

# CARACTERIZACION MICROBIOLOGICA DE AGENTES METANOGENICOS SOBREPRODUCTORES DE BIOMETANO EN CONDICIONES TERMOFILICAS PARA LODOS DE TENERIA

Cuevas Pardo Blanca Eugenia (1), León Galván Fabiola (2), Vargas Gutiérrez Santiago (2), Serafín Muñoz Alma Hortensia (1), Magaña Pérez Pablo (3)

1 [Licenciatura en Ingeniería Ambiental, Universidad de Guanajuato] | Dirección de correo electrónico: [blancacupa@gmail.com]

2 [Departamento de Ingeniería Civil, División de Ingenierías, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato] | Dirección de correo electrónico: [sermuah@ugto.mx]

3 [Cámara de la Industria de Curtiduría del Estado de Guanajuato]

## Resumen

La problemática ambiental que causan las tenerías en la zona de León Guanajuato se ha agravado con el paso de los años, causando grandes impactos ambientales en el medioambiente como en la salud de la población de León. La gestión de los residuos sólidos provenientes de las tenerías como los efluentes generados en las mismas no son regulados de forma estricta. Sin embargo la CICUR en colaboración con la Universidad de Guanajuato propusieron un proyecto para el tratamiento de lodos provenientes de las curtidurías a través de un sistema de biodigestores, con la finalidad de generar biogás para producir energía eléctrica y así controlar la contaminación que las mismas tenerías de la región generan. En el presente trabajo se realizó un análisis de muestras proporcionadas por la CICUR en donde se realizaron pruebas que muestran las variaciones en volumen de producción de gas en condiciones termofílicas, tomando en cuenta pH, sin embargo el propósito del presente trabajo fue el aislamiento e identificación de bacterias metanogénicas presentes en los lodos de tenerías bajo condiciones termofílicas de operación, probando su eficiencia en la producción de biogás en contra de las condiciones mesofílicas de operación.

## Abstract

The environmental problems caused by tanneries in the area of Leon Guanajuato have increased over the years, causing major environmental impacts in the environment and the population's health of Leon. The management of solid waste from tanneries as the effluents generated in them is not strictly regulated. However CICUR in collaboration with the University of Guanajuato proposed a project for the treatment of sludge from tanneries through a biodigesters system, in order to generate biogas to produce electricity and thus controlling the pollution generated in the region. In this paper an analysis of samples provided by the CICUR is presented, where evidence show variations in volume of gas production in thermophilic conditions, taking into account pH, but the main purpose on the paper is the isolation and identification of methanogenic bacteria in tannery sludge under thermophilic operating conditions against mesophilic operating conditions.

## Palabras Clave

Biodigestor; Lodos; Biogás; Inóculo, bacterias metanogénicas.

## INTRODUCCIÓN

Actualmente el estado de Guanajuato juega un papel muy importante en la industria curtidora, siendo la ciudad de León la productora de aproximadamente dos tercios de piel de todo el país. La mayoría es usada para la fabricación de zapatos. Se estima que León cuenta con un aproximado de 1,200 tenerías.

Sin embargo las tenerías de la ciudad tienen severos impactos ambientales.

Históricamente las tenerías de la zona han descargado efluentes sin previo tratamiento directamente en aguas residuales municipales para ser después descargados en el Río Gómez, el cual es contribuyente al río Turbio. Los principales contaminantes provenientes de las tenerías son sales (usados para preservar los cueros crudos); diferentes compuestos químicos de sulfuro (usados para la remoción de pelo en las pieles); cromo III (usado para hacer cueros biológicamente inertes); sólidos disueltos y suspendidos; y residuos sólidos impregnados con químicos de tenería. La contaminación por tenerías ha afectado la superficie y aguas subterráneas y dañado la tierra destinada para la agricultura a lo largo de muchos años.<sup>[1]</sup>

Las regulaciones ambientales junto con la legislación ambiental son débiles ante la problemática ambiental que se presenta en la zona a causa de esta industria. La falta de infraestructura física en conjunto con el tratamiento de agentes tóxicos y residuos sólidos en la industria de la curtiduría son relativamente escasos. Por si no fuera poco las regulaciones no son forzadas en muchos de los casos, esto se debe a que las tenerías juegan un papel económico muy importante para la zona, lo cual muchas veces se le da prioridad a la parte económica sobre la ambiental.

