



Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C.

Posgrado en Ciencias en Energía Renovable

ANÁLISIS DEL EFECTO DE LA MICROAIREACIÓN
EN UN REACTOR ACIDOGÉNICO DE UN PROCESO
DE DIGESTIÓN ANAEROBIA CON CARBÓN
GRANULAR EN DOS FASES Y BALANCE DE
MASAS EN LA DISTRIBUCIÓN DE CARBONO,
NITRÓGENO Y FÓSFORO

Tesis que presenta

MIA. Fernando Canul Bacab

En opción al título de

DOCTOR EN CIENCIAS EN ENERGÍA RENOVABLE

Mérida Yucatán México, Octubre de 2020

AGRADECIMIENTO

A la Unidad de Energía Renovable del Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C. (CICY) por las facilidades recibidas en sus instalaciones para la realización de las pruebas experimentales.

A la Dra. Liliana Alzate Gaviria, por la dirección y asesoría brindada en la realización de este trabajo, y por la oportunidad que me otorgó para terminar el programa de estudio del doctorado en energías renovables.

A la Dra. Elda Isaura España Gamboa por su colaboración, asesoría y aportes.

Al M.C. Jorge Domínguez por su apoyo técnico en las mediciones y pruebas experimentales de laboratorio.

A la Dra. Blondy Canto Canche por sus revisiones y comentarios, los cuales me fueron de utilidad para finalizar la tesis.

Al Dr Raul Tapia Tussell por su tiempo proporcionado para la revisión de la tesis.

Al Dr. Juan Enrique Ruiz Espinoza, por su apoyo y asesoría en la finalización de la tesis.

Al Dr. Roger González Herrera, por sus comentarios y observaciones realizadas al trabajo de tesis doctoral.

Al Instituto Tecnológico Superior de Motul por todas las facilidades otorgadas durante el tiempo de permanencia en el Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C.

A los doctores que me impartieron clases, que con sus enseñanzas y asesorías cambiaron mi percepción del panorama científico y me motivaron a emprender nuevos retos.

A mis compañeros de generación y de laboratorio por su amistad, apoyo y comprensión para concluir este trabajo.

DEDICATORIA

A dos de las personas más importantes en mi vida que son mi motivo de seguir adelante y ser un ejemplo para ellas, Camila y Fernanda, verlas crecer es una de las mayores recompensas que tendré.

A mi compañera Caty, gracias por tu comprensión y paciencia en los momentos complicados, y sobre todo por haberme alentado a continuar adelante.

A todas esas personas con las que conviví en esta etapa de mi vida, Edgar, Ricardo, Kehila, Gabriel, Rubí, David, entre otras, muchas gracias.

ÍNDICE

RESUMEN.....	VII
ABSTRACT	viii
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO 1.....	3
ANTECEDENTES.....	3
1.1 Características de la FORSU	3
1.2 Pretratamiento para la FORSU	6
1.2.1 Biológico	6
1.2.2 Térmico	7
1.2.3 Químico.....	7
1.2.4 Mecánico	7
1.3 Digestión anaerobia (DA).	7
1.4 Factores que afectan la digestión anaerobia	12
1.4.1 Temperatura	13
1.4.2 Inóculo	14
1.4.3 pH.....	15
1.4.4 Nutrientes	16
1.5 Toxicidad.....	17
1.5.1 Ácidos grasos	17
1.5.2 Amoníaco	19
1.5.3 Sulfuros.....	19
1.6 Producción de biogás	20
1.7 Relación DQO y metano producido	21
1.8 Tecnologías anaerobias.....	23
1.8.1 Reactor RACE	23
1.8.2 Reactor UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket)	25
1.9 Digestión anaerobia en dos etapas	26
1.10 Microaireación	30
1.11 Balance de masas.....	32
1.12 Potencial Redox (ORP).	34
1.12 Transferencia directa de electrones entre especies.....	38
Hipótesis.....	40
Objetivo general	40
Objetivos específicos	40

CAPÍTULO 2	41
METODOLOGÍA	41
2.1 Recolección de la muestra	41
2.2 Caracterización de la muestra	41
2.3 Inóculo	42
2.4 Reactores	42
2.4.1 Reactor RACE control.....	42
2.4.2 Reactor RACE con microaireación	44
2.4.3 UASB	46
2.5 Aclimatación	47
2.5.1 Reactor UASB sin DIET	47
2.5.2 Reactor UASB _{DIET}	48
2.6 Acoplamiento de los reactores RACE_{MICRO-AIREADO} -UASB_{DIET}	49
2.7 Balance de masas	50
2.7.1 Preparación de las muestras.....	51
CAPITULO 3	55
RESULTADOS Y DISCUSIONES	55
3.1 Caracterización	55
3.2 Reactores	58
3.2.1 Reactor RACE control.....	58
3.2.2 Reactor RACE _{MICRO-AIREADO}	63
3.2.3 Reactor UASB	69
3.2.3.1 Reactor UASB sin DIET	69
3.2.3.2 Reactor UASB _{DIET}	71
3.4 Balance de masas	78
3.4.1 Balance de nutrientes.....	79
CONCLUSIONES	96
BIBLIOGRAFÍA	98

INDICE DE TABLAS

Tabla 1.1. Características de la FORSU	5
Tabla 1.2. Requerimientos ambientales para la digestión anaerobia	12
Tabla 1.3. Tiempo de regeneración de microorganismos	12
Tabla 1.4. Factores que afectan al proceso de digestión anaerobia	13
Tabla 1.5. Relación de macronutrientes recomendados para la digestión anaerobia	16
Tabla 1.6. Concentración de metales pesados	17
Tabla 1.7. DQO de la FORSU reportada por varios autores	22
Tabla 1.8. Digestión anaerobia en 2 etapas	29
Tabla 1.9. Digestión anaerobia con microaireación	31
Tabla 1.10. Valores estándar de ORP de las reacciones involucradas en el metabolismo intracelular	36
Tabla 2.1. Parámetros para la caracterización de la FORSU	41
Tabla 2.2. Parámetro para el control del RACE	43
Tabla 2.3. Parámetro para el control del RACE MICRO-AIREADO	45
Tabla 2.4. Proceso de aclimatación del UASB	48
Tabla 2.5. Parámetros para el acoplamiento de RACE MICRO-AIREADO -UASB DIET	50
Tabla 2.6. Parámetros para determinar la composición elemental en el sustrato sólido	52
Tabla 2.7. Parámetros para evaluar el comportamiento y transformaciones de los elementos en la fase sólida del reactor empacado	52
Tabla 2.8. Parámetros para evaluar el comportamiento y transformaciones de los elementos en la fase líquida del reactor empacado	52
Tabla 2.9. Parámetros para evaluar el comportamiento y transformaciones de los elementos en el reactor UASB	53
Tabla 2.10. Parámetros para evaluar el comportamiento y transformaciones de carbono, nitrógeno y fósforo en los reactores.	54
Tabla 3.1. Composición porcentual de la FORSU utilizada por otros autores	55
Tabla 3.2. Características físico-químicas de la FORSU	56
Tabla 3.3. Flujo de nutrientes dentro del proceso de digestión anaerobia	86
Tabla 3.4. Distribución de nutrientes en el ensayo de acoplamiento	93

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1 Representación esquemática de la digestión anaerobia	9
Figura 1.2. Tasa de crecimiento de los metanógenos a diferentes temperaturas	14
Figura 1.3. Producción de biogás en función del estado de oxidación del compuesto	21
Figura 1.4. Representación esquemática del reactor empacado	23
Figura 1.5. Esquema general de un reactor UASB.....	25
Figura 1.6. (a) Gránulos de lodo activo de un reactor; (b) Lodos encontrados en cada zona de un reactor UASB.....	26
Figura 1.7. Representación esquemática de un sistema en 2 etapas de digestión	27
Figura 1.8. Representación esquemática de un proceso de microaireación en dos etapas	30
Figura 1.9. Representación esquemática de las fases del balance de masas	34
Figura 1.10. Representación esquemática del proceso oxido-reducción	35
Figura 1.11 Representación esquemática del comportamiento de los sustratos a diferentes ORP	37
Figura 1.12. Tres mecanismos de la DIET entre compuestos orgánicos oxidantes. Bacterias y Arqueas metanogénicas a través de: (A) Pili conductor, (B) Electrones unidos a la membrana de transporte de proteínas, (C) Materiales conductivos abióticos	38
Figura 2.1. Representación esquemática del RACE.....	42
Figura 2.2. Ensamble del RACE	43
Figura 2.3. Representación esquemática del proceso en el RACE MICRO-AIREADO.....	44
Figura 2.4. Representación esquemática del UASB.....	46
Figura 2.5. Ensamble del UASB a escala laboratorio.....	47
Figura 2.6. Esquema de acoplamiento RACE _{MICRO-AIREADO} -UASB _{DIET}	49
Figura 3.1. Pruebas en el RACE control (a) DQO y actividad de la CMC _{Case} (b) AGVs y pH, (c) ORP	62
Figura 3.2. Pruebas en el RACE _{MICRO-AIREADO} (a) DQO y actividad de la CMC _{Case} (b) AGVs y pH, (c) ORP	68
Figura 3.3. Representación esquemática del comportamiento del UASB durante la aclimatación, (a) Carga orgánica como DQO y porcentaje de remoción (b) pH and AGVs, (c) Índice alfa y buffer....	70
Figura 3.4. Acoplamiento de los reactores con 2 kgDQO/m ³ d: RACE _{MICRO-AIREADO} -UASB _{DIET} (a) DQO, (b) Alcalinidad, (c) pH, (d) AGVs, (e) Metano en el UASB _{DIET}	77
Figura 3.5. Flujo de nutriente dentro del sistema.....	78
Figura 3.6. Distribución de los nutrientes de la FORSU	89
Figura 3.7. Distribución de carbono al inicio del proceso	89
Figura 3.8. Distribución de carbono al inicio y en las 3 fases al final del proceso.....	90
Figura 3.9. Distribución de los nutrientes al final del proceso.....	91
Figura 3.10. Distribución de fósforo y nitrógeno al inicio (sustrato) y en las 3 fases del RACE _{MICRO-AIREADO} -UASB _{DIET} al final del proceso	92

RESUMEN

En un proceso de digestión anaerobia (DA), la fase de hidrólisis es considerada una limitante cuando se utilizan sustratos con altas concentraciones de sólidos. El uso de microaireación durante la hidrólisis y la utilización del carbón activado granular (CAG) en la metanogénesis hacen que la DA sea más eficiente. Se utilizó un reactor de lecho empacado (RACE) acoplado a un reactor de manto de lodo anaeróbico de flujo ascendente (UASB).

La tasa de microaireación aplicada en el RACE fue de 254 L-aire/kg ST/d, y se comparó con un reactor de control. La microaireación incrementó la demanda química de oxígeno (DQO) hasta en un 200% y los ácidos grasos volátiles (AGVs) fueron superiores a 250%. La utilización del CAG en la fase metanogénica incrementó el porcentaje de metano (CH_4) en el biogás hasta en un 90%, el rendimiento fue de $400.2 \text{ LCH}_4/\text{kgSV}_{\text{removido}}$, con una eliminación de sólidos totales (ST) del 67.5%. En el balance de masas se encontró que el 55% del carbono inicial fue hidrolizado, el 30% fue convertido en CH_4 y CO_2 , 14% permaneció en la fase líquida y 45% del total se registró en los sólidos estabilizados, el 57% del nitrógeno permaneció en la fase sólida y 40% en la líquida; el 81% del fósforo se encontró en la fase sólida y el 22% en la líquida. Se demostró que el uso de microaireación y CAG promueve DIET (Transferencia directa de electrones entre especies) en un sistema DA de dos fases aumenta el rendimiento de metano y reduce el tiempo de estabilización de los desechos orgánicos en 14 días.

ABSTRACT

In an Anaerobic Digestion process (DA), the hydrolysis phase is considered as a limitation when substrates with high solids concentrations are used. The use of micro-aeration during hydrolysis and the use of granular activated carbon (GAC) in methanogenesis make AD more efficient. A packed bed reactor (APR) coupled to an up-flow anaerobic sludge blanket reactor (UASB) was used.

The micro-aeration rate applied in the RACE was 254 L-air/kg TS/d and it was compared with a control reactor. Micro-aeration increased the chemical oxygen demand (COD) by up to 200% and volatile fatty acids (VFAs) were greater than 250%. The use of the GAC in the methanogenic phase increased the methane percentage in the biogas up to 90 %, the yield was 400.2 LCH₄/kgVS_{eliminated} with an TS removal of 67.5%. In the mass balance, it was found that 55% of the initial carbon was hydrolyzed, 30% became CH₄ and CO₂, 14% remained in the liquid phase and 45% of the total was recorded in stabilized solids, 57% of the nitrogen remained in the solid phase and 40% in the liquid phase; 81% of the phosphorus was recorded in the solid phase and 22% in the liquid. It was shown that the use of micro-aeration and DIET (Direct interspecies electron transfer) in a two-phase DA system increases methane yield and reduces the stabilization time of organic waste by 14 days

INTRODUCCIÓN

El incremento del precio del combustible convencional y la demanda del mismo ha llevado a la humanidad a la búsqueda de otras fuentes alternativas de energía mediante el aprovechamiento de los recursos renovables. Entre estos recursos se encuentran los residuos sólidos urbanos (RSU), los cuales según la Ley General para la Prevención y Gestión Integral de los Residuos los definen como aquellos residuos generados en las casas habitación, a través de la eliminación de los materiales que se utilizan en las actividades domésticas de los productos que se consumen y de sus envases, embalajes o empaques; así como los residuos que provienen de las vías y lugares públicos [1-2].

Se ha reportado que los RSU contribuyen al deterioro ambiental, ante la falta de una disposición final adecuada, se han convertido en un problema para la sociedad y más para países en vías de desarrollo [3]. Según Jiménez-Martínez [4] en México la composición de los RSU tiene diferentes características, se estima que el 52.4 % es la Fracción Orgánica de Residuos Sólidos Urbanos (FORSU), 34 % de residuos potencialmente aprovechables (13.8 % desechos de papel y cartón, 10.9 % plástico, 5.9 % vidrio, y 3.4 % metales) y el 13.6 % restante está integrado por otros tipos de residuos como pañales desechables, toallas y materiales que no son aprovechables. La generación de residuos sólidos urbanos en México en los últimos años se ha estado incrementando en promedio en un 2.3% anual, y el contenido de materia orgánica en el 2010 fue de 52.4% aproximadamente [1]. Los incentivos económicos como son: la deducibilidad del 100% de las inversiones en equipo y la asignación de recursos a instituciones han motivado el desarrollo de tecnologías para este tipo de residuos [5].

La digestión anaerobia (DA) es una de las tecnologías más estudiadas para la estabilidad de los residuos biodegradables, minimiza el impacto al medio ambiente y tiene un potencial alto para la recuperación de energía. A pesar del potencial de recuperación de energía del proceso DA aún presenta limitaciones como son; la baja eficiencia del proceso por acumulación de ácidos orgánico volátiles (AGVs) ocasionado por sustratos con materiales orgánicos fácilmente biodegradable y la falta de flexibilidad de utilizar biomasa que contienen materiales lignocelulósicos sin ningún tipo de tratamiento [6-7]. Se han empleado estrategias para hacer más eficiente el proceso, entre las cuales se mencionan la DA en 2 fases, la microaireación y la Transferencia directa de electrones entre especies (DIET). Diferentes trabajos han documentado los beneficios de la

aplicación de una cantidad limitada de aire conocida como microaireación. Entre los beneficios se mencionan el incremento de la solubilización de la materia orgánica recalcitrante y la diversidad de los consorcios microbianos que promueve interacciones sintróficas entre diferentes grupos, creando un proceso más estable e incrementando la actividad de los microorganismos; por lo tanto, para implementar un proceso DA con microaireación es importante el conocimiento de los mecanismos fundamentales del proceso, reacciones microbiológicas y molecular, ya que una aplicación en exceso puede ocasionar deficiencia en la actividad de los microorganismos metanogénicos.

Para mejorar y hacer más eficiente la fase metanogénica y la recuperación de bioenergía en desechos orgánicos se ha empleado la promoción de transferencia de electrones mediante la DIET [8]. La aplicación del DIET ha aumentado la producción de metano, se realiza con la ayuda de un material conductor, los más utilizados son: carbón activado, biocarbón, tela de carbón, grafito, magnetita, carbón activado granular (CAG) y sustancias húmicas [9], los cuales pueden servir como portadores de electrones efectivos durante el intercambio entre las especies; además, el CAG proporciona un medio de soporte para la unión de los microorganismos, adsorbe compuesto tóxicos e incrementa el pH favoreciendo la producción de CH_4 en el biogás.

El balance de masas y energía es una herramienta que permite contabilizar los flujos de masa y energía en las distintas etapas de un proceso y los alrededores. La determinación del balance de masas en el proceso DA y el entendimiento de las transformaciones de los subproductos que ocurren dentro de los reactores, permitirá cuantificar la cantidad de energía que se puede recuperar, considerando las variaciones de entrada y salida, las transformaciones químicas, físicas y biodegradabilidad del residuo; además, dará a conocer la proporción de carbono, nitrógeno y fósforo contenido en el sustrato y la cantidad que es utilizada en las distintas fases.

Por ello, este trabajo propone la utilización de la FORSU en un prototipo a escala laboratorio de 2 reactores, uno de lecho empacado con microaireación ($\text{RACE}_{\text{MICRO-AIREADO}}$) acoplado a otro de flujo ascendente (UASB) utilizando CAG, con la finalidad de evaluar una posible mejora en el proceso; por lo tanto, sería más eficiente y se realizará en menor tiempo; teniendo presente un balance de masas en la distribución de carbono, nitrógeno y fósforo del sistema.

CAPÍTULO 1

ANTECEDENTES

En el Estado de Yucatán se cuenta con poca información respecto a la problemática de la generación de residuos sólidos urbanos (RSU), sin embargo, se ha registrado la existencia de habitantes que, debido a la falta del servicio de colección de los RSU, incineran sus propios residuos en sus viviendas o incluso los trasladan a la orilla de las carreteras propiciando la creación de basureros clandestinos. Así mismo, es frecuente que en el interior del Estado, cuando los RSU son transportados en camiones recolectores, éstos son descargados y depositados sin ningún tipo de selección en tiraderos a cielo abierto; liberando a la atmósfera todo tipo de contaminantes [10].

Otro de los problemas que se generan por la mala disposición de los residuos sólidos son malos olores y atracción de vectores; estas afectaciones pueden generar rompimientos del ecosistema en su conjunto y provocar daños a otras especies, por lo que es necesario buscar alternativas de reutilización y disposición final de los residuos sólidos municipales en beneficio de la población, de tal manera que no represente un peligro potencial [10].

1.1 Características de la FORSU

Heaven et al. [11], en el 2010 encontraron en los RSU que 56% son residuos de frutas y vegetales, y el 44% residuos no-biodegradables como bolsas de plástico, metales y otros elementos como cenizas en menor cantidad.

A esta fracción orgánica que forma parte de los RSU se le conoce como FORSU, cuya caracterización química y física se ve afectada por diversos factores, como son la humedad, lugar donde se genera, costumbre, condiciones climatológicas y geográficas [12-13]. Analizando los patrones de consumo de las diferentes regiones del mundo, la forma de alimentación y el tipo de comida [14], se puede considerar que la FORSU, está compuesta por carbohidratos, proteínas, grasas, aceites, y compuestos lignocelulósicos, los cuales forman parte de la dieta de las personas. Con respecto a sus características físicas, éstas se relacionan con el tamaño y diversidad del contenido de las partículas que forman parte del sustrato y de los métodos de colecta al momento del acopio de los RSU, estos elementos están relacionados con factores de la región como son condiciones socioeconómicas, costumbres, regiones geográficas, hábitos alimenticios, etc. [15-17].

Una de las principales opciones para el tratamiento de la FORSU es la aplicación de un proceso de digestión anaerobia; durante ésta se produce biogás, el cual es conocido como un biocombustible compuesto principalmente por metano (CH_4) y dióxido de carbono (CO_2) [18]. Para la aplicación de la digestión anaerobia es crucial evaluar la biodegradabilidad de la materia orgánica; por lo tanto, es importante realizar un análisis de los componentes que integran la FORSU; y de esta forma verificar que gran parte de los elementos que los constituyen sean de rápida degradación. Para ello se suelen usar diferentes técnicas; entre las cuales se encuentra: la cuantificación de sólidos volátiles (SV), porcentaje de humedad, sólidos totales (ST), relación SV/ST, nitrógeno total (NT) y fósforo total. Los resultados que se obtengan de estos parámetros además de proporcionar información sobre la biodegradabilidad, aportan la relación de nutriente y sustrato para la operación adecuada del proceso de digestión anaerobia. En la tabla 1.1 se observa las características de los residuos de diferentes lugares [15-19]

La variabilidad de la FORSU debido a la composición de los diferentes elementos que lo integran puede ocasionar inestabilidad en los parámetros de control del proceso como son caídas de pH, acumulación de AGVs por cargas orgánicas altas, así, como el tamaño de los sólidos ocasionan deficiencias en el proceso DA, por lo tanto, muchos estudios se han enfocado en la hidrólisis, la cual tiene como objetivo el desdoblamiento de las moléculas complejas en unidades monoméricas más simples, con la finalidad de aumentar la degradación de la materia orgánica e incrementar la producción de biogás [20].

Tabla 1.1. Características de la FORSU.

Localidad	pH	Humedad (%)	ST (%)	SV (%)	SV/ST (%)	NTK (g/kg)	PT (g/kg)	Referencia
Cádiz España	7.9	81	19	11	58	4.31	0.83	[21]
China	5.3	81.6	18.4	11.4	61.9	2.3	0.2	[22]
Arizona USA	5.4	49.8	50.2	36.1	71.9	1.35	3.3	[23]
California USA	7.57	69.1	30.9	26.4	85.4	3.16	0.52	[24]
Karlsruhe Alemania	4.3	83.16	16.84	11.77	69.89	4.10	-	[25]
Lacchiarella Italia	4.32	77.7	22.3	19.7	88.3	18.1	-	[26]
Perugia Italia	4.98	81.02	18.98	15.9	83.03	-	-	[27]
Lyngby Dinamarca	4.6	70	30	24.4	81.33	6.5	-	[28]
Metepec México	6.9	43.4	66.6	53.28	80	-	-	[29]

pH; potencial de hidrógeno, ST; sólidos totales, SV; Sólidos volátiles, NTK; nitrógeno total, P_T; fósforo total.

