

## MODELO EXPERIMENTAL DE DIFUSIÓN DE BIOGÁS EN RAÍCES VEGETALES

Eduardo BALTIERRA-TREJO<sup>2</sup>, Liliana MÁRQUEZ-BENAVIDES<sup>1\*</sup> y Juan Manuel SÁNCHEZ-YÁÑEZ<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Residuos Sólidos y Medio Ambiente del Instituto de Investigaciones Agrícolas y Forestales, Universidad de Michoacán de San Nicolás de Hidalgo, Morelia 58341, Michoacán, México

<sup>2</sup> Laboratorio de Microbiología Ambiental del Instituto de Investigaciones Químico-biológicas, UMSNH, Morelia 58140, Michoacán, México

\*Autora responsable; lmarquez@umich.mx

(Recibido agosto 2011, aceptado marzo 2012)

Palabras clave: digestión anaerobia, relleno sanitario, fisiología vegetal

### RESUMEN

La digestión anaerobia (DA) de la fracción orgánica (FO) de los residuos sólidos urbanos (RSU) en los rellenos sanitarios (RESA), genera biogás que tiene efecto negativo sobre algunas de las plantas que ahí crecen. Sin embargo no existe metodología para evaluarla, ni información del daño del biogás sobre la fisiología vegetal. Es necesario un modelo que simule su difusión sobre el sistema radical de plantas para determinar con precisión el efecto del biogás en función de la concentración en el sitio de exposición. El objetivo de esta investigación fue diseñar un modelo experimental *ex situ* para analizar el efecto del biogás sobre las raíces de calabaza (*Cucurbita pepo* L.). Para ello se diseñó y construyó un sistema de simulación de la DA de la FO de los RSU que difunde biogás en un suelo, donde creció la calabaza. El efecto del biogás sobre esa planta se midió con las variables respuesta: porcentaje de germinación, peso fresco y seco foliar y radical. Los resultados mostraron que la difusión de biogás en el suelo artificial provocó la inhibición de la germinación de semillas de calabaza y su crecimiento a nivel de plántula en comparación con la misma planta sin exponer a biogás, que germinó y creció sin signos de estrés.

Key words: anaerobic digestion, landfill site, plant physiology

### ABSTRACT

Anaerobic digestion (AD) of the organic fraction (OF) of municipal solid waste (MSW) at landfill sites generates biogas that have a negative effect on plants. However no methodology is available to evaluate this effect and information on the effect of biogas on plant physiology is scarce. Thus, a model to simulate the effect of biogas diffusion on the plant radical system, based in the gas diffusion through the soil to relate with exposing time and biogas concentration is required. The aim of this research was to design an *ex situ* experimental model to analyze the effect of biogas on the roots of zucchini squash (*Cucurbita pepo* L.). Considering this, we designed and built a system model to expose the plant seed and root system to biogas. The effect was measured in terms of germination percentage, fresh and dry foliage and root weight. The results indicated that the biogas perfusion caused inhibition of the germination of zucchini

squash as well as the seedling growth level compared to the control plant that germinated and grew with no stress signs.

## INTRODUCCIÓN

Los residuos sólidos urbanos (RSU) son comúnmente dispuestos en rellenos sanitarios (RESA) o ilegalmente en tiraderos al aire libre. En el caso de México, la fracción orgánica (FO) de los RSU es la mayor con 40 a 65 %, la cual bajo digestión anaerobia (DA) genera biogás y lixiviados con un riesgo potencialmente alto de contaminación ambiental (Tchobanoglous 2005).

El biogás en un RESA es una mezcla constituida principalmente por metano (CH<sub>4</sub>) en 45-60 %, dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) en un 40-55 %, y menor concentración de otros gases como: nitrógeno (N<sub>2</sub>) en 2-5 %, sulfuro de hidrógeno (H<sub>2</sub>S) en un 0-1 %, amoníaco (NH<sub>3</sub>) 0.1-1 %, hidrógeno (H<sub>2</sub>) 0-0.2% y trazas de compuestos orgánicos volátiles (COV) 0.01-0.6 % (Flower *et al.* 1978 citado por Chan *et al.*, 1991 y Tchobanoglous y Kreith 2005). Sin embargo, la emisión de biogás no se limita a la superficie del RESA, ocurre en los sitios adjuntos por un desplazamiento denominado migración lateral de biogás (MLB) (Franzidis *et al.* 2008), sobre todo en sitios o RESA que no cuentan con un sistema de recolección activa de biogás (Tchobanoglous y Kreith 2005).