Los esfuerzos para controlar la contaminación por tenerías en León comenzaron en Julio de 1987 cuando los representantes de las curtidurías firmaron un acuerdo de manera voluntaria para alcanzar la concordancia con las regulaciones ambientales establecidas en un periodo de 4 años. Sin embargo en 1991 era aparente que los curtidores no habían tomado acciones al respecto, el acuerdo fue renegociado. En Octubre de 1991 la ciudad de León se comprometió a construir una planta de tratamiento de efluentes para residuos biológicos y una facilidad para el manejo de residuos sólidos y peligrosos, con un plazo de 3 años para cumplir con estas instalaciones. Para el fin de este periodo aún no se había llevado a cabo la construcción de estas facilidades y las tenerías no habían hecho progresos para reducir sus descargas. En Junio del 1995 un tercer acuerdo fue renegociado y un cuarto acuerdo en Marzo de 1997. Ninguno de estos esfuerzos produjo un progreso concreto en el tratamiento de residuos industriales provenientes de curtidoras.

Actualmente la excepción ha sido la Cámara de la Industria de Curtiduría del Estado de Guanajuato (CICUR), una de las Cámaras más antiguas del Estado, la cual es la principal organización encargada de las negociaciones entre los curtidores de León. Esta se ha encargado de promulgar y fortalecer las regulaciones para el control de la contaminación, promoviendo cambios a tecnologías limpias.

En el 2012 como ejemplo en las mejoras tomadas por parte de la CICUR, en conjunto con la Universidad de Guanajuato establecieron un convenio para la transferencia de tecnología, en un proyecto para el tratamiento de lodos que genera esta actividad industrial en el municipio de León. Con tal convenio se busca construir un sistema de biodigestores en el parque de Lodos de la CICUR, con el objetivo de convertir los residuos sólidos de las industrias curtidoras en biogás para generar energía eléctrica a bajo costo y con alto rendimiento.

- Digestión Anaerobia.

En el proceso de digestión anaerobia la temperatura influye no solo en las bacterias productoras de metano sino también en las bacterias productoras de ácidos. Las fluctuaciones de temperatura pueden ser favorables para diferentes grupos de bacterias y desfavorables para otras.<sup>[2]</sup> Cada estado de biodigestión es independiente y por lo tanto se requieren condiciones de operación independientes. Existen varios grupos de bacterias metanogénicas, que se diferencian entre si por su morfología. Pueden desarrollarse a temperaturas que van desde 38 °C a 75 °C y su afinidad al Gram es variable.<sup>[3]</sup> Su metabolismo se caracteriza por integrar las vías biosintéticas y bioenergéticas para la producción de ATP. En condiciones anaerobias, oxidan compuestos para la obtención de electrones. Estas bacterias nos permiten ser empleadas en diferentes procesos biotecnológicos en sistemas anaerobios; como componente de biorreactores para descomposición de basura orgánica u otros procesos por actividades antropogénicas, como es el caso de lodos provenientes de la curtiduría.

La actividad metanogénica específica (AME) nos permite cuantificar la máxima capacidad de producción de metano por grupo de microorganismos presente en lodos anaerobios.<sup>[4]</sup> Además es usada en el monitoreo de la calidad de lodo en reactores anaerobios, evalúa el comportamiento de biomasa contaminada y determina la carga orgánica máxima que puede aplicarse a un sistema, con el fin de examinar la degradabilidad de los sustratos y la posibilidad de selección de inóculos. Debido a lo anterior, en el presente trabajo específicamente para la metanogénesis se busca determinar las condiciones óptimas para la mayor eficiencia de producción de biogás en condiciones termofílicas (55 °C) y el posterior aislamiento de bacterias metanogénicas presentes en las muestras para su caracterización. Esto con el fin de contribuir al tratamiento de los lodos por medio de la biorremediación dentro del proceso de la curtiduría, así como el aprovechamiento de los

residuos para la generación de energía eléctrica a bajo costo.

