



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 316 451**

51 Int. Cl.:

G01N 30/14 (2006.01)

C02F 11/04 (2006.01)

C02F 3/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **01944981 .8**

96 Fecha de presentación : **26.06.2001**

97 Número de publicación de la solicitud: **1307735**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **07.05.2003**

54

Título: **Un método y equipo para supervisar relaciones sintróficas en un fluido de proceso biológico.**

30

Prioridad: **29.06.2000 DK 2000 01013**

45

Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.04.2009

45

Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.04.2009

73

Titular/es: **BioGasol IPR A.p.S.**
Fruerhoej 43
2970 Hoersholm, DK

72

Inventor/es: **Pind, Peter, Frode y**
Ahring, Birgitte, Kiaer

74

Agente: **Ungría López, Javier**

ES 2 316 451 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Un método y equipo para supervisar relaciones sintróficas en un fluido de proceso biológico.

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a un método y un equipo para supervisar relaciones sintróficas en un fluido de proceso biológico. Más específicamente, se refiere a un método para supervisar las relaciones sintróficas entre diferentes partes del consorcio bacteriano en el fluido de proceso de una planta de procesos biológicos, tal como una planta de gas biológico o planta de tratamiento de aguas residuales y un equipo para uso en un método de este tipo.

Antecedentes de la invención

El incremento de la aplicación industrial de fluidos de procesos biológicos, tal como en el tratamiento de aguas residuales y en la producción de biogas, ha dado como resultado una necesidad de desarrollo de métodos fiables para la evaluación y control del proceso de digestión anaeróbico.

La supervisión del proceso requiere en primer lugar acceder a un parámetro adecuado que refleje el estado metabólico del proceso. En segundo lugar, se requiere un sistema que proporcione una determinación fiable de este parámetro del proceso con el fin de obtener un control eficiente, con el retraso más corto posible entre el fallo del proceso y la respuesta del operador.

La digestión anaeróbica es un proceso complejo que consta de una serie de reacciones microbianas catalizadas por un consorcio de diferentes bacterias, cada una de las cuales depende de relaciones sintróficas con otras bacterias en el consorcio. El carbono es el único agente reductor disponible durante la digestión anaeróbica, y la fuerza de accionamiento general del proceso es la división de la materia orgánica en CO₂ como carbono oxidado y CH₄ como carbono reducido. A pesar de la complejidad inherente del proceso, ha tenido éxito una descripción en tres etapas. En la primera etapa, se hidrolizan polímeros biológicos por enzimas extracelulares de bacterias fermentativas y los monómeros y oligómeros resultantes son absorbidos y fermentados adicionalmente en ácidos grasos de cadena larga, alcoholes y H₂/CO₂. En la segunda etapa, los alcoholes y ácidos grasos de cadena larga son oxidados en acetato, formiato y H₂/CO₂ por las bacterias acetogénicas. En la tercera etapa, el acetato, formiato y H₂/CO₂ se convierten en metano por las bacterias metanogénicas. La interdependencia mutua de las diferentes bacterias, normalmente referida como simbiosis o relaciones sintróficas, es un factor clave en el proceso de biogas, y para que el proceso funcione adecuadamente, el crecimiento interdependiente y la formación de producto de las diferentes bacterias deben compensarse de una manera correspondiente. En condiciones de operación inestable, los productos intermedios tales como ácidos grasos volátiles y alcoholes se acumulan en diferentes tasas en función del sustrato y del tipo de perturbación causando inestabilidad (Allison, J. M. 1878, Appl. Environ. Microbiol. 35:872-877; Gujer, W. y A. J. B. Nehnder, 1983. Water Sci. Technol. 15:127-167). En el presente contexto, el término "ácidos grasos volátiles" o "VFA" debe entenderse de acuerdo con la interpretación de la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC) y la Sociedad Química Americana (ACS), como sinónimo de ácidos grasos de cadena corta (en oposición a ácidos grasos de cadena media y de cadena larga), conteniendo típicamente los ácidos grasos menos de 6 átomos de carbono.

Las perturbaciones más comunes que provocan desequilibrio son sobrecarga hidráulica u orgánica, la presencia de toxinas inorgánicas u orgánicas u otras perturbaciones en las condiciones del proceso, tales como cambios de la temperatura y cambios del sustrato (Switzenbaum, M. S. y col., 1990. Enzyme. Microb. Technol. 12:722-730. De acuerdo con ello, una respuesta lógica del operador a una perturbación observada que causa desequilibrio sería tratar de contrarrestar este cambio profundo o interrumpir el flujo de alimentación o cambiar el perfil de temperatura del reactor, lo que se hace también realmente en la práctica. Sin embargo, la producir la contra reacción más beneficiosa posible a una perturbación observada, el operador debe tener acceso a un parámetro del proceso que refleje el estado metabólico del proceso hasta una extensión que permita tal respuesta graduada. Éste no es el caso con la tecnología y los parámetros de control empleados actualmente.

Varios parámetros han sido sugeridos y empleados anteriormente, tales como indicadores de tensión para supervisar procesos de digestión anaeróbica. Las características importantes de un buen indicador de proceso son la capacidad para detectar desequilibrio en una etapa temprana y su capacidad para reflejar directamente el estado metabólico del sistema. Además, es importante que el cambio relativo del parámetro que sigue a una perturbación sea comparado de una manera significativa con fluctuaciones e incertidumbres de análisis anteriores. Algunos de los indicadores más comúnmente utilizados incluyen la medición de la producción de gas, la composición del gas, el valor pH y la destrucción de sólidos volátiles. En general, la mayoría de estos indicadores son adecuados para detectar cambios graduales. Sin embargo, los cambios en el pH, la reducción de sólidos volátiles y la composición del gas son con frecuencia demasiado lentos para la detección óptima de cambios repentinos (Slater, W. R. Y col. 1990, Water Res. 24:121-123, Angelidaki, I. y B. K. Ahring, 1994 Water Res. 28:727-731.

Como se ha mencionado anteriormente, la digestión anaeróbica depende de la formación y consumo simultáneos de H₂, acetato y formiato por diferentes partes del consorcio de bacterias que contribuyen al proceso, es decir, que depende de relaciones sintróficas. Tanto las bacterias acetogénicas como las bacterias metanogénicas tienden a tener una tasa de crecimiento más lenta que las bacterias fermentativas. Además, las bacterias acetogénicas parecen ser inhibidas a altas concentraciones de H₂ y de ácidos grasos volátiles, mientras que las bacterias fermentativas en tales condiciones

ES 2 316 451 T3

producirán alcoholes y ácidos grasos volátiles más largos, por ejemplo propionato y butirato en lugar de acetato (Ahring, B. K. Y col. 1990, *Energisturelsen*). Como una consecuencia, los ácidos grasos volátiles se acumularán en condiciones de desequilibrio y la concentración de ácidos grasos volátiles en el fluido del proceso es potencialmente uno de los parámetros más importantes para el control exacto de digestión anaeróbica (Chynoweth, D. P. y R. A. Mah. 1971, *Adv. Chem. Sci.* 105:41-53; Fisher, J. R. Y col., 1983, *Biol. Wastes*, 6: 147-166; Hill, D. T. y J. P. Bolthe, 1989, *Biol. Wastes*, 28:33-37; McCarty, P. L. y R. E. McKinney, 1961, *J. Water Control. Fed.* 33:223-232).

En resumen, los ácidos grasos volátiles juegan inherentemente un papel central en el proceso de digestión anaeróbica y su acumulación refleja un desacoplamiento cinético entre productores y consumidores de ácidos en el proceso de digestión anaeróbica, es decir, un desacoplamiento de relaciones sintróficas y es típico de situaciones de tensión. El efecto tóxico de altas concentraciones de ácidos grasos volátiles sobre el proceso de digestión anaeróbica ha sido estudiado e informado por varios autores (Ahring, B. K. y P. Westermann, 1988, *Appl. Environ. Microbiol.* 54:2393-2397; Gorris L. G. M. y col., 1989, *Biotechnol. Lett.* 11:61-66; Gourdon, R. y P. Vermande, 1987 13:1-12) y la caída resultante en el pH se considera generalmente como la causa principal de la toxicidad (Hill, D. T. 1982, *Trans. ASAE* 25:1374-1380; Mosey, F. E. y X. A. Fernandes 1984, *Microbiol. Methods Environ. Biotechnol.* 159.169). Muchos investigadores han correlacionado la estabilidad del proceso con la concentración absoluta de ácidos grasos volátiles en el reactor (Hill, D. T. y col. 1987, *Trans, ASAE* 40:496-501; Kaspar, H. F. y K. Wuhrman 1978, *Appl. Environ. Microbiol.* 36:1-7; Hill, D. T. y R. D. Holmberg, 1988 *Biol. Waster* 23:195.214; Varel. V. H. y col. 1977, *Appl. Environ. Microbiol.* 33:298.307). No obstante, a partir de los muchos niveles diferentes de ácidos grasos volátiles encontrados en diferentes sistemas de reactor, se puede concluir que no es factible definir un nivel absoluto de ácidos grasos volátiles que indique el estado del proceso. Diferentes sistemas anaeróbicos tienen sus propios niveles normales de ácidos grasos volátiles, que se determinan por la composición de los sustratos digeridos o por las condiciones de funcionamiento (Angelidaki, I. y col. 1993, *Biotechnol. Bioeng.* 42:159-166), que indica que una medición del contenido total de ácidos grasos volátiles en el fluido de proceso no es factible para realizar una respuesta graduada a cualquier perturbación observada.