Lo anterior se ha correlacionado con la pérdida de vegetación en estos lugares. De acuerdo con la literatura, la concentración natural de CO<sub>2</sub> en el suelo en contacto con las raíces vegetales es de 0.1 a 2 %, su incremento disminuye la actividad respiratoria radical, en especial cuando en el suelo no existe un intercambio adecuado de gases. Se ha reportado que una concentración menor al 5 % de CO<sub>2</sub> estimula el crecimiento de la raíz por un mecanismo de resistencia al estrés anóxico, pero se inhibe si es mayor al 6.5 %, mientras que valores superiores a 15 a 20 % son letales para la mayoría de las raíces de plantas (Stolwijk y Thimman 1987 citados por Chan *et al.* 1991). Por otro lado, el CH<sub>4</sub> es un componente extraño en la mayoría de los suelos, salvo en los suelos anegados por un periodo prolongado de tiempo donde alcanza hasta 14 %, lo que provoca estrés anóxico en la vegetación, aunque existen plantas como el arroz (*Oryza sativa* L.) que desarrollan mecanismos para tolerar esta condición adversa (Jackson 2002).

En general, son escasos los reportes sobre la inhibición del crecimiento de plantas cuyas raíces fueron expuestas al flujo de biogás producto de la

DA de residuos sólidos en RESA. Wong *et al.* (1992) investigaron los factores que afectan la diversidad y distribución de la vegetación en un RESA en sitios de baja emisión de biogás con 10 % de CH<sub>4</sub> comparada con los de alta emisión con 41 %. Los resultados indicaron que en zonas con baja emisión de biogás hubo un promedio de 6 especies herbáceas con 68.5 % de cobertura y 12 de arbóreas con 100 %, mientras que en sitios con alta emisión hubo 6 especies de herbáceas que cubrieron el 51.2 % y 3 de arbóreas con 7.6 %. Concluyeron que existe una relación entre la concentración de biogás y el porcentaje de cobertura de arbóreas y herbáceas.

Por otro lado, Chan *et al.* (1991) estudiaron el impacto del biogás de un RESA en zonas de baja (10 % v/v de CH<sub>4</sub> y 4.7 % v/v de CO<sub>2</sub>) y de alta emisión de biogás (41 % v/v de CH<sub>4</sub> y 39 % v/v de CO<sub>2</sub>) sobre las raíces de 10 especies de plantas leñosas subtropicales. Los resultados señalaron que en zonas con baja concentración de biogás hubo poca mortalidad, en tanto en áreas con alta concentración se registró la inhibición del crecimiento de la parte aérea con mortalidad de plántulas entre 10 y 50 %.

La hipótesis de este trabajo fue que exponer semillas y raíces de calabaza (*Cucurbita pepo* L.) a elevadas concentraciones de biogás derivado de DA, tendría un efecto negativo en la germinación y en el crecimiento dependiente del nivel en el sitio de exposición, si se cuenta con un modelo experimental que lo demuestre. El objetivo de este trabajo fue diseñar un modelo experimental *ex situ* para analizar el efecto de biogás en la germinación y en el crecimiento de la calabaza.

## MATERIALES Y MÉTODOS

En los RESA de Pátzcuaro, Michoacán, se encontró una especie de calabaza que crece de manera silvestre sobre las celdas selladas, por ello se decidió usar la como planta modelo en el estudio del efecto del biogás en el crecimiento vegetal.

Se diseñó un modelo de análisis *ex situ* para demostrar el efecto del biogás en las raíces de calabaza, para ello se construyeron reactores de digestión anaerobia de sustrato sólido (RDASS) y aprovechar la producción de biogás simulando al generado en un RESA. El biogás se hizo circular en el sistema

de medición del volumen de biogás (SMB) y luego fluyó a través de la unidad acoplada biogás-planta (UABIP) la cual contuvo el suelo artificial en el que se sembró y creció la calabaza, como se describe a continuación.

