

## MEDICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS VOLÁTILES POR CROMATOGRAFÍA GASEOSA EN LA DIGESTIÓN ANAEROBIA

ELISABETH BEHLING, SILVIA GARCÍA, MARIO HERRERA,  
ALTAMIRA DÍAZ, GILBERTO COLINA, EDIXON GUTIÉRREZ, ELSA  
CHACÍN Y NOLA FERNÁNDEZ<sup>1</sup>

Departamento de Ingeniería Sanitaria, Escuela de Ingeniería Civil,  
Facultad de Ingeniería, Universidad del Zulia, Apartado 526  
Maracaibo 4001-A, Estado Zulia, Venezuela

**RESUMEN.-** Se detectó y midió la producción de ácidos grasos en la digestión anaerobia mediante cromatografía gaseosa. Se usó un sistema anaerobio en dos etapas, constituido de un primer reactor de flujo continuo y mezcla completa (reactor acidogénico), como primera etapa, y un reactor de flujo ascendente de manto de lodo (UASB) (reactor metanogénico) como segunda etapa. Los resultados encontrados revelan que el sistema de tratamiento anaerobio puede ser monitoreado a través de la producción y/o utilización de los diferentes ácidos grasos involucrados, como método para determinar cuando el sistema funciona en equilibrio o cuando el sistema necesita ser controlado y cambiar sus características físico-químicas. Se determinó que el reactor acidogénico respondió al aumento de la carga orgánica con el incremento correspondiente de ácidos grasos volátiles, pero el reactor metanogénico no respondió eficientemente a este incremento. *Recibido:* 14 Noviembre 1995, *Aceptado:* 10 Septiembre 1996.

*Palabras claves:* Ácidos grasos, cromatografía gaseosa, digestión anaerobia.

## MEASUREMENT OF VOLATILE FATTY ACIDS IN ANAEROBIC DIGESTION BY GAS CHROMATOGRAPHY

**ABSTRACT.-** We measured the production of volatile fatty acids during anaerobic digestion using gas chromatography.

A two-phase anaerobic system was used. The first phase employed a continuous flow, complete mixing acidogenic reactor; and in the second phase, an up flow anaerobic sludge bed reactor (UASB) as a methanogenic reactor. The monitoring of the production and/or utilization of volatile fatty acids in the anaerobic treatment system serves as a method to determine when the system functions in equilibrium or when it needs to be controlled by changing its physical and chemical characteristics. The acidogenic reactor responded to an increase in organic matter via a corresponding increase of volatile fatty acids, but the methanogenic reactor did not respond efficiently to an increase in organic matter. *Received:* 14 November 1995, *Accepted:* 10 September 1996.

*Key words:* Fatty acids, gas chromatography, anaerobic digestion.

#### INTRODUCCIÓN

En el tratamiento anaerobio de las aguas residuales, las reacciones químicas catalizadas por las bacterias específicas en cada una de sus fases (hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis, metanogénesis) son de gran importancia ya que cada una de estas etapas va a originar el sustrato de las bacterias en las subsiguientes, por ejemplo si los productos obtenidos como subproductos de la hidrólisis se obtienen en cantidades superiores a las capaces de ser manejadas o utilizadas por las bacterias acidogénicas, estos subproductos provocarían una inhibición para las bacterias acidogénicas. Esto podría ocurrir en las etapas siguientes, si el sustrato se produce a mayor velocidad que la cantidad a ser eliminada o utilizada por los microorganismos (Matsui *et al.* 1993).

En la digestión anaeróbica el fin último, además de obtener agua residual tratada, es obtener metano, el cual se utiliza como energía, ampliamente, en los países desarrollados y en países donde se carece de recursos energéticos o son muy costosos. Para que el metano sea producido eficientemente es necesario que la etapa que lo antecede sea cumplida en la forma más eficiente. La forma exacta de determinar si los ácidos grasos volátiles (AGV) que se están