Tabla 1: Monitoreo de condiciones termofílicas en el birreactor

Fecha	Día	Temperatura (°C)	Volumen (ml)	pH
09/06/15	0	34.5	0	7.40
10/06/15	1	35.7	0	7.12
12/06/15	3	47	0	6.89
16/06/15	7	50.2	0	6.73
17/06/15	8	55.4	1220	6.94
18/06/15	9	54.3	630	6.95
19/06/15	10	55.2	320	6.94
22/06/15	13	53.3	630	6.83
23/06/15	14	35.7	490	7.04
24/06/15	15	47.1	660	7.01
25/06/15	16	52.4	830	7.01
29/06/15	20	51.3	590	7.14
30/06/15	21	54.5	590	7.11
01/07/15	22	54.4	840	7.10
02/07/15	23	52	690	7.08
03/07/15	24	51.2	620	7.20
07/07/15	28	54.4	1160	7.27
08/07/15	29	54.5	990	7.22
14/07/15	35	54.2	760	7.11
15/07/15	36	54.3	630	7.19



Figura 1: Diagrama general de la metodología empleada

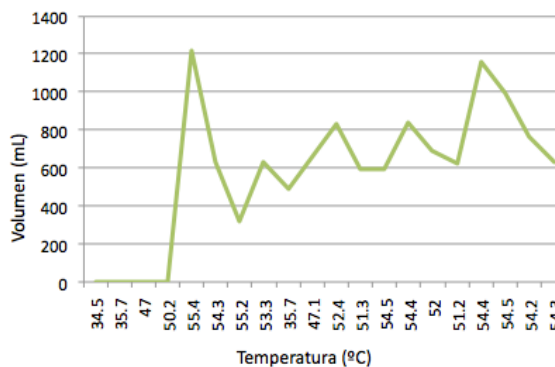
## MATERIALES Y MÉTODOS

Se montó un biorreactor de capacidad de 20 L, en el cual se colocaron las muestras provenientes de la CICUR para su posterior arranque, monitoreo y análisis. Se me proporcionaron dos muestras para montar el biorreactor por parte de la CICUR, una de entrada y otra de salida en el biorreactor que se maneja dentro de la planta de la CICUR.

Durante todo el tiempo de arranque y monitoreo del biorreactor se consideraron condiciones de operación tales como: pH, temperatura, volumen de gas producido por unidad de tiempo, volumen de gas producido de acuerdo con variaciones de pH y temperatura. Durante el tiempo de funcionamiento se notaron variaciones en la producción de gas bastante notables debido a la temperatura externa, el clima fue un factor que afectó el biorreactor durante su funcionamiento. El tiempo de adaptación de las bacterias dentro del biorreactor fue un factor que demoró bastante para la producción de biogás. Cada día se tomó muestras del biorreactor desde el montaje hasta el último día de experimentación. Una vez que se contaban con las muestras se realizaron dos diluciones para cada muestra. Para el caso de la entrada fueron diluciones 1:100 y 1:1000 y en el caso de la salida también una de 1:100 y 1:1000. Debido a las dificultades de aislamiento por la cinética de crecimiento acelerada de las bacterias termofílicas se realizó un monitoreo continuo para determinar el tiempo óptimo de crecimiento para su análisis, este crecimiento tan acelerado muestra una evidencia de que la producción de biogás bajo estas condiciones es mayor que en condiciones mesofílicas. De igual forma muestra que la temperatura es un factor importante para la degradación de la materia orgánica.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación se muestran algunos de los resultados obtenidos:



