

Formación acelerada de gránulos productores de hidrógeno para el arranque de reactores UASB utilizando vinazas

Accelerated formation of hydrogen-producing granules
for the start-up of UASB reactors using vinasses

*César González-Ugalde¹
J. Esteban Durán-Herrera²*

*Fecha de recepción: 06 de mayo del 2013
Fecha de aprobación: 11 de junio del 2013*

González-Ugalde, C; Durán-Herrera, J. Formación acelerada de gránulos productores de hidrógeno para el arranque de reactores UASB utilizando vinazas. *Tecnología en Marcha*, Vol. 27, N° 1. Pág 38-47

- 1 Ingeniero Químico. Emerson Electric Costa Rica. Correo electrónico: cesar_gu24@hotmail.com.
- 2 Doctor en Ingeniería Química, Profesor Catedrático, Escuela de Ingeniería Química, Universidad de Costa Rica. Correo electrónico: esteban.duranherrera@ucr.ac.cr.

Palabras clave

Hidrógeno; fermentación anaerobia; gránulos productores de hidrógeno; vinazas; reactor UASB.

Resumen

Se estudió la formación de gránulos productores de hidrógeno en un reactor CSTR, con el fin de transferirlos luego un reactor UASB y así acortar el tiempo de arranque del mismo. El sustrato utilizado fueron vinazas provenientes de una agroindustria nacional productora de etanol a partir de melazas de caña de azúcar y su fermentación anaerobia se llevó a cabo bajo condiciones mesofílicas. Los lodos para realizar la inoculación del sistema se tomaron de un reactor UASB de una planta de tratamiento de agua industrial, a los cuales se les realizó un tratamiento térmico con el objetivo de inhibir el crecimiento de bacterias metanogénicas. Se generaron curvas de crecimiento de materia viable y no viable total, con las cuales se determinó que la fase de crecimiento exponencial de las bacterias en cultivo mixto pre-tratadas térmicamente se encontraba entre las 20 y las 120 h. Finalmente, la fermentación anaeróbica de las vinazas durante 70 horas en modo "batch" (por lotes) y posteriormente durante 7 días en modo continuo tipo CSTR demostró ser un procedimiento efectivo para acelerar la formación de los gránulos productores de hidrógeno, lográndose obtener gránulos con un tamaño promedio de 1,24 mm. La alta eficiencia del proceso se le atribuye a la elevada transferencia de masa que se obtiene en el reactor CSTR.

Keywords

Hydrogen; anaerobic fermentation; hydrogen-producing granules; vinasses; UASB reactor.

Abstract

Hydrogen-producing granules formation was studied in a CSTR. The aim of this process is to later transfer the mixed liquor to a UASB reactor to reduce its start-up period. Vinasses from a national bioethanol-producing industry (from sugar cane) were used as substrate and their anaerobic fermentation was carried out under mesophilic conditions. The seed sludge was collected from an UASB reactor operated in an industrial wastewater treatment plant and it was heat treated to inactivate methanogenic bacteria. Total viable and non-viable material growth curves were generated and it was determined that the exponential growth phase of the thermally pre-treated mixed culture was between 20 and 120 h. Finally, the anaerobic fermentation of the vinasses in batch mode for 70 hours, and then in continuous CSTR mode for 7 days, showed to be an effective method for accelerating the formation of hydrogen-producing granules. Using this method, granules with an average size of 1.24 mm were achieved. The good efficiency of the process is attributed to high mass transfer in the CSTR reactor.

Introducción

En la actualidad, la humanidad enfrenta dos grandes retos producto del desarrollo no planificado de los últimos años. En primer lugar, disminuir el alto impacto ambiental que generan la mayoría de sus actividades, en particular las de índole industrial; y por otro lado, asegurarse la disponibilidad de energía suficiente para satisfacer la alta demanda actual y futura. En este sentido, el desarrollo de un portador de energía limpia y renovable que no utilice combustibles fósiles es uno de los retos tecnológicos de mayor interés a nivel mundial. Una de las opciones más atractivas es la utilización a gran escala de hidrógeno (H_2) como un portador de energía reciclable. Sin embargo, en la actualidad la producción industrial de H_2 consume grandes cantidades de combustibles fósiles (por ejemplo, gas natural), dando lugar a grandes emisiones de CO_2 . Es por este motivo que la producción de H_2 a partir de fuentes de energía renovables, en lugar de combustibles fósiles, ha suscitado gran interés en la comunidad científica y ambientalista.

El interés fundamental en el empleo de hidrógeno es que ofrece un enorme potencial como portador de energía sostenible, pues no genera gases de efecto invernadero, produciendo solamente agua cuando se da su combustión; adicionalmente, presenta un alto poder calorífico (122 kJ/g) y su valor energético es 2,75 veces más alto que el de los hidrocarburos (Jung et al., 2010). Este gas es empleado por muchas industrias a nivel mundial para una gran variedad de aplicaciones y usos, desde las industrias químicas y de refinería hasta las de metalurgia, vidrio y electrónicas (Ramachandran y Menon, 1998).