1.2 Pretratamiento para la FORSU

Las propiedades fisicoquímicas y el comportamiento de cada materia prima son diferentes, por lo que, es necesario aplicar el pretratamiento más adecuado dependiendo del tipo de sustrato. Extensas investigaciones se han realizado sobre los métodos de pretratamiento con el fin de acelerar y mejorar la hidrólisis, para obtener productos que mejoren esta etapa de la digestión anaerobia [30].

Según Carlsson et al. [31], los principales efectos que tienen los pretratamientos sobre el sustrato son: reducción del tamaño de la partícula, aumento de la solubilización, mejora de la biodegradabilidad, facilidad en la formación de compuestos y pérdida del material orgánico. En el caso de materiales lignocelulósicos, Fernández LA [32] menciona que el pretratamiento tiene la finalidad de modificar la estructura de este tipo de biomasa, por medio de la ruptura de las cadenas largas de las moléculas complejas a otras más cortas, incrementando el área superficial del residuo. Entre los procesos de pretratamiento para los materiales lignocelulósicos se pueden encontrar los biológicos, los térmicos, los químicos y los mecánicos.

1.2.1 Biológico

La hidrólisis de la materia orgánica es un proceso extracelular, por lo tanto, se requiere de diferentes tipos de enzimas para convertir las macromoléculas de cadena larga en otras más cortas, sin embargo, cuando se tienen en el sustrato materiales orgánicos insolubles como los lignocelulósicos, la transformación es más lenta debido a las complejas asociaciones entre celulosa, hemicelulosa y lignina, por lo que afecta la eficiencia del proceso. Para mejorar la degradación de los materiales lignocelulósicos se deben de utilizar los microorganismos idóneos, entre estos destacan los hongos de podredumbre blanca. Knezevic et al. [33], utilizaron microorganismos para degradar la lignina en el pretratamiento de paja de trigo, y llegaron a la conclusión de que se requiere un combinado de enzimas de peroxidasa (mayor proporción) y lacasas para poder degradar este tipo de sustrato. Del mismo modo, Wan y Li [34], observaron una eficiencia de degradación de 56.5% de residuos agrícolas cuando se empleó el hongo *Ceriporiopsis Subvermispora* como pretratamiento enzimático. De igual forma, Fernández.-Güelfo et al. [35] trabajaron utilizando FORSU como sustrato y como microorganismo el hongo *Aspergillus Awamor*, describieron un aumento de la tasa de crecimiento específico máximo del microorganismo entre 160 y 205%, con respecto al sustrato no pretratado.

1.2.2 Térmico

Cesaro y Belgiorno [36], concluyen que el principal efecto de los pretratamientos térmicos en la FORSU es la alteración de la estructura de la fracción insoluble, haciendo más fácil la biodegradabilidad y la solubilización de los compuestos orgánicos. Este proceso se realiza calentando los materiales lignocelulósicos de la biomasa en un intervalo de temperatura de 150 a 180 °C, en la cual, la materia lignocelulósica, comenzará a solubilizarse disminuyendo el grado de polimerización.

1.2.3 Químico

El pretratamiento químico es usado para hidrolizar los compuestos orgánicos por medio de ácidos y bases fuertes, ocasionando que la materia orgánica se transforme en soluble. En el tratamiento ácido-térmico 180 °C, los materiales lignocelulósicos se hidrolizan a azúcares, se han reportado el uso de ácido nítrico, sulfúrico y clorhídrico, siendo el más empleado el ácido sulfúrico [37].

1.2.4 Mecánico

En el pretratamiento mecánico, las partículas sólidas son trituradas, lo que genera un aumento en el área de contacto. Ariunbaatar et al. [30], mencionan que el tamaño de las partículas, influye en la solubilización de la materia orgánica, a menor tamaño de partícula se incrementa el área superficial de sustrato disponible para los microorganismos, mejorando de esta forma la biodegradabilidad y la producción de biogás; de la misma manera Hansen et al. [38], estudiaron los efectos del tratamiento mecánico utilizando como sustrato la FORSU, registrando que cuando se aplicó un pretratamiento con prensa de tornillo se obtuvo un tamaño de partícula más pequeño, y proporcionó una mayor producción de metano (5.6-13.8%).

1.3 Digestión anaerobia (DA).

Los últimos años han sido fructíferos en cuanto a descubrimientos y desarrollos tecnológicos sobre el funcionamiento del proceso de la DA, lo cual ha permitido el estudio de los microorganismos que intervienen en el proceso de degradación [39]. Este proceso se realiza a través de una serie de reacciones bioquímicas que transcurren tanto en paralelo como en serie y que convierten una variedad de materia orgánica en ausencia de oxígeno. Se ha convertido en una tecnología utilizada para la recuperación de energía y el tratamiento de desechos como son residuos industriales, domésticos (FORSU), de agricultura entre otros [40-41]; con base a los resultados obtenidos en los diferentes trabajos realizados, la información obtenida de las reacciones y transformaciones

metabólicas de los productos intermedios que se obtienen, pueden servir de base para el cálculo cinético en los reactores anaeróbicos, lo cual es importante para predecir la biodegradabilidad de la materia orgánica [42], la producción teórica de biogás y la disposición final de los residuos [43]. En la figura 1.1 se observa las diferentes etapas del proceso de digestión anaerobia y los subproductos que se forman durante la degradación de la materia orgánica.

El proceso DA, se lleva a cabo en un recipiente cerrado denominado biodigestor, en el que se alimenta el sustrato a degradar, la digestión anaerobia se divide en 4 fases [44]:

1.- Hidrólisis: En esta etapa y mediante la acción de enzimas las moléculas complejas de la materia orgánica de largas cadenas como son los hidratos de carbono, proteínas y lípidos, se transforman en moléculas orgánicas sencillas como son azúcares, aminoácidos y ácidos grasos de cadena larga. La hidrólisis se produce por la acción de enzimas extracelulares secretadas por los microorganismos, por lo tanto, esta etapa no puede considerarse como un proceso puramente biológico ya que no se lleva a cabo dentro de los propios microorganismos; en estas bacterias se encuentran también organismos facultativos, los cuales pueden realizar sus funciones con o sin oxígeno, se desarrollan en el medio cuando las condiciones son idóneas [45].

La hidrólisis es considerada la etapa limitante de la digestión anaerobia, sobre todo cuando se tiene sustratos con alto contenidos de materiales lignocelulósicos y de sólidos, debido a que las enzimas secretadas por los microorganismos son absorbidas por las partículas de la materia orgánica [46], por lo tanto, no se tiene un buen contacto entre la biomasa y el sustrato [23-47-48]. Veeken et al. [49], describen que la tasa de hidrólisis es función de factores como el pH, temperatura, tamaño de las partículas y productos intermedios; además, mencionan que el proceso de hidrólisis es más eficiente cuando el lixiviado es recirculado y es inhibida a una concentración mayor de 40-50 g/L de AGVs. Dogan et al. [50], mencionan que la cantidad de agua que se le adiciona al biodigestor puede afectar la hidrólisis cuando se utiliza FORSU como sustrato para producir ácidos orgánicos y alcohol; de igual forma, señalan que la hidrólisis se lleva a cabo en los primeros días y es importante el control del pH durante ese proceso.

2. Acidogénesis: En esta etapa la materia orgánica disuelta generada en la hidrólisis es transformada en ácidos grasos volátiles (AGVs) y mezcla de CO₂ con H₂, la velocidad de reacción es rápida y el pH baja hasta 5.5 (ver figura 1.1).

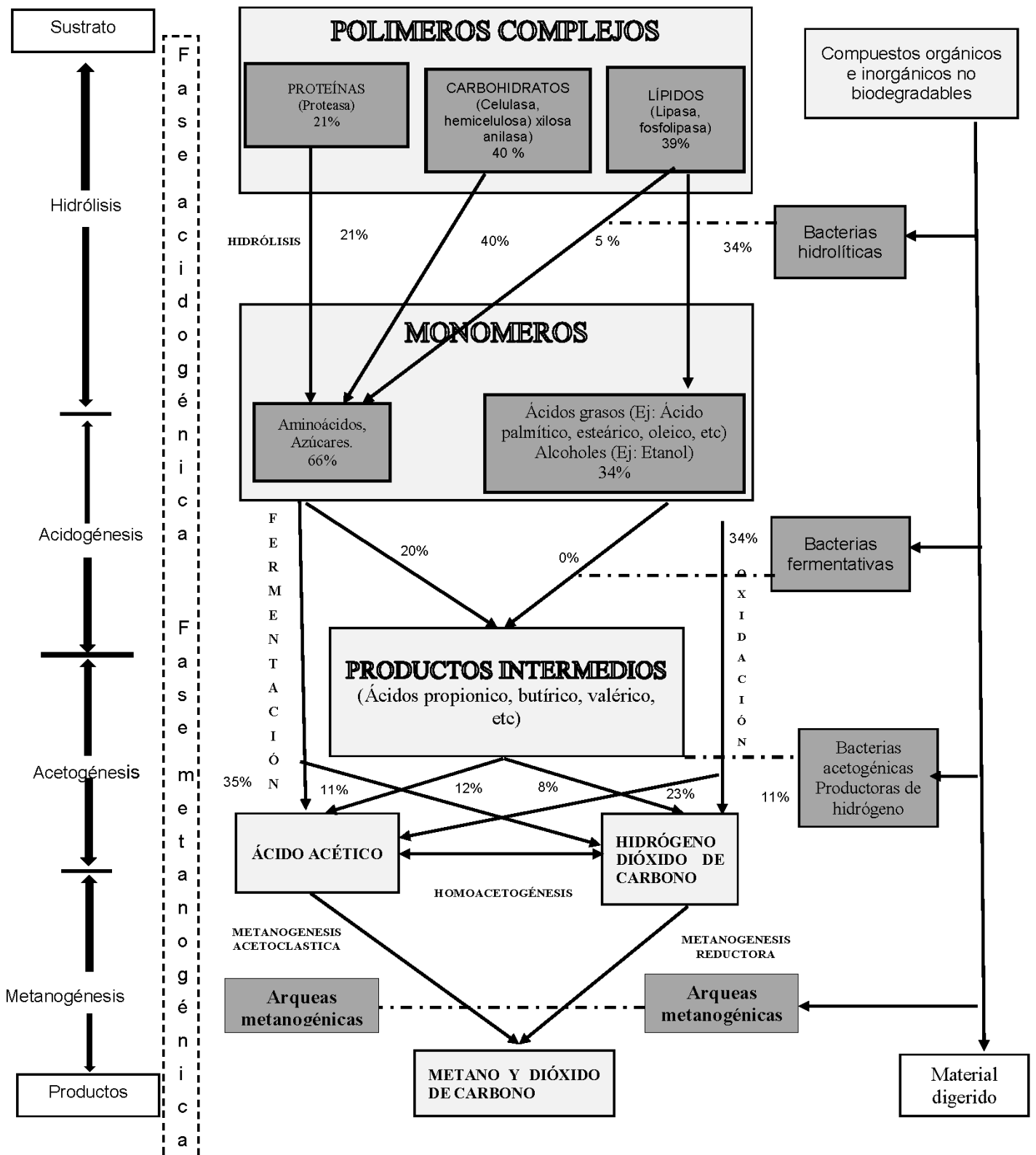


Figura. 1.1. Representación esquemática de la digestión anaerobia [51-52]

En esta etapa se genera el ácido acético, que es el producto intermediario más importante para la producción de metano, debido a que es uno de los sustratos que utilizan las arqueas metanogénicas para la producción de metano [25]. Otros compuestos que se producen son los ácidos grasos, alcoholes y CO₂; existen productos que su formación solo son posibles por algunas vías metabólicas, por ejemplo el acetato se forma a bajas presiones de 1×10^{-4} - 1×10^{-6} atmósferas y a concentraciones de 5-50 ppm de H₂. A altas presiones y concentraciones de H₂ (500 - 5000 ppm) puede predominar la formación de propionato y butirato; incluso, la presión excesiva de hidrógeno puede dar lugar a la inhibición del sistema [53].

3. Acetogénesis: En esta etapa las moléculas orgánicas, sobre todo los ácidos grasos volátiles (acético, propionato, valerato y butirato), son transformados en acetato y mezclas de CO₂ y H₂. Las bacterias facultativas acetogénicas viven en estrecha colaboración con las bacterias metanogénicas. En esta fase de la digestión anaerobia ocurre la *β-oxidación* (acetogénesis), en la cual los ácidos grasos volátiles son convertidos a acetato, hidrógeno y dióxido de carbono por acción de las bacterias acetogénicas [54]; el proceso de conversión, de acetato a metano, puede ser favorable termodinámicamente si la presión parcial del hidrógeno se encuentra baja; por lo tanto, una reducción del hidrógeno es relevante en esta etapa; de allí que en la acetogénesis se presenten dificultades energéticas por lo que se requiere la participación de otros grupos microbianos metanogénicos consumidores de hidrógeno.

Existen productos de la fermentación que pueden ser metabolizados directamente por los organismos metanogénicos (H₂ y el ácido acético), otros (etanol, ácidos grasos volátiles como valérico, butírico y propionico) deben ser transformados en productos más sencillos, acetato y H₂, a través de las bacterias acetogénicas como son las *Syntrophomonas homoacetogénicas* entre los cuales se encuentran los *Acetobacterium woodii* y *Clostridium aceticum*, los cuales, son capaces de crecer en compuestos monocarbonados (mezcla H₂ y CO₂) produciendo como único producto acetato [55-56].

4. Metanogénesis: En esta etapa, los microorganismos metanogénicos completan el proceso de digestión anaerobia mediante la formación de metano a partir de sustratos monocarbonados o con dos átomos de carbono unidos por un enlace covalente: acetato, H₂/CO₂, formato, metanol y algunas metilaminas. Alrededor del 70% del metano proviene

del acetato, el cual sufre un proceso de descarboxilación ocasionado por las arqueas metanogénicas acetoclásticas y el 30 % de la reducción del dióxido de carbono por el hidrógeno [55-56].

Esta es la única etapa estrictamente anaerobia, en ella, las arqueas metanogénicas se representa a través de las siguientes reacciones:

- a) Metanogénesis acetotrófica con transformación de acetato en metano.
- b) Metanogénesis hidrogenotrófica con transformación de mezclas de CO₂ y H₂ en metano.

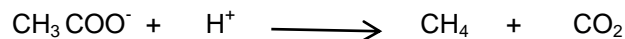
Cuando se realiza la digestión anaerobia en una etapa, los microorganismos metanogénicos consumen el H₂ generado en las etapas anteriores, manteniendo el sistema en un nivel bajo para el desarrollo de las acidogénicas; cuando existe una acumulación de ácidos grasos volátiles, el pH baja, y se crean condiciones que inhiben el desarrollo de los microorganismos metanogénicos [57-58].

Las principales reacciones de formación de metano son [59]:

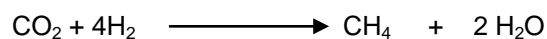
- 1.- Tipo de microorganismo Metanolotróficas, usando como sustrato metanol



- 2.- Tipo de microorganismo acetoclásticas, usando como sustrato acetato



- 3.- Tipo de microorganismo hidrogenotróficas, usando como sustrato hidrógeno y dióxido de carbono.



Los principales problemas de operación de los procesos anaeróbicos están asociados a diversos factores como son la cinética del proceso, presencia de inhibidores, así como la sensibilidad de las bacterias metanogénicas a las condiciones ambientales en las que se desarrolla el proceso (temperatura, tóxicos, nutrientes), y el pH de trabajo próximo a 7, por lo que el control de estas características de la metanogénesis influirá de forma definitiva el proceso anaeróbico y obviamente la eficiencia de producción de metano.

1.4 Factores que afectan la digestión anaerobia

Para el funcionamiento de las reacciones que ocurren en la digestión anaerobia se requiere de determinadas condiciones ambientales [60]. En la tabla 1.2 se observan los parámetros que influyen en los procesos metabólicos microbianos que deben ser considerados y cuidadosamente controlados en la práctica, es importante mencionar que los requerimientos ambientales de las bacterias acidogénicas, son diferentes a los requerimientos de las arqueas metanogénicas.

Tabla 1.2. Requerimientos ambientales para la digestión anaerobia [60]

Parámetros	Hidrólisis/acidogénesis	Metanogénesis
Temperatura	25-35°C	Mesofílico: 30-40°C Termofílico: 50-60°C
pH	5.2-6.3	6.7-7.5
C:N	10-45	20-30
Potencial Redox	+400 to -300 mV	Menor que -250 mV
C:N:P:S	500:15:5:3	600:15:5:3
Elementos trazas	No requieren	Esenciales: Ni, Co, Mo, Se

Teniendo las condiciones óptimas en el proceso de degradación que ocurren dentro de un reactor, los requerimientos para las bacterias metanogénicas deben ser considerados como prioridad, estos organismos tienen un largo tiempo de regeneración, son más sensibles a los cambios de las condiciones ambientales [60] que otras bacterias presentes en el mismo reactor, en la tabla 1.3 se observa los tiempos de regeneración de las diferentes bacterias que intervienen en el proceso anaeróbico.

Tabla 1.3. Tiempo de regeneración de microorganismos [60]

Microorganismos	Tiempo de regeneración
Bacterias Acidogénicas	Menor a 36 horas
Bacterias Acetogénicas	80-90 horas
Bacterias Metanogénicas	5-16 días
Microorganismos aeróbicos	1-5 horas

En la tabla 1.4, se observan los factores que influyen específicamente en la degradación de la FORSU y en la prueba de biodegradabilidad. Y a continuación, se describirán los factores más importantes.

Tabla 1.4. Factores que afectan al proceso de digestión anaerobia [61]

Variables externas	Variables internas
1 Inóculo	1.1. Origen. 1.2. Caracterización de los parámetros de pH, ST, SV, SST, SSV. 1.3. Cantidad (g) y concentración (g SV/L) al comienzo del ensayo. 1.4. Actividad. 1.5. Tiempo desde el muestreo y comienzo del ensayo.
2 Sustrato	2.1. Tipo (tamaño de la partícula). 2.2. Caracterización: humedad, ST, SV, NTK, composición de la fracción orgánica, composición elemental, composición de la fibra. 2.3. Cantidad (g) y concentración (g SV/L) al comienzo del ensayo.
3 Condiciones del experimento	3.1. Cuantificación del gas. 3.1.1. Sistemas de medición. <ul style="list-style-type: none"> ➤ Manométrica, por presión ➤ Volumétrica, por desplazamiento de agua, o contador de gas. ➤ Cromatografía de gas. 3.1.2. Por tipo de gas: Biogás o metano. 3.1.3. Composición del biogás: por análisis de cromatografía o análisis directo. 3.2. Condiciones de operación. 3.2.1. Físico. <ul style="list-style-type: none"> ➤ Capacidad del Reactor: Volumen de trabajo y volumen total. ➤ Temperatura: Rango mesofílica 35 °C, Termofílica 55 °C. ➤ Sistema: Baño de agua termostática o cámara con temperatura estable. ➤ Agitación: Manual o automática, continua o batch. ➤ Si es magnética: Barra magnética/sacudidor, si es batch: veces por día. ➤ Tiempo: Pre-incubación y duración de la prueba. 3.2.2. Químicos. <ul style="list-style-type: none"> ➤ Cámara de gas. ➤ pH/ajuste de alcalinidad: i es reactivo químico la concentración al comienzo del ensayo. ➤ Minerales y medios: Si es composición química y concentración al comienzo del ensayo. 3.2.3. Relación de Inoculo y sustrato.

1.4.1 Temperatura

Los digestores anaeróbicos pueden operar a temperaturas que van de 5 a 65°C, se han establecido 3 intervalos de operación. Como se puede apreciar en la figura 1.2 el intervalo de temperatura se conoce como psicrófilico cuando se opera en un temperatura entre 15 y 20°C, mesofílico cuando se opera entre 30 y 40 °C y termofílico cuando se alcanzan temperaturas entre 50 y 65°C [60].

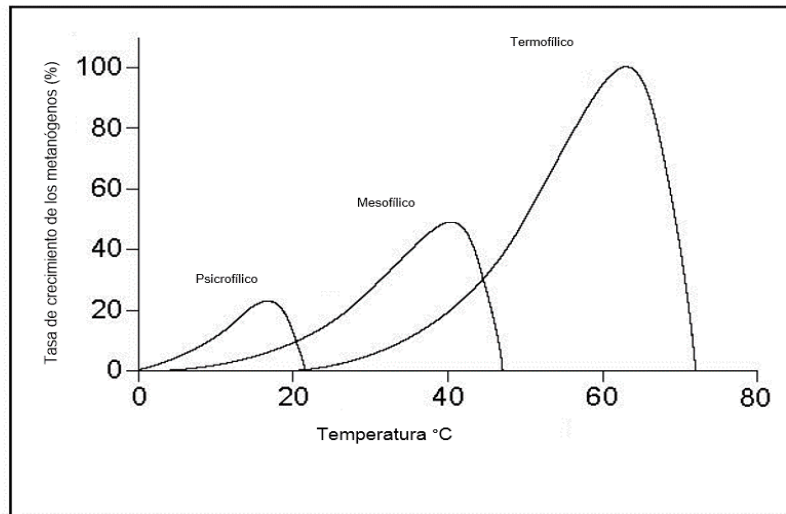


Figura 1.2. Tasa de crecimiento de los metanógenos a diferentes temperaturas [62]

El intervalo de temperatura mesofílica es el que más se trabaja, sin embargo, en condiciones termofílicas se ha tenido producciones de biogás de 144% y 44% más altos que los reportados bajo condiciones mesofílicas debido a que al aumentar la temperatura, aumenta la velocidad de crecimiento de los microorganismos y se acelera el proceso de digestión dando lugar a una mayor producción de biogás; también se ha encontrado que la solubilidad de la materia orgánica incrementa y es más accesible para los microorganismos, aumentando la velocidad del proceso [63]. Lettinga et al. [62], señala que cuando un biodigestor se opera a una temperatura menor a los 30°C, las reacciones biológicas y químicas ocurren a una velocidad menor, afectando a todo el sistema y disminuyendo la producción de biogás, la solubilidad de las grasas disminuye, al igual que la de los ácidos grasos, por lo que es importante conocer las condiciones ideales de crecimiento para cada tipo de organismo [62].

