(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 268 925**

(21) Número de solicitud: 200400626

(51) Int. Cl.:
G01N 33/00 (2006.01)
C02F 3/28 (2006.01)

(12) PATENTE DE INVENCIÓN B1

(22) Fecha de presentación: **08.03.2004**

(43) Fecha de publicación de la solicitud: **16.03.2007**

Fecha de la concesión: **31.01.2008**

(45) Fecha de anuncio de la concesión: **16.02.2008**

(45) Fecha de publicación del folleto de la patente: **16.02.2008**

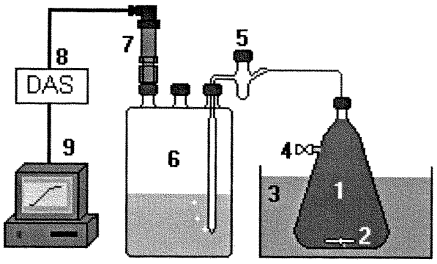
(73) Titular/es: **Universidad de Valladolid**
Plaza de Santa Cruz, 5 Bajo
47002 Valladolid, ES

(72) Inventor/es:
Fernández-Polanco Fernández-Moreda, Fernando;
García Encina, Pedro;
Nieto Díez, Pedro;
Pérez Elvira, Sara y
Fernando-Polanco Íñiguez de la Torre, María

(74) Agente: **No consta**

(54) Título: **Equipo y procedimiento para la determinación de actividad metanogénica de fangos, biodegradabilidad de muestras sólidas y líquidas y toxicidad/inhibición de compuestos.**

(57) Resumen:
Equipo y procedimiento para la determinación de actividad metanogénica de fangos, biodegradabilidad de muestras sólidas y líquidas y toxicidiad/inhibición de compuestos.
Equipo y procedimiento para la determinación de los parámetros que rigen el diseño y operación de procesos biológicos anaerobios. El sistema se basa en seguir la producción de metano, utilizando un transductor que mide la presión en una cámara de recogida de gas, de volumen conocido y variable a voluntad, y que es independiente de la cámara donde transcurre el proceso biológico de formación de biogás. La evolución de la presión generada por la acumulación de metano se transforma en evolución de la DQO respecto al tiempo. Así pueden determinarse actividad metanogénica de fangos, biodegradabilidad de muestras sólidas y líquidas y toxicidad/inhibición de compuestos. El equipo permite sacar e introducir muestras líquidas, sin perderla anaerobiosis, y tomar muestras de gas.



ES 2 268 925 B1

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 37.3.8 LP.

Venta de fascículos: Oficina Española de Patentes y Marcas. Pº de la Castellana, 75 – 28071 Madrid

DESCRIPCIÓN

Equipo y procedimiento para la determinación de actividad metanogénica de fangos, biodegradabilidad de muestras sólidas y líquidas y toxicidad/inhibición de compuestos.

Equipo automatizado para la determinación de los parámetros que rigen el comportamiento de sistemas biológicos anaerobios aplicados al tratamiento o a la valorización energética de fracciones líquidas y/o sólidas de origen urbano e industrial, para la obtención de biogás.

Objeto de la invención

La digestión de materia orgánica en condiciones anaerobias conduce a la formación de biogás, mezcla de metano y dióxido de carbono. Este proceso biológico se aplica a nivel industrial tanto a la depuración de aguas residuales urbanas e industriales, como al tratamiento de residuos sólidos, destacando por su nivel de implantación los digestores que tratan biosólidos producidos en sistemas aerobios de depuración de aguas residuales, residuos agrícolas y ganaderos y la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos.

Desde un punto de vista práctico existen diferentes parámetros: (1) Actividad metanogénica de fangos anaerobios. (2) Biodegradabilidad anaerobia de muestras sólidas o líquidas. (3) Inhibición o toxicidad provocada por sustancias presentes o añadidas, de cuyo conocimiento y cuantificación depende el correcto diseño, operación y mantenimiento de las instalaciones de digestión anaerobia.