Dentro de los usos industriales del hidrógeno gaseoso se pueden citar: como reactivo en procesos de hidrogenación (para producir compuestos de menor peso molecular, saturar compuestos, romper hidrocarburos, remover compuestos sulfurados o nitrogenados), como colector de oxígeno molecular (remover trazas de O_2 para prevenir la oxidación y la corrosión), como portador de energía (combustible en motores de cohetes, celdas de combustible, combustible para motores de combustión interna), para mejorar las operaciones de soldadura y corte con plasma, y como refrigerante en generadores eléctricos debido a sus propiedades físicas únicas (Ramachandran y Menon, 1998; Praxair Technology, Inc., 2013; Verhelst, 2014).

Una alternativa con grandes expectativas es la producción de hidrógeno a partir de rutas de conversión de biomasa (fuente renovable de energía) mediante procesos biológicos. Entre estas rutas está la fermentación anaerobia, la cual consiste en la digestión de material orgánico por medio de microorganismos en ausencia de oxígeno. Entre las ventajas de este proceso está su capacidad de utilizar cualquier sustrato rico en carbohidratos, sus altas tasas de producción de hidrógeno (en comparación con otros procesos biológicos), es menos costoso que otros métodos que requieren de energía lumínica, y que las comunidades microbianas están disponibles en aguas residuales, compost anaeróbico o lodos profundos (Manish y Banerjee, 2008).

La utilización de reactores anaeróbicos de flujo ascendente UASB (del inglés Up-flow Anaerobic Sludge Blanket) para tratar aguas residuales altamente contaminadas, y a la vez producir hidrógeno, es una tecnología que está despertando gran interés, ya que ataca de una manera integrada los problemas ambiental y energético anteriormente mencionados. Los reactores UASB generalmente presentan un desempeño bueno y estable en la producción fermentativa de hidrógeno una vez que se han formado los gránulos productores de hidrógeno (GPH); sin embargo, el largo período de arranque para el desarrollo de los GPH sigue siendo un gran obstáculo para aplicaciones prácticas. Se cree que las colisiones celulares y su multiplicación (formación de flocúlos de células), juegan un papel importante en el paso inicial de la formación de GPH. Los gránulos productores de hidrógeno, a diferencia de los gránulos metanogénicos, son una masa simple compuesta principalmente de acidógenos productores de hidrógeno, los cuales crecen rápidamente. No obstante, como en los reactores UASB no existe un mezclado mecánico, la capacidad de transferencia de masa es limitada; además, se necesita cierto tiempo para el lavado de la biomasa no activa (Jung et al., 2011).

Se ha reportado que en fermentaciones anaeróbicas que se lleven a cabo en reactores del tipo tanque completamente agitado CSTR (del inglés Continuous Stirred Tank Reactor) los microorganismos productores de hidrógeno se pueden flocular rápidamente a pesar de la existencia de altas fuerzas cortantes (Fang et al., 2002; Zhang et al., 2004; Zhang et al., 2007). Con base en lo anterior, Jung y

colaboradores (2011) sugirieron un método para reducir el tiempo de arranque del reactor UASB, el cual consiste en primeramente formar los gránulos en un reactor CSTR para luego transferirlos al reactor UASB. Siguiendo esta metodología, los investigadores lograron formar en 7 días de operación de un CSTR, gránulos con un tamaño de partícula promedio igual al proporcionado por un reactor UASB luego de 50 días de operación. El sustrato utilizado fueron aguas residuales de la manufactura de bebidas de café.

El objetivo principal de la presente investigación fue estudiar la formación de gránulos productores de hidrógeno en un reactor CSTR, con el fin de transferirlos luego a un reactor UASB y así acortar el tiempo de arranque de este último (González y Durán, en prensa). Para lograr tal objetivo, se realizaron dos réplicas experimentales, tanto para la obtención de las curvas de crecimiento de materia viable y no viable total, como para el arranque de la fermentación anaerobia de vinazas por medio del reactor tipo CSTR. El sustrato utilizado fueron vinazas provenientes de una agroindustria nacional productora de etanol a partir de melazas de caña de azúcar. La composición y carga orgánica de las vinazas (~70 000 mg DQO/L y elevados contenidos de Ca^{2+} , Mg^{2+} y Fe^{2+}) la convierten en un sustrato factible para la producción de H_2 . La presente publicación corresponde a un estudio exploratorio inicial, por lo que no se estudió aún mediante algún tipo de diseño estadístico, el efecto de variables de operación en la formación de los gránulos. Sin embargo, cabe resaltar que según el conocimiento de los autores, esta es la primera investigación que se lleva a cabo en Costa Rica explorando la posibilidad de utilizar vinazas para la producción fermentativa de biohidrógeno.