Un sistema de medición cromatográfica para VFA ha sido propuesto por S. Torp y col. (S. Torp. y col., Febrero de 1994. "Development of an on-line gas chromatographic measuring system for volatile fatty acids (VFA) determination and automated regulation of biogas reactors with regard to specific VF acids", *Energy Sci Tec*). Se ha reconocido la necesidad de filtrar y acidular la muestra antes del análisis en un cromatógrafo de gas y se ha utilizado un filtro cerámico para filtración de flujo transversal.

En otro experimento informado por J. W. Paul y col. (J. W. Paul y col. 1989), "Rapid-extraction and análisis of volatile fatty acids in soil", *Communications in Soil Science and Plant Análisis*, vol. 20, 1989, páginas 85-94), se utilizan filtros de disco. Sin embargo, el aparato utilizado no es adecuado para la medición continua; por lo tanto, tampoco para fines de supervisión.

Actualmente, las mediciones de ácidos grasos volátiles como tales no se utilizan como un parámetro de proceso en plantas de biogas a escala real. Normalmente, en todo caso, el contenido de ácidos grasos volátiles en el fluido de proceso es estimado indirectamente a través de una medición del contenido total de bicarbonatos y ácidos volátiles. Actualmente, principalmente se utilizan dos métodos para estimular el contenido general de ácidos grasos volátiles en fluidos de proceso a partir de plantas de biogas a escala real.

De acuerdo con un método basado en Anderson, G. K. y G. Yang, 1992, *Water Env. Res.* 64:53-59, se toma una muestra de aprox. 5-10 g desde el suministro del proceso (puesto que el estiércol, el lodo y las aguas residuales son fluidos viscosos e inhomogéneos, no es posible extraer un volumen exacto). A continuación, se añade ácido a la muestra o bien manualmente o bien empleando un titulador automático hasta que el valor pH alcanza 5,1. Suponiendo que solamente el contenido de carbonato/CO₂ y ácidos grasos volátiles de la muestra influye en el pH y la mayoría de los ácidos grasos volátiles tienen valores pKa por debajo de 5,1, el contenido de carbonato/CO₂ en la muestra se puede determinar entonces indirectamente sobre la base de la cantidad de ácido añadido. Puesto que la mayoría de los ácidos grasos volátiles tiene valores pKa por encima de 4,0, el contenido de ácidos grasos volátiles en la muestra se determina entonces sobre la base de la cantidad total de ácido, que debe añadirse con el fin de hacer que el valor pH de la muestra caiga por debajo de 3,5, y mediante la corrección de la cantidad de carbonato/CO₂ determinada por la primera etapa de titulación. Otro método empleado actualmente está también estrechamente relacionado con uno desarrollado por Anderson y Yang (lugar citado). Como una primera etapa, comprende el muestreo manual y como una segunda etapa, la acidulación de muestras por la adición de una cantidad de ácido fuerte. Luego, como una tercera etapa, se disocia la muestra acidulada con N₂ o aire con el fin de eliminar cualquier carbonato/CO₂ presente. Tal procedimiento de disociación requiere mucho tiempo y puede tardar aproximadamente 30 minutos. Como cuarta etapa, se determina el contenido de ácidos grasos volátiles por re-titulación hasta aproximadamente pH 5-6, y se compara con una muestra patrón tratada de una manera similar, de tal forma que se determina el contenido total de ácidos grasos volátiles en equivalentes (eq.) de la muestra patrón. En ambos métodos, la concentración total de ácidos grasos volátiles en mmol se convierte en equivalentes de acetato (eq.) multiplicando el valor obtenido por 60 g/mol. En general, el segundo método es ligeramente más preciso que el primer método, pero debido al procedimiento de disociación requiere también más tiempo.

Varias características de la tecnología disponible actualmente para la medición de ácidos grasos volátiles descrita anteriormente la hacen inadecuada para uso en plantas de biogas a escala real. Después de cada titulación, los electrodos y otros equipos deben limpiarse y el electrodo de pH debe calibrarse regularmente. Debido al alto contenido

de material en partículas y arena en el estiércol y otros tipos de residuos orgánicos, es difícil automatizar totalmente cualquiera de estos métodos. Típicamente, se utiliza un titulador automático, pero todas las demás etapas se realizan manualmente. Además, los patrones de carga de lotes secuenciales utilizados en plantas de biogas a escala real, y los cambios en la composición de la alimentación que es suministrada a la planta, cambian las concentraciones específicas de ácidos grasos volátiles en cuestión de horas. Por lo tanto, es necesario planificar la frecuencia de muestreo de acuerdo con la frecuencia de alimentación y la composición de la alimentación, lo que no es factible con la tecnología disponible actualmente, puesto que implica la preparación manual de muestras, que comprende el muestreo y posiblemente centrifugación o sedimentación. Además, los métodos actualmente disponibles han sido desarrollados para muestras a partir de un reactor de biogas que trata aguas residuales con un contenido muy bajo de material en partículas y optimizado principalmente por el uso de muestras construidas/artificiales. De acuerdo con esto, se ha encontrado anteriormente que la inexactitud inherente de estos métodos se eleva drásticamente con el incremento de las concentraciones de carbonato/CO₂, especialmente cuando se analizan muestras de plantas de biogas que tratan residuos orgánicos con alto contenido en partículas (Møller, H. 1997, NNR). Puesto que el contenido de carbonato/CO₂ en el fluido de proceso de plantas de biogas que tratan estiércol o lodo varía típicamente entre 200 y 300 mM comparado con menos de 100 mM en las muestras ensayadas por Anderson y Yang, esto es un inconveniente muy serio, cuando se trata de implementar estos métodos. En conclusión, con la tecnología actual se realizan determinaciones utilizando re-titulación inexacta u otros métodos semi-cuantitativos y solamente se pueden obtener mediciones indirectas sobre el contenido total de ácidos grasos volátiles, que están sometidos de nuevo a grandes incertidumbres debido al alto contenido de carbonato/CO₂ en los fluidos de proceso de interés. Además, los procedimientos conocidos actualmente son indirectos, inexactos, laboriosos, costosos e inherente fuera de línea y requieren mucho tiempo, y ni proporcionan un control eficiente ni una demora corta entre el fallo del proceso y la respuesta del operador. Adicionalmente, adolecen de la exactitud deseada para determinar el contenido de ácidos grasos volátiles individuales en el fluido de proceso, lo que haría ambigua la interpretación de los datos, y de acuerdo con ello no permiten una respuesta graduada a una perturbación observada.

Resumen de la invención

En general, la presente invención proporciona un método y un equipo para supervisar las relaciones sintróficas entre diferentes partes de un consorcio bacteriano en el fluido de proceso de una planta de procesos biológicos, tal como una planta de gas biológico o una planta de tratamiento de aguas residuales, a través de una medición exacta del contenido de los ácidos grasos volátiles individuales en muestras consecutivas del fluido de proceso, empleando pequeñas cantidades de fluido de proceso. La presente invención es particularmente útil en casos en los que el proceso biológico es una digestión anaeróbica en una planta de gas biológico o una planta de tratamiento de aguas residuales. Más particularmente, la presente invención proporciona una solución a los problemas planteados actualmente cuando se trata de supervisar el estado del proceso de una digestión anaeróbica, por ejemplo en el tratamiento de aguas residuales y en la producción de gas biológico, a través de un análisis, que hace posible supervisar las relaciones sintróficas entre diferentes partes del consorcio bacteriano en el fluido de proceso, a través de una medición en línea exacta del contenido de los ácidos grasos volátiles individuales en muestras consecutivas.