originando en el tratamiento son los más adecuados para las bacterias metanogénicas. es a través de las determinaciones de los ácidos grasos individualmente, ya que las bacterias metanogénicas utilizan preferiblemente el ácido acético y los otros ácidos producidos como el propiónico, butírico y valérico. Éstos deben ser primero metabolizados por bacterias acetogénicas para ser transformados a acetato, lo cual retarda el proceso de metanización y la eficiencia del sistema. Por otra parte, altas producciones de ácidos diferentes al acético indican un mal funcionamiento de los sistemas de tratamiento lo cual al detectarse podría ser solventado a la mayor brevedad posible (Hebert *et al.* 1994; Fang *et al.* 1995). La determinación de los AGV es muy importante para proveer información en la digestión anaerobia más aún en un sistema de fases separadas (Andrews y Pearson 1965). Los resultados obtenidos se pueden usar para entender el funcionamiento o eficiencia de formación de los AGV en la fase acidogénica y proveer una muy buena información acerca del influente y efluente de la fase metanogénica, por ejemplo, la carga orgánica óptima para esta fase en términos AGV. Por otro lado, de la obtención de los valores de concentración de ácidos grasos en el efluente de la fase metanogénica, se pueden hacer deducciones acerca de cómo el reactor está manejando la carga orgánica aplicada.

El propósito de este estudio es detectar y medir la producción de los AGV en la digestión anaerobia utilizando cromatografía gaseosa.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Descripción de las unidades de laboratorio

Se usó un sistema anaerobio en dos etapas, constituido de un primer reactor de flujo continuo y mezcla completa (reactor acidogénico), como primera etapa, y un reactor de flujo ascendente de manto de lodo (UASB) (reactor metanogénico), como segunda etapa. Ambos reactores se construyeron en plexi-glass. El uso de un reactor en dos fases originó una especial separación de los

microorganismos (bacterias) que intervienen en el tratamiento anaerobio de las aguas residuales.

El reactor acidogénico tenía un volumen vacío de 0,430 L, un 30 % del cual se inoculó con un lodo anaerobio pregranulado y acidificado, y con agua residual sintética, preparada con almidón soluble (70 %), obtenido de una digestión anaerobia de una fábrica procesadora de papas. El contenido de sólidos totales de lodo usados como inóculo fue de 59.2 kg/m<sup>3</sup> con 55 kg/m<sup>3</sup> de sólidos volátiles. El lodo se acidificó con una mezcla de ácidos grasos (Tabla 1) a fin de reducir y/o eliminar las bacterias metanogénicas que estuvieren en el mismo. El reactor se alimentó con un flujo tangencial en la parte baja de la columna, utilizando para ello una bomba peristáltica

TABLA 1. Solución standard de ácidos grasos volátiles (AGV) para acidificación de lodo en el primer reactor.

AGV	Concentración mg/L
Acético	1000
Propiónico	500
Isobutírico	500
Butírico	500
Isovalérico	500
Valérico	500
Capríónico	500

Watson-Marlow 100. El contenido del reactor se mezcló adecuadamente usando un agitador magnético en el fondo. El efluente de este reactor se utilizó como sustrato para el reactor metanogénico.

El reactor metanogénico tenía un volumen vacío de cerca de un 1.3 L. La columna se inoculó con el mismo lodo usado para el reactor acidogénico (30 %) pero no se acidificó. Este reactor se alimentó desde la parte inferior (rata de flujo ascendente) y el sustrato o alimento fue el efluente del reactor acidogénico, el cual entraba al reactor metanogénico por gravedad. En el fondo de este

reactor se colocó una pequeña cantidad de grava (5 mm) a fin de proveer una distribución uniforme del flujo. El efluente se neutralizó antes de entrar al reactor metanogénico mediante la adición de  $\text{NaHCO}_3$ , controlada por un medidor de pH el cual dosificaba la cantidad, de acuerdo con el pH registrado en el efluente del reactor acidogénico, de tal forma que el valor del pH final o de entrada al reactor metanogénico fuese  $\geq$  a 6.8 y  $\leq$  a 7.4.

### Funcionamiento de los reactores

Después de la inoculación, los reactores se operaron por carga por un período de 48 horas, tiempo después, se cambió su operación a flujo continuo y se realizaron dos corridas diferentes, utilizando distintas cargas orgánicas (Tabla 2). Para la primera corrida, la carga orgánica inicial fue de 3.83 kg COD/m<sup>3</sup>·d (Demanda Química de Oxígeno (DQO) 1150 mg/L)) y una velocidad de flujo de 5.76. Esto originó un tiempo de retención total en el sistema de 7.22 horas, 1.80 horas para el reactor acidogénico y 5.42 horas para el reactor metanogénico. La temperatura del sistema fue de 37 °C. Estas características físicas se mantuvieron a lo largo del estudio. Después de 7 días la concentración del residuo en términos de DQO se

TABLA 2. Cargas orgánicas aplicadas (COA) al sistema de reactores de dos fases.