Materiales y métodos

Caracterización de las vinazas

En esta investigación se utilizaron vinazas procedentes de la planta de destilación de etanol del Ingenio Taboga, ubicado en Cañas, Guanacaste. La vinaza se usó sin la adición de nutrientes externos y se mantuvo refrigerada a 4 °C hasta que fuera a utilizarse; la concentración se ajustó a 20 000 mg DQO/L por medio de dilución con agua de la cañería. Se realizó una caracterización a la vinaza según los parámetros

de análisis obligatorio para vertidos de aguas residuales (MINAE, 2007), por medio de métodos estándar (APHA, 1999). Así mismo, se hizo un análisis de composición química en el cual se determinó la cantidad de N, P, Ca, Mg, K, S, Fe, Cu, Zn, Mn y B presentes. El nitrógeno se determinó por digestión húmeda con ácido sulfúrico y determinación colorimétrica en un analizador de inyección de flujo (FIA); el resto de elementos se determinaron por digestión con mezcla nitroclorhídrica y determinación por espectrofotometría de emisión atómica con plasma. Ambos análisis fueron realizados por el Laboratorio de Suelos y Foliaves del Centro de Investigaciones Agronómicas (CIA) de la Universidad de Costa Rica.

Caracterización de los lodos para inóculo

Los lodos para inocular se tomaron de un reactor UASB a escala industrial de la planta de tratamiento anaerobia de aguas residuales de la empresa *Alimentos Prosalud S.A.*, ubicada en Barranca, Puntarenas. A estos lodos se les realizó un pretratamiento térmico en baño maría a 100 °C durante 30 minutos (Woo y Song, 2010) con el objetivo de inhibir (destruir) las bacterias no productoras de hidrógeno. Se eligió el pretratamiento térmico pues es el más ampliamente usado en los estudios de producción fermentativa de hidrógeno (Wang y Wan, 2009). A los lodos tratados térmicamente se les determinaron los sólidos suspendidos volátiles, sólidos suspendidos totales y densidad aparente con base en métodos estándar (APHA, 1999). Adicionalmente, en la Facultad de Microbiología de la Universidad de Costa Rica se realizó una caracterización cualitativa de las cepas presentes en los lodos anaerobios por tinción de Gram luego de un tiempo de incubación de 72 horas a 37 °C, y por placas de Petri con medio de cultivo Agar sangre con base Brucella, suplementado con hemina y vitamina K1, tanto en atmósfera aerobia como anaerobia, luego de un tiempo de incubación de 48 horas a 37 °C.

Curvas de crecimiento de materia viable y no viable total

Se obtuvieron curvas de crecimiento de materia viable y no viable total en un cultivo de los lodos anaerobios tratados térmicamente, bajo las mismas condiciones de trabajo que fueron utilizadas en el proceso de formación de gránulos en el reactor CSTR. Con esto se determinó el tiempo necesario

para alcanzar la fase de crecimiento exponencial de las bacterias en cultivo mixto, y con ello saber el momento propicio para cambiar la operación del reactor CSTR de modo batch a continuo durante su arranque. La cantidad de materia viable y no viable total se cuantificó según Rodríguez y colaboradores (2005) por medio de mediciones de absorbancia (BioMate 3) de la mezcla a 600 nm. En la prueba se utilizó un erlenmeyer de 250 mL de volumen de trabajo con tapón de hule y conexiones para muestreo, el cual fue inoculado con un volumen de lodos pretratados equivalente a un 30% del volumen de trabajo (Jung et al., 2011) y se completó el volumen de reacción con vinaza diluida. El erlenmeyer se purgó con nitrógeno durante 10 minutos para brindar condiciones anaerobias, para luego mantenerlo con una agitación de 130 rpm y una temperatura de 35 °C en una incubadora.

Formación acelerada de gránulos productores de hidrógeno (GPH) en un CSTR

Para el estudio de la formación de gránulos formadores de hidrógeno se utilizó un erlenmeyer con un volumen de trabajo de 5,0 L como reactor tipo CSTR, el cual fue inoculado con lodos pretratados equivalentes a un 30% del volumen de trabajo (Jung et al., 2011) y se completó el volumen de reacción con vinaza diluida. El pH inicial se ajustó en aproximadamente 8,0 por medio de una solución de hidróxido de sodio 3M. Luego de purgar con nitrógeno durante 10 minutos para obtener condiciones anaerobias, la mezcla se mantuvo con agitación y a 37 °C por medio de una plantilla eléctrica (IKA C-MAG HS 7). La operación de este reactor tipo CSRT se inició en modo "batch" (por lotes) durante 70 horas hasta alcanzar la fase de crecimiento