1.4.2 Inóculo

Una de las limitantes para la aplicación de procesos de digestión anaerobia en el tratamiento de la FORSU es el tiempo de estabilización de los reactores, por lo que el uso de inóculo idóneo para el tipo de sustrato a biodegradar juega un papel importante, ya que reducirá el tiempo de aclimatación de los microorganismos [28]

Young-Man et al. [64], para el tratamiento de los desechos de mataderos de cerdos emplearon un inóculo proveniente de una planta de biogás que utiliza como materia prima estiércol de una granja porcícola; las proporciones de sustrato-inóculo que utilizaron fueron: 0.1, 0.5, 1.0, y 1.5; encontrando mayor producción de biogás cuando se usó una proporción mayor a 0.1. De otro lado, Boulanger et al. [65], trabajaron con residuos sólidos urbanos como sustrato y utilizaron como inóculo el lodo proveniente de sistemas de tratamiento de aguas residuales; se emplearon relaciones de sustrato-inóculo de 0.015; 0.03; 0.06; 0.12; 0.25; 1; 2; 4 ($\text{gVS}_{\text{inóculo}}/\text{gVS}_{\text{sustrato}}$), y registraron que la relación 0.12 fue la que obtuvo la producción de metano más alta y la más baja fue la relación de 2.

1.4.3 pH

En un proceso biológico de digestión anaerobia existen regiones óptimas de pH en la cual las bacterias pueden realizar sus funciones de forma eficiente, una mínima variación puede inhibir la actividad de los microorganismos; en el caso de la fase metanogénica, el pH óptimo es de 6.8 a 7.4 [66]. También se ha observado, que el pH afecta las reacciones que ocurren y determina el tipo de microorganismos que se pueden desarrollar en el medio; por ejemplo, a valores bajos de pH el CO_2 es menos soluble y la presión parcial es mayor, provocando un incremento en la producción de biogás [67].

Veeken et al. [49] evaluaron el efecto del pH y los ácidos grasos volátiles sobre la hidrólisis utilizando como sustrato biodesechos, describen que el incremento en la producción de ácidos grasos causa un decremento en el pH y por lo tanto puede inhibir la hidrólisis [68]. Zupancic y Gril [60], mencionan que, en un sistema de digestión con sólidos suspendidos en el sustrato, el rango de operación (metanogénica) del pH es entre 7.3 y 7.5, cuando decrece a 6.9, el proceso puede presentar problemas en su operación y al aumentar puede resultar en un incremento en la concentración de amonio.

Cuando se usa un reactor UASB, el cual trabaja con sustrato líquido a una concentración de sólidos suspendidos de 6 a 8 g/L, el pH normal de operación es 6.9 a 7.1, y el límite para una operación satisfactoria es de 6.7.

Los digestores operan con 2 sistemas buffer que mantienen el intervalo deseable de pH, los cuales se mencionan a continuación:

- 1.- Sistema buffer de dióxido de carbono-ácido carbónico-carbonato.
- 2.- Sistema buffer amoníaco-amonio.

Es importante conocer las variaciones de pH durante el proceso de digestión anaerobia, ya que no solo afecta la actividad de las enzimas, también la solubilidad del sustrato, la producción de ácidos grasos volátiles, el tipo de microorganismos y la cantidad de productos finales, entre los cuales se mencionan: CO₂, H₂, y CH₄ [69].

1.4.4 Nutrientes

Los microorganismos requieren de nutrientes para realizar sus funciones biológicas, a pesar de que estos elementos no están involucrados directamente con la estabilización de los residuos, sin embargo son componentes esenciales de las células microbianas, y se requiere para el crecimiento y síntesis de nuevas células [30]; la falta de uno o más nutrientes afecta la capacidad de las bacterias para descomponer los residuos por lo que se debe de mantener el balance para obtener un máximo rendimiento de biogás [70]

La cantidad de carbono y nitrógeno en el biorreactor es crucial en la producción de biogás [70-71], por lo tanto, es necesario controlar la relación de carbono y nitrógeno (C:N), algunos autores especifican también el fósforo (C:N:P). Si la relación C:N baja, se puede elevar la producción de amoníaco e inhibir la producción de metano; si es elevada, puede tener repercusiones negativas en la producción de proteínas, por lo tanto, en la energía y material estructural necesario para el metabolismo de los microorganismos [60-70-72]. En la tabla 1.5 se presenta la relación de nutrientes.

Tabla 1.5. Relación de macronutrientes recomendados para la digestión anaerobia

C:N	C:N:P	Referencia
20-30:1	150-200:6.7-7.5:1	[60]
16-25:1	100-200:3-4:1	[73]
-	350:7:1	[66]
-	600:7:1	[74]
-	187:5:1	[75]
25-32:1	-	[76]

1.5 Toxicidad

Para que un proceso de digestión anaerobia funcione con eficiencia, se requiere de elementos en pequeñas concentraciones denominados elementos traza, los cuales son esenciales, pero éstos en concentraciones elevadas pueden ser tóxicos y causar desviaciones al metabolismo de las bacterias [60-66]; entre estos elementos se encuentra el calcio, magnesio, potasio y metales pesados como son el cobre, hierro, zinc, cadmio y níquel, una de las características que los identifican, es que no se biodegradan y pueden acumularse convirtiéndose en tóxicos [68]

Zupancic y Gril [60], señalan que los metales pesados en particular el cobre, zinc, níquel, y cromo pueden causar disturbios en el proceso; existen otras sustancias como son los desinfectantes, pesticidas, surfactantes y antibióticos, que pueden causar una inhibición no especificada, por lo tanto, es importante determinar la concentración de estos elementos, sustancias en el sustrato, y la adaptación de los microorganismos. En la tabla 1.6, se observan los metales y concentraciones que inhiben el crecimiento de los microorganismos.

Tabla 1.6. Concentración de metales pesados [60]

Metal	Inicio de la Inhibición mg/l	Toxicidad para los microorganismos mg/l
<i>Cr⁸⁺</i>	130	260
<i>Cr⁶⁺</i>	110	420
<i>Cu</i>	40	170
<i>Ni</i>	10	30
<i>Cd</i>	70	600
<i>Pb</i>	340	340
<i>Zn</i>	400	600

1.5.1 Ácidos grasos

La concentración de ácidos grasos volátiles (AGV), es uno de los parámetros que indica la eficacia del funcionamiento del proceso biológico. Durante el proceso de digestión anaerobia, la materia orgánica es hidrolizada y desdoblada a moléculas de bajo peso molecular, incluyendo los ácidos de cadena corta como son el ácido acético, propiónico y butírico, y en menores cantidades el ácido isobutírico, valérico, isovalérico y

caproico; cuando la relación se rompe, los ácidos grasos se acumulan e inhiben el crecimiento de las bacterias metanogénicas, y como consecuencia la disminución de la producción de biogás.

Horiuchi et al. [69] evaluaron la producción de ácidos grasos con control de pH en un digester anaerobio; describieron que, bajo condiciones neutras y ácidas, el principal producto obtenido fue el ácido butírico, en condiciones básicas, los ácidos acético y propiónico. Estos investigadores mencionan que la producción de ácidos grasos durante la acidogénesis es afectada por el pH, la obtención del ácido butírico como producto principal se debió al tipo de microorganismo predominante; así mismo, el control del pH fue determinante para el crecimiento, selección de la población microbiana y el tipo de ácido orgánico a producir a partir de los desechos orgánicos.

Wang et al. [77], durante el tratamiento de desechos de alimentos, evaluaron la producción de ácidos grasos con inóculo anaeróbico y aeróbico. Los resultados obtenidos describen un ligero aumento de la hidrólisis con el uso de inóculo anaerobio que con el aerobio; adicionalmente la producción de ácidos grasos fue más alto a pH 6 independientemente del inóculo usado; la producción de ácidos grasos volátiles fue de 0.482 g/g VS_{removido} con inóculo aerobio y 0.918 g/g VS_{removido} con inóculo anaerobio.

Xu et al. [47], aplicaron microaireación como pretratamiento para aumentar la producción de ácidos grasos volátiles durante la fase hidrolítica en la digestión anaerobia de desechos orgánicos; se registró que la cantidad de ácido acético y butírico producido fue 3 veces mayor al obtenido sin la aplicación de la microaireación y la producción de metano tuvo un aumento de 5 a 18 %.

Siegert y Banks [58] estudiaron el efecto de la concentración de los AGVs en las diferentes fases de la digestión anaerobia, utilizaron como sustrato celulosa y glucosa, y una mezcla sintética de ácidos grasos. Encontraron que concentraciones de AGVs ≥ 2 g/L inhiben la producción de biogás, además, una mezcla de ácido acético y ácido butírico a 6 g/L es tóxico para los microorganismos, también se percibió que el ácido propiónico tiene un fuerte efecto inhibitor sobre la metanogénesis [78].

Angelidaki et al. [79], realizaron pruebas de inicio de operaciones con reactores utilizando como sustrato fracción orgánica de residuos sólidos municipales, utilizó un intervalo de carga orgánica de 11.4 gSV/d. En este trabajo, se apreció que un incremento en la concentración de AGVs causa inhibición de microorganismos, por lo tanto, baja producción de metano, por lo que recomiendan mantener la concentración menor a 3 g/L con una tasa de carga de 5 gSV/d. De igual forma, Bolzonella et al. [80] utilizaron como sustrato la fracción orgánica de residuos sólidos urbanos y observaron que los ácidos grasos volátiles pueden inhibir la producción de metano, por lo que recomiendan mantener la concentración menor a 3 g/L.

1.5.2 Amoniac

El nitrógeno amoniacal es un nutriente importante para el crecimiento de las bacterias, puede estar presente en el sustrato que alimenta al digestor, aunque puede ser producido durante el proceso de digestión anaerobia a partir de compuestos orgánicos nitrogenados como las proteínas o aminoácidos. El nitrógeno amoniacal es la suma del ion amonio y del amoniaco.

Se ha comprobado que el efecto inhibitor del amonio aumenta cuando existe un pH alcalino en el sistema. La cantidad de amoniaco depende de la relación C/N, de la capacidad amortiguadora del medio y de la temperatura de digestión, ya que se ha observado que los sustratos que contengan concentraciones altas de proteínas presentan mayores problemas de inhibición, sobre todo aquellos reactores que trabajan en el rango termofílico [81]. Chen et al. [68] describieron que concentraciones de amonio menores de 200 mg/L es benéfico para el proceso de digestión anaerobia, debido a que el nitrógeno es un nutriente esencial para los microorganismos anaerobios, es importante mencionar que las bacterias metanogénicas son las que menos lo toleran y puede causar inhibición de los microorganismos cuando la molécula del amonio hidrofóbico atraviesa la membrana celular y se difunde dentro de la célula, puede causar desbalance de protones o deficiencia de potasio.

1.5.3 Sulfuros

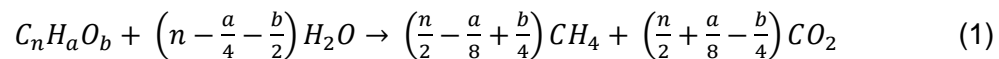
Una concentración alta de sulfatos puede ocasionar problemas en el reactor, principalmente en la etapa de formación del biogás; las arqueas metanogénicas compiten con las bacterias reductoras de sulfato por el acetato e hidrógeno, cuando las

concentraciones de sulfuro de hidrógeno se encuentran arriba de 200 mg/L inhiben el crecimiento microbiano ya que compiten con el hidrógeno disponible [82-83]. Karhdkar et al. [84], mencionan que la metanogénesis se inhibe progresivamente con el incremento de la concentración de sulfato en el sustrato, lo cual se ve reflejado en la cantidad de ácido sulfhídrico producido, este último puede ser utilizado como indicador de inhibición de las bacterias metanogénicas.

Paula y Foresti [85], trabajaron con un reactor de manto de lodos anaerobio de flujo ascendente (UASB), utilizaron agua sintética como sustrato y aumentaron la concentración de sulfitos en forma gradual, en los resultados se encontró que valores de 100 a 150 mg/L y pH de 6.8 pueden ocasionar la inhibición de la metanogénesis.

1.6 Producción de biogás

La velocidad de producción del biogás puede utilizarse como parámetro de control y como variable para establecer la estabilidad del reactor. En un reactor con los parámetros controlados como son el pH, temperatura, nutrientes, entre otros; la materia orgánica compleja se puede transformar en metano y dióxido de carbono de acuerdo a la ecuación 1 [86-87]:



No todo el dióxido de carbono que se produce sale como gas del reactor, dependiendo de las condiciones del medio, parte se transforma en HCO_3^- y CO_3^{2-} solubles e insolubles; las variaciones en la producción de dióxido de carbono son síntomas de desequilibrio en el comportamiento del digestor, el porcentaje producido puede tomarse como índice de estabilidad.

Con respecto a la cantidad de metano formado, éste depende del estado de oxidación del compuesto. Se ha observado que los hidratos de carbono son transformados en metano y dióxido de carbono, el metanol y los lípidos producen más metano que dióxido de carbono, los ácidos fórmico y oxálico generan más dióxido de

carbono que metano, y de la hidrólisis de la urea no puede obtenerse metano. Los siguientes valores pueden tomarse como orientativos para la producción de metano:

- Hidratos de carbono 0.42 – 0.47 m³ CH₄/kg.
- Proteínas 0.45 – 0.55 m³ CH₄/kg.
- Grasas 1 m³ CH₄/kg.

En la figura 1.3, se muestra un esquema de la relación de producción de metano y el estado de oxidación del carbono.

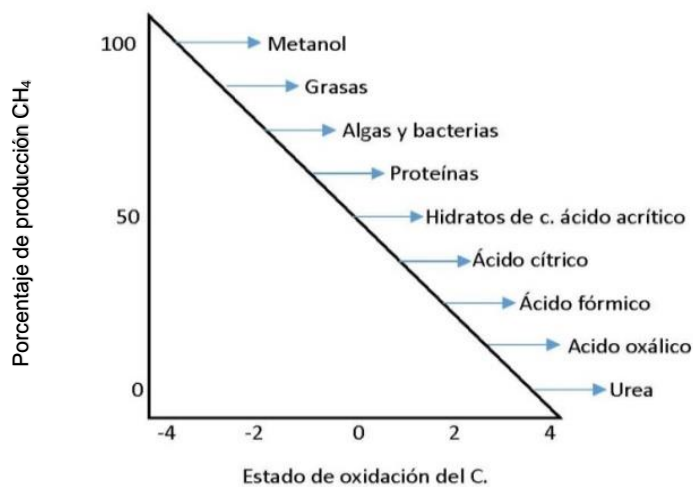
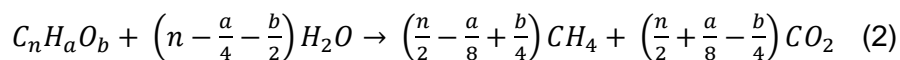


Figura 1.3. Producción de biogás en función del estado de oxidación del compuesto [86]

Tomando como base la DQO de la alimentación, la producción de metano de referencia es de 0.350 m³ CH₄/kg DQO_{removido}. El biogás puede tener proporciones variables de H₂S y NH₃, formadas a partir de azufre y nitrógeno presente en algunos compuestos orgánicos en el medio [88].

1.7 Relación DQO y metano producido

Al momento de realizar balances de masa o de transformar las magnitudes de carga hay que tener en cuenta que existe una relación estequiométrica que se cumple en todos los casos y condiciones de operación. Partiendo de la ecuación 2, se ajusta propuesta por Busswel [86]:



La relación de materia orgánica y metano es:



Por tanto, la DQO, puede calcularse con la siguiente formula:



Por lo tanto, DQO es:

$$1 \text{ mol } C_6H_{12}O_6 = 192 \text{ g DQO} = 3 \times 22.4 \text{ L } CH_4 \quad (6)$$

$$\text{Finalmente: } 1 \text{ g DQO} = (3 \times 22.4) / 192 = 0.35 \text{ ml } CH_4 / \text{g DQO}_{\text{ELIMINADA}} \quad (7)$$

Lo que es igual a 350 L CH_4 / kg $DQO_{\text{ELIMINADA}}$

Debido a las características de la FORSU, su biodegradabilidad se relaciona con el contenido de sólidos volátiles, se representa como la relación SV/ST y no con la DQO, en la tabla 1.7 se presentan valores de DQO en la FORSU, que han reportado diferentes autores.

Como se puede observar en la Tabla 1.7, el valor de la DQO en la FORSU varía considerablemente. Como se mencionó anteriormente, esto se debe a que las características físicas y químicas de la FORSU cambian de acuerdo con el lugar de origen y el manejo que se le dé a la misma. También es importante recalcar que, en el caso del tratamiento de residuos con alto contenido de sólidos, como es el caso de la FORSU, se recomienda calcular el rendimiento de metano con relación a la cantidad de sólidos volátiles removidos en lugar de utilizar el valor de la DQO.

Tabla 1.7. DQO de la FORSU reportada por varios autores

DQO (g/kg)	Referencia
477	[15]
350	[25]
76.5	[21]
431	[89]
347	[90]
168	[91]

1.8 Tecnologías anaerobias

En un proceso anaeróbico, para que se pueda realizar la degradación de la materia orgánica se requiere poner en contacto el sustrato con los microorganismos que realizan las transformaciones bioquímicas. Dependiendo de las características del sustrato y de la hidrodinámica del reactor existen diversos tipos de reactores, dos de los más utilizados se menciona a continuación.

1.8.1 Reactor RACE

Este tipo de reactor está integrado por una película fija adherida sobre un medio de soporte inerte, proporcionando un área superficial para el crecimiento de los microorganismos; el influente pasa a través de los espacios vacíos y las bacterias remueven la materia orgánica contenida en el sustrato; la superficie específica del área, la rugosidad, tamaño de los poros y el tipo de material tiene un papel importante en el desempeño del reactor anaeróbico.

En la figura 1.4 se observa la representación esquemática de un reactor biológico de lecho empacado, es una tecnología de bajo costo para el tratamiento de desechos; la formación de la biopelícula es importante para el tratamiento de los desechos, por lo que, se han investigado y utilizado diferentes materiales de soporte como son carbón activado, vidrio, cuarzo, PVC, anillos de cerámica, entre otros [92-93]. Este tipo de reactor puede soportar altas cargas de materia orgánica [94], son simples y fáciles de construir, la eliminación de sistemas mecánicos de mezcla le da una mejor estabilidad al proceso; sin embargo, una de sus limitaciones es su tamaño ya que requiere de grandes espacios.

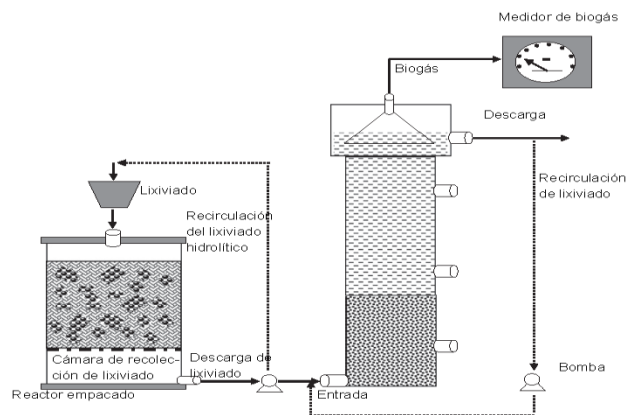


Figura 1.4. Representación esquemática del reactor empacado [95]

El desarrollo de reactores de película fija sobre lecho empacado ha significado avances en el conocimiento y aplicación de la digestión anaerobia en el tratamiento de desechos, ya que la inmovilización de la biomasa permite una mejor respuesta a las cargas orgánicas altas, así como la reducción del tiempo de retención [92].

Existen diversos trabajos donde se implementa este tipo de reactor, Shawaqfad [96] utilizó a nivel de laboratorio un reactor empacado con materiales de PET como superficie de soporte de la biopelícula, operado a una temperatura de 20 °C con agua residual sintética, en este tratamiento se obtuvieron eficiencias de remoción de carbón orgánico total, nitrógeno total y fósforo total de 52%, 52% y 79%, respectivamente. Scoma et al. [97] trabajaron con reactores empacados, utilizaron como material de soporte cubos de cerámica, y un consorcio de bacterias acidogénicas aclimatadas con sustrato de agua residual (molino de oliva), en este estudio se evaluó el efecto del tiempo de retención hidráulica con la producción de ácidos grasos volátiles, observando un aumento de H₂ de 3 a 32 %, además se obtuvo un rendimiento de conversión de DQO en ácidos grasos volátiles de 36%, también influyó en el aumento en la composición de la mezcla de ácido acético, propiónico y butírico durante el proceso.

Santosh et al. [98], utilizaron un reactor empacado con esponja de nylon como soporte de la biopelícula, el resultado mostró buena digestión, productividad, y estabilidad satisfactoria de los residuos en el reactor, concluyendo que el desempeño de este tipo de soporte es muy bueno debido a su alta porosidad y volumen de superficie, además observaron reducción de sólidos y carbono orgánico total. Berglund y Borjesson [99], trabajaron con reactores empacados utilizando como medio de soporte de la biopelícula cubos de cerámica y como sustrato aguas residuales, de los resultados que se obtuvieron encontraron que el 66 % de la DQO se convirtió en ácidos grasos volátiles, los cubos de cerámica favorecieron la inmovilización de las bacterias de los géneros *Paenibacillus* y *Clostridium*, las cuales están involucradas en el proceso de formación de AGVs. Forster-Carneiro et al. [100] trabajaron con 3 tipos de FORSU, y evaluaron la influencia del triturado de los desechos en el proceso de digestión anaerobia utilizando reactores empacados. Estos investigadores reportaron una reducción de hasta 73.7% de los AGVs presentes en el sustrato que fue sometido al proceso de trituración, alcanzando una producción de metano de 0.18 L de CH₄/g de VS, por lo tanto, la naturaleza del sustrato tiene una gran influencia en el proceso de biodegradación.

1.8.2 Reactor UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket)

El reactor anaerobio de manto de lodo y flujo ascendente (UASB por sus siglas en inglés), es un reactor de biopelícula fija sin medio de empaque o soporte, con una cámara de digestión que tiene flujo ascendente, a cierta altura se desarrolla un manto de lodos que es altamente activa y en el cual se da la estabilización de la materia orgánica del efluente hasta metano y dióxido de carbono. Este reactor ha sido utilizado ampliamente para el tratamiento de varios residuos, y se han realizado investigaciones con la finalidad de mejorar su desempeño, sin embargo aún falta por desarrollar esta tecnología, sobre todo en países con climas subtropicales [101-102]

Esta tecnología se basa en tres características diferenciales:

1. Aprovechar la capacidad de la biomasa para crecer agrupada, formando flóculos, con una buena velocidad de sedimentación, circunstancia que permiten su permanencia en el interior del reactor, sin ser lavados con el efluente.
2. En la parte superior del reactor se encuentra un sistema de separación de las fases gaseosa-líquida-sólida. En el interior del reactor el gas que asciende provoca la mezcla del líquido y los sólidos, evitando la sedimentación de los flóculos de biomasa.
3. El separador trifásico o campana permite la separación de la fase gaseosa, de forma que en la fase exenta de gas las partículas sólidas pueden sedimentar y caer, reincorporándose a la zona activa del reactor.