Día	Reactor Acidogénico		Reactor Metanogénico		Sistema
	DQO g/L	COA kgDQO/m <sup>3</sup> ·d	DQO g/L	COA kgDQO/m <sup>3</sup> ·d	COA kgDQO/m <sup>3</sup> ·d
1	1.15	15.39	1.03	4.56	3.83
7	2.30	30.79	2.07	9.16	7.65
27	4.60	61.59	4.14	18.34	15.30
41	9.20	123.18	10.00	44.30	30.63
51	3.00	40.17	2.95	13.00	10.00
72	4.00	53.56	3.90	17.27	13.31
86	5.00	66.95	5.20	23.36	16.60

duplicó a 2300 mg DQO/L. Cuando las condiciones de estabilidad se alcanzaron con esta nueva carga orgánica (7.65 kg DQO/m<sup>3</sup>·d), la demanda química se duplicó nuevamente a 4600 mg DQO/L, riginándose una carga orgánica en el sistema de 15.3 kg/m<sup>3</sup>·d. Finalmente para esta primera corrida, la carga orgánica se duplicó de nuevo, alcanzando un valor máximo de 9200 mg DQO/L, lo cual significó una carga orgánica de 30.63 kg/m<sup>3</sup>·d.

Para la segunda corrida, usada en el sistema de dos fases, las DQO aplicadas fueron de 3000, 4000, y 5000 mg DQO/L, lo cual equivale a cargas orgánicas de 10.00, 13.31 y 16.60 kg DQO/m<sup>3</sup>·d.

### Análisis de ácidos grasos volátiles

Las determinaciones de los ácidos grasos se realizaron usando un cromatógrafo de gas marca Packard Becker 417, con una columna empacada (2m x 2mm ID) con 10 % AT-1000 como fase estacionaria sobre Chromosorbe W-AW (80/100). Se usó N<sub>2</sub> (libre de Oxígeno) como gas de arrastre, el cual se hizo pasar continuamente a través de la columna a una temperatura constante de 140 °C y una rata de flujo de 20 ml/min. Los compuestos que salían de la columna se detectaron mediante un detector de ionización a la llama (FID), conectado a un integrador electrónico (Spectraphysic SP 4290). El cromatógrafo se calibró con una solución standard de ácidos grasos cuyos componentes tienen diferentes tiempos de retención (Tabla 1). Las muestras a ser analizadas se filtraron a través de una membrana de nitrato-celulosa (0.45 µm de poro). El filtrado se mezcló con un 10 % (v/v) de ácido fórmico grado analítico (BDH), y 1 µl del mismo se inyectó en la columna. Tanto las muestras analizadas como el standard de ácidos volátiles se trataron con ácido fórmico para su estabilización.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos para la primera corrida del sistema se muestran en la Fig. 1 y Tabla 3. El porcentaje de remoción de AGV

totales, para las dos primeras concentraciones usadas, fue muy cercano al 90 %, este valor se midió tomando en cuenta los AGV totales producidos por el reactor acidogénico y los AGV totales

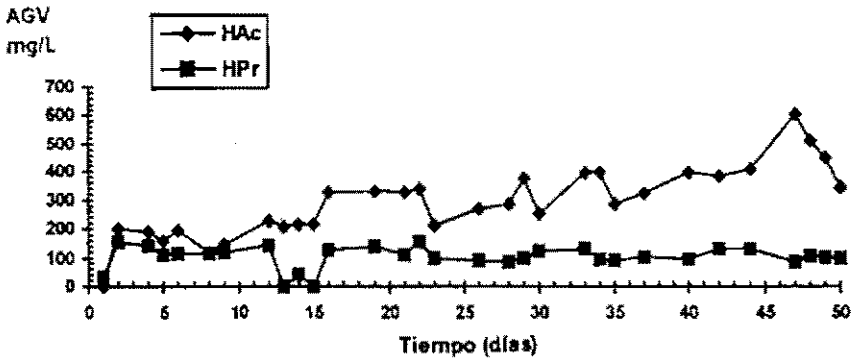


FIGURA 1. Variación en la concentración de los ácidos acético y propiónico en la primera corrida del reactor acidogénico.