exponencial (con base en los resultados obtenidos con las curvas de crecimiento). Al término de este período se cambió a modo continuo con un tiempo de retención hidráulica (TRH) de 12 horas. El pH de operación se controló por medio de la adición de 10 g de NaHCO₃ por litro de vinaza cruda empleada y se mantuvo en aproximadamente 5,5. El biogás producido se recolectó y cuantificó en una probeta invertida llena de agua tal y como se aprecia en el esquema del arreglo experimental de la figura 1. El contenido de hidrógeno en el biogás se determinó por medio de un cromatógrafo de gases (Agilent technologies 6890 N) equipado con un detector de conductividad térmica y la columna capilar Carboxen-1010 PLOT. La temperatura del puerto de inyección y del detector fue 200 y 230 °C, respectivamente; la temperatura inicial y máxima de la columna fue 100 y 250 °C, respectivamente, con rampas de temperatura de 15 °C/min. Se utilizó nitrógeno como gas acarreador a un flujo de 4 mL/min y presión de 4,97 psi. Finalmente, la determinación del tamaño de los gránulos productores de hidrógeno (GPH) se hizo por medio de los microscopios biológicos trinoculares Nikon Eclipse E400 y Labophot, además de un vernier digital.

Resultados experimentales y su discusión

Caracterización de las vinazas

En el cuadro 1 se muestran los resultados de la caracterización físicoquímica de la vinaza empleada como sustrato en el presente proyecto. La vinaza presenta valores de pH ácidos y la mayor parte de sus sólidos corresponden a sólidos disueltos, los cuales son absorbidos por los microorganismos y

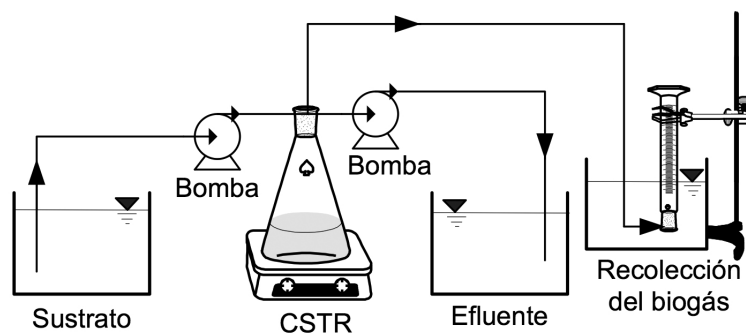


Figura 1. Representación esquemática del equipo empleado para la formación de gránulos productores de hidrógeno en un reactor tipo CSTR

Cuadro 1. Características fisicoquímicas de la vinaza utilizada como sustrato.

Parámetro	Valor
pH	4,19 ± 0,04
Sólidos Totales	(72956 ± 9) mg/L
Sólidos Disueltos	(69740 ± 9) mg/L
Sólidos Suspendedos Totales	(3216 ± 6) mg/L
Sólidos Sedimentables	(2,4 ± 0,2) mL/L
Demanda Química de Oxígeno (DQO)	(69100 ± 1400) mg/L
Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO ₅)	(40300 ± 1600) mg/L
Grasas y aceites	(19 ± 1) mg/L
Sustancias Activas al Azul de Metileno (SAAM)	menor a 0,05 mg/L
Sulfitos (SO ₃ ²⁻)	menor a 0,5 mg/L
Fósforo (como P ₂ O ₅)	0,054 kg/m ³
Nitrógeno total (como N)	1,27 kg/m ³
Potasio (como K ₂ O)	3,53 kg/m ³
Calcio (como CaO)	0,91 kg/m ³
Magnesio (como MgO)	0,52 kg/m ³
Hierro (Fe)	0,09 kg/m ³
Cobre (Cu)	0,0009 kg/m ³
Zinc (Zn)	0,0012 kg/m ³
Manganeso (Mn)	0,0049 kg/m ³
Sulfatos (SO ₄ ²⁻)	1,63 kg/m ³
Grados Brix	5,0 °

almacenados en su interior para su posterior uso durante el metabolismo; las partículas en suspensión, las cuales se encuentran en baja concentración, son adsorbidas por los conglomerados biológicos, los cuales las utilizan poco a poco para obtener energía de ellas. La presencia casi nula de sólidos sedimentables hizo posible el bombeo continuo de este sustrato por medio de bombas peristálticas a flujos del orden de mililitros por minuto, sin generar problemas por taponamientos.

La relación DBO₅/DQO igual a 0,58 hace de esta vinaza un sustrato factible para la producción fermentativa de hidrógeno, ya que si tal relación es mayor a 0,5, se considera que dichas aguas son fácilmente tratables por medio de procesos biológicos; si esta relación es menor a 0,3, el agua residual puede tener compuestos tóxicos o se pueden

necesitar microorganismos aclimatados para su estabilización (Crites y Tchobanoglous, 2000).