La alimentación del influente se hace en la base del reactor; en la figura 1.5 se muestra un esquema general del reactor en donde se muestran las diferentes zonas.

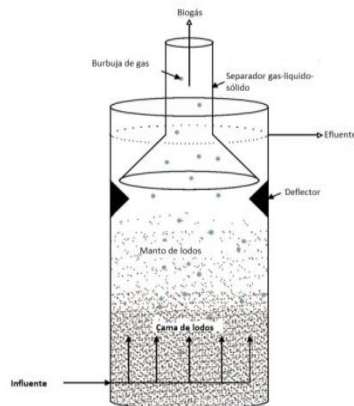


Figura 1.5 Esquema general de un reactor UASB [86-101].

Debido a la formación de flóculos de lodos granulados, la concentración de sólidos en la parte superior del manto de lodos del UASB se estima de 5 a 40 g/L, en la parte

inferior del reactor, la concentración de sólidos puede variar de 50 a 100 g/L y las partículas de lodo granulado tienen un tamaño de 1.0 a 3.0 mm (ver figura 1.6 (a) y (b)).

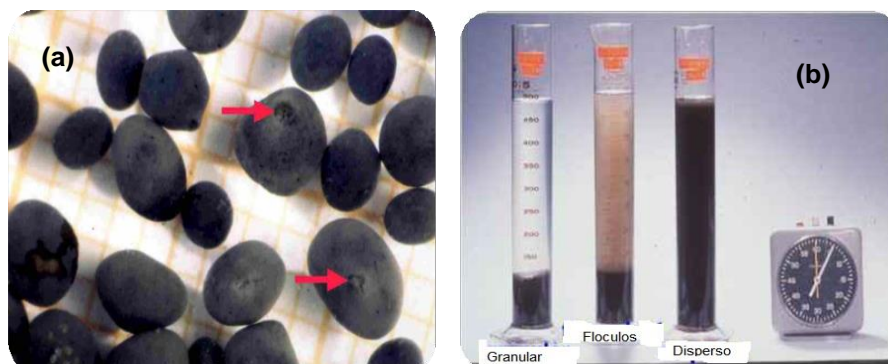


Figura 1.6. (a) Gránulos de lodo activo de un reactor; (b) Lodos encontrados en cada zona de un reactor UASB [103]

La granulación es eficaz en sustratos con alto contenido de carbohidratos o azúcares, pero no tanto con gran contenido de proteínas, las cuales tiene como resultado flóculos suaves y difíciles de sedimentar.

Parawira et al. [104], compararon el desempeño de un reactor UASB con un reactor de lecho empacado utilizando como sustrato desechos de papa, mencionan que se obtuvo una eficiencia de remoción de DQO mayor al 90% en ambos reactores, con una producción de metano de $0.231 \text{ L CH}_4/\text{g DQO}_{\text{degradado}}$ en el reactor UASB y $0.161 \text{ L CH}_4/\text{g DQO}_{\text{degradado}}$ en el reactor de lecho empacado, concluyendo que el reactor UASB tiene un mejor desempeño en términos de producción de metano. Por otra parte Kongjan y Angelidaki [83], evaluaron el desempeño de tres diferentes reactores: (1) UASB, (2) Reactor de agitación continua (CSRT) y (3) filtro anaerobio, para la producción de hidrógeno utilizando como sustrato paja de trigo. La mayor producción de hidrógeno fue alcanzada en el reactor UASB con una tasa de $821.4 \text{ ml H}_2/\text{d}$ con un tiempo de retención de un día y alimentación de 25 % (v/v) de sustrato.

1.9 Digestión anaerobia en dos etapas

Para el proceso de digestión anaerobia y recuperación de energía, existe una variedad de biomasa que puede ser utilizada en la generación de biocombustibles como son; desechos de cultivos energéticos, residuos agrícolas, residuos forestales, residuos industriales y residuos sólidos urbanos, entre otros, estos residuos se encuentran

disponibles en el entorno, los cuales al no tener una disposición adecuada ocasionan problemas ambientales [105]. Se han desarrollado proyectos e investigaciones para la obtención de bioenergía, utilizando un solo biodigestor para el proceso de obtención del biogás [106-107] con resultados favorables, sin embargo, debido a las características de los sustratos los rendimientos obtenidos en la producción de metano no han sido satisfactorios.

Con la finalidad de mejorar el proceso, se ha utilizado la digestión anaerobia en dos etapas para la producción de biogás, en la cual la fase hidrolítica es realizada en un reactor y el proceso de metanogénesis es llevada a cabo en el segundo reactor; al tener las fases de hidrólisis y metanogénico por separado se puede tener un mejor control de pH, menor variación en las condiciones del proceso por cargas orgánicas altas, incremento en la eficiencia de producción de AGVs y disminución del efecto inhibitor por concentraciones altas de AGVs en el proceso metanogénico [108], en la figura 1.7 se observa una propuesta de sistema de digestión anaerobia en 2 etapas.

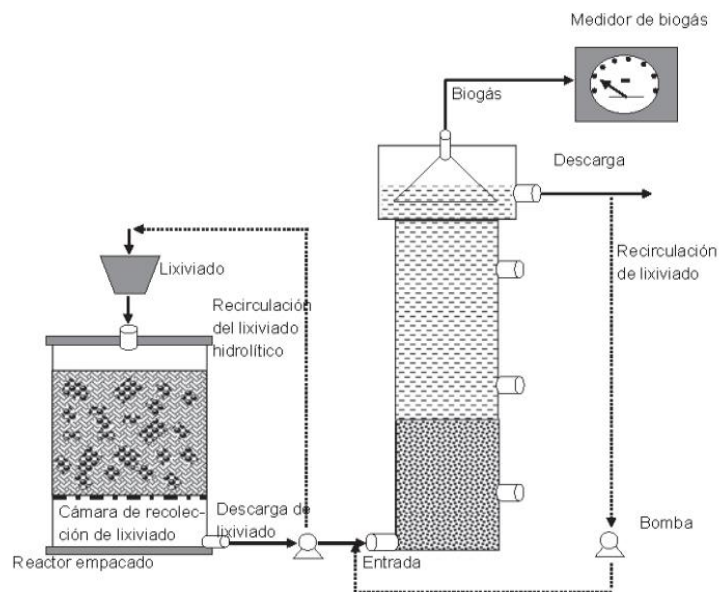


Figura 1.7. Representación esquemática de un sistema en 2 etapas de digestión [95]

Zhu et al. [23], trabajaron con desechos de vegetales y flores, describieron que la fase de hidrólisis es un paso limitante para el proceso de digestión anaerobia, sobre todo cuando se trabaja con sustratos que no son fáciles de digerir, por lo tanto, se puede

optimizar al realizar el proceso hidrolítico por separado. Parawira et al. [104], evaluaron el desempeño de un reactor empacado acoplado a un reactor UASB, utilizando como sustrato desechos sólidos de papa, en este trabajo se obtuvo una eficiencia de remoción de 80 a 97% de SV como DQO y un incremento en la producción de AGVs de 23 g/L y 20 g/L a los 8 días, con una producción de metano de 0.39 m³/kgSV. Massanet-Nicolau et al. [109], describieron el uso de dos reactores acoplados con agitación para la obtención de hidrógeno utilizando como sustrato residuos de jardín, estos autores registraron un incremento en la producción de energía de hasta un 13% con un tiempo de retención de 20 días y con una producción de metano de 349.4 L/kg SV.

En la tabla 1.8 se puede observar los trabajos realizados por diferentes autores con digestión anaerobia en 2 fases.

Tabla 1.8. Digestión anaerobia en 2 etapas

Reactor	Sustrato	DQO(g/L)	Tasa de carga orgánica kgSV/m ³ ·d	Tiempo de retención hidráulico (d)	Eliminación DQO (%)	CH ₄ m ³ /kgSV	Referencia
CSTR+UASB	Residuos sólidos municipales	37	14	3	83	0.33	[110]
CSTR+UASB	Fibras textiles	15	2.7	5	66	0.17	[111]
APBR+UASB	Melaza	28	6.58	0.25	79.8	1.48	[112]
APBR+UASB	Residuos sólidos de aceite de oliva	162	20	12.4	94.3	0.244	[106],
-	Desechos de aceite de girasol	162	9	10	-		[113]
CSTR+CSTR	Sintético (FW)	-	0.9	18	-	0.4685	[114]
APBR+UASB (matraces)	Desechos de patata	41	3	37	97	0.39	[104]
SBR-UASB	Hierbas	35	2.7	-	85	0.344	[115]
CSTR+CSTR	Residuos de glicerol	97.3	4.5	14	-	0.348	[116]
CSTR+UASB	Residuos de hierba	15	5	1	67	0.268	[117]

1.10 Microaireación

Se han aplicado estrategias para mejorar la etapa de la hidrólisis en la digestión anaerobia, entre los cuales se pueden mencionar la microaireación, la optimización de la relación de inóculo- sustrato (I/S), y ajuste del pH [118]. Actualmente se le ha proporcionado un especial interés a la microaireación, en la cual, cualquiera que sea el procedimiento seleccionado para producir la aireación ya sea a escala mayor o en pequeñas cantidades, se requiere de una serie de elementos básicos para llevarse a cabo, en la figura 1.8, se observa los mecanismos para la aplicación de un sistema de microaireación.

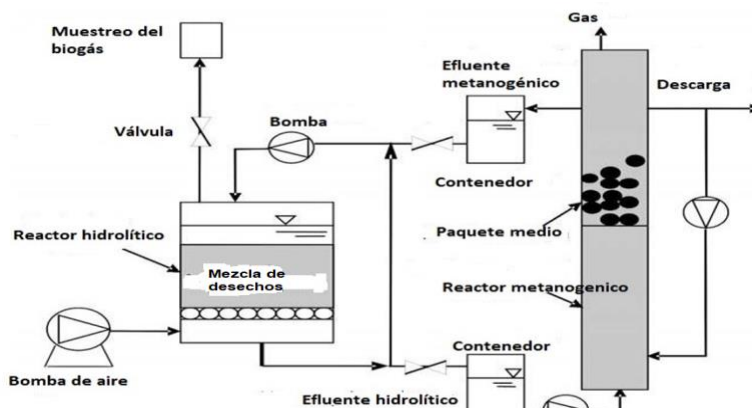


Figura 1.8. Representación esquemática de un proceso de microaireación en dos etapas [23-119].

Las investigaciones actuales registran que la microaireación genera un aumento en el rendimiento de AGVs en la etapa de hidrólisis ya que es una limitante en una digestión anaerobia [24-46]. Durante este proceso, las bacterias aerobias hidrolizan los sólidos orgánicos produciendo exoenzimas para solubilizar el sustrato sólido; una vez solubilizados pueden ser degradadas por endoenzimas, dando como resultado crecimiento microbiano y por lo tanto una degradación mayor [23-47]. Durante la aplicación de la microaireación se activan ciertos procesos que estimulan la activación de microorganismos facultativos que contribuyen a las transformaciones de las moléculas en otras como son el acético, propiónico y butírico, pero los estudios que comprueben un mayor o menor rendimiento en la digestión son escasos principalmente los enfocados a la producción de biogás [120], en la tabla 1.9 se observan los autores que han aplicado la microaireación.

Tabla 1.9. Digestión anaerobia con microaireación

Sustrato	Reactor	Volumen L.	Tasa de flujo L/min	Caudal L/m ³ min.	Tiempo de aplicación (d)	Aumento de AGVs (%)	Incremento de CH ₄ (%)	Rendimiento de CH ₄ m ³ /kgSV	Referencia
FORSU	Dicom	7	-	-	5	HAc. 7.75, HPro- y HBut. 5.75 Mmo/l	65	0.18	[121]
Lodo	CSTR	0.3	0.00139	4.63	4	60	-	0.122	[122]
Almidón	CSTR	2.2	3.97 x 10 ⁻³	1.8	140	Positivo-	30	0.280	[45]
Celulosa	CSTR	2.1	6.94 x 10 ⁻⁶	0.003307	24	-	4	0.327	[123]
Residuos de jardín	LBR	0.75	1	1333	11	400	-	0.4	[124]
FORSU	LBR	260	1	3.846	12	0	75	0.260	[119]
Desechos de alimento y lodo	LBR	0.2	2.6 x 10 ⁻⁵	130	-	12	21	0.531	[59]
Desechos de flores	LBR-UASB	7 – 15	0.7	500	5	99.4	-	-	[23]
Desechos de alimento	LBR- UASB	4.6 - 10	1	217.39	12	66.3	18	0.27	[47]

CSTR; reactor continuo de tanque agitado, LBR; reactor de lecho fluidizado, UASB; reactor anaerobio de flujo ascendente

Charles et al. [121], mencionan que existen métodos para aumentar la solubilidad del sustrato y la producción de metano, describen que la pre-aireación mejora el proceso de la digestión anaerobia de la FORSU, incrementando el rendimiento de metano hasta en un 30 %, con una tasa media de producción de 10.2 L/d/kg SV y reducción de sólidos de 41%; en estos resultados señalan que fueron favorecidos por enzimas externas segregadas por microorganismos facultativos. De manera similar, Nguyen et al. [119] utilizaron como sustrato FORSU y aplicaron la microaireación como pretratamiento; en sus deducciones describen que en la fase hidrolítica no tuvieron resultados favorables, no obstante en la fase metanogénica se tuvo un efecto positivo, alcanzándola en menor tiempo, con un rendimiento de metano de 260 LCH₄/kg SV y 130 LCH₄ /kg SV en el control, además, se registró la degradación del 61 % de los SV en el sustrato.

Jagadabhi et al. [78], quienes trabajaron con residuos de jardín como sustrato en un proceso batch, describen un aumento en la producción de AGVs de 6.3 g/L a 12 g/L aplicando una tasa de microaireación de 1 L/min, además mencionan lo importante que es la recirculación del lixiviado del reactor metanogénico al reactor hidrolítico, ya que tiene un efecto regulador evitando el decremento del pH, y mejorando la solubilización de materia orgánica como los materiales celulósicos.

Xu et al. [47] utilizaron desechos de alimento como sustrato, en sus resultados describen que la intensidad de la microaireación influyó en el proceso de hidrólisis y producción de metano, mejorando la degradación de los carbohidratos de 21 a 27%, las proteínas de 38 a 64% y un aumento en la producción de metano de 5 a 18 %, de igual forma, concluyen que la microaireación es un promotor de las actividades hidrolíticas de las exo-enzimas y puede ser utilizado como un mecanismo de mejora para la producción de bioenergía.

1.11 Balance de masas.

El conocimiento de la distribución y balance de masas de los nutrientes como son el carbono, nitrógeno y fósforo durante el proceso de digestión anaerobia puede tener varios propósitos, como son: el destino que se le dará a los residuos después del proceso de digestión anaerobia, entender el balance de nutrientes (C, N, P) y evaluar la contribución que tiene al proceso de digestión anaerobia para el análisis del ciclo elemental [71].

La comprensión del proceso de digestión anaerobia, el entendimiento del comportamiento y transformaciones de los compuestos que ocurren dentro de los reactores con diferentes sustratos, permitirá predecir la cantidad de energía neta que se puede recuperar, considerando las variaciones de entrada y salida del material, las transformaciones químicas y físicas, así como la biodegradabilidad del residuo, sin embargo, una parte de la energía producida es consumida en el digestor [125]. Nasrullah et al. [126] utilizando como sustrato los residuos sólidos municipales, hicieron un balance de masas de los compuestos y los elementos tóxicos que lo integran, en los resultados mostraron que en los sólidos recuperados el contenido de cloro fue de 55% y en el material rechazado 30%, la cantidad de arsénico fue de 30% en los sólidos recuperados y en la fracción fina 45%; en el caso de cadmio, plomo y mercurio, se encontraron 62%, 38% y 30% en los sólidos recuperados, además, se identificó que el caucho contenía el 8% en peso del cloro total. También mencionaron que la generación y calidad de la recuperación de la energía puede ser entendida a través de la comprensión del análisis elemental de entrada y salida del proceso.

Lindofer et al. [127], describieron la importancia del conocimiento de las transformaciones de las moléculas de los compuestos dentro de los procesos de digestión anaerobia, reportan el uso de la energía producida dentro de los digestores para el crecimiento celular y biomasa. Hoh y Cord-Ruwish [128], trabajaron con modelos de balances de masas, demostraron a escala piloto que la transformación de la energía es dinámica, una parte es consumida en el digestor y la otra parte para la evolución de los diferentes compuestos, y pueden predecirse usando ecuaciones matemáticas, por lo tanto, la cantidad de energía neta que se puede obtener del sustrato, además, encontraron que el hidrógeno tiene un papel muy importante en la formación de acetato [128].

Alcántara et al. [129], por medio de un balance de masas estimaron el potencial de producción de bioenergía y recuperación de nutrientes, realizaron un cultivo de algas en forma aislada utilizando glucosa como fuente de carbono total, posteriormente la sometieron al proceso de digestión anaerobia para la recuperación de energía; estimaron el balance de masas de carbono, nitrógeno y fósforo en la fase de crecimiento de las algas y durante el transcurso de la digestión anaerobia, en los resultados obtenidos,

encontraron que aproximadamente el 50% de la biomasa inicial fue hidrolizada y convertida a biogás (14% de bióxido de carbono y 65% de metano).

Li et al. [71], realizaron un balance de masas utilizando como sustrato la paja de maíz, la paja de arroz, la paja del trigo, el estiércol de cerdo, el estiércol de ganado y el estiércol de pollo. Efectuaron un análisis de la composición elemental (C, N, P) y balance de masas, como se observa en la figura 1.9; evaluaron la eficiencia de la digestión anaerobia, determinaron la concentración de carbono, nitrógeno y fósforo al inicio, al terminar el proceso la concentración de carbono en las fase líquida, sólida y gaseosa; en la fase sólida y líquida la concentración de nitrógeno y fósforo.

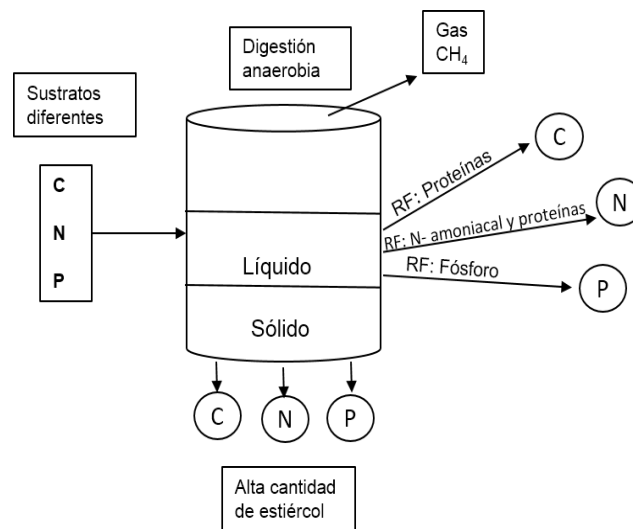


Figura 1.9. Representación esquemática de las fases del balance de masas

En este trabajo se encontró que la mayor transformación de carbono a metano se obtuvo en el estiércol de cerdo, la concentración de C, N y P en el balance de masas fue diferente para cada sustrato, además el estudio reveló que la producción de metano y lignina tienen una relación negativa. También describieron que la demanda química de oxígeno, carbón orgánico total, amonio y fósforo total en las supernatas, tiene una relación lineal positiva con las proteínas y el rendimiento de metano fue más alta en el estiércol de cerdo.

1.12 Potencial Redox (ORP).

Se denomina reacción de oxidación y reducción o simplemente reacción redox a toda reacción química en la cual existe una transferencia de electrones entre los

reactivos que participan, dando lugar a un cambio en sus estados de oxidación. En un proceso biológico, el transporte electrónico consiste en una serie de reacciones redox, por lo que es importante comprender la lógica de la secuencia de reacciones de la cadena respiratoria, y los mecanismos mediante los cuales se genera la energía metabólica [28-93], como se observa en la figura 1.10 a partir de estas reacciones, los electrones liberados por uno de los átomos los toma el otro, tal como lo señala la ley de la conservación de la materia. Las definiciones formales son:

- a) La oxidación es el resultado de una pérdida de electrones,
- b) La reducción es el resultado de una ganancia de electrones

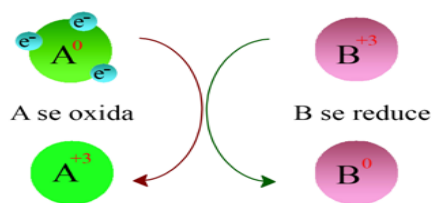


Figura 1.10. Representación esquemática del proceso oxido-reducción [130]

El potencial redox se considera como un parámetro clave debido a que las bacterias obtienen su energía mediante la oxidación del carbono orgánico para su crecimiento y la reducción de aceptores terminales de electrones (generalmente oxígeno) para su respiración [131]. La distribución espacial de los microorganismos aerobios y anaerobios está influenciada por el potencial redox del medio; en un proceso biológico, los microorganismos aerobios estrictos son metabólicamente activos a potenciales positivos, mientras que los anaerobios estrictos (metanogénicos) su actividad metabólica lo realizan a potenciales negativos; sin embargo, los microorganismos anaerobios facultativos realizan su actividad metabólica en un intervalo más amplio y utilizan el oxígeno como aceptor final de electrones a valores altos de ORP y cuando el potencial redox es bajo, algunos de estos microorganismos llevan a cabo reacciones de fermentación mientras otros obtienen energía a través de la respiración anaerobia.

Para el desarrollo de los microorganismos anaerobios obligados dentro del proceso de digestión anaerobia, se requiere mantener un intervalo de potencial redox entre -220 mV a -350 mV y un pH 7.0, con la finalidad de tener un ambiente reductor que las bacterias metanogénicas requieren para realizar su actividad, y en ocasiones, se incorporan agentes reductores fuertes tales como sulfuro, cisteína o titanio III para ajustar

el medio al potencial redox requerido [132]. En la tabla 1.10, se observa los valores de ORP en diferentes reacciones.