TABLA 3. Porcentaje de cada ácido graso volátil al final de cada corrida del reactor acidogénico.

Ácido graso volátil	Primera corrida (%)	Segunda corrida (%)
Acético	44	43
Propiónico	22	22
Isobutírico	4	2
Butírico	24	23
Isovalérico	2	1
Valérico	2	6
Caprónico	2	3

encontrados a la salida del reactor metanogénico, durante un período de 28 días aproximadamente (Figs. 1 y 2). Transcurrido este tiempo la DQO se incrementó en el sistema a 4600 mg/L y después de algunos días en operación, el porcentaje de remoción de ácidos

grasos por el reactor metanogénico bajó a un 30 %. Cuando la carga orgánica se duplicó por última vez a 9200 mg/L, la producción de ácidos grasos por parte del reactor acidogénico

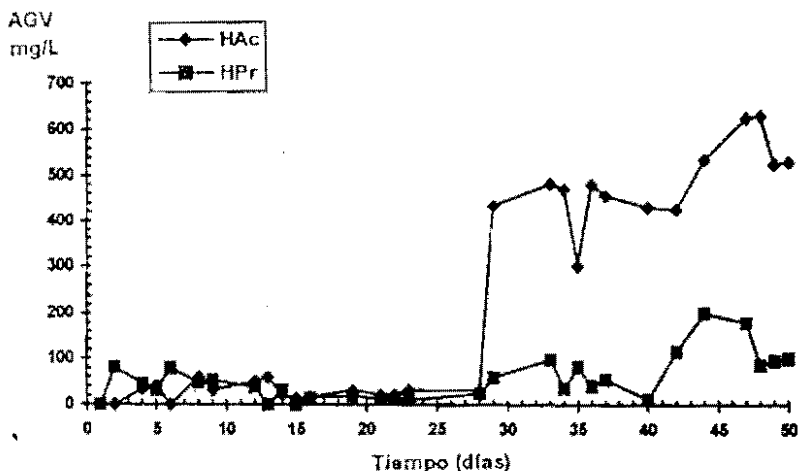


Figura 2. Variación en la concentración de los ácidos acético y propiónico en la primera corrida del reactor metanogénico.

aumentó apreciablemente (Fig. 1). Sin embargo, el reactor metanogénico colapsó y el lodo fue expulsado del reactor, debido a la alta carga orgánica aplicada al reactor en términos de AGV.

El reactor acidogénico respondió al aumento de carga orgánica, con el incremento correspondiente en la concentración de ácidos grasos, pero se puede observar que el incremento en acetato, expresado como un porcentaje de los AGV totales, no varió significativamente con el incremento en cargas orgánicas (de 41 a 44 %) (Fig. 1 y Tabla 3) expresado por Le Huga y Hulshoff - Pol (1989).

El reactor metanogénico durante los primeros 28 días de operación se mantuvo removiendo los AGV producidos por el reactor acidogénico sin ningún problema. La cantidad total de AGV encontrados en el efluente del reactor metanogénico fue casi la



misma, 20 a 30 mg/L de los 590 mg/L producidos durante ese período por el reactor acidogénico, aún cuando la carga orgánica se duplicó dos veces durante ese período. La variación en la concentración de los AGV puede observarse en la Fig. 2. Después de 28 días de operación, el reactor disminuyó su habilidad para usar los ácidos grasos totales producidos por el reactor acidogénico, y grandes cantidades de buffer se usaron a fin de mantener la capacidad amortiguadora. Las concentraciones de ácidos grasos aumentaron a 500 mg/L aproximadamente, presentando inestabilidad el sistema bajo la carga orgánica aplicada (Fig. 2).

Cuando se aplicó la segunda corrida al sistema, la idea fue encontrar un valor más acertado de eficiencia para esta segunda experimentación. Los valores usados en la primera corrida se duplicaron pero no se incrementaron sucesivamente, de tal forma que las DQO usadas en la segunda parte de la experimentación de 3000, 4000 y 5000 mg/L originaron cargas en el reactor acidogénico de 40.17, 53.58 y 66.95 kg DQO/m<sup>3</sup>.d, respectivamente. Durante este período, el reactor acidogénico produjo un AGV promedio de 500 a 696 mg/L, dependiendo de la carga orgánica aplicada. El porcentaje de ácido acético (del total de AGV producido) osciló en un rango de 47 a 57 %, dependiendo de la carga orgánica aplicada.