En cuanto a los macronutrientes presentes en la vinaza, el potasio y el nitrógeno son los que se encuentran en mayor cantidad, seguidos por el calcio; el hierro el que posee la mayor concentración entre los micronutrientes. Lo anterior es de vital importancia dado que estas sustancias son necesarias para el crecimiento y la reproducción de la masa celular. Adicionalmente, se ha reportado que la presencia de cationes divalentes como Ca²⁺, Fe²⁺ y Mg²⁺ puede promover la formación de GPH, ya que los microorganismos generalmente presentan superficies con carga negativa, lo cual disminuye la posibilidad de formación de agregados bajo condiciones naturales, y dichos cationes pueden otorgar una adhesión efectiva e irreversible de los microorganismos por medio de la alteración del estado iónico de la superficie de la célula (Jung et al., 2010). A pesar de que existe cierto desacuerdo respecto a las proporciones recomendadas de los macro y micronutrientes, los valores mostrados en el cuadro 1 se encuentran dentro de los ámbitos reportados como óptimos por distintos investigadores (Wang y Wan, 2009).

La baja concentración de cobre y zinc representa otra ventaja, ya que dichos metales pesados en altas concentraciones pueden ser tóxicos para el sistema. La presencia de sulfato (segunda especie en mayor concentración) es una desventaja, pues este podría ser utilizado por las bacterias sulfatoreductoras como aceptor de electrones, consumiendo el H₂ (donador de electrones) y generando cantidades importantes de H₂S (Rodríguez, 2004); sin embargo, durante el desarrollo de este proyecto no se detectó a nivel olfativo la presencia de este compuesto. La concentración tolerable de los metales pesados mencionados con anterioridad depende de la presencia de sulfuros, ya que se pueden combinar para formar sales insolubles.

Caracterización de los lodos para inóculo

Por medio de la tinción de Gram, se encontró que tanto los lodos tratados térmicamente como los que no fueron tratados presentaron morfología microscópica mixta: Bacilos Gram positivos esporulados con esporas centrales, subterminales y terminales; Bacilos Gram negativos y Cocos Gram positivos. Por medio de placas de Agar sangre en

atmósfera aerobia, se encontró que ambas placas (antes y después del tratamiento térmico de los lodos) presentaron una morfología colonial mixta similar: Bacilos Gram negativos entéricos y no entéricos, *Bacillus* s.p., *Streptococcus* s.p. y *Staphylococcus* s.p.. Por otra parte, con placas de Agar sangre en atmósfera anaerobia con Neomicina, se encontró que ambas placas (antes y después del tratamiento térmico de los lodos) presentaron crecimiento de un *Clostridium* s.p. casi en cultivo puro e idéntico en ambos casos, formador de “swarming”.

Con base en el análisis bacteriano, se puede interpretar que el inóculo utilizado en este estudio estaba compuesto por géneros asociados con la fermentación anaerobia, los cuales incluyen tanto bacterias productoras de hidrógeno como las que lo consumen (Ramírez, 1992). El fenómeno de “swarming” presentado por las bacterias del género *Clostridium* s.p. equivale a un tipo de desplazamiento que exhiben algunas bacterias al crecer en medios de cultivo sólidos y que podría representar adaptaciones a condiciones ambientales propias para algunos micronichos determinados; este fenómeno se asocia con un comportamiento indeseable, el cual forma una película de crecimiento que obstaculiza el aislamiento de cualquier otro agente (Hernández y Rodríguez, 2009). A la luz de los resultados obtenidos, sería conveniente realizar en futuras investigaciones un análisis bacteriano más específico con el fin de identificar las especies (no solamente

los géneros) presentes en los lodos anaerobios, tanto en los inoculados al reactor, como en los que se obtienen luego del proceso fermentativo.

Adicionalmente, se determinó que los lodos inoculados al reactor CSTR tenían una concentración de sólidos suspendidos totales de 2,326 g/L, sólidos suspendidos volátiles de 1,708 g/L y una densidad aparente de 10,8 g/L.

Curvas de crecimiento de materia viable y no viable total

Con el objetivo de conocer el tiempo de crecimiento aproximado de las bacterias en cultivo mixto, se generaron las curvas de crecimiento bacteriano mostradas en la figura 2, donde se puede apreciar que alrededor de las 20 y 120 h se encuentra la fase de crecimiento exponencial. En esta fase las células se dividen regularmente a un ritmo constante, por lo que el grado de desarrollo es máximo (Rodríguez, 2006). Basados en estos resultados, se seleccionó un tiempo igual a 70 horas como parámetro de referencia para cambiar el modo de operación de “batch” a continuo en la etapa de arranque del reactor CSTR y lograr de esta forma optimizar la formación de GPH.