Comparada con el análisis de la técnica anterior descrita más arriba, la presente invención proporciona un método aplicable para la determinación en línea del contenido de los ácidos grasos volátiles individuales en muestras consecutivas de un fluido de proceso a partir de una planta de proceso biológico y un equipo para uso en dicho método, evitando

- cualquier muestreo manual,
- centrifugación, o
- sedimentación, y proporcionando al mismo tiempo
- un método inherentemente en línea y que ahorra tiempo,
- datos sobre el contenido de los ácidos grasos individuales en el fluido de proceso, permitiendo de esta manera
- una interpretación inequívoca de los datos y
- un control eficiente, con la demora más corta posible entre el fallo del proceso y la respuesta del operador.

Un objeto de la presente invención es proporcionar un método y equipo fiables para supervisar, evaluar y controlar procesos biológicos.

Otro objeto de la presente invención es proporcionar un método fiable para supervisar, evaluar y controlar procesos de digestión anaeróbica.

Todavía otro objeto de la presente invención es proporcionar un equipo que hace posible una supervisión eficiente, evaluación y control de procesos de digestión anaeróbica.

ES 2 316 451 T3

Todavía otros objetos y ventajas de la invención aparecerán a partir de la siguiente descripción.

En resumen, la presente invención se refiere a un método para supervisar las relaciones sintróficas entre diferentes partes de un consorcio bacteriano en el fluido de proceso de una planta de proceso biológico, que comprende las etapas de:

- i) tomar una muestra de fluido de proceso desde la planta,
- ii) añadir ácido a dicha muestra en una cantidad necesaria para llevar los ácidos grasos volátiles allí a forma de ácido libre,
- iii) pasar la muestra acidulada a través de medios de filtración para eliminar partículas que tienen un tamaño mayor que el aceptable para separación cromatográfica, caracterizado porque la filtración es una filtración de múltiples etapas que comprende una microfiltración de flujo cruzado seguida por una ultrafiltración de flujo cruzado,
- iv) determinar el contenido de ácidos grasos volátiles en la muestra de la etapa iii) por medio de un procedimiento analítico basado en separación cromatográfica, y
- v) determinar las relaciones sintróficas entre diferentes partes del consorcio bacteriano en el fluido de proceso, a través de una evaluación del contenido de ácidos grasos volátiles en dicho fluido de proceso determinado en la etapa iv).

Además, la presente invención se refiere a un equipo para supervisar las relaciones sintróficas entre diferentes partes de un consorcio bacteriano en el fluido de proceso de una planta de proceso biológico, que comprende:

- i) medios para tomar una muestra de fluido de proceso desde la planta,
- ii) medios para añadir ácido a dicha muestra en una cantidad necesaria para llevar los ácidos grasos volátiles a forma de ácido libre,
- iii) medios de filtración para eliminar partículas que tiene un tamaño mayor que el aceptable para separación cromatográfica, caracterizado porque la filtración es una filtración de múltiples etapas que comprende una microfiltración de flujo cruzado seguida por una ultrafiltración de flujo cruzado,
- iv) medios de separación cromatográfica para determinar el contenido de ácidos grasos volátiles en la muestra.

La presente invención hace posible realizar muestreo continuo en línea y análisis, aplicable cuando se miden ácidos grasos volátiles como indicadores de proceso en fluidos de proceso biológico, con preferencia de procesos que se refieren al tratamiento de estiércol, lodo, residuos industriales orgánicos, residuos domésticos u otros fluidos de procesos similares que contienen partículas grandes e inhomogéneas. Puesto que el método y el equipo de la presente invención evita cualquier muestreo manual, centrifugación o sedimentación, y es capaz de mediciones continuas verdaderas en línea de ácidos grasos volátiles individuales, en muestras consecutivas de fluidos de procesos biológicos durante periodos de tiempo prolongados, resulta posible un control eficiente, con demora lo más corta posible entre el fallo del proceso y la respuesta del operador. Además, por el método y equipo de la presente invención es posible utilizar cantidades muy pequeñas de fluido de proceso para un análisis individual, y se pueden realizar análisis repetidos a intervalos cortos. Además, todavía la determinación del contenido de ácidos grasos individuales proporcionada por el método de la presente invención posibilita al operador iniciar una respuesta, proporcionando la contra-reacción más beneficiosa a la perturbación observada. Por lo tanto, el método de la presente invención proporciona al operador acceso a un parámetro de proceso que refleja el estado metabólico del proceso hasta una extensión que permite una respuesta mucho más graduada, que era el caso con la tecnología empleada hasta ahora.

En el método de acuerdo con la presente invención, los problemas de obstrucción del filtro, cuando se filtra estiércol, aguas residuales o lodo se solucionan empleando una filtración continua de etapas múltiples que comprende una microfiltración de flujo cruzado seguido por una ultrafiltración de flujo cruzado. Este procedimiento elimina virtualmente todas las partículas altamente inhomogéneas presentes en estos fluidos de proceso y hace posible eliminar todas las partículas que tienen un diámetro mayor que el aceptable para separación cromatográfica, sin emplear grandes cantidades de fluido de proceso.

Todavía en una forma de realización preferida del método de la presente invención, se añade un volumen determinado de ácido a un flujo de un volumen predeterminado de muestra, con preferencia por el uso de una bomba de desplazamiento común, evitando de esta manera la adición de un patrón interno al ácido.

Todavía en otra forma de realización preferida del método de la presente invención, los problemas de obstrucción del filtro cuando se transfiere la muestra a un medio para separación cromatográfica y análisis se solucionan mediante reflujos periódicos de un fluido de limpieza a través del filtro.

Breve descripción de los dibujos

En los dibujos:

5 La figura 1 muestra un diagrama de proceso que ilustra la presente invención.

La figura 2 muestra los resultados de mediciones manuales de la concentración total de VFA en el fluido de proceso de una planta de biogas utilizando tecnología de titulación de la técnica anterior.

10 La figura 3 muestra el resultado del análisis para ácido acético y ácido propanoico, en el fluido de proceso de una planta de biogas, realizado de acuerdo con la presente invención.

La figura 4 muestra el desarrollo de la temperatura en una planta de biogas.

15 La figura 5 muestra el resultado del análisis para ácido acético y ácido propanoico, en el flujo de proceso de una planta de biogas, realizado de acuerdo con la presente invención.

Descripción detallada de la invención

20 Se proporcionará una mejor comprensión de la presente invención con referencia a la figura 1. Con el fin de conseguir una medición en línea del contenido de ácidos grasos volátiles individuales en el suministro de fluido de proceso, se toman continuamente muestras de fluido de proceso desde el suministro de fluido de proceso (1) de una planta de proceso biológico en una cantidad que se eleva desde aproximadamente 50 hasta aproximadamente 100 ml por minuto.

25 En una forma de realización preferida de la presente invención, la planta de proceso biológico descrita anteriormente es una planta de gas biológico y en otra forma de realización preferida, es una planta de tratamiento de aguas residuales. El tratamiento de fluidos de proceso de tales procesos u otros fluidos de procesos que comprenden partículas con un diámetro mayor que aproximadamente 0,2 a 1 mm aproximadamente, plantea problemas especiales cuando se considera cómo se toman muestras continuamente, que se pueden analizar, sin perturbar ningún elemento clave en el sistema. Uno de los elementos claves es un sistema que proporciona una determinación en línea o continua de un parámetro de proceso es el procedimiento o instrumentos analíticos empleados. No obstante, los instrumentos analíticos basados en separación cromatográfica son sensibles a un contenido alto de partículas en el fluido del proceso. Los fluidos de proceso que proceden de procesos de digestión anaeróbica, tal como estiércol, aguas residuales o lodo, tienen un alto contenido de partículas inhomogéneas, lo que hace difícil eliminar todas las partículas con un diámetro mayor que el aceptable para separación cromatográfica a través de filtración continua de una etapa, sin emplear grandes cantidades de fluido de proceso, lo que volvería a cualquier método antieconómico. Además, estos fluidos de procesos tienen un alto contenido de fibras orgánicas, partículas cristalinas y grasas disueltas, proporcionándoles propiedades de trituración y de obstrucción, que las hace inadecuadas para filtración de membrana tradicional y adecuada. Se han ensayado anteriormente varios medios y métodos diferentes para filtración continua en una etapa de cantidades factibles de fluidos de proceso a partir de digestiones anaeróbicas. Sin embargo, todos ellos han demostrado que se obstruyen cuando se accionan de forma continua, limitando de esta manera el tiempo posible en línea. Por lo tanto, la recuperación del material filtrado que se puede emplear en el análisis es uno de los problemas principales en la construcción de sistemas automáticos de medición. De acuerdo con la presente invención, este problema particular se resuelve combinando una o con preferencia varias etapas de micro y ultra-filtración continua en una filtración automática de volúmenes limitados de fluido de proceso. Por lo tanto, el método de la presente invención asegura que el contenido de partículas en el fluido de proceso preparado para análisis se reduce al mínimo antes de pasar a instrumentos de medición sensibles, tales como cromatógrafos de líquido o cromatógrafos de gas. En función del contenido de partículas en el fluido de proceso considerado se puede tomar alternativamente desde el suministro de fluido de proceso (1), pasando por unas pocas o ninguna etapa de filtración y sometiendo a procesamiento adicional, es decir, un tratamiento de muestra.