La mayor cantidad de AGV producida por el reactor acidogénico, bajo cualquier carga orgánica aplicada, correspondió a los ácidos acético, propiónico y butírico. La Fig. 3 presenta la variación en la concentración de AGV para el período experimental de segunda corrida en el reactor acidogénico, y la Tabla 3 el porcentaje al final del mismo período.

El comportamiento del reactor metanogénico después de 10 días en operación, en esta segunda corrida, fue estable, demostrando una disminución en los AGV a la salida (efluente) (Fig. 4). La menor concentración de ácido graso (4 mg/L) en el efluente de este reactor se encontró después de 30 días en operación, cuando la DQO

aplicada al sistema se incrementó a 4000 mg/L, esto indica que la remoción de AGV representó un 98 %, durante esta segunda corrida (Fig. 4). Cuando se aplicó 23.04 kg DQO/m<sup>3</sup>·d de carga orgánica (6.04 kg VFA/m<sup>3</sup>·d) al reactor metanogénico, muy alta para

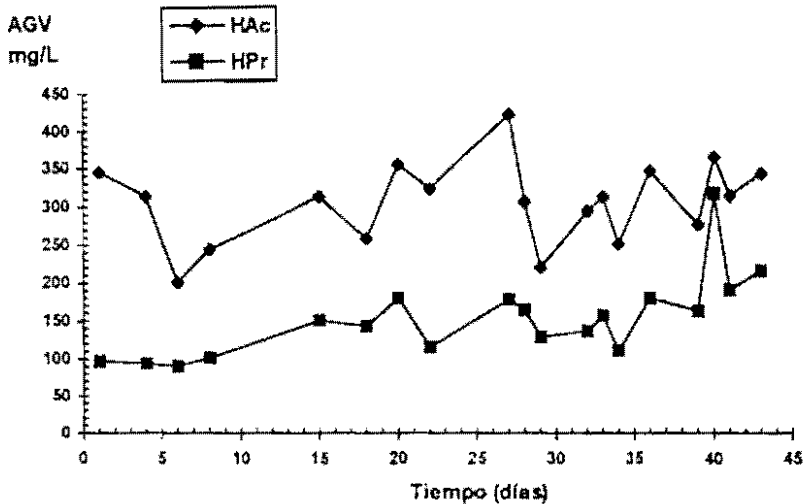


FIGURA 3. Variación en la concentración de los ácidos acético y propiónico en la segunda corrida del reactor acidogénico.

el reactor, la concentración total de AGV en el efluente aumento algunas veces en concentraciones más altas que el influente, debido a la acumulación de AGV.

Le Huga y Hulshoff - Pol (1989) establecieron que la cantidad de ácidos grasos en términos de ácido acético no debe exceder de 1000 mg/L en un reactor anaerobio puesto que valores mayores a estos producen inhibición a las bacterias metanogénicas.

Gunnerson y Stuckey (1986) establecieron que la cantidad y tipo de ácido graso producido en un sistema anaerobio tenía dos recorridos diferentes, uno de los cuales era el que beneficiaba al tratamiento. Según ellos, un substrato en condiciones normales era transformado

en  $\text{CO}_2 + \text{H}_2 + \text{acetato}$ , y que en condiciones no favorables en un sistema anaerobio ocurría la siguiente reacción no ideal para el sistema en la cual el substrato es transformado en propionato + butirato + ethanol; estos productos no pueden ser utilizados