Tabla 1.10. Valores estándar de ORP de las reacciones involucradas en el metabolismo intracelular, modificado de Guang et al. [93].

Par Redox	E° (mV)
H ⁺ /H	-420
NAD ⁺ /NADH	-320
NADP ⁺ /NADPH	-315
Lípido; ox/red	-290
Acetoacetate/3-hidroxitirato	-270
GSSG/2GSH	-240
Piruvato/lactato	-190
Oxaloacetato/malato	-170
Fumarato/succinato	+30
Citocromo b; Fe ⁺³ /Fe ⁺²	+80
Ubiquinona;ox/red	+100
Citocromo c1; Fe ⁺³ /Fe ⁺²	+220
Citocromo a; Fe ⁺³ /Fe ⁺²	+290
Oxígeno/agua	+820

En diferentes publicaciones se han descrito el uso del ORP para el control de los procesos microbiológicos para la obtención de subproductos tales como alcohol, eliminación de azufre y mejora de la fase hidrolítica. Zhu et al. [23], trabajaron con residuos de flores y vegetales, y describen que la metanogénesis ocurre en un rango de -300 a -380 mV, de manera similar, Lim J. [133], utilizaron el ORP para monitorear la cantidad de oxígeno dosificado, registrando que el potencial REDOX varió de -200 y -300 mV dentro de un sistema anaerobio y de 50 mV en uno aerobio.

Abbas et al. [131] utilizaron como área de estudio una región en donde se encontraba una refinería de petróleo que inició sus operaciones en el año de 1927 y terminó en el 2013, en sus resultados estimaron por medio de un método matemático el potencial redox ocasionado por la contaminación de hidrocarburos durante el proceso de biodegradación. El método de autopotencia que utilizaron para reconstruir el potencial redox del agua subterránea fue asociado con los contaminantes y la materia orgánica; sin embargo, mencionan que es necesario realizar más estudios sobre las reacciones

biológicas y químicas para caracterizar el mecanismo sobre la forma en que ocurren las variaciones de ORP.

Guang et al. [93] describen el impacto del potencial redox sobre el metabolismo y biosíntesis de proteínas, así como estrategias de control para una producción eficiente de productos de fermentación; utilizaron como ejemplos el proceso metabólico de la levadura *Saccharomyces* para la fermentación de etanol bajo condiciones microaerobias y la bacteria *Clostridium* para la producción de butanol en condiciones anaerobias, como conclusión mencionan que las reacciones redox y la homeostasis son las bases del metabolismo intracelular, ya que controlan los perfiles de metabolitos, lo que posteriormente proporciona una estrategia efectiva para dirigir más materiales y energía a las vías para la producción eficiente de productos deseables.

Jun Yin J. [134], estudiaron el efecto del tipo de inóculo (lodo aerobio y anaerobio) y el ORP a diferentes intervalos (-100 a -200 y -200 a -300 mV) sobre la producción de AGVs en el tratamiento de la FORSU. Además, en uno de sus experimentos utilizaron 2 bromoetanosulfonato para inhibir el desarrollo de las bacterias metanogénicas. Estos autores describen que la producción más alta de AGVs fue de 0.79 g DQO/g SV, obtenida con inóculo anaerobio en un intervalo de ORP de -100 a -200 mV, además, observaron un aumento en la eficiencia de degradación de las proteínas hasta de un 78.3 % y un incremento en la comunidad de las bacterias *Firmicutes* de un 42.2 a 48.2%, por lo que concluyeron como se observa en la figura 1.11 que el nivel apropiado de ORP para la producción de AGVs es de -100 a -200 mV, además, el inóculo tiene un papel esencial para el desarrollo de los microorganismos.

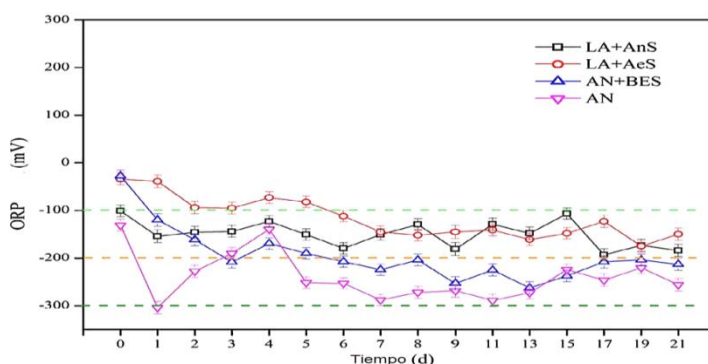


Figura 1.11. Representación esquemática del comportamiento de los sustratos a diferentes ORP [134]. LA; Aireación limitada, AnS; inóculo de lodo anaerobio, AeS; inóculo de lodo aerobio, BES; bromo etano sulfonato AnS; sustrato anaerobio, AN; control.

1.12 Transferencia directa de electrones entre especies

Dentro del proceso de digestión anaerobia, se han empleado estrategias para hacer más eficiente la fase metanogénica y la recuperación de bioenergía en desechos orgánicos [8]. El mejoramiento de la transferencia directa de electrones entre especies (DIET por sus siglas en inglés) ha aumentado la producción de metano, dado que existe una asociación sintrófica de los metanogénicos con otros microorganismos a partir de ácidos grasos de cadena corta [135].

Durante años, la transferencia de H_2 y de formato entre los metanógenos y las bacterias fermentativas se consideraban que eran los mecanismos más sostenibles para la DIET; los descubrimientos recientes han revelado que algunas bacterias podrían transferir directamente electrones a metanógenos en lugar de transferencia de formato y el H_2 /interespecies [136]. Este mecanismo único de transferencia de electrones de célula a célula permite la producción de metano a partir de los compuestos orgánicos reducidos de una manera más eficiente y proporciona una rápida conversión de desechos orgánicos en metano [135].

La DIET es una simbiosis microbiana descubierta en estos últimos años, la cual se da entre bacterias hidrolíticas y arqueas metanogénicas en la digestión anaerobia, y aceleran la conversión sintrófica de varios compuestos orgánicos reducidos a metano [8]. Como se muestra en la figura 1.12, la transferencia sintrófica basada en la DIET puede ocurrir naturalmente a través de conductores pili, sin embargo, también se puede realizar mediante la adición de materiales conductores no biológicos.

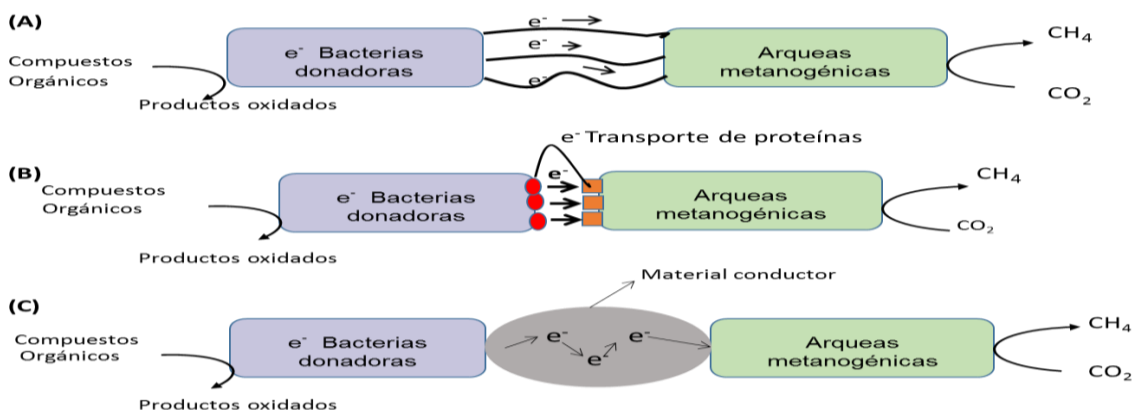


Figura 1.12. Tres mecanismos de la DIET entre compuestos orgánicos oxidantes. Bacterias y *Arqueas* metanogénicas a través de: (A) Pili conductor, (B) Electrones unidos a la membrana de transporte de proteínas, (C) Materiales conductivos abióticos [137].

Se han realizado trabajos para la comprensión y la ingeniería de la sintrofia basada en la DIET con la finalidad de mejorar la metanogénesis y hacer más eficiente el proceso de digestión anaerobia. Los microorganismos que forman el metano son fisiológicamente especializados, solo pueden crecer con sustratos simples, como H₂ y CO₂, formato, metanol y acetato, por lo tanto, dependen de otros microorganismos que degradan compuestos orgánicos más complejos.

En estos últimos años, la DIET ha sido utilizada para mejorar la digestión en la FORSU con ayuda de un material conductor como el carbono, con el fin de incrementar la producción de metano [9], considerando que, dentro de algunos ambientes metanogénicos, el formato ha sido identificado como un transportador de electrones entre las bacterias fermentativas y las metanogénicas, estos descubrimientos han revelado que algunas bacterias pueden transferir electrones en forma directa entre diferentes especies (*Geobacter sp* y *Metanosarcinas sp*) favoreciendo la formación de metano [138]. Entre los materiales conductores que se han utilizado son, carbón activado granular (CAG), biocarbón, tela de carbón, grafito, magnetita y sustancias húmicas, los cuales pueden servir como portadores de electrones efectivos durante el intercambio de electrones entre especies; además de materiales conductores también pueden proporcionar un medio de soporte ideal para la unión de microbios debido a su hidrofobicidad superficial y su carácter poroso [139].

Barua y Dhar [8] realizaron una revisión bibliográfica de diferentes trabajos y puntualizaron el uso de materiales conductores (DIET) en reactores metanogénicos como estrategias para mejorar la producción de metano y la recuperación de bioenergía en residuos orgánicos, de la misma manera, Chen et al. [135], estudiaron la transferencia directa de electrones entre las especies utilizando tela de carbón, demostraron que el carbono acelera el intercambio de electrones y eliminan las conexiones biológicas. Por su parte, Dang et al. [9], utilizaron 3 materiales de carbón conductivo, mencionaron que esos materiales (carbón granular, biocarbón y tela de carbón) estimularon la producción de metano y permitieron al reactor soportar altas cargas orgánicas, del mismo modo, Hoon et al. [140], utilizaron carbón granular, reportaron un aumento en la producción de metano de 31% a 71% así como cambios en la composición de las Arqueas, decreciendo en un 17 % a las *Metanosarcinas* e incrementando en un 5.6 % las *Metanosaetas*.

Hipótesis

La aplicación de microaireación durante la fase hidrolítica y la adición de CAG promoverá la DIET en la fase metanogénica del proceso de digestión anaerobia de la FORSU, mejorando la eficiencia del proceso de degradación de las moléculas orgánicas y por consiguiente un aumento en la eficiencia de producción de metano.

Objetivo general

Evaluar el efecto de la microaireación aplicada al proceso de acidogénesis en función del rendimiento de metano (reactor metanogénico) y el CAG para promover el DIET en dos fases, y su respectivo balance de masas del sistema.

Objetivos específicos

- Caracterizar físico-químicamente la FORSU como fuente potencial para la producción de biogás.
- Diseñar y construir el mecanismo de suministro de microaireación.
- Determinar las variables de operación para el acoplamiento de los reactores en el proceso de digestión anaerobia en dos etapas para la producción de biogás.
- Determinar el tiempo, flujo de microaireación y su influencia con respecto al ORP dentro de la fase líquida del reactor hidrolítico.
- Realizar la cuantificación de la cantidad de carbono, nitrógeno y fósforo en las fases sólida, líquida y gaseosa en el proceso de digestión anaerobia.

CAPÍTULO 2 METODOLOGÍA

2.1 Recolección de la muestra

Los residuos de vegetales y alimento fueron recolectados en el mercado de la ciudad de Motul, posteriormente se transportaron a las instalaciones del Centro de Investigación Científica de Yucatán (CICY), Unidad de Energía Renovables, ubicada en el Parque Científico y Tecnológico de Yucatán, en donde se realizó una selección para verificar que se encuentren libres de materiales inorgánicos; posteriormente se cortaron en trozos de 1 cm² en promedio, se homogenizó manualmente y se guardó a 4 °C hasta su utilización [59-105-141].

2.2 Caracterización de la muestra

Debido a la variabilidad en la composición de la FORSU ocasionada por diversos factores como son la fuente de origen, y la constitución química de las macromoléculas que lo integran, se realizó la caracterización físico-química con la finalidad de conocer la composición de los elementos que lo constituyen, determinar las variables y parámetros utilizados para el control del proceso [15-142-143]. En la tabla 2.1, se muestran los parámetros que se determinaron en la caracterización de la FORSU.

Tabla 2.1. Parámetro para la caracterización de la FORSU

Parámetro	Método
pH	Método Hach sension 156/54650-Sección 3
ST	[144]
SV	[144]
DQO	Colorímetro Hach DRB-890/8000
N _T	Colorímetro Hach DRB-890/10072
PO ₄ ³⁻	Colorímetro Hach DRB-890/8190
SO ₄ ²⁻	Colorímetro Hach DRB-890/8151
Humedad	[144]
CT	Analizador elemental por combustión*
COT	Colorímetro (Hach DR1900).
Alcalinidad Total	[145]

pH, potencial de hidrógeno; ST, sólidos totales; SV, sólidos volátiles; DQO, demanda química de oxígeno; N_T, nitrógeno total; PO₄³⁻, fósforo total; SO₄²⁻, sulfato; CT, carbón total; COT, carbón orgánico total.

*Organic Elemental Analyzer Flash 2000, CHNS-O, Marca: Thermo Scientific Modelo: Flash 2000 Software: EAGER Xperience Ver. 1.4 March 2014

2.3 Inóculo

Se requirió la adición de nutrientes y de un inóculo formado por un consorcio microbiano mixto nativo compuesto de 30 g/L de suelo profundo, 300 g/L de estiércol de ganado vacuno, 150 g/L de estiércol de cerdo, 1.5 g/L de Na_2CO_3 comercial y 1 L de agua del grifo, de acuerdo como lo señalan España-Gamboa et al. [146] y Milquez-Sanabria et al. [147]. Se utilizó una relación de inóculo-sustrato de 0.2 (kg/kg), de acuerdo a lo sugerido por Xu et al. [47].

2.4 Reactores

El experimento se realizó a nivel de laboratorio en modo batch utilizando el proceso de digestión anaerobia (20% de ST) en 2 etapas (hidrolítica y metanogénica), con un sistema acoplado de 2 reactores (RACE y UASB) en serie operados en condiciones de temperatura mesofílica (38 °C).

2.4.1 Reactor RACE control.

El reactor RACE se construyó en acrílico con un diámetro de 14.5 cm, una altura de 26.4 cm y un volumen útil de 1.5 L, para facilitar el flujo y recolección del lixiviado se utilizaron anillos de PVC, además sirvió como sosten de la biopelícula que constó de 350 piezas de 1 cm de largo por 1.22 cm de diámetro [148]. Como soporte del lecho empacado y para la retención de sólidos, se colocó a 5 cm del fondo del reactor una placa perforada de acrílico cubierta con una malla metálica de 1.2 mm de claro. Para la distribución del lixiviado en la parte superior del reactor se colocó un difusor y se utilizó un caudal de flujo de recirculación de 75 ml/min, figura 2.1 y 2.2.

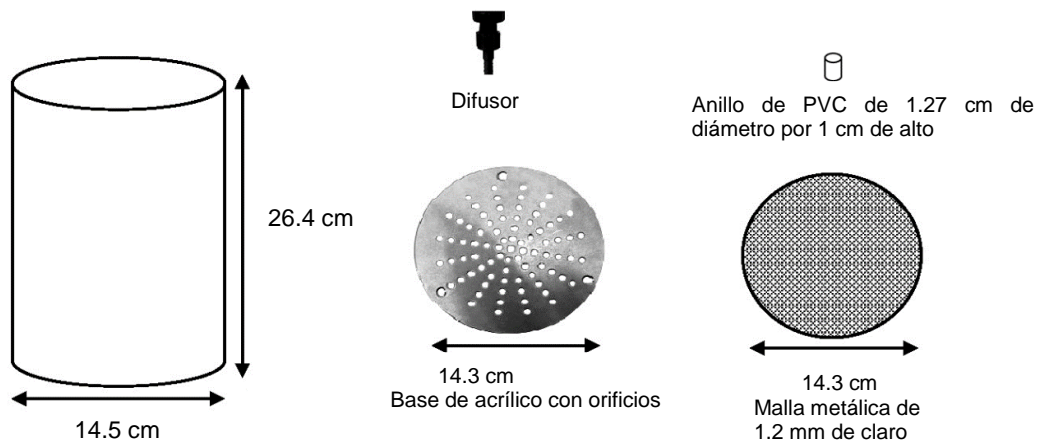


Figura 2.1 Representación esquemática del RACE.

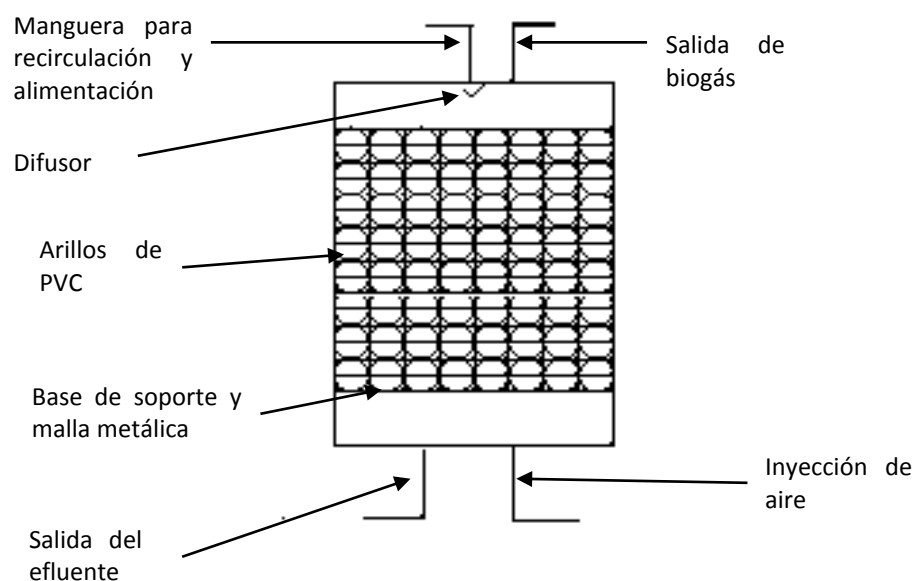


Figura 2.2 Ensamble del RACE

El experimento se realizó por duplicado, se determinó el tiempo en el cual se alcanzó la máxima concentración de DQO, así como la concentración de AGVs. Para ello, al reactor se le adicionó 0.5 kg de sustrato, 0.460 L de inóculo y 1 L de agua de la llave. Para mantener la temperatura en el interior del reactor, se utilizó un recirculador marca Wisecircu modelo WCH-12 con control de temperatura [146-147-149]. Con el fin de dar seguimiento y evolución del proceso se monitorearon los siguientes parámetros, ver tabla 2.2:

Tabla 2.2. Parámetro para el control del RACE

Parámetro	Método
pH	Método Hach sension 156/54650-Sección 3
ST	[144]
SV	[144]
ORP	Método Hach sension 156/54650-Sección 3
DQO	Colorímetro Hach DRB-890/8000
N _T	Colorímetro Hach DRB-890/10072
Alcalinidad total y parcial	[145]
AGVs	[145]
Carboximetil celulasa	[23]

pH, potencial de hidrógeno; ST, sólidos totales; SV, sólidos volátiles; ORP, potencial redox; DQO, demanda química de oxígeno; N_T, nitrógeno total; AGVs, ácidos grasos volátiles.

2.4.2 Reactor RACE con microaireación

En un segundo reactor fue aplicada la microaireación ($RACE_{MICRO-AIREADO}$), empleando un flujo total de 254 L-aire/kg ST/d. Se realizaron 2 ensayos con las mismas condiciones, se le adicionó al reactor 0.5 kg de sustrato, 0.460 L de inóculo y 1 L de agua de la llave, la microaireación fue aplicada en la parte inferior del reactor con una bomba de aire marca RESUN AIR-PUMP, modelo AC-9602, con capacidad de suministro de aire 240 L/h, regulador de salida, con dimensiones de 15 cm de largo, 6 cm de alto y 8 cm de ancho. La tasa de flujo aplicada fue de 0.176 L/min. El aire fue suministrado durante 15 minutos cada 2 horas por día, de acuerdo a lo reportado en trabajos realizados por Xu et al. [47] y Yin et al. [150], el lixiviado se recirculó con un flujo de 75 ml/min tomando como referencia a Milquez-Sanabria et al. [147]

Para la determinación de la tasa de aire se tomó como referencia a Xu et al. [47], por lo tanto, fue necesario calcular los litros de aire por kilogramo de sólidos totales por día, así como la determinación de la frecuencia y el volumen de aire por kilogramo de sólido total, ver figura 2.3.

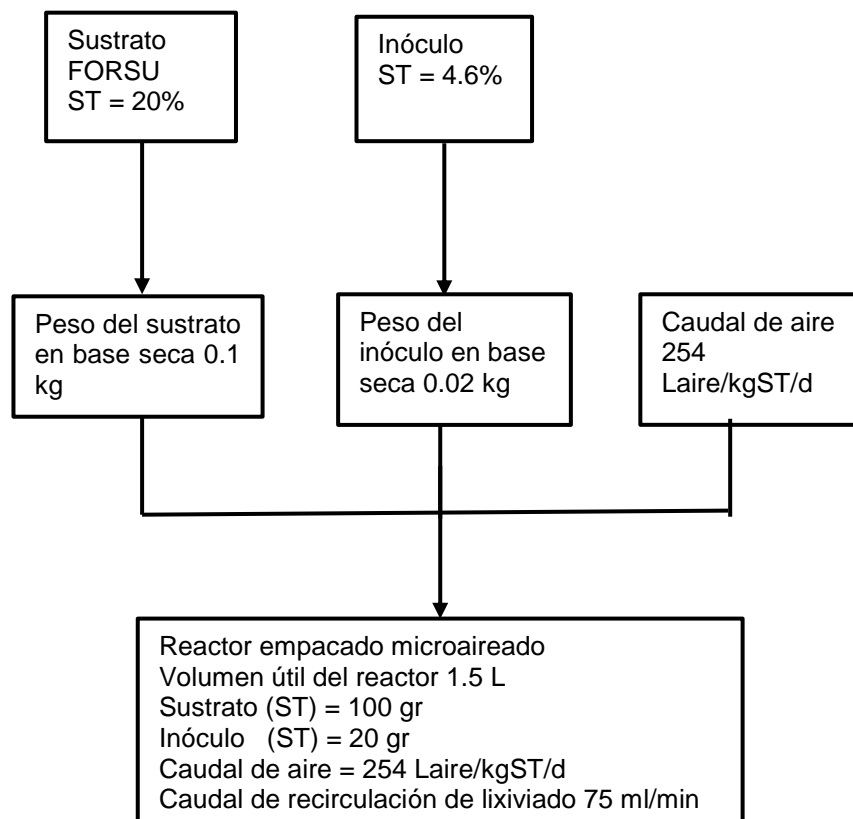


Figura 2.3. Representación esquemática del proceso en el $RACE_{micro-aireado}$

Tomando como referencia a Xu et al. [47] por 1 kg de sólido se requiere 274 L de aire, para 0.1 kg se estimó 27.4 L, por lo tanto:

Considerando el valor de ST (20%) de la FORSU obtenido en este trabajo, para 0.5 kg en base seca tenemos.