El objetivo de la invención es la medida de forma automatizada de la actividad metanogénica, de la biodegradabilidad anaerobia y de la toxicidad/inhibición, en procesos biológicos anaerobios.

Antecedentes de la invención

El proceso biológico anaerobio de transformación de la materia orgánica transcurre a través de una secuencia complicada de transformaciones bioquímicas que pueden representarse mediante un esquema de reacciones serie-paralelo, en las que intervienen diferentes familias de microorganismos especializados. En último término la representación más simplificada del proceso puede realizarse considerando únicamente la materia orgánica original y los productos finales. En todos los casos el producto final es el llamado biogás, mezcla mayoritaria de metano y dióxido de carbono, que en función de la composición de la materia orgánica puede ir acompañada de pequeñas concentraciones de sulfuro de hidrógeno e hidrógeno. Como productos intermedios del proceso de degradación de moléculas orgánicas complejas se forman Ácidos Grasos Volátiles (AGV), cuya acumulación es síntoma inequívoco de mala operación.

De acuerdo con este esquema y aceptando que la materia orgánica a degradar fuese un monosacárido, el proceso quedaría descrito por la reacción química:

$$(CH_2O)_n \rightarrow (AGV) \rightarrow (n/2)\, CH_4 + (n/2)\, CO_2$$

El dióxido de carbono es soluble en la masa de reacción, transformándose en bicarbonato, siguiendo un equilibrio químico controlado por temperatura, presión y pH. De esta forma una fracción del dióxido de carbono desaparece de la fase gas, provocando errores en la cuantificación del proceso.

En la práctica, el desarrollo del proceso puede evaluarse siguiendo la evolución de la cantidad de biogás producido. De hecho, todos los sistemas experimentales actualmente utilizados tienen este fundamento, que puede considerarse como respirometría con seguimiento del producto de reacción. En función de la forma de determinar la producción de biogás las técnicas de medida de los parámetros de la digestión anaerobia, pueden clasificarse en: (1) Sistemas volumétricos y (2) Sistemas manométricos.

Los sistemas volumétricos cuantifican la cantidad de gas producida midiendo el volumen de gas producido en un determinado intervalo de tiempo. En este caso los medidores de volumen pueden ser del tipo probeta invertida sumergida en un líquido; tipo Mariotte, en el que el biogás desplaza un líquido cuyo volumen se mide; o recipientes comunicados que se llenan y vacían por efecto sifón o mediante electro válvulas. En todos los casos jugando con el pH del líquido utilizado, el CO_2 formado puede absorberse, de forma que el medidor determine únicamente la cantidad de CH_4 producida. El principal inconveniente de estos sistemas, es que obligan a realizar lecturas visuales, en tiempos determinados, con la consiguiente limitación en horarios nocturnos y de fin de semana.

Los sistemas manométricos comerciales derivan de los equipos de medida de la DBO_5. El recipiente en el que transcurre el proceso biológico anaerobio, se llena parcialmente de la masa de reacción, quedando una zona superior inicialmente llena de aire, que se elimina mediante lavado con gas inerte (N_2 o He). Los datos de presión suministrados por el manómetro situado en la zona superior, permiten calcular la producción de biogás, utilizando la ley de los gases ideales. El sistema puede automatizarse y ofrecer lecturas en continuo de la evolución de la producción de biogás. Los principales inconvenientes del sistema son: (1) Es preciso eliminar el oxígeno, con el consiguiente consumo de tiempo y dinero. (2) No permite determinar la cantidad de metano, sino la mezcla metano - dióxido de carbono. (3) El

pequeño volumen relativo de la cámara de gas conduce a presiones elevadas, aumentando la concentración de dióxido de carbono disuelto y falseando la relación presión - volumen de biogás producido. (4) Los sistemas comerciales no permiten la toma de muestras líquidas para realizar análisis de Ácidos Grasos Volátiles (AGV). (5) Los sistemas comerciales no permiten la toma de muestras gaseosas.