De acuerdo con la presente invención, las muestras de proceso son tomadas continuamente desde el suministro de fluido de proceso (1), son pasadas a través de una unidad de microfiltración (2), con un tamaño de los poros desde aproximadamente 10 hasta aproximadamente 100 μm y una zona de filtro desde aproximadamente 20 hasta aproximadamente 40 cm^2 , por medio de una bomba (3). En lugar de emplear medios de filtración convencionales, se puede emplear una unidad de microfiltración giratoria de flujo cruzado incorporada en el depósito.

60 Aparte de las partículas inhomogéneas, la mayoría de los fluidos de proceso que proceden de procesos de digestión anaeróbica tienden a tener un alto contenido de gas (CH_4 , CO_2 , etc.). Con el fin de evitar una acumulación de burbujas de gas en el entubado de la presente invención, el fluido de proceso tomado, con preferencia micro-filtrado se pasa a través de un medio para desgasificación (4), antes de ser sometido a procesamiento posterior, que permite la eliminación de CO_2 , por ejemplo y de partículas mayores del fluido de proceso tomado. Con preferencia, este medio para desgasificación (4) comprende un eliminador de piedras y una salida a la atmósfera.

65 La combinación ventajosa de varias etapas de micro y ultra-filtración continua de acuerdo con la presente invención se obtiene bombeando el fluido de proceso tomado, con referencia micro-filtrado, más preferentemente micro-filtrado y desgasificado a través de un ultra filtro (6) con un caudal desde aproximadamente 80 hasta aproximadamente

ES 2 316 451 T3

100 ml/minuto y a través de entubado con un diámetro interno desde aproximadamente 2 hasta aproximadamente 2 mm. Esto se realiza con preferencia por medio de una bomba adicional (5), que es con preferencia una bomba de desplazamiento.

5 El ultrafiltro (6) comprende con preferencia varios ultrafiltros configurados en forma de tubos paralelos, con una zona de filtro combinada de aproximadamente 400 cm², y cada uno con un diámetro interno desde aproximadamente 1 hasta aproximadamente 2 mm y un tamaño de los poros menor que aproximadamente 100.000 hasta aproximadamente 200.000 MW. Con el fin de conseguir un flujo adecuado en estos ultrafiltros paralelos múltiples, la ultrafiltración depende con preferencia de la recirculación interna que varía entre aproximadamente 2 y aproximadamente 3 l/minuto del fluido de proceso con preferencia microfiltrado y más preferentemente microfiltrado y desgasificado, alrededor del ultrafiltro (6). Esta recirculación se realiza por el uso de una bomba, con preferencia una bomba de hélice (7) y de una manera preferida empleando entubado (8) con un diámetro interno desde aproximadamente 4 hasta aproximadamente 6 mm entre la bomba de alertas (7) y el ultrafiltro (6). Además, se utiliza entubado (9), que tiene un diámetro interno desde aproximadamente 2 hasta aproximadamente 3 mm que asegura una presión adecuadamente alta a través del ultrafiltro (6), desde el ultrafiltro hasta la bomba de recirculación (7).

Para reducir al mínimo la cantidad de fluido de proceso tomada realmente desde el suministro de fluido de proceso para cada análisis, el producto filtrado desde el ultrafiltro (6), cuando no pasa al tratamiento de la muestra, es retornado continuamente por el entubado (10), con un diámetro interno desde aproximadamente 1 hasta aproximadamente 2 mm, hasta el fluido de proceso restante tomado, con preferencia microfiltrado y más preferentemente microfiltrado y desgasificado, que es retornado de nuevo al suministro de fluido de proceso. Puesto que esta conexión entre el filtrado desde el ultrafiltro (6) y el fluido de proceso tomado posee un posible riesgo de contaminación, está formado de una manera preferida por un colector de gotitas (11). Este colector de gotitas (11) sirve para la doble función de actuación como un orificio de ventilación que previene que cualquier fluido de proceso tomado, con preferencia microfiltrado contamine el fluido de proceso ultrafiltrado, cuando la bomba de muestreo (12) es conectada, y asegurar una caída de la presión entre el ultrafiltro (6) y el fluido de proceso tomado, que asegure un flujo uniforme de fluido desde aproximadamente 5 hasta aproximadamente 20 ml/minuto a través del ultrafiltro, cuando la bomba de muestreo (12) es desconectada. Este flujo uniforme de fluido asegura que el ultrafiltro sea inundado continuamente con fluido de proceso, lo que previene que se obstruya. De acuerdo con la presente invención, el colector de gotitas (11) comprende de una manera preferida un bulbo de cristal sellado que retiene un tubo de acero configurado en forma de jeringa, en el que al menos 2/3 del volumen del bulbo está por debajo del punto del tubo de acero configurado en forma de jeringa. Por lo tanto, el fluido de proceso ultrafiltrado no estará en contacto directo con el fluido de proceso tomado, con preferencia ultrafiltrado, incluso cuando funciona a altas presiones.

35 Cuando no se utiliza, el ultrafiltro descrito anteriormente se puede limpiar con un fluido de limpieza, por ejemplo con agua caliente, a través del uso de dos orificios de ventilación (24 y 25) y puede ser limpiado con reflujos con un fluido de limpieza similar a través del uso de una bomba adicional (26).

40 Con el fin de utilizar equipo analítico basado en la separación cromatográfica de acuerdo con la presente invención, la muestra es acidulada para llevar los ácidos grasos volátiles a forma de ácido libre con el fin de obtener mediciones fiables y exactas de los ácidos grasos volátiles. Por lo tanto, el tratamiento de la muestra del fluido de proceso tomado, con preferencia micro-filtrado, más preferentemente micro-filtrado y desgasificado y todavía más preferentemente micro-filtrado, desgasificado y ultra-filtrado, es iniciado conectando la bomba de muestreo (12), la bomba de ácido (13) y la bomba de residuos (14), más preferentemente mientras lo requiera el entubado, con preferencia con un diámetro interno desde aproximadamente 1 hasta aproximadamente 2 mm, conectando estos flujos al punto de mezcla (15), para ser inundado con fluido de proceso filtrado nuevamente y ácido desde el suministro de ácido (16).

50 Cuando se emplea un flujo continuo en línea de muestra para análisis, es crucial conocer la relación exacta entre ácido añadido y muestra con el fin de poder convertir el valor analítico obtenido en el valor realmente presente en el fluido de proceso. Esto se puede obtener combinando la bomba de muestreo (12) y la bomba de ácido (13) en una bomba de desplazamiento compartida, en la que se puede mezclar un volumen predeterminado de fluido de proceso con un volumen predeterminado de ácido en una relación predeterminada, con preferencia 1:1 seleccionando cuidadosamente el entubado de diferentes flujos.

55 La acidulación descrita anteriormente de la muestra fuerza inevitablemente el CO₂ fuera de la muestra y da lugar a precipitación adicional. Por lo tanto, antes de transferir la muestra acidulada a un medio para la separación cromatográfica y análisis, deben eliminarse este gas y el producto precipitado. De acuerdo con ello, cuando el entubado que conecta los flujos de ácido y el fluido de proceso tomado, más preferentemente microfiltrado, desgasificado y ultrafiltrado, hasta el punto de mezcla (15) ha sido inundado con fluido de proceso filtrado nuevamente y ácido, la bomba de residuos (14) está desconectada y la bomba de rebosadero (21) está conectada, de manera que el fluido de proceso mezclado con ácido por entubado es pasado a través de un minifiltro (17), más preferentemente un filtro de vidrio de flujo de tapón con un tamaño de los poros desde aproximadamente 0,4 hasta aproximadamente 10 μm y una zona filtro desde aproximadamente 0,07 hasta aproximadamente 0,1 cm².