Formación acelerada de gránulos productores de hidrógeno (GPH) en un CSTR

La figura 3 muestra las variaciones diarias en la generación de biogás e hidrógeno molecular durante la

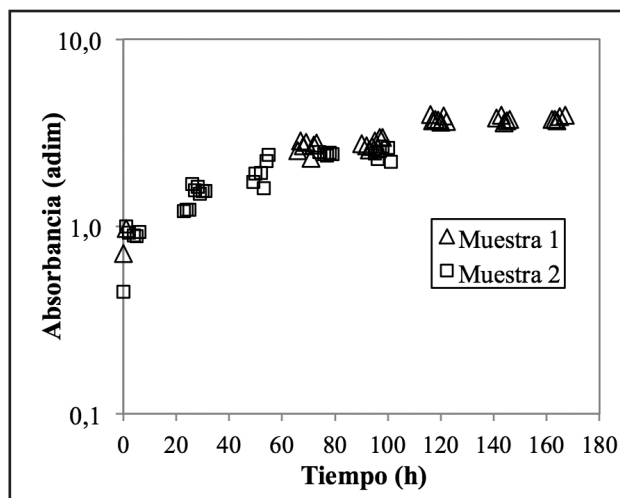


Figura 2. Curvas de crecimiento de materia viable y no viable total en los lodos anaerobios tratados térmicamente

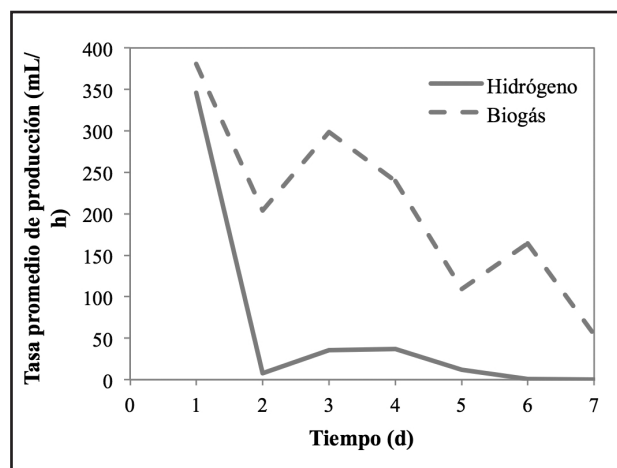


Figura 3. Tasa promedio de producción de biogás y de hidrógeno molecular respecto al tiempo durante el arranque del proceso de fermentación en un reactor CSTR

formación de GPH en el reactor CSTR a un TRH de 12 horas. Tal como se aprecia, tanto la tasa de producción de biogás como la de hidrógeno presentan una disminución súbita al pasar de modo "batch" a continuo (luego de un periodo de 3 días); la tasa de producción de biogás presenta variaciones descendentes aleatorias hasta llegar a un valor de aproximadamente 55,0 mL/h, mientras que el hidrógeno disminuye hasta valores entre 0,108 y 0,713 mL/h.

Se cree que el bajo desempeño en el reactor CSTR durante los últimos días puede deberse a la actividad de bacterias no productoras de hidrógeno presentes en el inóculo o en el sustrato, especialmente de bacterias lácticas (Jung et al., 2010), o bien, debido al lavado excesivo de biomasa en el reactor. Sin embargo, los GPH formados hasta el día 7 presentaron excelentes características de tamaño, lo cual se discutirá en el siguiente párrafo. Además, cuando estos GPH se utilizaron para iniciar la operación de un reactor UASB, la producción de H₂ en éste fue inmediata tal y como se reporta en González y Durán (en prensa). Es importante mencionar que en ninguno de los análisis realizados a las muestras de biogás producido se detectó la presencia de metano. Este resultado demuestra la efectividad del pretratamiento térmico empleado para inhibir a las bacterias metanogénicas en los lodos de inoculación.

En el cuadro 2 y la figura 4 se muestran los resultados obtenidos en la determinación del tamaño de

Cuadro 2. Tamaño de gránulos productores de hidrógeno formados luego de 7 días de operación en un reactor CSTR.

Dimensiones	Mínimo	Máximo	Promedio
Largo (µm)	207,8	2538,0	1278,8
Ancho (µm)	237,3	2168,8	1188,5

los gránulos productores de hidrógeno al finalizar la operación de 7 días del reactor CSTR. Con base en los datos obtenidos se puede concluir que el arranque por medio del uso de un reactor CSTR ayuda en gran manera a disminuir el tiempo de formación de los GPH, donde al cabo de 7 días de operación se obtuvieron gránulos con un tamaño promedio de 1,24 mm (1,28 mm de largo × 1,19 mm de ancho). Esta alta velocidad de formación de gránulos se le atribuye a la agitación mecánica con que cuenta el reactor CSTR, la cual aumenta la transferencia de masa durante el proceso de su formación. Siguiendo esta misma metodología, Jung et al. (2011) reportan haber obtenido un tamaño promedio de partícula de 0,42 mm luego de los 7 días de operación utilizando aguas residuales de la manufactura del café. El mayor tamaño de gránulos obtenidos en este estudio se pudo deber a las favorables