Calculando la cantidad de aire requerido en un día

$$L\text{-aire}_{\text{requerido}} = 274 \text{ L} \times 0.1 = 27.4 \text{ L}$$

Calculando el tiempo de aplicación de la microaireación al reactor por día, considerando que la bomba suministra un caudal de aire de 0.176 L/min, y de acuerdo con la graduación seleccionada proporcionó 254 L/d, por lo tanto:

$$\text{Tiempo requerido} = \frac{27.4 \text{ L}}{0.176 \text{ L/min}} = 155.68 \text{ min}$$

Considerando periodos de aireación de 15 minutos:

$$\text{Frecuencia requerida} = \frac{155.68 \text{ min}}{15 \text{ min}} = 10.37$$

Se requiere una frecuencia de aplicación de 10.37 considerando 11 repeticiones, lo que equivale a un total de 165 minutos por día.

Para el monitoreo y seguimiento del proceso se determinaron los parámetros que se encuentran en la tabla 2.3.

Tabla 2.3. Parámetro para el control del RACE MICRO-AIREADO

Parámetro	Método
pH	Método Hach sension 156/54650-Sección 3
ST	[144]
SV	[144]
ORP	Método Hach sension 156/54650-Sección 3
DQO	Colorímetro Hach DRB-890/8000
N _T	Colorímetro Hach DRB-890/10072
Alcalinidad total y parcial	[145]
AGVs	[145]
Carboximetil celulasa	[23]

pH, potencial de hidrógeno; ST, sólidos totales; SV, sólidos volátiles; ORP, potencial redox; DQO, demanda química de oxígeno; N_T, nitrógeno total; AGVs, ácidos grasos volátiles.

El experimento se mantuvo hasta encontrar la máxima cantidad de DQO y AGVs, así como el tiempo en la cual fueron consumidos en su totalidad.

2.4.3 UASB

Un reactor UASB con un volumen útil de 9 litros fue construido en PVC, utilizando tubería con diámetro de 10.2 cm y 120 cm de alto. Con la finalidad de facilitar las conexiones con la salida de la bomba de recirculación y la entrada al reactor, se colocaron 2 reducciones de 4" a 2" y de 2" a 1/4" en la parte inferior y al mismo tiempo se utilizó como sedimentador de sólidos. Para mantener la temperatura de 38°C en el interior del reactor se conectó a un recirculador marca Wisecircu modelo WCH-12 con control de temperatura [146-147-149], figura 2.4 y 2.5

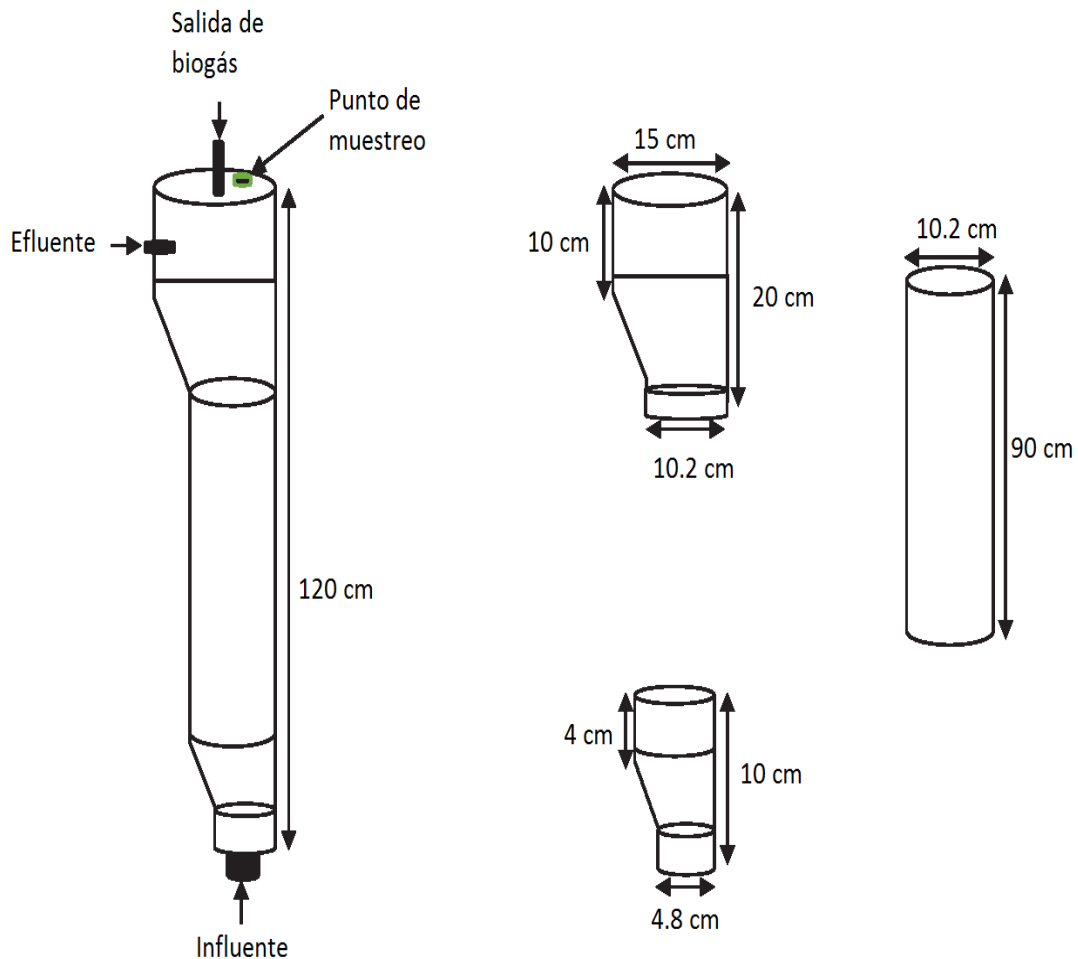


Figura 2.4. Representación esquemática del UASB

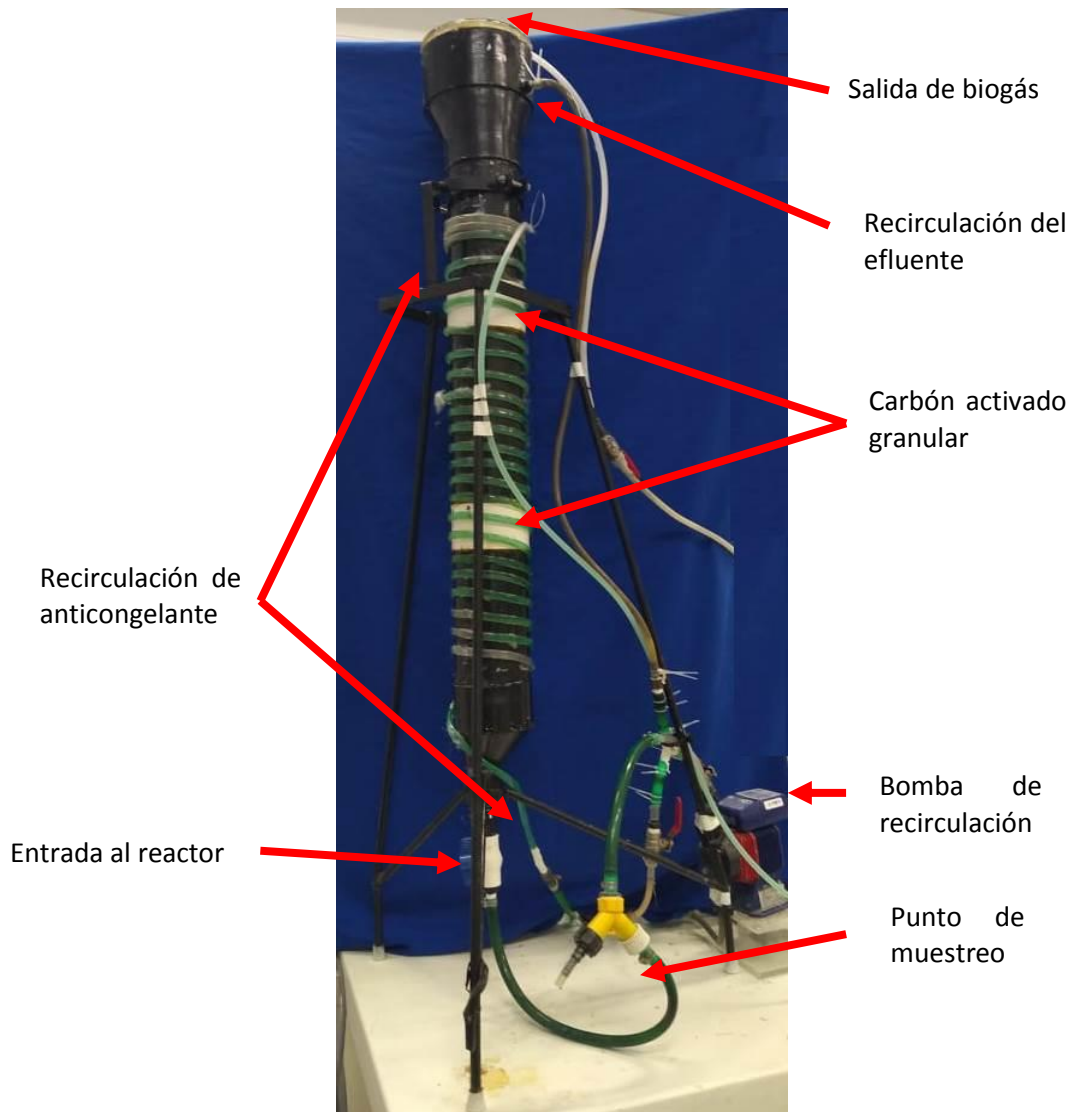


Figura 2.5. Ensamble del UASB a escala laboratorio.

2.5 Aclimatación

2.5.1 Reactor UASB sin DIET

Para el arranque y aclimatación del reactor del UASB se utilizó una mezcla de agua residual sintética e inóculo con una relación de 1:1, la composición del agua residual sintética fue de 4 g/L de sacarosa, 1 g/L de cloruro de amonio, 0.2 g/L de fosfato de potasio y 1 g/L de bicarbonato de sodio tal como lo menciona España-Gamboa et al. [146] y Milquez-Sanabria et al. [147]. El reactor se trabajó en un intervalo de pH de 6.8 a 7.4, velocidad de flujo de ascensión de 0.5 m/h de acuerdo con Latif et al. [151] y temperatura de 38 °C. Se inició con una tasa de carga orgánica de 0.5 kg DQO/m³ d, con la finalidad de determinar la carga en la cual el reactor alcanzaría la estabilidad de operación, se

incrementó gradualmente hasta llegar a la cantidad de AGVs en la cual decreció la producción de biogás, ver tabla 2.4.

Tabla 2.4. Proceso de aclimatación del UASB

THR días	Carga orgánica kg DQO/m ³ d	Tiempo de duración* días
180	0.5	16
90	1.54	40
45	3.08	24
30	4.62	20
22.5	6.16	22
15	2	50

* Lapso de tiempo en el cual el reactor se mantuvo a esa carga orgánica

Para el control del proceso, se determinaron la DQO, alcalinidad, AGVs, N_T, pH, volumen de biogás, porcentaje de metano e igualmente los índices alfa (0.7- 0.9) y buffer (0.2-0.4). Para determinar el momento de estabilización del reactor, se consideraron los siguientes parámetros: DQO ≥ 50% de remoción, AGVs ≤ 1.5 g/L, contenido de metano en el biogás ≥ 50% mantenido en forma constante durante 3 días [146-147] y carga orgánica de trabajo de 2 kg DQO/m³d.

2.5.2 Reactor UASB_{DIET}.

La ingeniería de DIET es una estrategia para mejorar la digestión anaerobia de los residuos orgánicos utilizando un material inorgánico como el carbón activado granular (CAG). El CAG puede ser utilizado como medio de soporte para la retención de biomasa, como mediador redox eficiente en medios ambientales, y por sus características adsorbe compuestos fenólicos tóxicos que podrían inhibir la producción de metano, en estudios recientes se ha investigado el CAG para estimular la DIET en digestores metanogénicos.

Después del día 200 de iniciado la aclimatación, con el fin de hacer más eficiente la fase de metanogénesis y evitar intoxicaciones por acumulación de AGVs, se adicionó carbón activado granular de tamaño 12 X 40, pH 8-9.5, radio medio del poro 0.78 nm y temperatura máxima de operación 55 °C contenido en el interior en 2 bolsas de malla de acero inoxidable, cada una con un peso de 180 gr, soportadas de forma individual en una base de plástico a 40 y 80 cm de la parte inferior del reactor.

2.6 Acoplamiento de los reactores RACE_{MICRO-AIREADO} -UASB_{DIET}.

Se realizaron 3 ensayos de acoplamiento con las mismas condiciones. Para la unión de los reactores como se muestra en la figura 2.6, se consideró la máxima concentración de DQO en el RACE_{MICRO-AIREADO} [47-146-150]. Por cuestiones operativas como son: tamaño de los reactores, cantidad de AGVs que se generan en el lixiviado del RACE_{MICRO-AIREADO} y la concentración de ST (20%) que se tiene en la FORSU se determinó utilizar como carga de trabajo en este estudio de 2 kg DQO/m³d, de acuerdo, a las recomendaciones encontradas en el trabajo de Ahring et al. [152].

Para el cálculo del volumen a dosificar del efluente hidrolítico por día hacia el UASB_{DIET}, se tomó como referencia la concentración de DQO con el fin de mantener una carga orgánica de 2 kg DQO/m³d, Masebinu et al. [7] mencionaron que cargas superiores de 2.5 kg DQO/m³d pueden ocasionar desestabilización por desequilibrio en el sistema ácido-base. El reactor UASB_{DIET}, se consideró estable en su operación cuando el índice alfa se mantuvo en un intervalo de 0.7 – 1.0 e índice buffer de 0.2 a 0.4 durante el proceso [153], además, el contenido de metano en el biogás superior al 60%.

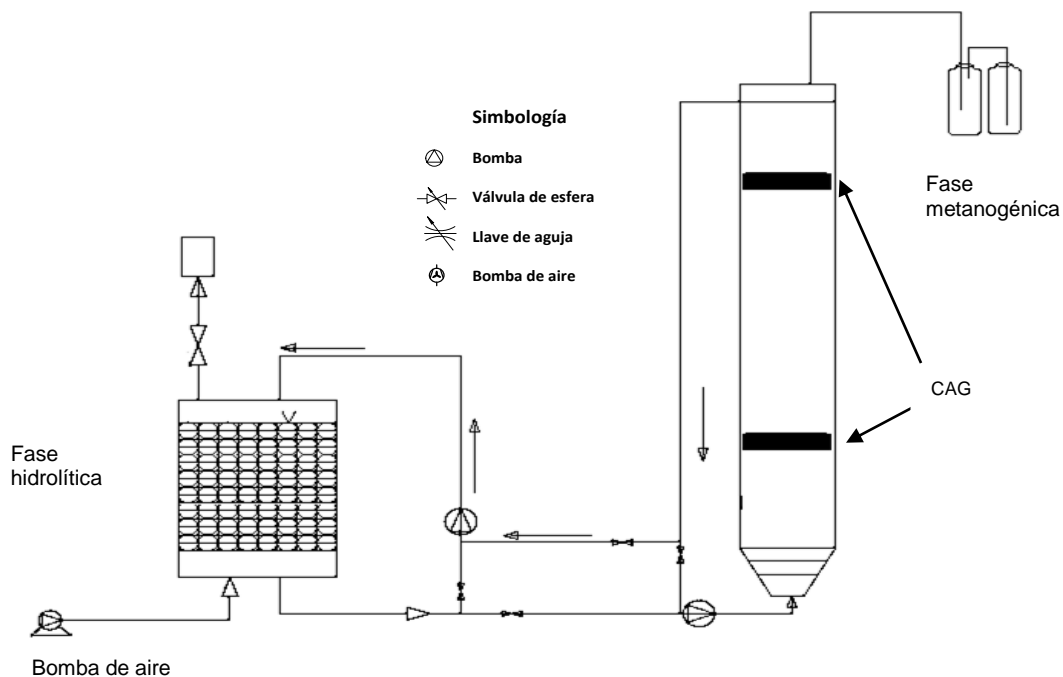


Figura 2.6 Esquema de acoplamiento RACE_{MICRO-AIREADO}-UASB_{DIET}

La unión de los reactores se realizó cuando en ambos se alcanzaron los valores de los parámetros de acoplamiento especificados, se monitorearon y se realizaron los siguientes ensayos, ver tabla 2.5.

Tabla 2.5. Parámetros para el acoplamiento de RACE_{MICRO-AIREADO}-UASB_{DIET}

Parámetro	Método
pH	Método Hach sension 156/54650-Sección 3
DQO	Colorímetro Hach DRB-890/8000
N _T	Colorímetro Hach DRB-890/10072
Temperatura	Método Hach sesión
Alcalinidad total y parcial	[145]
AGV's	[145]
ST	[144]
SV	[144]
Volumen del biogás	[154]
Caracterización de biogás	Cromatografía de gases Clarus 500 Perkin Elmer

pH, potencial de hidrógeno; DQO, demanda química de oxígeno; N_T, nitrógeno total; ST, sólidos totales; SV, sólidos volátiles; AGVs ácidos grasos volátiles.

El volumen de gas generado en el UASB_{DIET}, se midió por desplazamiento de líquido [154].

2.7 Balance de masas

Para la realización del análisis del balance de masas en las 3 fases, se determinó el contenido de carbono (C) en las fases sólida, líquida y gaseosa; el nitrógeno (N) y fósforo (P) fueron determinados en las fases sólida y líquida de acuerdo como lo señalan Li et al. [71]. Para la separación de la fase sólida y líquida se utilizó una centrifuga marca CRM Globe a una velocidad de 3,500 RPM durante 10 minutos; para el secado de los sólidos y con la finalidad de evitar pérdidas por evaporación de compuestos volátiles por altas temperaturas se utilizó una liofilizadora marca Lab Conco, modelo 77530. La determinación del volumen de biogás generado en la fase gaseosa se realizó por desplazamiento de volumen de agua, los porcentajes de CH₄ y CO₂ contenidos en el biogás se determinaron por cromatografía de gases, utilizando un cromatógrafo gases Clarus 500 Perkin Elmer modelo Elite GCGS Molesieve, 30 m, 0.53 mm de diámetro, detector TCD a 200 °C y horno a 50 °C con un tiempo de corrida de 6 minutos.

2.7.1 Preparación de las muestras

Para la determinación del balance de masas, se consideró el inicio del proceso, en la fase sólida, líquida y gaseosa, por lo tanto, se realizaron los siguientes pasos.

1.- En el sustrato se determinó los ST (APHA, Método 2540); el C_T y N_T se realizó con el analizador elemental por combustión (CHON); para la determinación de COT (método 10129 HACH) y el P_T (método 8190 HACH) se preparó una dilución con los ST de 10000 mg/L.

2.- Después del proceso DA se determinó los ST (APHA, Método 2540); para la separación de los ST se centrifugó la muestra a 3500 RPM por 10 minutos; para el secado de los ST y con la finalidad de evitar pérdidas de compuestos volátiles por evaporación se utilizó una liofiladora.

3.- Con los ST después de la liofilización, se realizó el análisis elemental por combustión (CHON) en donde se determinó el porcentaje de C_T y N_T ; además, se preparó una dilución de 1000 mg/L con agua destilada en donde se determinó el COT (método 0129 HACH) y P_T (método 8190 HACH).

4- Con la fase líquida después del proceso DA se realizó una dilución de 1 a 5 con agua destilada en donde se determinó el N_T (método 10072 HACH); para la determinación de COT (método 10129 HACH) y P_T (método 8190 HACH) se realizó una dilución de 1 a 500 (0.05 ml en 25 ml).

5.- Para el análisis de la fase gaseosa, el volumen de biogás generado se determinó por desplazamiento de agua; además, se utilizó cromatografía de gases (Cromatógrafo Pekín Elmer) para determinar el porcentaje de CH_4 y CO_2 .

La determinación de carbono, nitrógeno y fósforo en la fase líquida y sólida fue por digestión térmica; el balance de masa del C, N y P se aplicó en:

- a) En el sustrato sólido antes del proceso de digestión anaerobia. Para la realización de los ensayos, se pesó una alícuota de 1 g y se disolvió en 100 ml de agua destilada, los parámetros evaluados se observan en la tabla 2.6 [47-71].

Tabla 2.6. Parámetros para determinar la composición elemental en el sustrato sólido

Parámetro	Método
PO ₄ ³⁻	Colorímetro Hach DRB-890/8190
N _T	Colorímetro Hach DRB-890/10072
COT	Colorímetro Hach DRB-890/10129
CT	Analizador elemental por combustión*

PO₄³⁻, fósforo total; N_T, nitrógeno total; COT, carbón orgánico total; CT, carbón total;
 *Organic Elemental Analyzer Flash 2000, CHNS-O, Marca: Thermo Scientific Modelo: Flash 2000
 Software: EAGER Xperience Ver. 1.4 March 2014

- b) En la fase sólida estabilizada y fase líquida después de finalizado el experimento. Para la realización de los ensayos en la fase sólida, se pesó una alícuota de 0.1 g y se disolvió en 100 ml de agua destilada, para el caso de la fase líquida se realizó la dilución 1 a 5. Los parámetros evaluados, se observan en la tabla 2.7.[47-71]

Tabla 2.7. Parámetros para evaluar el comportamiento y transformaciones de los elementos en la fase sólida del reactor empacado.