Descripción de la invención

Para lograr el objetivo propuesto y para eliminar los inconvenientes de los sistemas respirométricos actualmente empleados el sistema que se propone y que se representa en la figura 1 consta de: (1) Reactor, en el que transcurre el proceso de digestión anaerobia que quiere estudiarse. La masa en reacción ocupa la práctica totalidad del volumen del recipiente, de modo que el volumen de la zona superior, ocupado inicialmente por aire es despreciable, lo que permite evitar la etapa de eliminación de oxígeno por lavado con gas inerte. (2) Agitador magnético, para conseguir una buena homogeneización de la masa en reacción. (3) Baño o cámara de termostación, para mantener una temperatura de reacción adecuada. (4) Toma de muestras líquidas, lo que permite seguir la evolución de los Ácidos Grasos Volátiles (AGV). (5) Toma de muestras de la fase gaseosa, equipado con "septum", lo que permite analizar la composición actual del biogás que se produce. (6) Recipiente de recogida de gas de volumen conocido. El gas sale a través de un difusor de burbuja fina y atraviesa el líquido. Utilizando una disolución de NaOH como líquido de absorción, la fase gaseosa queda constituida únicamente por metano. (7). Transductor de presión que mide, en tiempos prefijados, la presión de metano en el recipiente. (8) Sistema de adquisición de datos (9) Ordenador personal, que registra, almacena y trata los datos ofreciendo curvas de evolución temporal e informes finales con valores de los parámetros.

La expresión utilizada en el cálculo de la producción de metano es:

$$V = K * (P_f - P_i)$$

donde P_f y P_i son las lecturas de presión final e inicial, y K es el factor de calibración que permite el cálculo del volumen a partir de estos valores. El valor de K se ha determinado experimentalmente y teóricamente para cada conjunto digestor-frasco colector-transductor de presión, obteniéndose diferencias menores del 1%. A su vez los valores de producción de metano se pueden relacionar con la DQO eliminada mediante factores de conversión anaerobios, 1 g de DQO equivale a 350 ml de metano en condiciones normales. La actividad del lodo se calcula a partir de la siguiente expresión:

$$ACT = R / F \cdot V \cdot SV$$

donde R = es la velocidad de producción de metano (ml CH_4/d), F = Factor de conversión (ml CH_4/g DQO), V = Volumen de líquido en el digestor (l) y SV concentración de lodo en el digestor (g SV/l). La velocidad de producción de metano se calcula a partir de la pendiente de la curva resultante de la representación del metano acumulado frente al tiempo. El intervalo que ha de utilizarse es el pendiente máxima, teniendo en cuenta que el periodo seleccionado debe cubrir al menos el 50% de la producción total de biogás.

Breve descripción de los dibujos

Figura 1: Equipo para la determinación de parámetros anaerobios.

(1) Reactor. (2) Agitador magnético. (3) Cámara termostática. (4) Toma de muestras liquidas. (5) Toma de muestras de la fase gaseosa. (6) Recipiente de recogida de gas, relleno con disolución de NaOH. (7). Transductor de presión. (8) Sistema de adquisición de datos (DAS). (9) Ordenador personal.

Figura 2: Ensayo de actividad metanogénica de un lodo anaerobio.

1a, 1b, 1c Ensayo de actividad por triplicado. 2 Blanco o ensayo de referencia.

Figura 3: Ensayo de biodegradabilidad anaerobia de un efluente industrial. 1a, 1b Ensayo de biodegradabilidad por duplicado. 2 Blanco o ensayo de referencia.

Figura 4. Ensayos de inhibición metanogénica.

1 Ensayo sin inhibidor. 2 Ensayo con concentración de inhibidor 5.0 mg/l. 3 Ensayo con concentración de inhibidor 7.5 mg/l. 4 Ensayo con concentración de inhibidor 15.0 mg/l.

