. %	7.69	Pred R-Square	0.7970
PRESS	824.57	Adeq Precisor	17.916

La Tabla 13 presenta los valores ANOVA para los datos evaluados en según la superficie de respuestas del modelo cuadrático. Se confirmó que el modelo es significativo con un (p -valor < 5 %) con los factores temperatura, volumen y COV. Individualmente se observó que los factores Temperatura y Volumen son también significativos pero el factor COV no lo es. El R^2 es de 0.8937 y el R de predicción es de 0.7970 un poco menor pero en general se puede afirmar que en el 89.37 % los factores están haciendo variar la eficiencia.

La ecuación en términos de factores codificados se puede utilizar para hacer predicciones sobre la respuesta dando niveles de cada factor. El modelo cuadrático para la investigación es

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} x_i^2 + \sum \sum \beta_{ij} x_i x_j + \epsilon.$$

Reemplazando los factores codificados obtenidos a través del programa Design Expert se tiene que la ecuación para la Eficiencia que permite

Tabla 14: Resultados estadísticos de la ANOVA - Superficie de respuestas del modelo cuadrático

Factor	Coefficient		Standard Error	95% CI		VIF
	Estimate	df		Low	High	
Intercept	61.10	1	2.08	56.72	65.48	
A-Temperatura	11.97	1	0.96	9.94	14.00	1.00
B-COV	0.63	1	0.96	-1.40	2.66	1.00
C-Volumen	6.46	1	0.96	4.44	8.49	1.00
AB	0.52	1	1.18	-1.97	3.00	1.00
AC	0.057	1	1.18	-2.43	2.54	1.00
BC	1.32	1	1.18	-1.17	3.80	1.00
A ²	-5.38	1	1.66	-8.89	-1.87	1.00
B ²	-6.36	1	1.66	-9.87	-2.85	1.00
C ²	-0.40	1	1.66	-3.91	3.11	1.00

realizar predicciones sobre la respuesta dados los niveles de cada factor, donde se obtuvieron los siguientes coeficientes (Tabla 17): término independiente = +61,10; $A = +11,97$; $B = +0,63$; $C = +6,46$; $AB = +0,52$; $AC = +0,057$; $BC = +1,32$; $A^2 = -5,38$; $B^2 = -6,36$; $C^2 = -0,40$, valores que permitió plantear la ecuación

$$E = 61,1 + 11,97T + 0,63COV + 6,46V + 0,52T \times COV + 0,057T \times V + 1,32COV \times V - 5,38T^2 - 6,36COV^2 - 0,40V^2.$$

Con los factores y los valores máximos y mínimos de cada uno de los niveles estudiados, finalmente se realizaron 75 ejecuciones que el mismo programa estadístico hizo para los datos suministrados y las figura 8 y 9 muestran los resultados de la MSR para la eficiencia en relación de la carga COV, Temperatura y Volumen, siendo el valor de la eficiencia teórica máxima del 74 % con un volumen de reactor metanogénico del alto, carga orgánica volumétrica media y una temperatura alta de 34°C.

4. Conclusiones.

Los lixiviados provenientes de Relleno Sanitario RS Los Guayabales de Cúcuta es Tipo 3 (Intermedio), que pueden ser tratados por un sistema biológico anaerobio y los DI-FAFS dada las ventajas técnico-económicas lo convierten en

un sistema viable, siempre que se puedan controlar las variables que influyen en el proceso (COV, temperatura) y el pH entre otros logra remociones QDO > 72 %.

Para los DI-FAFS mediante software estadístico del Método de Superficie de Respuesta se confirmó que a 34°C, con Volumen metanogénico del 80 % y una COV aplicada de 2,9 Kg DQO/m³-día se logra una remoción de 74 %DQO.

En los DI-FAFS se comprobó que a temperaturas mayores a $\geq 27^\circ\text{C}$ pueden lograr eficiencias $\geq 70\%$ en la remoción materia orgánica en términos de DQO.

Se comprobó también que en los DI-FAFS con una COV de 2.76 Kg DQO/m³-día se pueden lograr eficiencias en la remoción de DQO $\geq 70\%$ con volúmenes de las fases No Metanogénicos entre el 70 - 80 % y cuando las fases metanogénicos ocupen volúmenes que oscilen entre el 20 y el 30 % del volumen total del reactor a temperaturas > 20°C.

Se muestras tomadas en los DI-FAFS se aisló una población de bacterias identificadas como *Methanobacterium* spp y *Methanococcus* spp presuntivamente identificada con un porcentaje de confiabilidad del 88.8 % y 77.7 % a partir de las pruebas bioquímicas convencionales utilizadas para este estudio.

Los valores empleados en el medio de cultivo anaerobio y selectivo fueron establecidos en concentraciones de formato, 15gr/1000ml y líquido ruminal 300ml/1L.

La velocidad de producción de metano y la concentración poblacional de bacterias metanogénicas en el sistema, estableció que a temperaturas mayores a 27 ° C, presenta mejores resultados en cuanto a eficiencia del sistema hablando en términos de actividad metabólica y por ende remoción de materia orgánica en términos de DQO.