**Operación del reactor de digestión anaerobia de sustrato sólido**

Para la producción de biogás se usaron RDASS, cada uno consistió en un reservorio de vidrio de 2 L, con una mezcla de 350 g de excreta fresca de vaca, 350 mL de la fase acuosa de lodos biológicos, 350 g de suelo orgánico, 3 g de carbonato de sodio (NaCO<sub>3</sub>, Alyt) y 3 g de sacarosa (C<sub>12</sub>H<sub>22</sub>O<sub>11</sub>, Fermont). Para alimentar los RDASS se preparó una mezcla que consistió en 60 % de residuos alimenticios domésticos y 40 % papel bond, enriquecida con lodos biológicos en proporción 59:1, esta mezcla se deshidrató en horno a 105 °C y se trituró en molino con criba de 4 mm. Los RDASS se sellaron herméticamente, se incubaron a 35 °C y se alimentaron cada 5 días con 21 g de la mezcla de residuos orgánicos y 39 mL de H<sub>2</sub>O destilada.

**Estandarización de la medición de biogás**

El SMB estaba constituido por 2 frascos de vidrio de 4 L graduados con 3.5 L de solución salina (SS) al 20 %. El volumen de biogás generado por cada RDASS se determinó por desplazamiento de la SS entre los frascos, se adaptó un mecanismo de llaves para cambiar la dirección del flujo una vez desplazado el volumen total de SS y finalmente dirigirlo a la UABIP

Se ubicaron sitios de muestreo en el RDASS y en el SMB (a y b en Fig. 1) para determinar el contenido de CH<sub>4</sub> en el biogás por medio del cromatógrafo

de gases Varian Clarius CP-3800 con detector FID y una columna empacada HAY-ESEP-Q-80-100-mesh. Las temperaturas de operación del inyector, el detector y la columna fueron 200, 210 y 90 °C, respectivamente.

Se realizó el seguimiento del volumen y composición del biogás en un periodo de 45 días; se probó si la acidez a pH 4 ó la alcalinidad a pH 10 de la SS influyó en la concentración de CH<sub>4</sub> del biogás proveniente de los RDASS después de su difusión por el SMB.

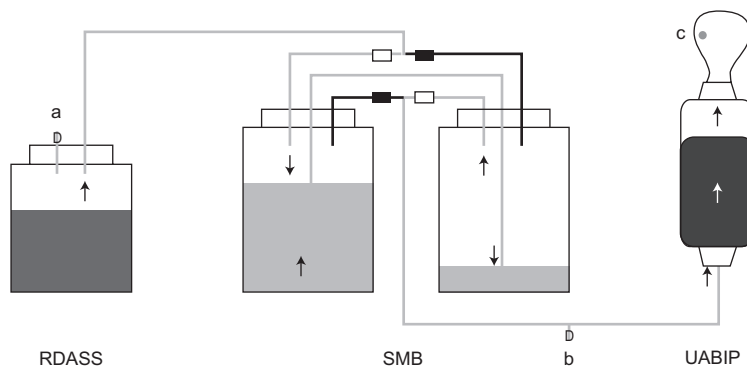
**Difusión de biogás en la unidad de crecimiento vegetal**

Para la difusión del biogás en la raíz de la calabaza se construyó la UABIP haciendo uso de un cilindro de tereftalato de polietileno (PET) de 40 cm de altura × 11 cm de diámetro. El cilindro contenía 2 kg de suelo artificial construido con una textura arena 50 %, arcilla 20 % y limo 30 %.