Figura 5. Tabla con los resultados del ensayo de inhibición.

Descripción de ejemplos de realización de la invención

(1). *Determinación de la actividad metanogénica de un fango*

El procedimiento seguido en la preparación de los ensayos de actividad es el siguiente. (1) Adicionar disoluciones de nutrientes, reductora y reguladora del pH. (2) Añadir la cantidad de fango para obtener una concentración en torno a 5 g SV o SSV/l (3) Tomar un volumen de la disolución de ácidos grasos volátiles para obtener una concentración final en el digestor de 5 g DQO_{AGV}/l. Neutralizar esta muestra con NaOH antes de añadirla al digestor. (4) Rellenar el digestor con agua hasta un poco más de la marca e introducir en los frascos colectores de gas la disolución alcalina (15 g/l NaOH) hasta la marca. (5) Ajustar el pH del contenido del digestor a pH en torno a 7,0 - 7,2. (6) Cerrar digestores y colocarlos junto a los colectores del gas en los baños térmicos. Dejar una media hora hasta que alcancen la temperatura de ensayo (35°C). (7) Tomar muestra inicial, dejando lleno el digestor hasta el nivel de la marca. (8) Realizar las conexiones entre ambos frascos y la configuración del programa de toma de datos. Fijar valores de presión iniciales a cero y poner en marcha la agitación magnética.

Los ensayos pueden realizarse por duplicado, preparándose un blanco (ensayo sin sustrato) por cada muestra a analizar. Para contrastar la precisión y repetibilidad del método y equipo propuestos, se han realizado ensayos de actividad metanogénica de lodos procedentes de distintas industrias (papel, cerveceras, azúcar, etc.) obteniéndose valores entre 0,10-1,50 g DQO/g SSV. d. La figura 2 muestra los resultados experimentales de un ensayo realizado por triplicado (líneas 1a, 1b y 1c), la línea inferior (línea 2) corresponde al ensayo en blanco. El valor final de la actividad metanogénica del lodo ensayado son 0,45 ± 0,01 g DQO/g SSV. d.

(2). *Determinación de la biodegradabilidad de una muestra*

El procedimiento seguido es similar al de los ensayos de actividad metanogénica, con la única salvedad de que el sustrato añadido no es una mezcla de ácidos grasos volátiles, sino la propia sustancia cuya biodegradabilidad se quiere determinar. (1) Adicionar disoluciones de nutrientes, reductora y reguladora del pH. (2) Añadir la cantidad de fango para obtener una concentración en torno a 5 g SSV/l, y la cantidad de sustrato a biodegradar necesaria para alcanzar la relación fango/sustrato deseada. (3) Rellenar hasta un poco más de la marca con agua y llenar los frascos colectores de gas hasta la marca con la disolución alcalina (15 g/l NaOH). (4) Ajustar el pH de los digestores a un valor 7,0-7,2 (5) Cerrar digestores y colocarlos junto a los colectores del gas en los baños térmicos. Dejar una media hora hasta que alcancen la temperatura de ensayo (35°C). (6) Tomar muestra inicial, dejando lleno el digestor hasta el nivel de la marca. (7) Realizar las conexiones entre ambos frascos y la configuración del programa de toma de datos. Fijar valores de presión a cero y poner en marcha la agitación magnética. (8) Los ensayos de biodegradabilidad realizados han reportado valores de biodegradabilidad entre el 20-90%. Los ensayos se han hecho por duplicado con un blanco por cada muestra. La figura 3 muestra los resultados experimentales de un ensayo realizado por duplicado (líneas 1a y 1b), la línea inferior (línea 2) corresponde al ensayo en blanco. Para una DQO inicial de la sustancia de 22,9 g/L, la DQO eliminada calculada a partir de la producción de metano es de 19,2 g/L, con lo que la biodegradabilidad resulta ser del 84%.