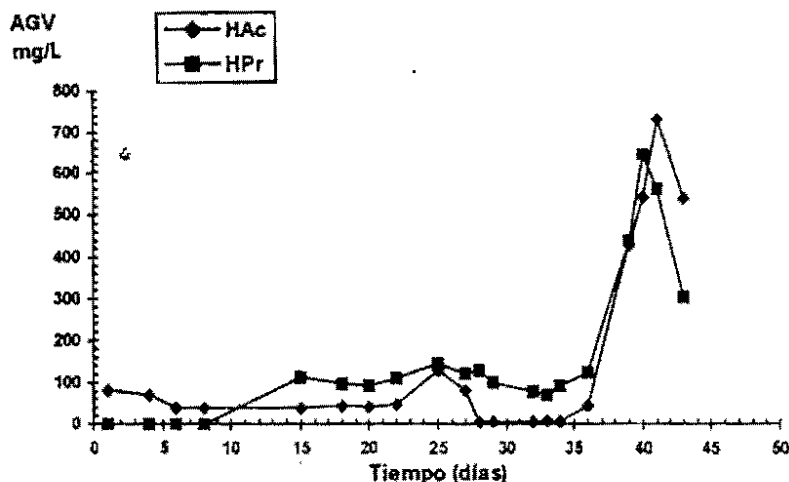


FIGURA 4. Variación en la concentración de los ácidos acético y propiónico en la segunda corrida del reactor metanogénico.

directamente por las bacterias metanogénicas y cuando se encuentran en exceso, resultan tóxicos a estas bacterias. McInerney *et al.* (1981) señalan que la primera reacción predominaba en un digestor que poseía baja presión parcial de  $\text{H}_2$ , y que la segunda reacción es favorecida a altas presiones parciales de  $\text{H}_2$ .

Según Brown y Tata (1985), las bacterias acetoclásticas necesitan un tiempo de generación mayor que las bacterias formadoras de ácido (ejemplo, 2 a 3 días comparando con 2 a 3 horas a  $35^\circ\text{C}$  bajo condiciones óptimas). Esto indica que los digestores anaerobios no pueden recibir cargas orgánicas muy altas, ya que las bacterias formadoras de ácido, producirán los AGV más rápidamente que la velocidad de utilización de los mismos por las bacterias acetoclásticas. Andrews y Pearson (1965) reportaron que no sólo es importante conocer la cantidad de ácidos grasos producidos, sino

también la proporción de cada uno de ellos ya que esto indicará el funcionamiento de un sistema anaerobio.

El reactor acidogénico respondió al aumento de la carga orgánica con el incremento correspondiente de ácidos grasos volátiles, pero el reactor metanogénico no respondió eficientemente a este incremento.

Los resultados encontrados en esta investigación revelan que el sistema de tratamiento anaerobio puede ser monitoreado a través de la producción y/o utilización de los diferentes ácidos grasos involucrados, como método para determinar cuando el sistema funciona en equilibrio o cuando el sistema necesita ser controlado y cambiar sus características fisicoquímicas.

#### AGRADECIMIENTO

Los autores de este trabajo de investigación desean expresar su sincero reconocimiento al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad del Zulia (CONDES), por su apoyo siempre incondicional y su impulso a la labor investigativa.

#### LITERATURA CITADA

- ANDREWS, J. A. Y E. A. PEARSON. 1965. Kinetics and characteristics of volatile acid production in anaerobic fermentation processes. *Intl. J. Air and Water Pollution* 9: 439-461.
- BROWN, N. L. Y P. B. S. TATA. 1985. Biomethanation. *Ensic Review* No. 17/18: 3-10. Environmental Sanitation Information Centre, Asian Institute Technology, Bangkok.
- FANG, H. H. P., H. K. CHUI Y Y. Y. LI. 1995. Microbial structure and activity of UASB granules treating different wastewater. *Wat. Sci. Tech.* 30: 87-96.

- GUNNERSON, C. G. Y D. C. STUCKEY. 1986. Anaerobic digestion. Principles and Practices for Biogas Systems. UNDP Project Management Report No. 5: 1-19. World Bank, Washington, D.C.
- HERBERT. H., H. H. P. FANG Y KWONG TIN-SANG. 1994. Degradation of starch particulates in a hybrid reactor. Wat. Sci. Tech. 30: 97-104.
- LE HUGA, G. Y L. W. HULSHOFF - POL. 1989. UASB Process design for various types of wastewater. Wat. Sci. Tech. 24: 87-107.
- MATSUI, S., R. IKEMOTO YAMAMOTO, Y. TSUCHIYA Y B. INANC. 1993. The kinetics of glucose decomposition with sulfate reduction on the anaerobic fluidized bed reactor. Wat. Sci. Tech. 28: 135-144.
- MCINERNEY, M. J., M. P. BRYANT, R. B. HESPELL Y J. W. COSTORTON. 1981. *Syntrophomonas wolfei* gen. nov. sp. nov., and anaerobic syntrophic, fatty acid-oxidizing bacterium. Appl. Envir. Microbiol. 56: 1958-1607.