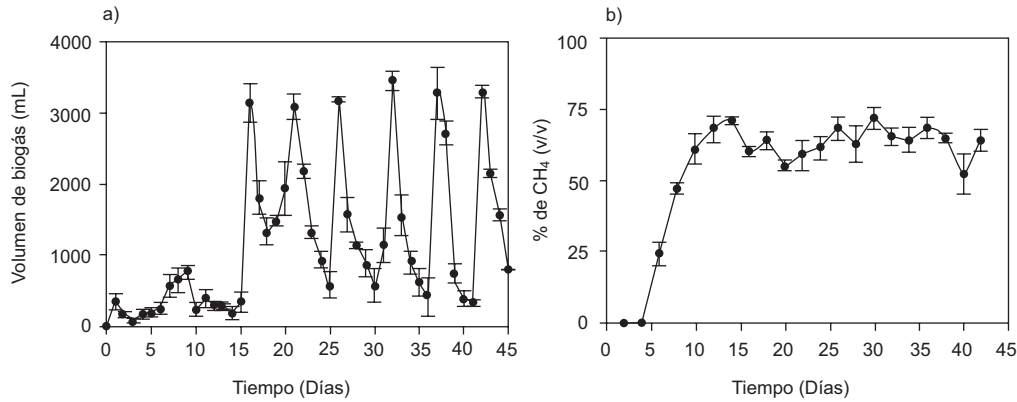
Se ubicó un tercer punto de muestreo adaptándose para esta prueba una bolsa al cuello de la UABIP (c en Fig. 1) con el propósito determinar si la concentración de CH<sub>4</sub> en el biogás generado en el RDASS era similar después de difundir en el suelo de la UABIP bajo dos condiciones: en suelo seco e hidratado a capacidad de campo.

**Efecto del biogás en las de raíces de plantas**

Finalmente, probados los componentes del modelo se examinó el efecto del biogás en el crecimiento de calabaza. Para ello se tuvieron dos grupos de RDASS en diferente estado en el proceso de DA, los de mayor producción de biogás se denominaron de “alta concentración” y los de menor de “baja concentración” y se monitorearon a lo largo del experimento.



**Fig. 1.** Modelo de difusión de biogás en raíz vegetal: reactor de digestión anaerobia de sustrato sólido (RDASS), sistema de medición de biogás (SMB), unidad de acoplamiento biogás-planta (UABIP). Las llaves (rectángulos negro/blanco) alternan el flujo entre las diferentes unidades; a, b y c: sitios de muestreo



**Fig. 2.** Dinámica de la producción de biogás en los RDASS en 45 días a 35 °C. a) Volumen de biogás. b) Concentración de CH<sub>4</sub>

Se sembraron 4 semillas de calabaza, previamente desinfectadas durante 5 min con solución hipoclorito de sodio 5 % y lavadas con agua destilada estéril, en el suelo artificial de cada UABIP. Luego de germinar las plántulas crecieron bajo un ciclo de iluminación 16/8 h luz/oscuridad con lámpara fluorescente a 8600 Lux y a 25 °C. Las plantas se alimentaron con solución nutritiva (g/L): NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> 10, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 2, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2.5, MgSO<sub>4</sub>•7H<sub>2</sub>O 1, NaCl 0.1, CaCl<sub>2</sub>, FeSO<sub>4</sub>•7H<sub>2</sub>O 0.001; H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 0.00286, ZnSO<sub>4</sub>•7H<sub>2</sub>O 0.00022, MgSO<sub>4</sub>•7H<sub>2</sub>O 0.0001, Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>•2H<sub>2</sub>O 0.0001 (Baker), pH 6.6. Las variables respuesta consideradas fueron: el porcentaje de germinación, el peso fresco y seco foliar y el radical de calabazas cosechadas a los 15 y 30 días después de su germinación.

## RESULTADOS

Para medir el efecto del biogás sobre la germinación de las semillas y el crecimiento de la calabaza se probaron los tres componentes descritos en el diseño experimental: RDASS, SMB y UABIP para estandarizar las condiciones de su operación.

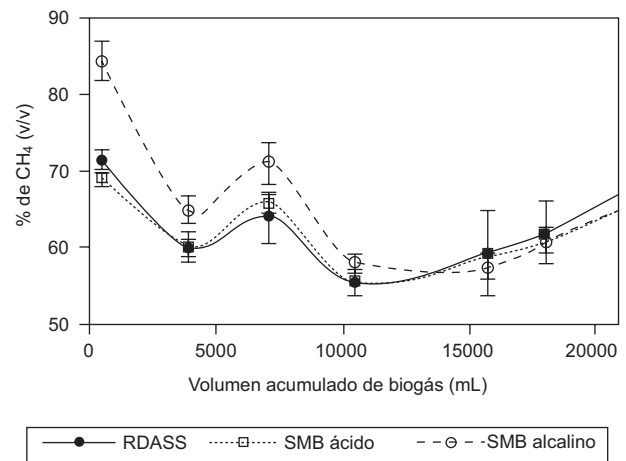
### Operación del reactor de digestión anaerobia de sustrato sólido