Al procesar los resultados obtenidos por la Metodología de la Superficie de Respuesta, se muestra que la eficiencia depende de la carga COV, Temperatura y del Volumen, siendo el valor de la eficiencia teórica máxima del 74 % con un volumen de reactor metanogénico del alto (80 %), COV media (2.76 Kg DQO/l) y una temperatura

alta de 34°C.

La conclusión más importante es que la construcción de los DI-FAFS se puede realizar con volúmenes de las fases No Metanogénicos del 20 % del volumen total del reactor y los metanogénicos con volúmenes del 80 % *Vt del reactor.

Referencias

- [1] Patricia Torres-Lozada, Luz Edith Barba-Ho, César Ojeda, Jonier Martínez, and Yuliet Castaño. Influence of leachates age on its physico-chemical composition and toxicity potential. *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica*, 17(1):245–255, 2014.
- [2] Alexander Álvarez Contreras, John Hermógenes Suárez Gelvez, and Hermógenes Suarez. Tratamiento biológico del lixiviado generado en el relleno sanitario “El Guayabal” de la ciudad San José de Cúcuta. *Ingeniería y Desarrollo*, 20:95–105, 2006.
- [3] Patricia Torres Lozada. Impacto de la incorporación de lixiviados en el arranque de reactores anaerobios al tratar aguas residuales domésticas. *Ingeniería y Universidad*, 14(2):313–326, 2011.
- [4] A Cohen. Two-phase digestion of liquid and solid wastes. In *Proceedings of the Third International Symposium on Anaerobic Digestion*, page 123, Boston, Massachusetts, 1983. Water Network Research.
- [5] Jairo A Romero Rojas. *Tratamiento de aguas residuales, teoría y principios de diseño*. Escuela Colombiana de Ingenieros, 2004. Primera edición, reimpressa.
- [6] Jim Field. *Arranque y Operacion de Sistemas de Flujo Ascendente con Manto de Lodo (UASB): Manual del Curso*, chapter Medición de parámetros en reactores del manto de lodos anaeróbicos de flujo ascendente. Corporación Autónoma Regional del Cauca, Universidad del Valle – Cali, Colombia & Universidad Agrícola de Wageningen – Wageningen, NL, 1987.
- [7] Julio Isaac Maldonado. Evaluación de un sistema de tratamiento para aguas residuales de matadero. Trabajo de grado de maestría, Departamento de Ingeniería Civil, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, 1993.
- [8] APHA, AWWA, WPCF, Madrid. *Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales*, 1992. Ediciones Díaz de Santos, S.A.
- [9] H Nájera, J Castañón, J Figueroa, and M Rojas-Valencia. Caracterización y tratamiento fisicoquímico de lixiviados maduros producidos en el sitio de disposición final de Tuxtla Gutiérrez. In *II Simposio Iberoamericano de Residuos de Residuos*, Barranquilla, Colombia, septiembre 2009. REDISA, Red de Ingeniería en Sanamiento Ambiental, Universidad del Norte, Comombia.
- [10] Patricia Mendoza Salgado and Valentina López Trujillo. Estudio de la calidad de lixiviado del relleno sanitario la esmeralda y su respuesta bajo tratamiento en filtro anaerobio de flujo ascendente piloto. Trabajo especial de grado, Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería y Arquitectura, Sede de Manizalez, Universidad Nacional de Colombia, Manizalez, Colombia, 2004. Directores: Adela Londoño Carvajal y Nelson Gonzalez Hoyos.
- [11] Jinhuan Luo, Guangren Qian, Jianyong Liu, and Zhi Ping Xu. Anaerobic methanogenesis of fresh leachate from municipal solid waste: A brief review on current progress. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 49:21–28, 2015.
- [12] Alexis Pellón Arrechea, Matilde López Torres, María del Carmen Espinosa Lloréns, and Orestes González Díaz. Propuesta para tratamiento de lixiviados en un vertedero de residuos sólidos urbanos. *Ingeniería Hidráulica y Ambiental*, 36(2):3–16, 2015.
- [13] Diana Lucía Cristancho Montenegro. Estimación del efecto del lixiviado del relleno sanitario doña juana sobre la calidad del agua del río tunjuelo y su posible tratamiento en la PTAR Canoas. Trabajo especial de grado, Resiliencia y Saneamiento – RESA, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, 2013. Directores: Carlos Julio Collazos Chávez y Héctor Collazos.
- [14] Roger Iván Méndez Novelo, Elba René Castillo Borges, María Rosa Sauri Riancho, Carlos Alberto Quintal Franco, Germán Giacomán Vallejos, and Blanca Jiménez Cisneros. Comparación de cuatro tratamientos fisicoquímicos de lixiviados. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 25(3):133–145, 2009.
- [15] Oscar Dario Guarín Villamizar and Sandra Milena Gómez Plata. Caracterización e implementación de un método fisicoquímico para el tratamiento del lixiviado proveniente del relleno sanitario el carrasco. *Innovaciencia*, 1(1):23–29, 2013.