

Tesis de Maestría en Biotecnología

Facultad de Ciencias

Universidad de la República

# Producción de biohidrógeno a partir de residuos

Agosto de 2011

Estudiante: Ing. Quím. Verónica Perna

Orientador de Tesis: Dra. Claudia Etchebehere

Co- orientador de Tesis: Dra. Liliana Borzacconi

Laboratorio de Ejecución. Institución: Laboratorio de Efluentes. Departamento de reactores. Instituto de Ingeniería Química. Facultad de Ingeniería. UDELAR.

Cátedra de Microbiología. Facultad de Ciencias y Facultad de Química. UDELAR

Universidad de São Paulo- São Carlos- SP- Brasil.

## Resumen

Debido al agotamiento de las fuentes de energía derivadas del petróleo y a la búsqueda de tecnologías más limpias es de interés mundial la investigación y desarrollo de combustibles renovables. Entre éstos el hidrógeno promete ser la base de la futura matriz energética ya que su utilización no genera problemas de emisión de gases de efecto invernadero. Una de las formas de producir hidrógeno es utilizando bacterias anaeróbicas que fermentan sustratos ricos en carbohidratos dando como productos finales  $H_2$ ,  $CO_2$  y ácidos grasos volátiles. Mediante este proceso es posible obtener un producto con valor agregado a partir de materia orgánica de desechos (por ejemplo de efluentes industriales ricos en carbohidratos). Sin embargo, para que este proceso ocurra es necesario inhibir los procesos que consumen hidrógeno (como la metanogénesis y acetogénesis) y favorecer aquellas fermentaciones que produzcan hidrógeno.

El suero de queso ha constituido un tema de preocupación para el país en lo que refiere a su disposición. Se estima en 300 millones los litros de suero de quesería producidos anualmente en Uruguay. Si bien es un sustrato fácilmente biodegradable, su composición, caracterizada por una alta concentración de carbohidratos y baja capacidad buffer, determina que sea fácilmente acidificable presentando problemas de inestabilidad al aplicar sistemas anaerobios metanogénicos. Una solución a este problema sería realizar el tratamiento en dos etapas una acidogénica en la cual se puede producir hidrógeno y la siguiente metanogénica. El objetivo de este trabajo fue por lo tanto optimizar el proceso de obtención de hidrógeno a partir de suero de queso crudo generado en una industria láctea de nuestro país. Se estudiaron dos tipos de reactores con retención de células, un reactor UASB y un reactor de lecho fijo.

El reactor UASB fue inoculado con compost sin tratamiento térmico y alimentado con suero de queso crudo a dos cargas orgánicas, de 20 y 30 gDQO /Ld. Los intentos por aumentar la carga a 40 gDQO/Ld fueron fallidos debido a una caída abrupta del pH deteniéndose la producción de gas. La producción de hidrógeno fue muy variable, a la carga de 30 gDQO/Ld se constataron los mayores valores que fueron en promedio 0,8  $LH_2/Ld$ , alcanzando un valor máximo de 2  $LH_2/Ld$ . Con la misma carga orgánica, el rendimiento fue en promedio de 0,7 mol de hidrógeno/mol de lactosa llegando a un máximo de 1,9 mol de hidrógeno/mol de lactosa. Se detectaron principalmente ácido butírico y acético en el efluente, en una relación HAC: HBU de 0,4 en promedio.

Mediante técnicas de biología molecular (T-RFLP y clonado de genes del ARNr de 16S) se observó una comunidad microbiana cambiante dentro del reactor, con predominio de bacterias fermentadoras algunas de ellas productoras de hidrógeno (*Clostridium*, *Ruminococcus* y *Enterobacter*) y otros no hidrogenogénicos (*Dialister*, *Prevotella*, *Acetobacter*, *Bifidobacterium* y *Lactococcus*). Además se aislaron microorganismos productores de hidrógeno de los géneros *Klebsiella*, *Proteus* y *Enterobacter*, y no productores de los géneros *Enterococcus*, *Chryseobacterium*, *Leuconostoc* y *Pseudomonas*.

Para determinar el aporte de los microorganismos que entran al reactor con la alimentación se estudió la comunidad microbiana de una muestra del suero de queso crudo. Los resultados mostraron que el predominio de tres organismos afiliados a los géneros *Buttiauxella* (habitual contaminante de la leche) y *Streptococcus* (utilizado como starter en la producción de quesos). Estos organismos fueron detectados en muy baja proporción (menos de un 15%) en las muestras de biomasa del reactor tomadas durante la operación. Sin embargo, el continuo aporte de estos organismos con la alimentación podría ser una causa del bajo rendimiento en hidrógeno.

En la segunda parte de esta tesis se operó un reactor de lecho fijo inoculado con suero de queso crudo fermentado por tres días al aire y alimentado con suero de queso en polvo a tres cargas orgánicas de 20, 30 y 40 gDQO/Ld. El incremento en la carga orgánica y el ajuste del pH a valores encima de 5 tuvieron un efecto positivo en la producción de hidrógeno, llegando a valores promedios de 1,1  $LH_2/Ld$  y rendimiento de 0,9 mol de  $H_2$  por mol de lactosa a la máxima carga orgánica aplicada. La producción de hidrógeno fue

estable en toda la operación sin detectarse problemas de producción de metano, taponamiento del soporte o producción de alcoholes. Mediante T-RFLP y asilamiento se observó que la biomasa del reactor fue enriquecida en organismos fermentadores productores de hidrógeno (*Clostridium* y *Klebsiella*) y no productores de hidrógeno (*Enterococcus*, *Streptococcus*, *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Micrococcus* y *Lactobacillus*). Estos microorganismos pueden competir por el sustrato disminuyendo la eficiencia del proceso.

Para evaluar la proporción de bacterias productoras de hidrógeno en la comunidad se determinó el número de copias del gen de la Fe-Fe hidrogenasa/ngDNA mediante PCR en tiempo real. Esta proporción se incrementó durante la operación indicando un enriquecimiento de la comunidad en bacterias productoras de hidrógeno. La mayor proporción se obtuvo cuando la carga fue de 40 gDQO/Ld, coincidente con el incremento en la producción de ácido butírico e hidrógeno. Se detectaron genes de bacterias productoras de hidrógeno en todo el reactor pero en mayor proporción en las muestras de la biomasa suspendida extraídas del medio del reactor sugiriendo cierta estratificación de la biomasa.

Comparando la operación de ambos reactores, en el reactor de lecho fijo la operación fue más estable que en el UASB, si bien no se llegó a valores puntuales de producción de hidrógeno tan altos. Además tuvo mejor respuesta al incremento de carga lo que sería una ventaja en lo que respecta al tamaño de los reactores y ahorro de agua, lo que hace esta alternativa más económica. Si bien la producción de metano fue evitada en ambos reactores, se observa la presencia de microorganismos no productores de hidrógeno que compiten con el sustrato disminuyendo el rendimiento. Es necesario entonces más estudios para poder dilucidar las óptimas condiciones para que esta flora competidora se minimice.

En conclusión, el tratamiento de suero de queso en dos fases, con una fase acidogénica con producción de hidrógeno en un reactor UASB o un reactor de lecho fijo y otra fase metanogénica, es una alternativa viable para la aplicación a escala real que se debe estudiar más a fondo para mejorar la eficiencia.