Se estableció que el volumen de biogás generado por los RDASS fue constante en el periodo entre cada alimentación a partir del día 15 de la dinámica de la DA de la FO de los RSU; con un volumen de 782 a 3200 mL/día, de los cuales 55 a 75 % era CH<sub>4</sub> en el periodo de tiempo entre cada alimentación (**Fig. 2**).

### Estandarización de la medición de biogás

Se probó si la SS que se usó en el SMB a pH 4 ó

10 influyó en la concentración de CH<sub>4</sub> en el biogás generado en cada RDASS. Haciendo uso de la SS alcalina aumentó la concentración de CH<sub>4</sub> en función del volumen de la SS desplazada tras fluir por el SMB, que inicialmente fue 8 % mayor que en el RDASS, pero a partir del día 8 fue similar en los puntos de muestreo colocados antes y después del SMB (**Fig. 3**). Al finalizar el experimento se determinó el pH de la SS ácida, que subió levemente de 4 a 4.8 y el de la alcalina bajó drásticamente de 10 a 5.6, por lo que en las pruebas posteriores se usó la SS ácida.



**Fig. 3.** Concentración de CH<sub>4</sub> en RDASS y en el SMB en solución salina ácida y alcalina en función del volumen acumulado de biogás en 15 días

### Difusión de biogás en la unidad de crecimiento vegetal

Se analizó si el biogás producido en cada RDASS fluyó por el sistema y fue constante en su composición luego de difundir en la UABIP bajo las dos condiciones probadas. En suelo seco la concentración de CH<sub>4</sub> en la UABIP fue de 58 %, mientras que en capacidad de

campo fue de 46 %, por lo que en esta última condición hubo una diferencia significativa en la composición, comparado con el biogás en el RDASS que registró un 63 % de CH<sub>4</sub> en ambas condiciones (Fig. 4).

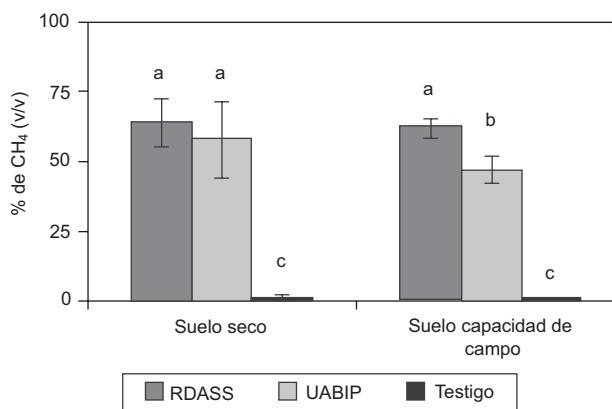


Fig. 4. Concentración de biogás en RDASS y UABIP con suelo seco, capacidad de campo y control sin exposición a biogás del RDASS. a y b = diferencia significativa respecto de “c”

**Efecto del biogás en las de raíces de plantas**

Los RDASS que se registraron como de “alta concentración” tuvieron un volumen promedio de 79.27 L biogás/mes del que el 58.90 % fue CH<sub>4</sub> y los de “baja concentración” un volumen promedio de 46.98 L biogás/mes de los que el 49.18 % fue CH<sub>4</sub>.

La germinación de semillas expuesta a elevada concentración fue de 25 % y, en contraste, la de baja concentración fue de 75 % comparada con las semillas de calabaza sin exponer al biogás usadas como control relativo (Fig. 5).