Parámetro	Método
PO ₄ ³⁻	Colorímetro Hach DRB-890/8190
N _T	Colorímetro Hach DRB-890/10072
COT	Colorímetro Hach DRB-890/10129
CT	Analizador elemental por combustión*

PO₄³⁻, fósforo total; N_T, nitrógeno total; COT, carbón orgánico total; CT, carbón total;
 *Organic Elemental Analyzer Flash 2000, CHNS-O, marca Thermo Scientific, modelo Flash 2000
 Software: EAGER Xperience Ver. 1.4 March 2014

- c) En la fase líquida después de finalizado el experimento. Para la realización de los ensayos se realizó la dilución 1 a 5. Los parámetros evaluados, se observan en la tabla 2.8 [47-71].

Tabla 2.8. Parámetros para evaluar el comportamiento y transformaciones de los elementos en la fase líquida del reactor empacado.

Parámetro	Método
PO ₄ ³⁻	Colorímetro Hach DRB-890/8190
N _T	Colorímetro Hach DRB-890/10072
COT	Colorímetro Hach DRB-890/10129

PO₄³⁻, fósforo total; N_T, nitrógeno total; COT, carbón orgánico total; CT, carbón total;

- d) En la fase gaseosa después de finalizado el experimento. Los ensayos se realizaron en el reactor UASB_{DIET}, los parámetros evaluados se observan en la tabla 2.9 [47-71].

Tabla 2.9. Parámetros para evaluar el comportamiento y transformaciones de los elementos en el reactor UASB.

Parámetro	Método
CH ₄	Cromatógrafo gases Clarus 500 Perkin Elmer
Volumen de biogás	[154]

CH₄, metano.

La masa total de los nutrientes se calcularon de acuerdo a las ecuaciones 8(carbón total), 9 (nitrógeno total) y 10 (fósforo total), ver tabla 2.10, se asume que la producción de biogás se realizó a temperatura y presión normal, la cantidad de N y P en la fase gaseosa no se consideró, solo en la fase sólida y líquida [18,19], el NTK se usó para representar el N_T en el líquido y en la biomasa después del proceso de digestión anaerobia.

Tabla 2.10. Parámetros para evaluar el comportamiento y transformaciones de carbono, nitrógeno y fósforo en los reactores [47-71].

Elemento	Total/Fase	Ecuaciones
Carbono	Total	$C_T = C_g + C_l + C_s \quad (8)$ <p>Donde: C_T = Carbón total C_g = Carbón en gas C_l = Carbón en líquido C_s = Carbón en sólido</p>
	Líquido	$C_l = (C_{mg/L})(V_T)$ <p>Donde: $C_{mg/L}$ = Concentración de C en el líquido V_T = Volumen total del líquido en el reactor (L)</p>
	Sólido	$C_s = \left(\frac{C\%}{100}\right)(W_T)$ <p>Donde: $C\%$ = Porcentaje de C en la fase sólida W_T = Peso total del residuo (g)</p>
	Gaseoso	$C_g = \left(\frac{V}{22.4}\right) (12)$ <p>Donde: V = Volumen gas (L)</p>
Nitrógeno	Total	$N_T = N_l + N_s \quad (9)$ <p>Donde: N_T = Nitrógeno total N_l = Nitrógeno en líquido N_s = Nitrógeno en sólido</p>
	Líquido	$N_l = (N_{mg/L})(V_T)$ <p>Donde: $N_{mg/L}$ = Concentración de N en el líquido V_T = Volumen total del líquido en el reactor (L)</p>
	Sólido	$N_s = \left(\frac{N\%}{100}\right)(W_T)$ <p>Donde: $N\%$ = Porcentaje de N en la fase sólida W_T = Peso total del residuo (g)</p>
Fósforo	Total	$P_T = P_l + P_s \quad (10)$ <p>Donde: P_T = Fósforo total P_l = Fósforo en líquido P_s = Fósforo en sólido</p>
	Líquido	$P_l = (P_{mg/L})(V_T)$ <p>Donde: $P_{mg/L}$ = Concentración de P en el líquido V_T = Volumen total del líquido en el reactor (L)</p>
	Sólido	$P_s = \left(\frac{P\%}{100}\right)(W_T)$ <p>Donde: $P\%$ = Porcentaje de P en la fase sólida W_T = Peso total del residuo (g)</p>

CAPITULO 3

RESULTADOS Y DISCUSIONES

3.1 Caracterización

Autores como Ji et al. [155], Cysneiros et al. [156] y Cirne et al. [157] han trabajado el proceso de digestión anaerobia utilizando como sustrato la FORSU, y han demostrado sus ventajas para producir energía a través del biogás; sin embargo, la compleja composición de los elementos que integran los desechos puede representar un desafío para implementar el proceso, debido a múltiples factores que afectan la biodegradabilidad del sustrato como son el contenido y tamaño de los sólidos [16-23-71-158]. Para la realización de este trabajo y con la finalidad de tener un mayor control de las variables externas se utilizó una FORSU preparada con residuos que se generan de forma cotidiana (ver tabla 3.1); además, se eliminó la variabilidad por factores ambientales como son: temperatura, humedad, entre otros [142-159].

Tabla 3.1. Composición porcentual de la FORSU utilizada por otros autores.

Elemento	Martín et al. [160] (%)	Martínez-Sepulveda et al. [161] (%)	Xu et al. [47] (%)	Yin et al. [150] (%)	En este trabajo (%)
Papa	6.2	12.4			13.3
Zanahoria	2.8	5.6			6
Chicharos	-	2.9			2.78
Manzana	4.9	9.8			10.5
Plátano	3.5	7			7.5
Repollo	5.3	10.2	25	22	10.93
Cebolla	2.8	6			6.43
Coliflor	0.7	2.2			2.14
Naranja	4.9	9.8			10.5
Tomate	1.3	4			4.3
Carne	2.2	4.4	15	2	4.71
Pasta	2.3	4.6	-	26	4.93
Arroz	2.3	4.6	25	36	4.93
Tortilla	3.5	7	35	14	7.5
Papel	55.8	10			3.55

Se han encontrado en las referencias (ver tabla 3.1) residuos de vegetales y frutas que son; papa, manzana, cebolla, repollo, carne, pasta, tomate, arroz entre otros que son de uso común en diferentes lugares del mundo; sin embargo, a pesar de ser los mismos

materiales puede cambiar en sus características físico-químicas por factores climatológicos y por el tipo de suelo donde son cultivados; por lo tanto, es importante conocer la composición elemental para seleccionar las variables a controlar y predecir su comportamiento en el proceso de digestión anaerobia.

En el caso del presente trabajo, la composición porcentual de los elementos que integraron la FORSU se formuló considerando los residuos que se generan en la región y tomando como referencia los porcentajes utilizados en otros trabajos, (ver tabla 3.1).

Los resultados de la caracterización de la FORSU se encuentran en la tabla 3.2, el contenido de humedad del sustrato fue de $79.3 \pm 0.7\%$ y ST $20.7 \pm 0.7\%$. El $99.4 \pm 0\%$ de los ST corresponden a sólidos volátiles (SV 209.6 g por kg de FORSU) indicando el contenido de materia orgánica biodegradable que puede ser transformada a biogás, Wang et al. [77], quienes trabajaron con desechos de comida utilizando DA obtuvieron valores de ST de 24% y SV de 23% los cuales son similares a los obtenidos en este trabajo; de igual manera, Forster-Carneiro et al. [100] utilizaron FORSU como sustrato, en la caracterización registraron valores de ST de 19% y 11% como SV, los cuales son inferiores a los obtenidos en este trabajo. Los valores de ST reportados, a pesar de ser de diferentes regiones del mundo, presentan similitudes en sus contenidos de humedad. De acuerdo con los resultados y al contenido de SV en la FORSU utilizada en este trabajo, puede usarse en el proceso de biodegradación.

Tabla 3.2. Características físico-químicas de la FORSU

Parámetro	Wang et al. [77]	Forster-Carneiro et al. [100]	Dong et al. [22]	En este estudio
Humedad %	76	81	81.6	79.3 ± 0.7
pH	6.1	7.9	5.3	6.9 ± 0.5
ST %	24	19	18.4	20.7 ± 0.7
SF %	1	8	7	0.1 ± 0.004
SV %	23	11	11.4	20.5 ± 0.7
SV/ST	96.2	58	61.9	99.4 ± 0.0
PO ₄ ²⁻ %	-	0.83	0.2	3.7 ± 0.5
Proteína %	11	26.89	14.35	12.3 ± 3.1
N _T %	1.8	4.31	2.3	2 ± 0.5

pH, potencial de hidrógeno; ST, sólidos totales; SV, sólidos volátiles; PO₄²⁻, fósforo total; N_T, nitrógeno total;

El pH es una medida de la acidez o alcalinidad e influye en el crecimiento de los microorganismos metanogénicos y en la disociación de compuestos (amoníaco, sulfuro y ácidos orgánicos) en el proceso DA, En este trabajo, el pH de la FORSU fue 6.9 ± 0.5 indicando que es óptimo para que se lleven a cabo las actividades metanogénicas. Este resultado fue similar a lo reportado por Carneiro et al. [101] en un estudio realizado con la finalidad de establecer un protocolo de arranque para la estabilización y biometanización de la FORSU en donde reportaron resultados de pH de 7.4; sin embargo, Garcia et al. [162] quienes evaluaron la factibilidad de producción de metano a partir de residuos obtenidos en un mercado de distribución de alimentos que se encuentra ubicado en la ciudad de México reportan valores de pH de 4.2. Esta variación puede deberse al estado de putrefacción o madurez en que se encuentran los residuos, o a la temporada estacional del año de colecta de los desechos [162-163] así como a la proporción de frutas y vegetales, los cuales al ser residuos de fácil degradación, pueden favorecer la acumulación de AGVs y disminución del pH [162-164-165].

Con respecto al pH medido en las diferentes preparaciones con FORSU se encontraron variaciones; inclusive, en una misma preparación con resultado de pH de 6.4. Este valor se debió al tiempo durante el cual se almacenó el sustrato, aunque se mantuvo a baja temperatura, la actividad enzimática continuó a menor velocidad; por lo tanto, causó disminución en el pH; además, la etapa en la que se encuentran los residuos de frutas y verduras en el momento de la recolección pueden presentar un estado avanzado de madurez o viceversa, lo que influye en el valor del pH, cuando se encuentra en fase de fermentación tiende a ser ácida; por lo tanto, es importante considerar estas variables para el control del proceso.

Los microorganismos necesitan nutrientes para su crecimiento y para la producción de biogás, las proporciones de carbono y nitrógeno presentes en la FORSU se expresan en términos de relación C/N; además, las concentraciones, están en función de los diferentes elementos que integran los residuos.

En este trabajo la relación C/N fue $24.5 \pm 5.5/1$ en promedio; este valor se encuentra dentro del intervalo óptimo reportado en la literatura (20-30/1); valores inferiores o superiores pueden ocasionar deficiencias en la producción de biogás o acumulación de nitrógeno en forma de amoníaco incrementando el pH a más de 8.5. Zhang et al. [166], determinaron las condiciones óptimas e identificaron los parámetros

claves que afectan la metanogénesis durante la digestión anaerobia de la FORSU; para ello evaluaron 3 relaciones de C/N (17.9, 24.5 y 55.8), observaron que la relación C/N de 17.9 presentó una mayor eficiencia en la digestión del sustrato con una producción de metano de 460 L kg/SV_{removido} lo que representó un incremento de 13.6% comparado con las otras dos relaciones de C/N. Li et al. [167] utilizaron como sustrato FORSU, estiércol de pollo y residuos de hierba, propusieron un proceso de digestión anaerobia de una etapa y de dos etapas con la finalidad evaluar el incremento del rendimiento de biogás y la estabilidad del proceso, en la caracterización de la FORSU tuvieron una relación de C/N de 17.11, describen que esta relación ocasionó que la generación de biogás sea más lenta y la concentración de CH₄ más baja con rendimiento promedio de 113.4 ml CH₄/g SV; además, en la digestión anaerobia de dos etapas el incremento del biogás fue de 83% mayor que en la digestión de una etapa. De manera análoga, Kuczman et al. [168], evaluaron en un prototipo de reactor contra uno de control el potencial de recuperación de energía utilizando como sustrato FORSU; en los resultados de caracterización reportaron una relación de C/N de 15.72, el cual se encontró por debajo del intervalo óptimo (20-30); sin embargo, en el prototipo de reactor obtuvieron una concentración de metano de 71% en el biogás producido, demostrando que esta relación no representó un problema en la DA de la FORSU; por lo contrario, el reactor control se vio afectado ya que solamente se alcanzó el 46.5% de metano en el biogás generado.

Como se observa en la Tabla 3.2, la cantidad de fósforo total en el sustrato fue de 34 g/kg, la cual es mayor a lo reportado por Campuzano y González-Martínez [107] quienes realizaron una revisión de la caracterización de FORSU hecha por diferentes autores en distintas ciudades del mundo, encontraron en la ciudad de Cantón China 0.4 g/kg (la menor concentración) como fósforo y en la ciudad de Sisimiut Groenlandia 13 g/kg (la mayor concentración); de la misma manera, Alibardi y Cossu [15] en la caracterización de FORSU realizada reportaron una cantidad de fósforo de 4.8 g/kg; por lo tanto, en la FORSU utilizada en este trabajo no fue necesario adicionarle este nutriente al proceso de DA. En cuanto a las características fisicoquímicas del inóculo, se encontró, una relación SV/ST de 0.55, alcalinidad de 1,652 mg/L, y pH neutro.

3.2 Reactores

3.2.1 Reactor RACE control

El reactor RACE es una tecnología de biopelícula adheridas en un medio de soporte fijo, el cual evita el arrastre de los microorganismos por el flujo del lixiviado

durante la recirculación o hacia otro reactor. Este sistema tiene el potencial de tratar sustratos con concentraciones de ST mayores a 20%; por lo tanto, la determinación de los parámetros operativos para el control del proceso es importante para una mayor eficiencia del proceso. Se han aplicado estrategias para incrementar la solubilidad de los sólidos en el medio líquido, entre los cuales se mencionan: utilización de diferentes materiales de soporte de la biopelícula, adición de reactivos químicos para el control del pH y variaciones en el caudal de recirculación del lixiviado.

En la figura 3.1a se muestran los resultados de DQO y la actividad enzimática de la carboximetil celulasa (CMC_{ase}). La solubilización de la materia orgánica inició desde el día 1, el valor inicial de la DQO fue de 6,375 mg/L, en el día 4 la concentración incrementó hasta 10,800 mg/L y en el día 7 alcanzó la concentración más alta en el lixiviado de 11,800 mg/L, posteriormente en el día 12 la concentración decreció a 6,250 mg/L y disminuyendo hasta 3,500 mg/L en el día 18, esta tendencia de disminución se mantuvo hasta el final de la prueba. La variación en la DQO, desde el momento en que se inició el proceso de digestión hasta llegar al valor más bajo ocurrió en un periodo de 18 días y fue inferior al tiempo reportado por Dogan et al. [105], quienes reportaron más de 40 días para la reducción de DQO usando FORSU. Estos valores indicaron que la tasa máxima de solubilización de DQO se llevó a cabo en los primeros 10 días, tal como lo mencionan Jiang et al. [169], quienes trabajaron con residuos de alimento en donde evaluaron la producción de AGVs y obtuvieron una concentración máxima de DQO a las 80 horas después de haber iniciado el proceso.

Con respecto a la actividad enzimática de la CMC_{ase} , del día 1 al 5 se registró una concentración de 2 $\mu\text{g/ml min}$, el valor máximo de la CMC_{ase} fue de 3.18 $\mu\text{g/ml min}$, el cual se alcanzó en el día 12, a partir del día 13 decreció a 2 $\mu\text{g/ml min}$, estos valores fueron similares a los reportados por Zhu et al. [23] usando desechos vegetales. La actividad enzimática de la CMC_{ase} tiene una función importante en la degradación de residuos complejos como es el caso de la celulosa a carbohidratos; por lo tanto, influye en la eficiencia de la fase hidrolítica.

En la figura 3.1b se muestran los valores de AGVs y pH dentro del reactor durante el experimento, al inicio del ensayo se tuvo un valor de AGVs de 91 mg/L, incrementándose en los primeros días hasta llegar a una concentración máxima de 2,850 mg/L en el día 6 a un pH de 5.9; lo cual, concuerda con Khanal [66] y Jiang et al. [169],

quienes mencionan que la condición ideal para que se produzca la hidrólisis está en un rango de 5 a 6 unidades de pH. A partir del día 7 hasta el día 15, la concentración decreció a 600 mg/L y en el día 20 se registró concentraciones de hasta 300 mg/L con un pH de 7.7, lo que indicó que el reactor se encontraba en la fase metanogénica. Estos resultados muestran que la mayor producción de AGVs ocurrió en un rango de pH de 5 a 6 en un lapso de 5 a 10 días; de manera similar, en un trabajo realizado por Angelidaki et al. [28] en FORSU, evaluaron el efecto de la relación sustrato/inóculo, reportaron que la concentración más alta de AGVs fue 3,500 mg/L y se registró en el día 28, lo que representó un tiempo mayor al requerido en este trabajo para alcanzar la concentración más alta de AGVs.

Para que un proceso de digestión anaerobia sea eficiente, es importante monitorear y controlar el pH en todas las fases del proceso [170], lo que permitirá que los microorganismos realicen sus actividades metabólicas de forma eficaz; de lo contrario, puede ocasionar problemas en la actividad biológica sobre todo en los metanogénicos [171].

El pH tiene una relación directa con los AGVs, durante los primeros 5 días de prueba se registró una disminución del pH en el reactor hidrolítico, atribuido al incremento de la producción de AGVs; ya que, en esta etapa se ha reportado que se genera la conversión de las macromoléculas del sustrato a ácidos orgánicos como son el acético, butírico, pirúvico, y cáprico entre otros [46]. Posteriormente, en el día 10 el pH incrementó a 6.7 hasta llegar a un valor de 7.7 en el día 15, esto es por la conversión de los AGVs en acetato, el cual es consumido por los microorganismos metanogénicos favoreciendo de esta forma el incremento del pH [150]. En esta prueba no se tuvieron las condiciones idóneas para que se lleve a cabo la hidrólisis, debido a que no se adicionó reactivo alguno para controlar el pH y mantenerlo en el rango óptimo (pH 5-6) dentro del RACE.

Con respecto a los resultados del pH obtenido en la prueba, no se presentaron desequilibrios por valores inferiores a 5.5, inclusive osciló en un rango de pH de 5.5 a 6.5 en los primeros 10 días; por lo tanto, se determinó que fue el tiempo en que se llevó a cabo la hidrólisis. Aunque se registró una concentración máxima de 2,850 mg/L en AGVs en el lixiviado del reactor hidrolítico, el cual fue inferior a la de Angelidaki et al. [28] quienes obtuvieron una concentración de 3.5 g/L en 28 días, se considera que la prueba

fue más eficiente debido a que la concentración máxima se alcanzó a los 6 días de haber iniciado la prueba.

Como se observa en la figura 3.1c, el ORP registró un valor de -60 mV al inicio del experimento, esto decreció de forma gradual en el día 5 en donde registró -300 mV; por consiguiente, a partir del día 6 hasta el día 25 el ORP se mantuvo en un rango de -320 a -370 mV. El comportamiento de los resultados concuerdan con lo reportado por Xu et al. [47], en donde mencionan que el ORP disminuye de forma gradual hasta -120 mV al comienzo de la prueba; de manera similar, Zhu et al. [23], quienes realizaron pruebas en donde midieron el comportamiento del ORP, describieron variaciones en los primeros 5 días, mencionaron que el valor del ORP es función del pH y están asociados de forma negativa. Como se muestra en la figura 3.1c, las mayores variaciones del ORP ocurrieron en los primeros 5 días de haber iniciado la prueba y se mantuvo en un rango de -320 a -370 mV a partir del día 6 al día 25, lo que indicó que el reactor hidrolítico se encontraba en fase reductora. Guang et al. [93], describen el efecto de ORP en las diferentes vías metabólicas, mencionan los diferentes subproductos que se forman y el tipo de microorganismo existente en el medio dependiendo de los valores de ORP; por lo tanto, la elaboración de un metabolito específico se puede determinar controlando los valores de ORP en el medio donde se encuentran los microorganismos.

Las mediciones del ORP en las pruebas de digestión anaerobia, aunque se han llevado a cabo desde hace 2 décadas, no existe una metodología estandarizada para su aplicación y medición de acuerdo con la literatura revisada; por lo tanto, hacer una comparación no es fácil, por ejemplo, Zhu et al. [23] quienes realizaron una recirculación cada 5 días del lixiviado del reactor metanogénico al reactor hidrolítico, el valor de ORP varió periódicamente, por lo que no se puede predecir cuál fue su tendencia y su efecto. En nuestro estudio, se observó que el ORP no es función del pH; razón por la cual, no se encontró correlación entre ambos parámetros, pero se halló que dependiendo del tipo de metabolitos o ácido reductor que se forman influyen en el resultado del ORP, por ejemplo, si las condiciones son favorables para la producción de hidrógeno, el valor del ORP se incrementará hasta -420 mV durante la fase hidrolítica.