65 Cuando se filtra a través del minifiltro, la muestra es pasada a través de una entrada (18), más preferentemente formada como una jeringa, hasta un vial de muestra (19) por entubado. Cuando el vial de muestra (19) ha sido inundado con aproximadamente 2 hasta aproximadamente 3 ml de muestra, se desconectan la bomba de muestra (12), la bomba de ácido (13) y la bomba de rebosadero (21). Para prevenir que se forme espuma cuando se libera exceso de CO₂

ES 2 316 451 T3

con pH bajo, como se ha descrito anteriormente, por encima del vial (19) es con preferencia cónico con una altura desde aproximadamente 15 hasta aproximadamente 20 mm y un diámetro superior desde aproximadamente 6 hasta aproximadamente 7 mm, lo que ayuda a asegurar un volumen de muestra pequeño con un área superficial grande desde aproximadamente 0,3 hasta aproximadamente 0,5 cm². Además, el vial de muestra se llena con preferencia con muestra hasta que alcanza un tubo de rebosadero (20), que está conectado a una bomba de rebosadero (21) por entubado.

Una cantidad adecuada, con preferencia en el intervalo de μl , de la muestra ahora preparada para el análisis es tomada desde el vial de muestra (19), con preferencia utilizando una jeringa y el sistema de muestreo automático del equipo analítico aplicado en función de la separación cromatográfica, con preferencia un cromatógrafo de gas. Alternativamente, la cantidad de muestra preparada para el análisis puede ser tomada a través de entubado que conecta el vial de muestra con el equipo analítico aplicado en función de la separación cromatográfica. Finalmente, la cantidad de muestra preparada para el análisis puede ser tomada directamente desde el minifiltro (17), a través de entubado que conecta el minifiltro con el equipo analítico aplicado en función de la separación cromatográfica.

La cantidad de muestra tomada para análisis es transferida al equipo analítico aplicado en función de la separación cromatográfica, con preferencia un cromatógrafo de gas, y analizada de acuerdo con las condiciones específicas utilizadas con preferencia, cuando se utiliza el equipo analítico aplicado para determinar el contenido de ácidos grasos volátiles en una muestra, lo que será bien conocido por los técnicos en la materia o se puede determinar por los técnicos en la materia sin experimentación indebida.

Dentro de minutos, en función del equipo analítico actual y las condiciones reales empleadas, se puede obtener ahora una determinación del contenido de ácidos grasos volátiles individuales en la muestra, y se puede iniciar una respuesta adecuada del operador, si se requiere. La respuesta del operador a un desequilibrio observado, es decir, un desacoplamiento de relaciones sintróficas, sería con preferencia tratar de contrarrestar esto a través de cambio o parada del flujo de alimentación o a través de cambio del perfil de temperatura del reactor.

Como se ha mencionado anteriormente, la acidulación de la muestra da lugar a precipitación adicional. Cuando se emplea un filtro de tapón ordinario para filtración (17), éste tiene una tendencia a obstruirse cuando se utiliza continuamente. De acuerdo con ello, la bomba de residuos (14) y una bomba de base (22) están conectadas, de manera que se conduce a reflujo un fluido débilmente alcalino desde un suministro (23), con preferencia con un valor pH desde aproximadamente 2 unidades pH o menos por encima del valor del fluido del proceso, a través del vial de muestra (19) y el minifiltro (17) por el tubo de rebosadero (21) y la jeringa (18), disolviendo de esta manera los precipitados o sales atrapados en el minifiltro. Cuando se ha realizado una limpieza adecuada del minifiltro (17), se desconecta la bomba de base (22) y el vial de muestra (19), la jeringa (18), el minifiltro (17) y el entubado que conduce hasta la bomba de residuos están limpios para fluido. Esto junto con la secuencia de inundación asegura que los sobrantes de las muestras anteriores no interfieran con muestras posteriores.

Después de la secuencia de vaciado e inundación descrita anteriormente, el método de la presente invención permite determinaciones repetidas del contenido de ácidos grasos volátiles en muestras consecutivas y, por consiguiente, permite supervisar continuamente las relaciones sintróficas entre diferentes partes del consorcio bacteriano en el fluido de proceso biológico. Además, por el método y equipo de la presente invención, es posible utilizar menos que aproximadamente 2 ml de fluido de proceso para un análisis individual, y se puede realizar un análisis una vez cada 5 a 15 minutos aproximadamente.

El ejemplo siguiente solamente sirve para ilustrar la aplicabilidad de la presente invención, y no se pretende representar ninguna restricción a la invención.

Ejemplo

Una forma de realización preferida del equipo de la presente invención como se ha descrito anteriormente ha sido ensayada en una planta de biogas a escala real en Snerlinge, Dinamarca. La planta de biogas en cuestión trata aproximadamente 105 toneladas de estiércol y 25 toneladas de residuos industriales al día en tres reactores de 1000 m³, teniendo cada uno de ellos un volumen activo de aproximadamente 900 m³.

Ensayo

El equipo de la presente invención fue colocado en un bucle de recirculación utilizado para dos de los tres reactores (reactores 2 y 3), cada uno de los cuales tiene un tiempo de retención hidráulica de 13,3 días. Se utilizó un periodo de ensayo que dura aproximadamente una semana para optimizar la configuración del sistema.

Instalación

Con el fin de tensar al máximo el equipo de la presente invención, se tomaron mediciones cada 15 minutos. El sistema de filtros se limpió con agua caliente cada dos días durante un periodo de 1 a 2 horas y se cambiaron los tabiques y revestimientos en el GC al mismo tiempo. Justo antes del periodo de medición, el operador de la planta había iniciado un incremento lento en la temperatura del reactor para elevar la temperatura desde condiciones mesofílicas hasta condiciones termofílicas. La planta había sido funcionada previamente a 51°C (termofílica), pero

ES 2 316 451 T3

debido a problemas de mezcla, la temperatura del reactor había caído hasta condiciones mesofílicas durante un periodo más largo. Era previsible que el fallo del reactor se pudiera producir cuando alcanzase 42-48°C.

Mediciones de la técnica anterior

5

Normalmente el operador de la planta tomaba muestras desde los reactores 2 y 3 dos veces a la semana para medir los VFA totales utilizando un método de titulación, y si el número de eq. era mayor que 8.000-10.000 se consideraba el proceso muy cargado o sobrecargado. Durante el periodo de prueba, las mediciones de VFA totales realizadas empleando la metodología y el equipo disponibles actualmente nunca alcanzaron niveles más elevados que 3.600 eq. variando entre 2.400 y 3.600, como se muestra en la figura 2. Por lo tanto, utilizando equipo ordinario, el operador de la planta no consideraría que el proceso se había sobrecargado durante este periodo.

10

Mediciones en el reactor 2

15 El contenido del reactor 2 se midió cinco veces cada 24 horas. Las mediciones realizadas durante un periodo de una semana se muestran en la figura 3 (los días están numerados con referencia a la figura 2).

Todas las fluctuaciones en ácidos acéticos en el reactor 2 se pueden referir a la alimentación del reactor con cargas que contienen alto contenido de ácido acético. Por lo tanto, las variaciones en el reactor 2 no se consideraban alarmantes. Como se puede ver a partir de la figura 4 (los días están numerados con referencia a la figura 2), la temperatura nunca alcanzó el punto de rotura entre mesofílico y termofílico en el reactor 2.

20

Mediciones en el reactor 3

25 El contenido del reactor 3 se midió cinco veces cada 24 horas. Las mediciones realizadas durante un periodo de una semana se muestran en la figura 5 (los días se numeran con referencia a la figura 2).

Las fluctuaciones en los datos son debidas a la conexión y desconexión de bombas en uno de los periodos de medición y a la carga de residuos que contienen VFA. Los datos revelan claramente que el reactor 3 está más cerca de la inestabilidad que el reactor 2 y, por lo tanto, posee una temperatura del reactor mucho más alta que alcanza 45°C el tercer día del periodo (día 24). La producción de gas se había incrementado desde el comienzo del periodo desde ambos reactores y las mediciones del contenido total VFA se realizaron con metodología y equipo disponibles actualmente y o se pudo detectar ningún incremento de VFA (con referencia a la figura 2) debido a la inexactitud del método utilizado. Por lo tanto, el operador de la planta no fue capaz de detectar la sobrecarga del reactor 3 con la metodología disponible actualmente. Sin embargo, utilizando las mediciones de VFA que estaban disponibles a través de la metodología y el equipo de la presente invención, se detectó la sobrecarga y se decidió reducir la temperatura en el reactor 3 hasta que cantidades suficientes de bacterias termofílicas habían tenido tiempo de desarrollarse a 42°C-45°C antes de elevar de nuevo la temperatura. Un mes más tarde, el reactor funcionaba de una manera estable a 51°C.