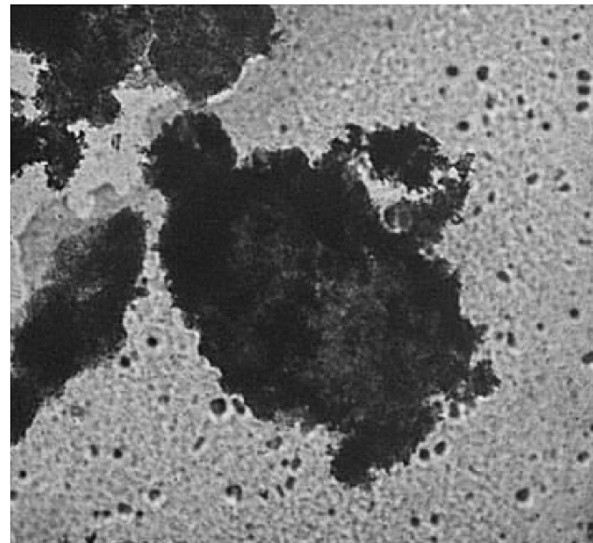
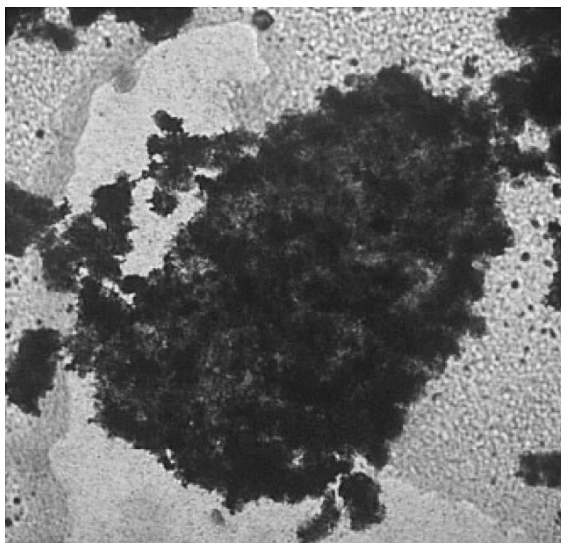


Figura 4. Gránulos productores de hidrógeno formados en el reactor CSTR (Objetivo del microscopio en 4X)

características fisicoquímicas de la vinaza empleada. En contraste, siguiendo un arranque tradicional de un reactor UASB, Jung et al. (2011) obtuvieron el mismo tamaño de partícula hasta luego de 50 días de operación; y Mu y Yu (2006) reportan gránulos de 0,4-0,5 mm luego de 140 días de arranque de un reactor UASB alimentado con agua residual sintética rica en sacarosa.

Dado que los GPH son una masa simple compuesta principalmente de acidógenos productores de hidrógeno, el tamaño de los mismos es proporcional a la generación de dicho gas, y por ende, al consumo del sustrato a degradar que funciona como fuente primaria de nutrientes para las bacterias involucradas en este proceso. Adicionalmente, el tamaño de los GPH influye directamente en el TRH del reactor, por lo que contar con gránulos de buen tamaño hace que utilizar largos TRH pueda ser innecesario (Jung et al., 2011).

Conclusiones

Los resultados obtenidos en este estudio demuestran que es posible utilizar las vinazas de la producción de bioetanol a partir de melazas de caña de azúcar para producir hidrógeno molecular mediante la fermentación anaerobia de éstas. La composición química y características físicas de estas vinazas las hacen un excelente sustrato.

La producción de hidrógeno por medio de fermentación anaerobia de vinazas evidencia ser una posible manera integrada de abarcar los problemas ambiental y energético que enfrenta la humanidad actualmente, por lo que es indispensable mejorar los existentes, y encontrar nuevos procesos y tecnologías viables para la producción industrial de hidrógeno molecular.

Por otro lado, el tratamiento térmico que se le realizó a los lodos anaerobios fue efectivo en lo que respecta a la inhibición del crecimiento de las bacterias metanogénicas, por lo que se recomienda continuar usando este método en futuras investigaciones y aplicaciones.

La fermentación anaeróbica de las vinazas durante 70 horas en modo batch y posteriormente durante 7 días en modo continuo tipo CSTR demostró ser un procedimiento efectivo para acelerar la formación de los gránulos productores de hidrógeno,

lográndose obtener gránulos con un tamaño promedio de 1,24 mm. La alta eficiencia del proceso se le atribuye a la considerable transferencia de masa que se obtiene en el reactor CSTR.