(3). *Determinación de la inhibición/toxicidad*

La preparación de este tipo de ensayos es igual que la de los ensayos de actividad, diferenciándose de estos en la adición de sustancia inhibidora. (1) Adicionar disoluciones de nutrientes, reductora y reguladora del pH. (2) Añadir la cantidad de fango para obtener una concentración en torno a 5 g SV o SSV/l (3) Preparación de la disolución sustrato. Tomar un volumen de la disolución AGV para obtener una concentración final en el digestor de 5 g DQO/l. Neutralizar la con NaOH antes de añadirla al digestor. (4) Añadir la cantidad sustancia inhibidora para 5 obtener la concentración elegida. (5) Rellenar con agua del grifo hasta un poco más de la marca del digestor. Rellenar frascos colectores de gas con disolución alcalina (15 g/l NaOH) hasta la marca. (6) Ajustar el pH de los digestores (7) Cerrar digestores y colocarlos junto a los colectores del gas en los baños térmicos. Dejar una media hora hasta que alcancen la temperatura de ensayo (35°C). (8) Tomar muestra inicial, dejando lleno el digestor hasta el nivel de la marca. (9) Realizar las conexiones entre ambos frascos y la configuración del programa de toma de datos. Fijar valores de presión a cero y poner en marcha la agitación magnética.

En la figura 4 se representan los datos de un ensayo de inhibición/toxicidad anaerobia, utilizando diferentes concentraciones de sustancia inhibidora, mientras la tabla 1 ofrece los valores de inhibición calculados.

Diferencias respecto a otros sistemas

Respecto a los sistemas de medida volumétricos la invención presenta las ventajas de: (1) Automatización, que elimina la presencia física del operador durante la realización de las medidas. (2). Medida en continuo, permitiendo detectar el momento en el que aparecen problemas de operación. (3). Obtención de gráficas de evolución y valores finales, sin necesidad de realizar cálculos matemáticos.

Respecto a otros sistemas manométricos, que utilizan la medida de la presión para determinar la producción de biogás, y que *a priori* pudieran parecer semejantes, las diferencias son muy evidentes. En los sistemas comerciales existe un único recipiente, con zonas de líquido y gas, en la zona de líquido se realiza el proceso biológico y en la parte superior, ocupada por la fase gaseosa, se mide la presión. En la invención ambas zonas de líquido y gas se encuentran

perfectamente diferenciadas en recipientes distintos, circunstancia de la que derivan las siguientes diferencias conceptuales y de operación. (1) Dado el volumen despreciable de la zona inicialmente ocupada por aire, en la invención no es necesario eliminar el oxígeno, mientras que en los sistemas existentes es preciso lavar con gas inerte, consumiendo tiempo y dinero. (2) Como la cámara de recogida de gas tiene un volumen elevado en comparación con el volumen de masa de reacción, en la invención es posible tomar muestras líquidas, para realizar seguimiento de evolución de pH, AGV u otros estudios complementarios. (3) El sistema de toma de muestras líquidas puede utilizarse para introducir sustancias líquidas o en disolución, cuyo efecto inhibidor o tóxico quiera estudiarse, sin romper las condiciones de anaerobiosis existentes, mientras que en los sistemas actuales es preciso abrir el reactor rompiendo las condiciones anaerobias y desequilibrando el sistema. (4) Como el biogás producido se conduce del recipiente de reacción al de recogida de gas, es posible tomar muestras de biogás y así proceder a su análisis cuantitativo. (5) El volumen de la cámara de recogida de gas puede variarse, modificando el volumen de líquido y en consecuencia trabajar dentro de un intervalo de sobrepresión moderado, mientras que los sistemas actuales están limitados por el volumen de la cámara de gas. (6) En el caso de aumento excesivo de la presión, por producción de biogás superior a la prevista, es posible vaciar la cámara de recogida de biogás recuperando una presión baja y realizando secuencias escalonadas, seguir la evolución del proceso total. Los sistemas actuales no tienen conexión con la atmósfera y no permiten este control de presión. (7) Gracias al sistema de separación de cámaras propuesto en la invención, utilizando una disolución cáustica es posible absorber el dióxido de carbono formado, con lo que la medida de presión se relaciona sólo con el metano producido, eliminando la imprecisión en el resultado ofrecido por los sistemas actuales, derivada de la medida conjunta de metano y dióxido de carbono. (8) Los datos de presión medidos por el transductor son trasladados en continuo al ordenador, que los almacena y trata, ofreciendo gráficas de evolución que permiten actuar con celeridad frente a posibles anomalías.