30

35

40

45

50

55

60

65

ES 2 316 451 T3

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un método para supervisar las relaciones sintróficas entre diferentes partes de un consorcio bacteriano en el fluido de proceso de una planta de proceso biológico, que comprende las etapas de:
- 10 i) tomar una muestra de fluido de proceso desde la planta,
 - 15 ii) añadir ácido a dicha muestra en una cantidad necesaria para llevar los ácidos grasos volátiles allí a forma de ácido libre,
 - 20 iii) pasar la muestra acidulada a través de medios de filtración para eliminar partículas que tienen un tamaño mayor que el aceptable para separación cromatográfica,
 - 25 iv) determinar el contenido de ácidos grasos volátiles en la muestra de la etapa iii) por medio de un procedimiento analítico basado en separación cromatográfica, y
 - 30 v) determinar las relaciones sintróficas entre diferentes partes del consorcio bacteriano en el fluido de proceso, a través de una evaluación del contenido de ácidos grasos volátiles en dicho fluido de proceso determinado en la etapa iv).
- caracterizado** porque la filtración es una filtración de múltiples etapas que comprende una microfiltración de flujo cruzado seguida por una ultrafiltración de flujo cruzado.
- 25 2. El método de la reivindicación 1, en el que dicha planta de proceso biológico es una planta de gas biológico.
3. El método de la reivindicación 1, en el que dicha planta de proceso biológico es una planta de tratamiento de aguas residuales.
- 30 4. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que la separación cromatográfica se realiza por medio de un cromatógrafo de gas.
- 35 5. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que la muestra tomada en la etapa i) es filtrada antes de la acidulación.
6. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que la muestra es desgasificada antes de dicha ultrafiltración de flujo cruzado.
- 40 7. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que el producto retenido en la ultrafiltración de flujo cruzado es recirculado hasta el fluido de proceso.
- 45 8. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que el ácido en la etapa ii) es añadido en una relación predeterminada de 1:1 a la muestra.
9. El método de la reivindicación 8, en el que el ácido es añadido desde un suministro por medio de una bomba de desplazamiento que es compartida por dicho suministro de ácido y dicho flujo de muestra, respectivamente.
- 50 10. El método de la reivindicación 9, en el que se conduce un fluido de limpieza hacia atrás a través de los medios de filtración en la etapa iii) para determinaciones repetidas del contenido de ácidos grasos volátiles en muestras consecutivas.
11. El método de la reivindicación 10, en el que dicho fluido de limpieza tiene un valor pH que va desde 0 hasta 2 unidades pH por encima del valor pH de dicho fluido de proceso.
- 55 12. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en el que las muestras de fluido de proceso son tomadas periódicamente y aciduladas y filtradas sucesivamente en un conducto.
13. Un equipo para supervisar las relaciones sintróficas entre diferentes partes de un consorcio bacteriano en el fluido de proceso de una planta de proceso biológico, que comprende:
- 60 i) medios para tomar una muestra de fluido de proceso desde la planta,
 - 65 ii) medios para añadir ácido a dicha muestra en una cantidad necesaria para llevar los ácidos grasos volátiles a forma de ácido libre,
 - iii) medios de filtración para eliminar partículas que tiene un tamaño mayor que el aceptable para separación cromatográfica, y

ES 2 316 451 T3

iv) medios de separación cromatográfica para determinar el contenido de ácidos grasos volátiles en la muestra,

caracterizado porque los medios de filtración comprenden medios para someter un flujo de muestra de fluido de proceso a una microfiltración de flujo cruzado y medios para someter un flujo de una muestra filtrada desde dicha microfiltración a ultrafiltración de flujo cruzado.

14. El equipo de la reivindicación 13, en el que la planta de proceso biológico es una planta de gas biológico.

15. El equipo de la reivindicación 14, en el que la planta de proceso biológico es una planta de tratamiento de aguas residuales.

16. El equipo de una cualquiera de las reivindicaciones 14-15, en el que los medios de separación cromatográfica son un cromatógrafo de gas.

17. El equipo de una cualquiera de las reivindicaciones 13-16, **caracterizado** porque comprende medios de flujo interconectados desde dicha planta de proceso biológico hasta dichos medios de filtración para tomar continuamente un flujo de muestra de fluido de proceso.

18. El equipo de una cualquiera de las reivindicaciones 13-17, que comprende, además, medios para filtración de muestras de fluido de proceso cuando se toman desde dicha planta de proceso biológico.

19. El equipo de una cualquiera de las reivindicaciones 13-18, **caracterizado** porque comprende medios para desgasificar dicha muestra antes de la ultrafiltración.

20. El equipo de una cualquiera de las reivindicaciones 13-19, **caracterizado** porque comprende un colector de gotitas a través del cual una parte de la muestra filtrada de dicha ultrafiltración es recirculada al fluido de proceso.

21. El equipo de una cualquiera de las reivindicaciones 18-20, **caracterizado** porque comprende medios para recircular parte del producto retenido desde dicha ultrafiltración hasta la entrada de dicha ultrafiltración y parte al fluido de proceso.

22. El equipo de una cualquiera de las reivindicaciones 16-21, **caracterizado** porque comprende una bomba de desplazamiento, que es compartida por dichos medios para añadir ácido y dicho flujo de muestra para añadir dicho ácido a dicho flujo de muestra.

23. El equipo de la reivindicación 22, **caracterizado** porque comprende un vial de muestra cónico equipado con un tubo de rebosadero a través del cual se puede eliminar la posible espume y exceso de flujo de muestra, en el que la muestra es recogida después de haber sido pasada a través de dicho filtro adicional.

24. El equipo de la reivindicación 23, **caracterizado** porque comprende medios para inundar un fluido de limpieza hacia atrás a través de dicho vial de muestra y dichos medios de filtro adicional en la etapa iii) para determinación es repetidas del contenido de ácidos grasos volátiles en muestras consecutivas.