Gráfica 1: Variaciones de producción de gas en condiciones termofílicas

Para el crecimiento de bacterias, en el caso de la entrada se identificaron morfológicamente 17 colonias diferentes, y para su posterior aislamiento fue necesario llevar a cabo la incubación en diferentes tiempos, ya que al principio se llevó a cabo a 24 horas y los resultados mostraron que el crecimiento era demasiado acelerado, el procedimiento se repitió con 20, 12 y 8 horas. A las 8 horas se observó que el crecimiento en las muestras de entrada del biorreactor seguía teniendo un crecimiento demasiado acelerado. Por cuestiones de tiempo no se pudo hacer una quinta prueba. Se propone continuar con las pruebas de incubación con tiempos menores a las 8 horas para determinar el mejor tiempo para el crecimiento de las bacterias a 55°C. En el caso de las muestras de salida se observó que el mejor tiempo. Para la identificación morfológica y bioquímica de los microorganismos aislados, se observaron estos al microscopio

## CONCLUSIONES

La producción de gas bajo condiciones termofílicas se da de manera más acelerada que en condiciones mesofílicas, esto debido a que la temperatura afecta de forma positiva la degradación de la materia orgánica de forma considerable, la estandarización de tiempos de incubación es un factor crucial para conocer la cinética de crecimiento de las bacterias dentro del biorreactor y así poder llevar a cabo el aislamiento e identificación de las mismas. La estandarización

de los tiempos de incubación también proporcionan información importante sobre los procesos que se llevan a cabo dentro del biorreactor y que bacterias específicamente llevan a cabo estos procesos y en qué medida. Sin embargo los costos de operación en condiciones termofílicas pueden variar considerablemente, aumentando los costos de mantenimiento de forma considerable, por lo cual se necesitaría hacer un estudio más detallado de la factibilidad económica con un sistema de biorreactores bajo estas condiciones.

En base a referencias se concluyó que se trata de microorganismos Gram negativas y por su morfología y dichas bibliografías pudieran ser del dominio Archea, esto se confirmara con otro trabajo realizado al par mediante biología molecular.

## AGRADECIMIENTOS

A la Cámara de la Industria de la Curtiduría del Estado de Guanajuato por depositar la confianza en el manejo de las muestras para la realización de este proyecto y por darme la oportunidad de participar en el proyecto.

Al Campus Irapuato – Salamanca de la Universidad de Guanajuato por permitirme usar las instalaciones para la realización del mismo, con especial agradecimiento a la División de Ciencias de la Vida por darme todo el apoyo necesario a lo largo del proyecto.

## REFERENCIAS

- [1] Blackman, A. (2005). Adoption of Clean Leather-Tanning Technologies in Mexico. Resources for the Future,, p. 2-5.
- [2] Aguilar Álvarez, G. (2013). Control de temperatura y pH aplicado en biodigestores modulares de estructura flexible con reciclado de lodos a pequeña escala. Universidad Autónoma de Querétaro, p.1.
- [3] Acuña González, P. A., Ángel García, L. S., Borray Montoya, E., Constanza Corrales, L., Consuelo Sánchez, L., (2008). Aislamiento e identificación de microorganismos del género *Methanococcus* y

*Methanobacterium* de cuatro fuentes de Bogotá D.C. NOVA- Publicación Científica en Ciencias Biomédicas, 6(10), 157

[4] Pérez, A., (2010). Actividad Metanogénica Específica: Una herramienta de control y optimización de sistemas de tratamiento anaerobio de aguas residuales. Universidad del Valle, Cali, Colombia.

[5] Solano Rivas, O., Faith Vargas, M., Guillén Watson, R., (2009). Biodigestores: factores químicos, físicos y biológicos relacionados con su productividad. Tecnología en Marcha 23(1), 39-46.

Cámara de la Industria de la Curtiduría del Estado de Guanajuato (2015). Recuperado de <http://www.cicur.org>

Igeteo Redacción (2014). Sector curtidor nacional reconoce proyecto de UG con el premio "Saint Jordi". Recuperado de <http://www.igeteomx.info/2014/12/sector-curtidor-nacional-reconoce-proyecto-de-ug-con-el-premio-saint-jordi/>

Universidad de Guanajuato (2012). La UG y la CICUR transforman los lodos de la curtiduría en energía eléctrica y en bioabono de alta calidad. Recuperado de <http://www.ugto.mx/noticias/noticias/2575-la-ug-y-la-cicur-transforman-los-lodos-de-la-curtiduria-en-energia-electrica-y-en-bioabono-de-alta-calidad>