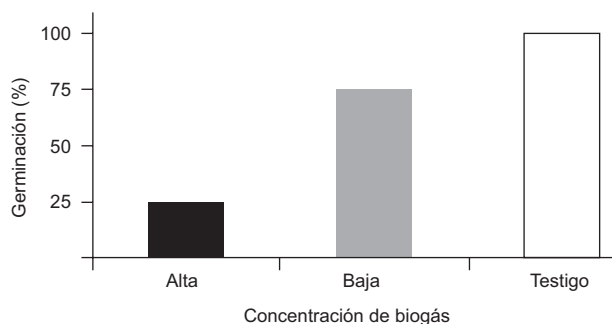


Fig. 5. Efecto de alta (80 L/mes, CH<sub>4</sub> 58.9 %) y baja (45 L/mes, CH<sub>4</sub> 49.18 %) concentración de biogás en la germinación semillas de calabaza

La germinación fue notoriamente inhibida por la concentración de biogás. Las semillas expuestas a biogás que germinaron lo hicieron con un retardo de

2 a 4 días respecto del control (sin exponer a biogás), lo que confirmó que esta es una etapa crítica por la necesidad de mayor aporte de O<sub>2</sub> para activar el metabolismo de hidrólisis de almidón de reserva en el cotiledón (Hess 1980).

El biogás tuvo un efecto inhibitorio del crecimiento de plántulas de calabaza en función de la concentración de biogás y el tiempo de exposición, que no fue diferente en plántulas de 15 días, mientras que en 30 días la inhibición del expresado en biomasa fue evidente con aval de la prueba estadística (Fig. 6).

**DISCUSIÓN**

La SS usada en el SMB tuvo una reacción química diferente en condiciones ácida y alcalina. De acuerdo con Muñoz *et al.* (2009) la alcalinidad de la SS permite la disolución del CO<sub>2</sub> con formación de H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, sin embargo en el modelo experimental se observó que esta reacción fue limitada y se evita al descender el pH de la solución salina. Lo anterior es útil si se desea probar únicamente el efecto del CH<sub>4</sub> producto de la DA de la FO de los RSU, sin embargo sería necesario diseñar un sistema para mantener la condición de pH para la disolución del CO<sub>2</sub> a largo plazo.

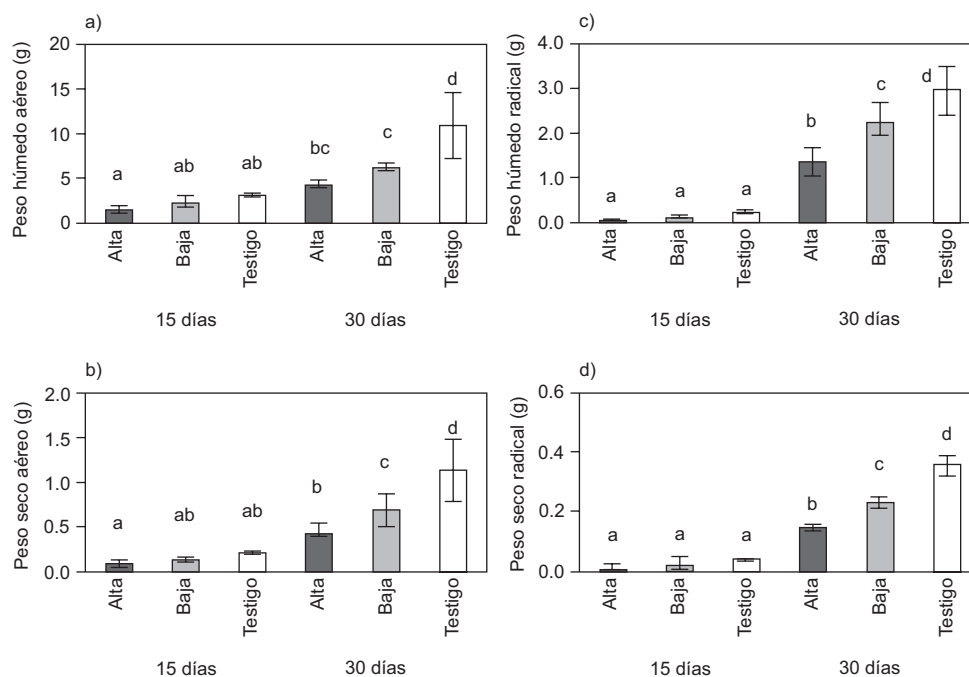
El diseño de la UABIP permitió medir una concentración de CH<sub>4</sub> similar a la reportada en respiraderos de RESA, en promedio de ~60 % con suelo seco, en tanto que en el suelo la capacidad de campo fue de ~45 %. Ésta última condición fue una barrera física para el flujo del biogás generado en el RDASS, por lo que el efecto en el crecimiento vegetal en este modelo planteado será diferente al aplicarse un suelo distinto.