El presente estudio es el primero que se reporta en Costa Rica sobre la utilización de vinazas nacionales para la producción de biohidrógeno mediante fermentación anaeróbica utilizando lodos con cepas mixtas como inóculo. Los resultados favorables que se obtuvieron, y el hecho de que la presente investigación es un estudio exploratorio inicial, instan a continuar investigando sobre la posibilidad de tratar las vinazas mediante este método, y con los gases producidos, generar energía eléctrica (por ejemplo).

Agradecimientos

Los autores desean agradecer la colaboración brindada para realizar este proyecto al Ingenio Taboga, al Centro de Electroquímica y Energía Química y al Laboratorio de Productos Forestales de la Universidad de Costa Rica. Además al Ing. Rodolfo Wattson Gómez por sus valiosos comentarios.

Bibliografía

- APHA. (1999). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. Washington, DC: American Public Health Association.
- Crites, R., Tchobanoglous, G. (2000). *Tratamiento de aguas residuales en pequeñas poblaciones*. Bogotá: McGraw-Hill Interamericana, S.A.
- Fang, H.H.P., Liu, H., Zhang, T. (2002). *Characterization of a hydrogen-producing granular sludge*. *Biotechnology and Bioengineering*, 78, 44–52.
- González, C., Durán, J.E. (en prensa). *Producción de hidrógeno a partir del tratamiento anaerobio de vinazas en un reactor UASB*. *Tecnología en Marcha*.
- Hernández, F., Rodríguez, E. (2009). *El fenómeno de "swarming" y otros tipos de desplazamiento bacteriano*. Recuperado de: <http://www.binasss.sa.cr/revistas/rccm/v14n1-2/art6.pdf>
- Jung, K., Kim, D., Shin, H. (2011). *A simple method to reduce the start-up period in a H₂-producing UASB reactor*. *International Journal of Hydrogen Energy*, 36, 1466–1473.
- Jung, K.W., Kim, D.H., Shin, H.S. (2010). *Continuous fermentative hydrogen production from coffee drink manufacturing wastewater by applying UASB reactor*. *International Journal of Hydrogen Energy*, 35, 13370–13378.
- Manish, S., Banerjee, R. (2008). *Comparison of biohydrogen production processes*. *International Journal of Hydrogen Energy*, 33, 279–286.

- MINAE. (2007). *Reglamento de Vertido y Reúso de Aguas Residuales*. Decreto 33601. San José.
- Mu, Y., Yu, H. (2006). *Biological hydrogen production in a UASB reactor with granules. I: Physicochemical characteristics of hydrogen-producing granules*. *Biotechnology and Bioengineering*, 94, 980–987.
- Praxair Technology, Inc. (2013). *Uses and applications of hydrogen gas and liquid hydrogen by industry*. Recuperado de: <http://www.praxair.com/gases/buy-compressed-hydrogen-gas-or-liquid-hydrogen#?tab=applications>
- Ramachandran, R. & Menon, R. (1998). *An overview of industrial uses of hydrogen*. *International Journal of Hydrogen Energy*, 23, 593-598.
- Ramírez, F. (1992). *Degradación anaerobia de acetamida*. Tesis para obtener el grado de Maestría en Biología Experimental. México D.F.: Universidad Autónoma Metropolitana. Recuperado de: <http://148.206.53.231/UAM7094.PDF>
- Rodríguez, E., Gamboa, M., Hernández, F., García, J. (2005). *Bacteriología General: Principios y prácticas de laboratorio*. San José: Editorial de la Universidad de Costa Rica.
- Rodríguez, F. (2006). *Prácticas de Microbiología*. San Juan: Universidad Miguel Hernández.
- Rodríguez, J. (2004). *Tratamiento anaerobio de aguas residuales*. Recuperado de: <http://www.ingenieroambiental.com/4014/tratamiento545.pdf>
- Verhelst, S. (2014). *Recent progress in the use of hydrogen as a fuel for internal combustion engines*. *International Journal of Hydrogen Energy*, 39, 1071-1085.
- Wang, J. & Wan, W. (2009). *Factors influencing fermentative hydrogen production: A review*. *International Journal of Hydrogen Energy*, 34, 799–811.
- Woo, J.H. & Song, Y.C. (2010). *Influence of Temperature and Duration of Heat Treatment Used for Anaerobic Seed Sludge on Biohydrogen Fermentation*. *Journal of Civil Engineering*, 14, 141–147.
- Zhang, J.J., Li, X.Y., Oh, S.E. & Logan, B.E. (2004). *Physical and hydrodynamic properties of flocs produced during biological hydrogen production*. *Biotechnology and Bioengineering*, 88, 854–860.
- Zhang, Z.P., Show, K.Y., Tay, J.H., Liang, D.T., Lee, D.J. & Jiang, W.J. (2007). *Rapid formation of hydrogen-producing granules in an anaerobic continuous stirred tank reactor induced by acid incubation*. *Biotechnology and Bioengineering*, 96, 1040–1050.