REIVINDICACIONES

1. Equipo para la determinación de actividad metanogénica de fangos, biodegradabilidad de muestras sólidas y líquidas y toxicidad/inhibición **caracterizado** porque sigue la extensión del proceso en función de la cantidad de biogás producido, que se cuantifica a partir de la medida en continuo de la presión (7) en un recipiente (6) de recogida de gas, de volumen variable. El recipiente (6) puede llenarse con solución alcalina para disolver el dióxido de carbono y el sulfuro de hidrógeno y así recoger únicamente el metano formado en el proceso biológico, existiendo una relación directa entre metano recogido y aumento de presión. El recipiente (6) es independiente y está conectado al recipiente (1), donde se realiza el proceso biológico de digestión. El recipiente (1) está provisto de toma de muestras líquidas y la unión de los recipientes (1) y (6) está equipada con toma de muestras de la fase gaseosa. El recipiente (1) tiene un volumen de zona gaseosa despreciable frente al volumen de la zona de reacción, circunstancia que elimina la necesidad de purgar el oxígeno inicialmente presente en el sistema.

2. Procedimiento para la determinación de actividad metanogénica de fangos, biodegradabilidad de muestras sólidas y líquidas y toxicidad/inhibición, **caracterizado** porque se basa en cuantificar la producción de biogás o de metano en función de la medida de la presión en un recipiente (6) independiente del reactor biológico (1).

3. Uso del equipo y procedimiento según las reivindicaciones 1 y 2, para la realización de ensayos biológicos en condiciones anaerobias.

4. Uso del equipo y procedimiento según las reivindicaciones 1 y 2, para la determinación de actividades metanogénicas, acidogénicas o hidrolíticas en sistemas biológicos anaerobios.

5. Uso del equipo y procedimiento según las reivindicaciones 1 y 2, para la determinación de biodegradabilidad anaerobia de muestras sólidas y/o líquidas.

6. Uso del equipo y procedimiento según las reivindicaciones 1 y 2, para la realización de ensayos de toxicidad/inhibición en sistemas anaerobios.

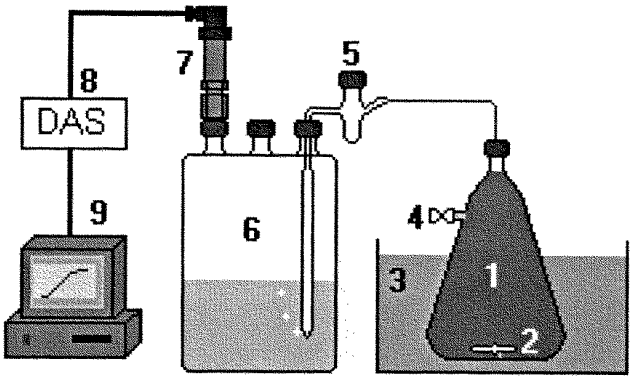


Figura 1. Equipo para la determinación de parámetros anaerobios.