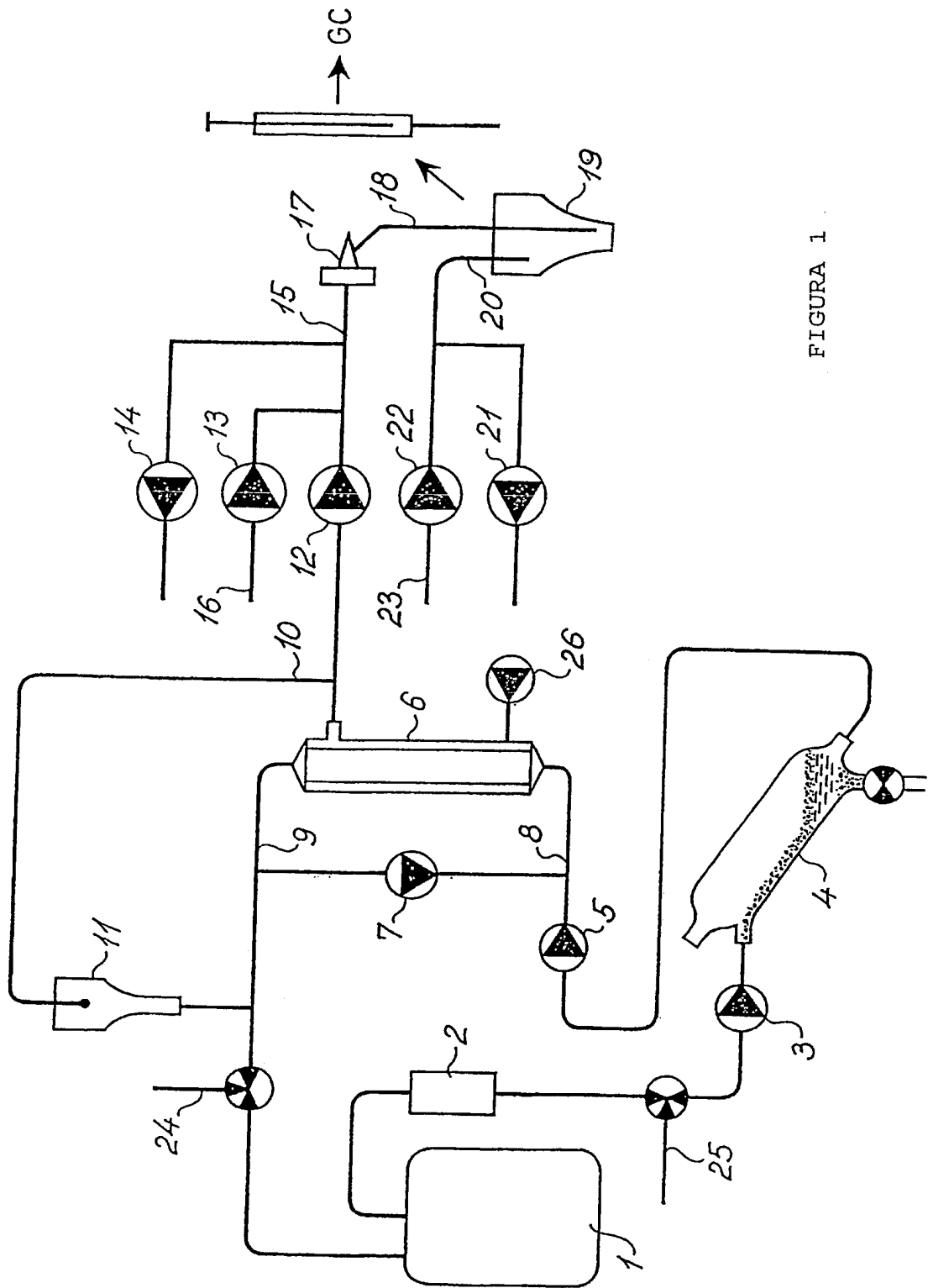


FIGURA 1

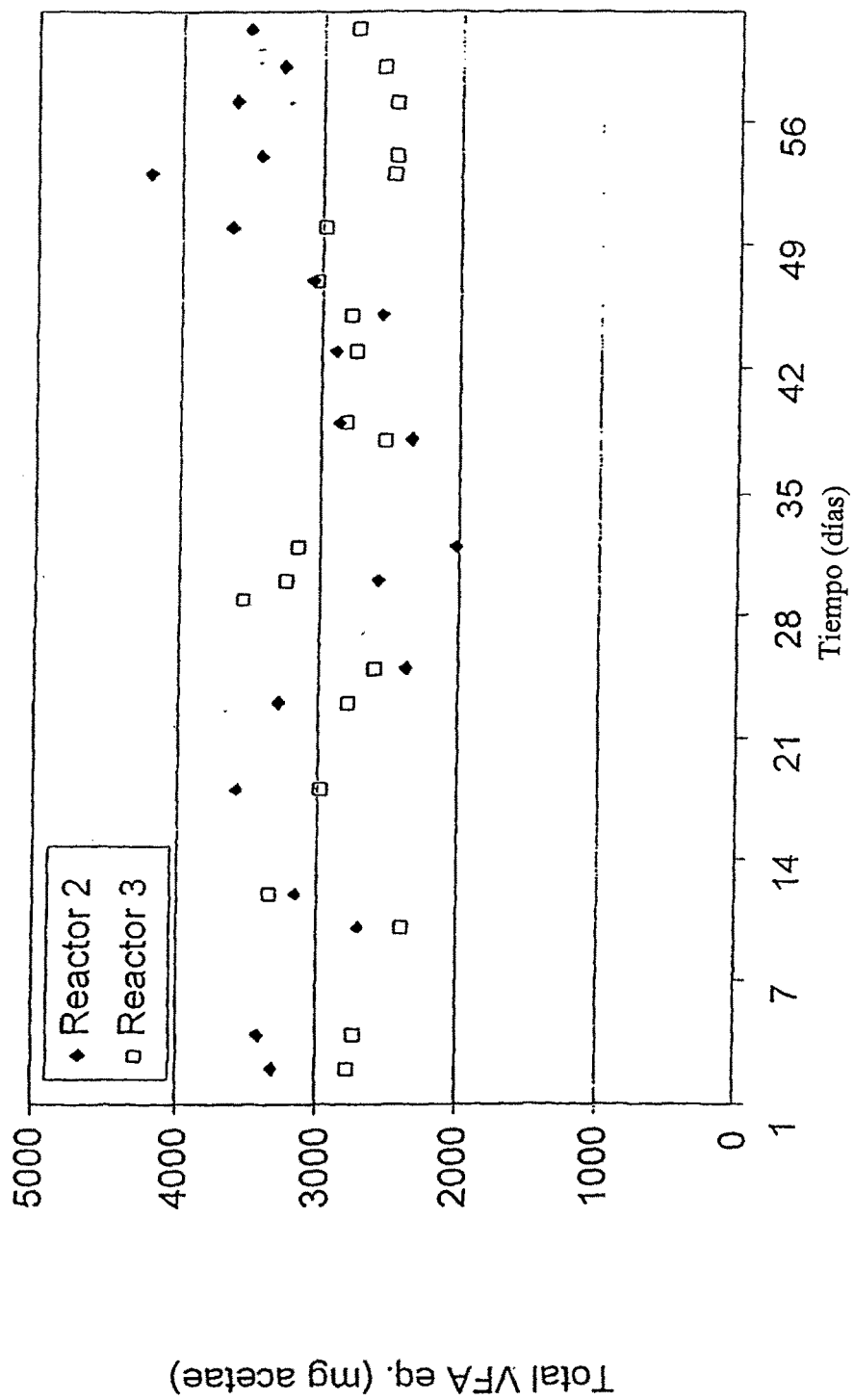


FIGURA 2

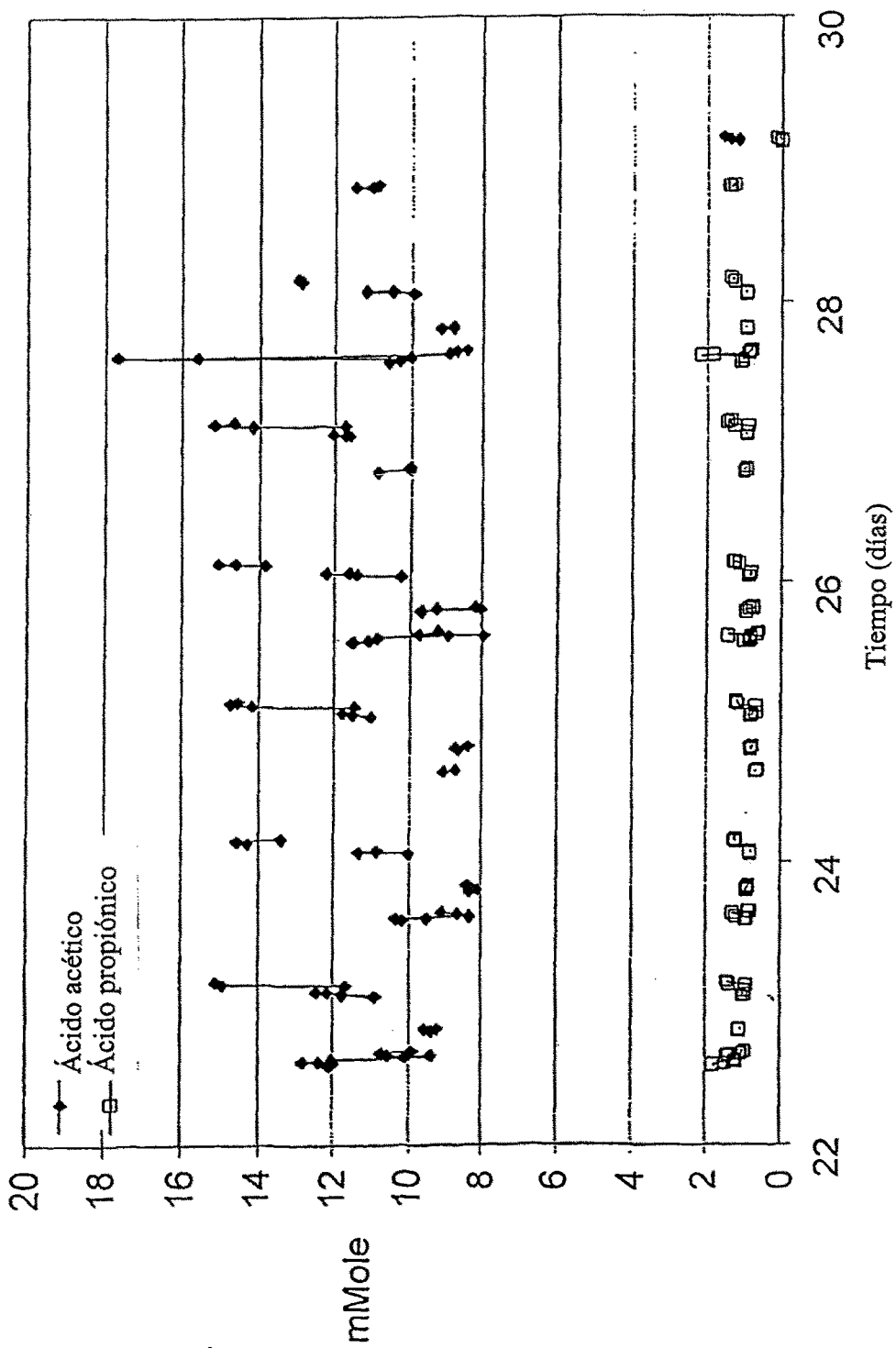