Los pocos estudios realizados señalan que el efecto negativo en el crecimiento de las plantas en RESA es causado por la condición de anoxia por desplazamiento del O<sub>2</sub>. Se considera que CH<sub>4</sub> y CO<sub>2</sub> no son gases que alteren la fisiología vegetal, lo que sugiere que el daño es por asfixia de la raíz y no por alteración de una ruta metabólica (Chan *et al.* 1991), aunque no existe suficiente investigación al respecto para una explicación definitiva.

**CONCLUSIONES**

La investigación sobre el estado del arte del efecto del biogás de RESA en el crecimiento vegetal es incipiente y poco clara, por lo que es difícil contrastar los resultados obtenidos en este modelo experimental con trabajos previos.





**Fig. 6.** Promedio del los pesos fresco y seco de la parte aérea (a y b) y radical (c y d) de calabaza a los 15 y 30 días expuesta a alta (80 L/mes, CH<sub>4</sub> 58.9%) y baja (45 L/mes, CH<sub>4</sub> 49.18%) concentración de biogás. a, b y c = diferencia significativa respecto de “d”

Aunque los resultados confirman que el biogás producto de la DA de la FO de los RSU tiene un efecto inhibitorio en el crecimiento vegetal aun no es posible dar una explicación precisa acerca del mecanismo que lo produce, por lo que será necesaria mayor investigación para obtener una conclusión al respecto.

También es necesario investigar si el efecto fitotóxico del biogás se debe al CO<sub>2</sub>, al CH<sub>4</sub> ó a la combinación de ambos y si el daño es similar en los diversos grupos vegetales.

La estandarización de las condiciones de estudio como se propone en este trabajo, permitirá además probar el efecto del biogás en las poblaciones microbianas del suelo, encontrar géneros vegetales sensibles o resistentes al biogás y los mecanismos morfofisiológicos que en ellos actúan, lo que podría derivar en la obtención de bioindicadores de la calidad del aire del suelo en los RESA.

## AGRADECIMIENTOS

El desarrollo de esta investigación se llevó a cabo gracias al financiamiento otorgado al Proyecto 2.7 y 5.15 (2010-2011) de la CIC-UMSNH y a la Beca 239180 del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT).

## REFERENCIAS

- Chan G. Y. S., Wong M. H. y Whitton B. A. (1991). Effects of landfill gas on subtropical woody plants. *Environ. Manage.* 15, 411-431.
- Flower F. B., Leone I.A., Gilman E. F. y Arthur J. J. (1978). A study of vegetation problems associated with refuse landfills. EPA. EUA. 600, 78-94.
- Franzidis J. P., Héroux M., Nastev M. y Guy C. (2008). Lateral migration and offsite surface emission of landfill gas at City of Montreal landfill site. *Waste Manage. Res.* 26, 121-131.
- Hess D. (1980). *Fisiología vegetal. Fundamentos moleculares y fisiológicos del metabolismo y el desarrollo.* Omega, Barcelona, España, pp:40-43
- Jackson M. (2002). Long-distance signaling from roots to shoots assessed: the flooding story. *J. Ex. Bot.* 53, 175-181.
- Muñoz J. D., Camargo D. A. y Gallego D. (2009). Aplicación de la metodología de superficie de respuesta en un proceso de absorción del CO<sub>2</sub> de un biogás en una solución alcalina. *Dyna* 76, 135-144.
- Stolwijk A. J. y Thimann K. V. (1987). On the uptake of carbon dioxide and bicarbonate by roots, and its influence on growth. *Plant Physiol.* 32, 513-520.
- Tchobanoglous G. y Kreith F. (2005). *Handbook of solid wasted management.* McGraw-Hill, Nueva York, Cap.14.

Wong M. H., Cheung K. C. y Lan C. Y. (1992). Factors related to the diversity and distribution of soil fauna on Gin Drinkers' Bay landfill, Hong Kong. Waste Manage. Res. 10, 423-344.