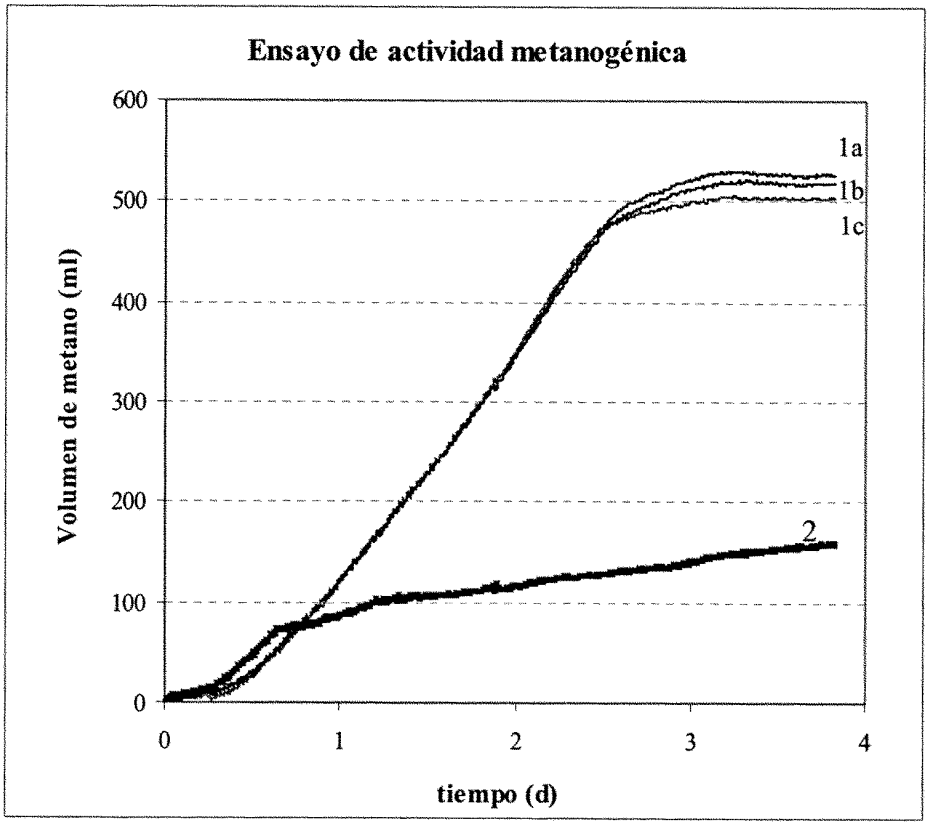


Figura 2

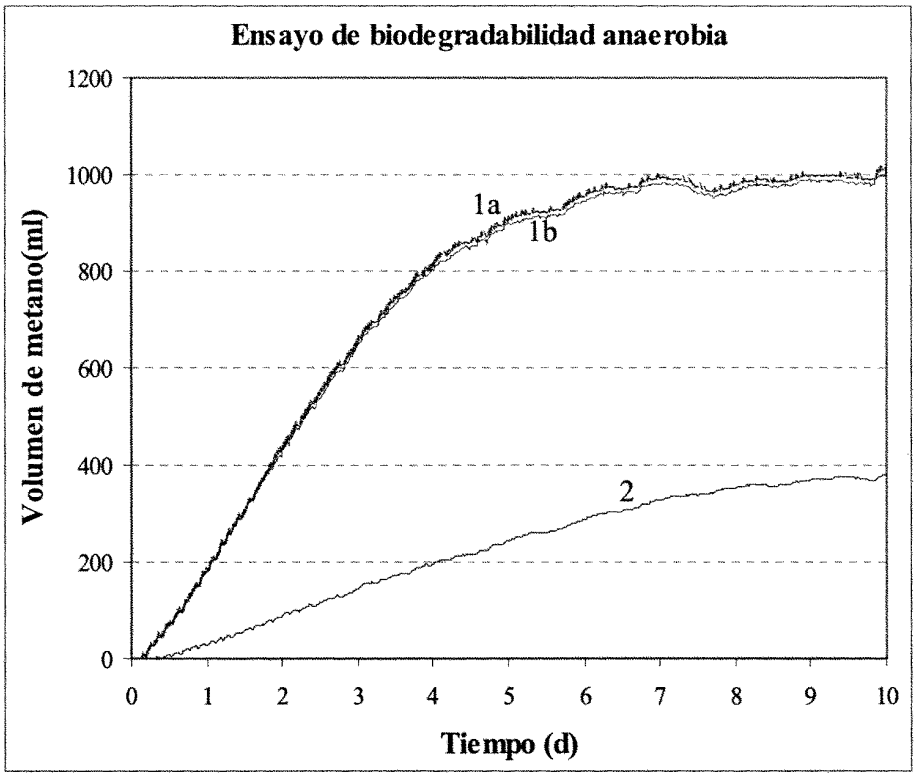


Figura 3.

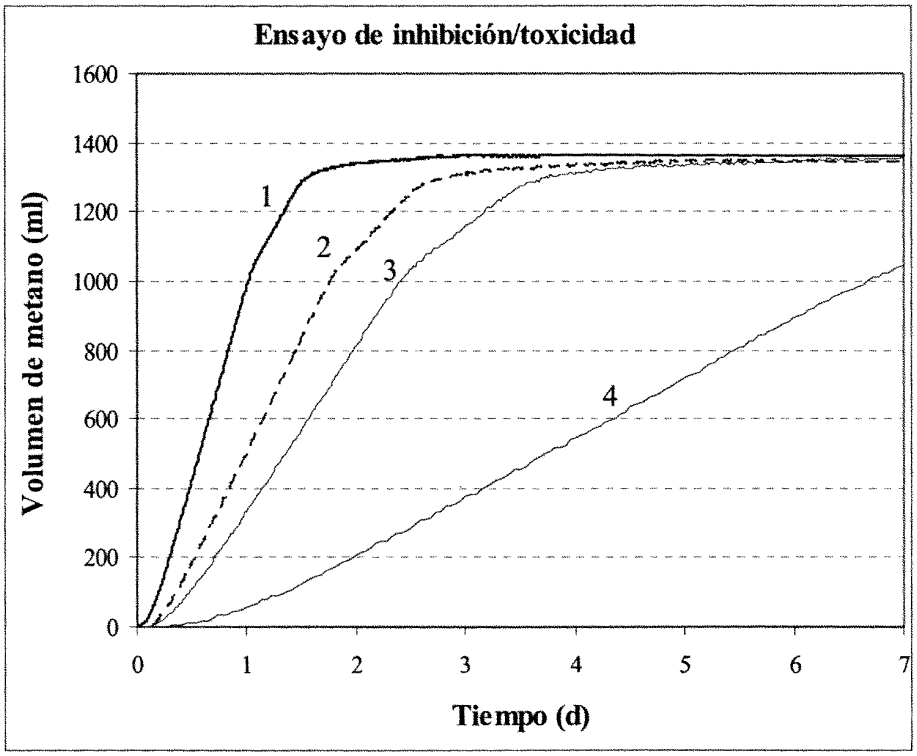


Figura 4.

Línea	Inhibidor	Actividad	% Inhibición
--	mg/l	g DQO/gSV d	%
1	0,0	0,97	0
2	5,0	0,56	42
3	7,5	0,41	58
4	15,0	0,15	85

Figura 5

OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) ES 2 268 925

(21) Nº de solicitud: 200400626

(22) Fecha de presentación de la solicitud: **08.03.2004**

(32) Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

(51) **Int. Cl.:** ***G01N 33/00*** (2006.01)
C02F 3/28 (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	WO 9311421 A1 (WIVENHOE TECHN LTD) 10.06.1993, todo el documento.	1-6

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia
Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría
A: refleja el estado de la técnica
O: referido a divulgación no escrita
P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud
E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

☒ para todas las reivindicaciones ☐ para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe	Examinador	Página
20.02.2007	Fco. J. Haering Pérez	1/1