FIGURA 3

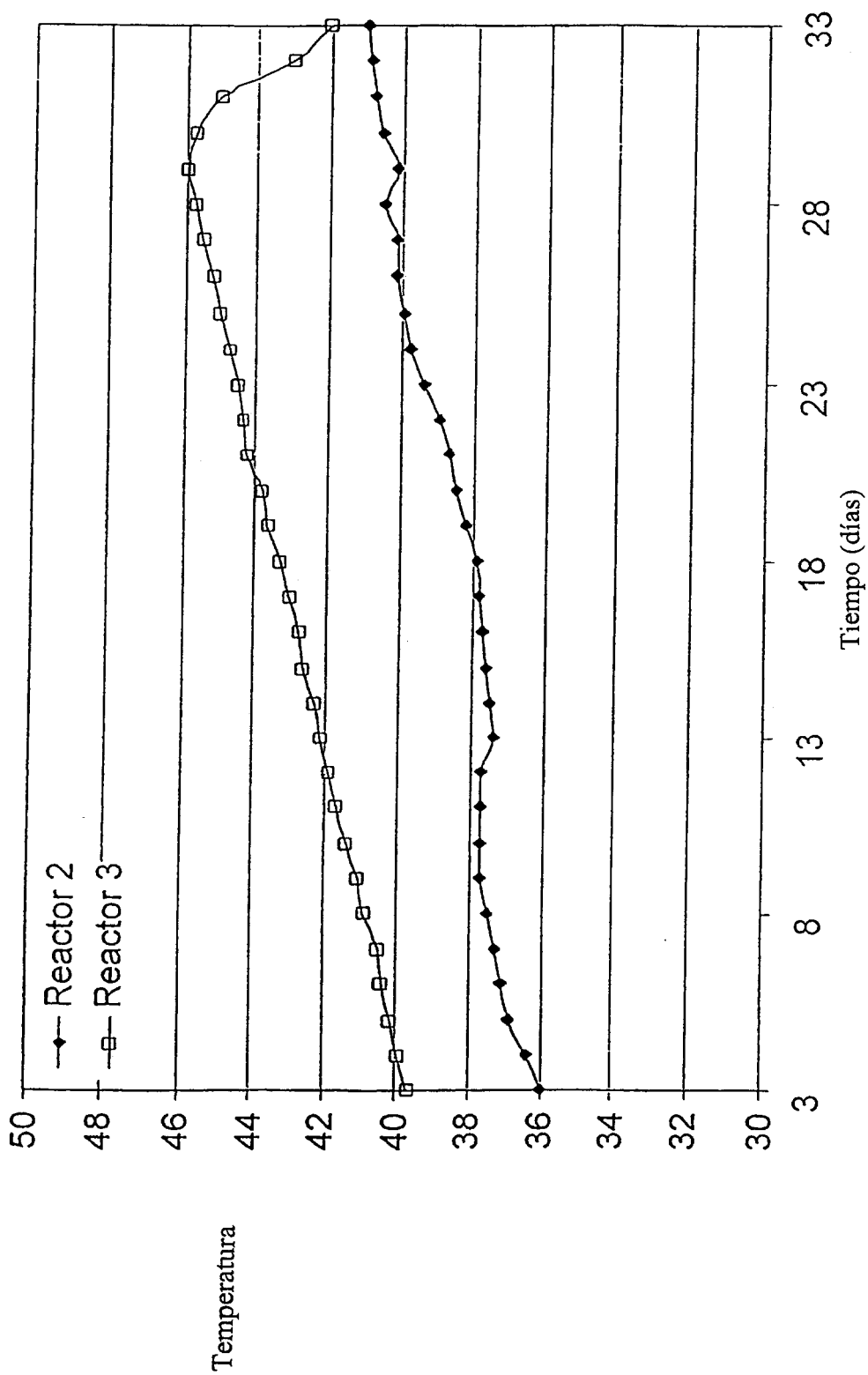


FIGURA 4

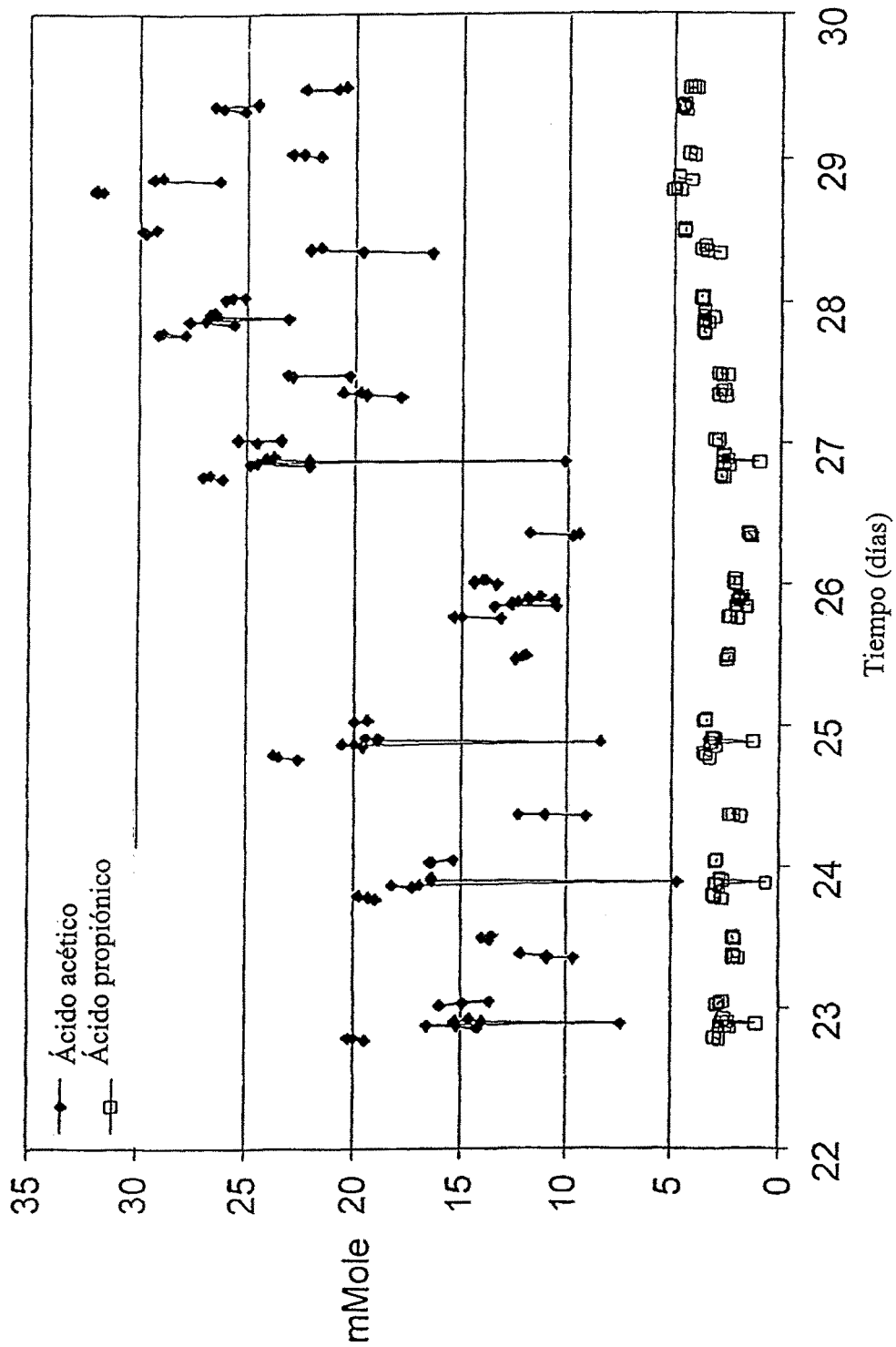


FIGURA 5