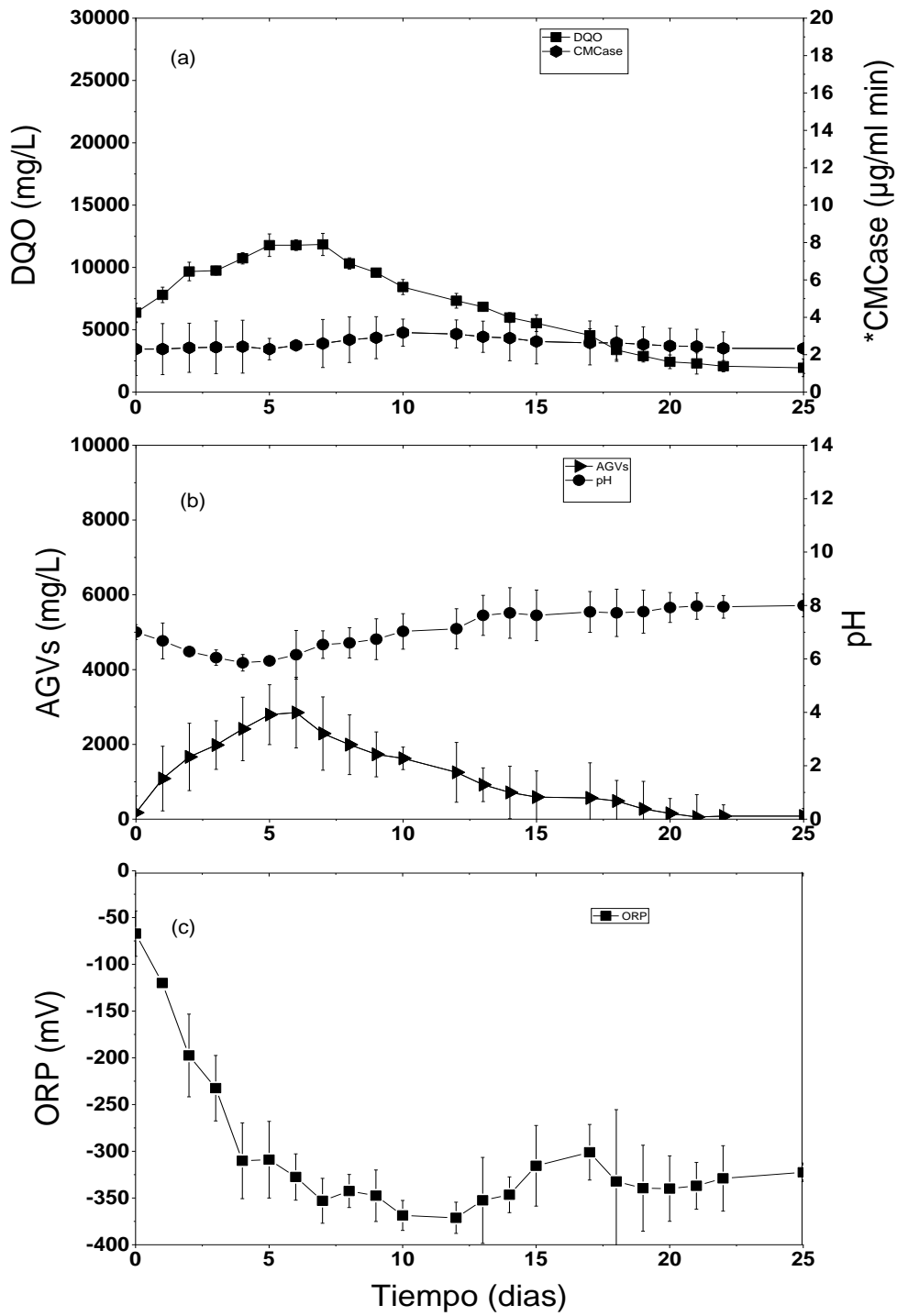


Figura 3.1. Pruebas en el RACE control (a) DQO y actividad de la CMC_{ase} (b) AGVs y pH, (c) ORP

3.2.2 Reactor RACE_{MICRO-AIREADO}.

La hidrólisis de las macromoléculas de la FORSU es llevada a cabo por enzimas extracelulares, el cual es incrementada cuando se realiza bajo condiciones de microaireación debido a la activación de microorganismos facultativos, a su vez segregan e incrementan las exoenzimas y por consiguiente aumentan la actividad enzimática extracelular [23]. Como se muestra en la figura 3.2a, la DQO al inicio tuvo valores de 6,000 mg/L incrementándose en los primeros 5 días hasta llegar a un valor máximo de 25,600 mg/L; luego fue decreciendo a valores menores de 21,850 mg/L en el día 10, del día 11 al día 22 la DQO disminuyó a 8,550 mg/L hasta llegar a 5,350 mg/L en el día 25; por tal razón, el efecto del oxígeno suministrado tuvo un incremento de hasta 200% comparado con el control; por consiguiente, el incremento de la DQO fue ocasionado por la solubilización de las macromoléculas [172], por ende, se favoreció la dilución de las partículas sólidas del sustrato y originó un incremento en la tasa de hidrólisis de las macromoléculas [47-173].

Los resultados obtenidos indican que la hidrólisis ocurrió en los primeros 5 días y fue favorecida por la aplicación de la microaireación en el interior del reactor, así como lo señalaron Xu et al. [47] quienes encontraron valores de 61.3 g/L de DQO en el segundo y tercer día utilizando una tasa de microaireación de 258 L-aire/ST/día, el cual fue similar a la utilizada en este ensayo (254 L-aire/ST/día); sin embargo, estos autores utilizaron 1 kg de sustrato con un contenido de ST del 38%, SV de 97.1% y 0.2 kg de astillas de madera, lo que representa una mayor cantidad de materia orgánica y desechos lignocelulósicos comparado con nuestro estudio, por lo tanto, se ve reflejado en una mayor concentración de DQO.

Se ha reportado que la actividad CMC_{ase} tiene una función importante en la degradación de residuos que no son fáciles de degradar como la celulosa a carbohidratos y éstos a AGVs, por lo tanto influye en la eficiencia de la fase hidrolítica, ya que no puede ser hidrolizada por una enzima simple [174]. Como se muestra en la figura 3.2a, la CMC_{ase} , en el día 1 presentó un incremento en su actividad en forma constante, alcanzando un valor de 4 $\mu\text{g/ml min}$, esta se prolongó hasta el día 5; en el día 10 se registró la mayor actividad con un valor máximo de 17.57 $\mu\text{g/ml min}$, en el día 11 se observó un decremento de la concentración hasta llegar a 13 $\mu\text{g/ml min}$ y en el día 20 dicha actividad disminuyó a 2.75 $\mu\text{g/ml min}$.

La aplicación de la microaireación favoreció la actividad enzimática, se prolongó hasta el día 15, incrementando aún más la solubilización de las partículas sólidas más complejas contenidas en el sustrato; por lo tanto, la hidrólisis del sustrato fue favorecida, comportamiento similar fue descrito por Zhu et al. [23], quienes observaron que la actividad enzimática de la CMC_{ase} se incrementa con la microaireación en los primeros 5 días y se prolonga hasta el día 10, lo que indica que los microorganismo facultativos encontraron las condiciones favorables para degradar la materia lignocelulósica. Resultados similares reportaron Charles et al. [121], describieron aumento de la actividad enzimática de la celulasa en los primeros 5 días al utilizar microaireación como pretratamiento en la FORSU; por otro lado, Zhang et al. [174] reportan valores inferiores de CMC_{ase} sin aplicar microaireación utilizando residuos energéticos. Estos valores indican que la microaireación aplicada a la hidrólisis en el $RACE_{MICRO-AIREADO}$ tuvo un efecto positivo en la actividad enzimática de la CMC_{ase} ; por consiguiente, una mayor degradación de la materia lignocelulósica dando como consecuencia un aumento en la producción de AGVs.

Para realizar el análisis del comportamiento de la actividad de la CMC_{ase} en el $RACE_{MICRO-AIREADO}$ es necesario conocer la estructura de los materiales lignocelulósicos y las condiciones que se requieren para su biodegradación. La celulosa es un polímero de D-glucosa unida por enlaces glucosídicos β -1,4 que se estructuran en largas cadenas lineales (micro-fibrillas) unidas por puentes de hidrógeno y fuerzas de Van der Waals, formando una estructura cristalina resistente a la hidrólisis con regiones amorfas que son susceptibles a la degradación enzimática. Debido a la estructura heterogénea de la celulosa, la hidrólisis enzimática se lleva a cabo por un consorcio de enzimas microbianas que actúan de forma sinérgica como son la exo-gluconasa, endo-gluconasa y la β -glucosidasa; la solubilidad es lenta, se atribuye principalmente a fuertes enlaces de hidrógeno entre las cadenas de los azúcares y fuerzas de Van der Waals dando como resultado una baja accesibilidad a la celulosa y una lenta actividad hidrolítica [175]. La solubilidad disminuye con el grado de polimerización, en el caso de los sustratos lignocelulósicos varía de 100 hasta más 15,000 por lo tanto, la tasa de despolimerización de la celulosa es pausada.

Para que la actividad enzimática se lleve a cabo, se requiere de 3 procesos fundamentales: 1) Cambios químicos y físicos en el residuo (la celulosa aún se encuentra

en fase sólida), en el cual ocurren transformaciones de despolimerización y reducción de las cadenas; la endoglucanasa aumenta la concentración de los extremos de la cadena y así disminuye significativamente el grado de polimerización al atacar las porciones interiores de las moléculas de celulosa liberando oligosacáridos; 2) Hidrólisis primaria, está implica la liberación de intermedios solubles de la superficie de las moléculas de celulosa reaccionantes; por lo tanto, se considera que la actividad exo-gluconasa es responsable de la solubilización, pero juega un papel menor en el cambio de las propiedades químicas liberando disacáridos de celobiosa; 3) Hidrólisis secundaria, esta implica la hidrólisis de intermedios solubles de bajo peso molecular, y en última instancia a glucosa por medio de la acción de la β - glucosidasa. Para que se realice la reacción enzimática y pueda romper los anillos aromáticos se requiere de un entorno microaeróbico [6]; por lo tanto, no debe de realizarse en un medio estrictamente anaeróbico.

Lynd et al. [176], describieron el mecanismo de acción de la enzima celulasa y mencionan que para romper los enlaces β -1,4 glucósidos de la celulosa, se requiere de una hidrólisis ácida utilizando un donante de protones y un nucleófilo o una base; así mismo, Dollhofer et al. [177] mencionan que los microorganismos anaeróbicos carecen de la capacidad enzimática para catabolizar lignina; por tal motivo, la presencia de oxígeno favorece la reacción para romper anillos aromáticos, lo cual no podría suceder en un entorno completamente anaeróbico, tal como se demostró en una estudio realizado por Zhang et al. [174] sin aplicar microaireación describieron una deficiente actividad de la CMC_{ase} .

Por su parte, Astolfi et al. [178] evaluaron la producción de enzimas celulósicas a diferentes temperaturas (40, 50, 60 y 70 °C), describieron que las enzimas de celulasa tienen actividad en un intervalo de pH de 3 a 5, resultados similares tuvieron Parawira et al. [104] en un estudio donde evaluaron diferentes tipo de enzimas (amilasa, CMC_{ase} , xylanasa, pectinasa y proteasa), y encontraron que la actividad óptima de la CMC_{ase} fue a pH 5.

Comparando los resultados obtenidos en el $RACE_{MICRO-AIREADO}$ se observa una mayor actividad enzimática confrontada con el control. En el $RACE_{MICRO-AIREADO}$ se dieron las condiciones para que la celulosa tenga una mayor degradación (medio ácido y la presencia de oxígeno), la cual fue favorecida por la adición de oxígeno en el proceso;

como se puede observar en la figura 3.2a, hay una mayor actividad en los días 9-11, haciendo referencia a lo descrito por Zhang y Lynd [175] en donde mencionan, que la hidrólisis de la celulosa se realiza de forma pausada y en un mayor tiempo; por lo tanto, se considera que el comportamiento para el caso de la CMC_{ase} en el $RACE_{MICRO-AIREADO}$ se debió al mecanismo de cómo se realizan las reacciones, inicialmente la endo-gluconasa al entrar en contacto con los materiales lignocelulósicos tiene que romper las cadenas de celulosa liberando oligosacáridos, posteriormente la enzima exo-gluconasa ataca los extremos de las cadenas liberando celobiosa y finalmente la enzima β -glucosidasa reacciona con la celobiosa para formar glucosa; por tal razón, estas transformaciones se realizan de forma pausada debido a la estructura de los residuos lignocelulósicos, incrementando el tiempo de la fase de hidrólisis y haciéndolo más eficiente.

En la figura 3.2b, se muestra la formación de AGVs con diferentes valores de pH, donde la concentración está relacionado con las características del sustrato; el valor inicial de AGVs en el día 0 fue de 516 mg/L, en los días 2 y 3 se registró un incremento en forma constante y en el día 5 se tuvo un valor máximo de 8,800 mg/L con un pH de 5.42; este incremento se debió a la transformación de las macromoléculas a ácidos grasos lo que ocasionó disminución del pH [162-179]. Este valor es más alto que lo reportado por Agdag y Sponza [180], quienes trabajaron con FORSU como sustrato y obtuvieron una producción de AGVs de 6,000 mg/L; así mismo, Sarkar y Mohan [46] obtuvieron valores menores aplicando la microaireación en la FORSU, ya que reportaron un valor máximo de AGVs de 5,087 mg/L; por lo tanto, en este trabajo la aplicación de la microaireación favoreció la hidrólisis y la producción de ácidos orgánicos en los primeros 5 días; por consiguiente, la microaireación mejoró y redujo el tiempo del proceso de digestión anaerobia e hizo más eficiente la degradación de la materia orgánica [47-172].

Como se observa en la figura 3.2b, el pH presentó una relación inversa con los AGVs, al inicio el valor del pH fue de 6.11, en los días 2 y 3 se tuvieron valores de 5.61 y 5.48; este decremento en el pH fue ocasionado por la conversión de las macromoléculas a AGVs, al ser transformado a acetato y ser consumidos por los metanogénicos el pH incrementa. Durante la biodegradación de los residuos el pH presentó variaciones, en el día 10 el pH fue de 5.88, lo que demostraba que el reactor $RACE_{MICRO-AIREADO}$ aún se encontraba en etapa de hidrólisis, en el día 12 se presentó un ligero incremento alcanzando un valor de pH de 6, manteniendo esta tendencia hasta llegar a 6.5 en el día 18, y en el día 25, el pH se incrementó hasta 7.06. Comportamiento similar tuvieron Xu et

al. [164] quienes trabajaron con desechos de alimento, encontraron disminución del pH a 4 en el día 5 y 6 ocasionado por la acumulación de AGVs, después registraron un incremento hasta pH 6 en el día 8; así mismo, Cysneiros et al. [156] estudiaron el efecto del flujo hidráulico y control del pH sobre la producción de AGVs, describen caídas de pH ≤ 4 , por lo que fue necesario la adición de una solución buffer. En este trabajo se tuvieron las condiciones dentro del reactor para que se lleve a cabo la hidrólisis y no se adicionó ningún tipo de reactivo para regular las variaciones del pH [150].

Los valores del ORP se muestran en la figura 3.2c; el valor al inicio del proceso fue -25 mV, en el día 1 decreció hasta -185 mV; a su vez, del día 2 hasta el día 9 el ORP osciló en una rango de -167 a -215 mV y decreció de forma gradual a -352 mV hasta el día 20; este decremento del ORP al inicio se atribuye a producción de metabolitos reductores entre los que se mencionan el hidrógeno, lactato, AGVs, entre otros. Nguyen y Khanal [6], y Liu et al. [181] mencionan la aparición de diversos subproductos reductores durante la fase de hidrólisis como el hidrógeno que decrece el ORP a valores de hasta -420 mV; además, la adición de aire incrementa los valores de ORP, debido al consumo de metabolitos reductores ocasionado por la adición de un agente oxidante como el oxígeno, tal como lo menciona Xu et al. [47].

Los cambios en el potencial redox también ocasionan cambios en la nutrición y fisiología de los microorganismos, a su vez, influyen en el estado redox de nutrientes esenciales como el fósforo y el nitrógeno facilitando su absorción de parte de los microorganismos; en este ensayo, la adición de aire ocasionó un incremento del ORP debido al consumo de los metabolitos reductores por el oxígeno; además, la tasa de microaireación utilizada (254 L-aire/kgST/día) mantuvo un intervalo de -150 a -215 mV, el cual, es considerado como el adecuado para los microorganismos hidrolíticos [150], en este intervalo de ORP, se considera que los microorganismos como las *firmicutes*, *proteobacterias* y los *bacteriodes*, encontraron condiciones en el medio para su desarrollo; por lo tanto, la producción de AGVs se mejoró, mismo que se comprobó con el control al obtener un mayor rendimiento en los primeros 5 días sin la adición de algún reactivo químico para regular el pH o complemento que inhiba la actividad metanogénica; además, el intervalo de -150 a -215 mV es considerada dentro de una zona microaeróbica [6] donde se promueve la degradación del sustrato para ser transformados en subproductos como ácidos grasos volátiles, entre otros.

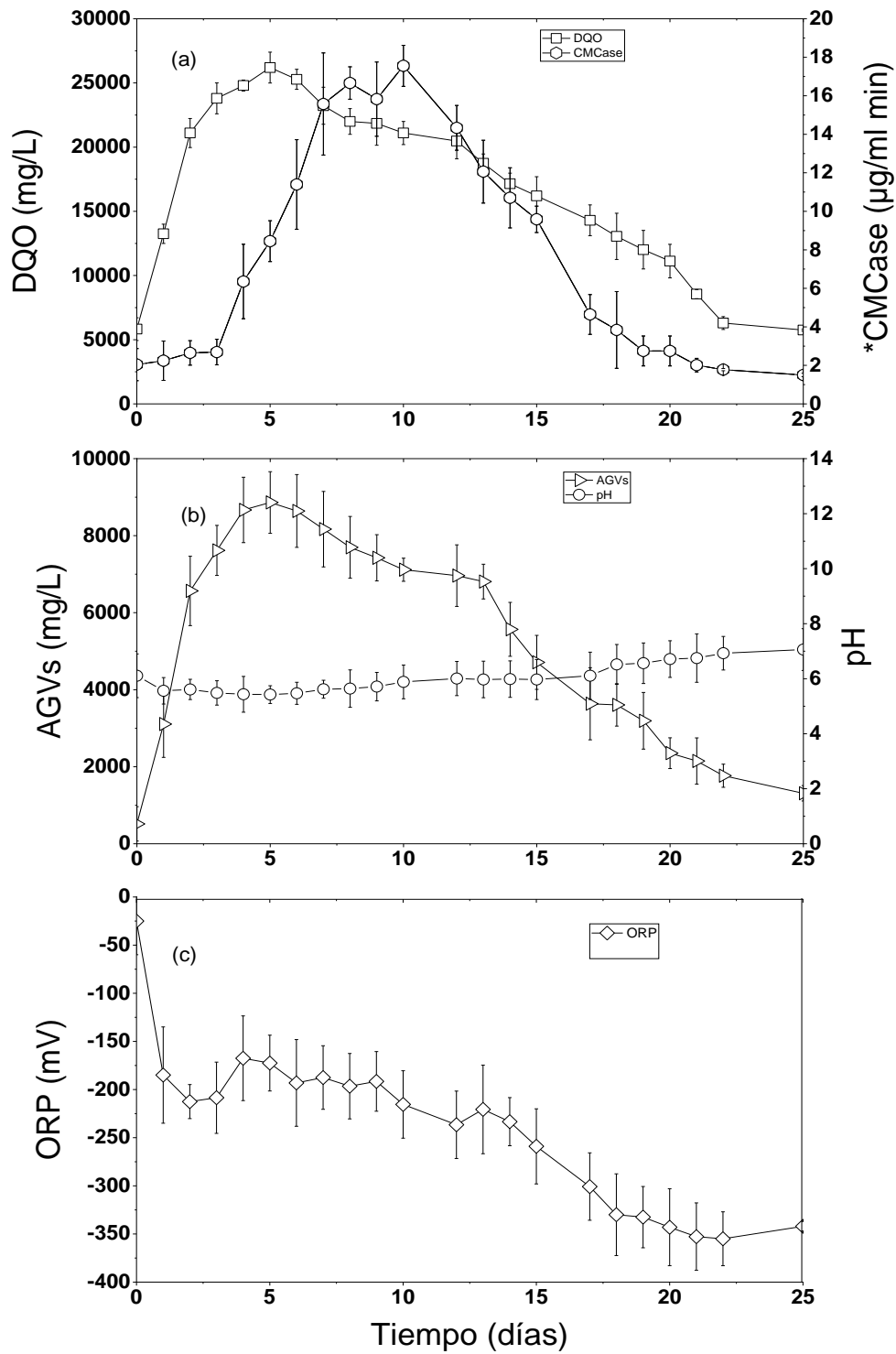


Figura 3.2. Pruebas en el RACE_{MICRO-AIREADO} (a) DQO y actividad de la CMC_{ase} (b) AGVs y pH, (c) ORP

3.2.3 Reactor UASB

3.2.3.1 Reactor UASB sin DIET

Diferentes autores han mencionado la importancia de la estabilidad del reactor UASB durante la aclimatación [149-151-182]; por lo tanto, el cuidado durante el periodo de arranque y la determinación de los parámetros físicos, químicos y biológicos que causan desequilibrios es importante, ya que afectan el crecimiento de los microorganismos [149]; por consiguiente, es necesario establecer criterios para determinar que el periodo de arranque y la estabilidad durante la aclimatación se han completado [183].

La aclimatación del reactor UASB se ilustra en la figura 3.3, la cual, se realizó adicionándole una mezcla de 50% de inóculo y 50% de agua residual sintética en volumen (relación 1:1). Se efectuaron mediciones de AGVs, alcalinidad total (datos no mostrados) y pH con el fin de verificar el comportamiento de los índices alfa y buffer [153]. Torres-Llozada et al. [184] mencionan que es importante que la alcalinidad bicarbonatada no sea superada por la alcalinidad debida a los ácidos grasos volátiles; porque si eso ocurre, el sistema sufre caídas de pH, y como consecuencia una disminución en la producción de metano; de igual forma, Jun et al. [185] quienes trabajaron con FORSU, mencionan que la alcalinidad es necesaria para mantener el pH en un intervalo de 6.8 - 7.2, y la actividad biológica de las bacterias metanogénicas; por consiguiente, la carencia de la alcalinidad bicarbonatada permite la acumulación de AGVs ocasionando disminución del pH [184-185].

Durante la fase de aclimatación y con el propósito de establecer la carga de trabajo en el reactor para nuestro trabajo, se incrementó la carga orgánica de forma gradual (0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6 kg DQO/m³ d) hasta el colapso. Ahring et al. [152] mencionaron que para evitar desequilibrios en el proceso cuando se utilizan sustratos con concentraciones moderadas de ST (12%) recomiendan trabajar tasas de carga orgánica menores de 5 kg DQO/m³ d.

En nuestro estudio, la concentración de ST en la FORSU fue de $20.7 \pm 0.7\%$; por lo tanto, fue necesario determinar la carga operativa del UASB considerando las características del sustrato. La remoción de la DQO en el reactor UASB se ilustra en la figura 3.3a, en un principio se estableció la carga de 0.5 kg DQO/m³ d con una remoción

hasta del 60% de la carga como $DQO_{removido}$; posteriormente, se incrementó a $1.5 \text{ kg DQO/m}^3 \text{ d}$ donde permaneció 20 días con una remoción del 70 a 80%, se continuó incrementando la carga hasta alcanzar $6 \text{ kg DQO/m}^3 \text{ d}$ donde permaneció por 22 días con remociones variables y desplome final en la remoción de la carga orgánica a partir del día 125.

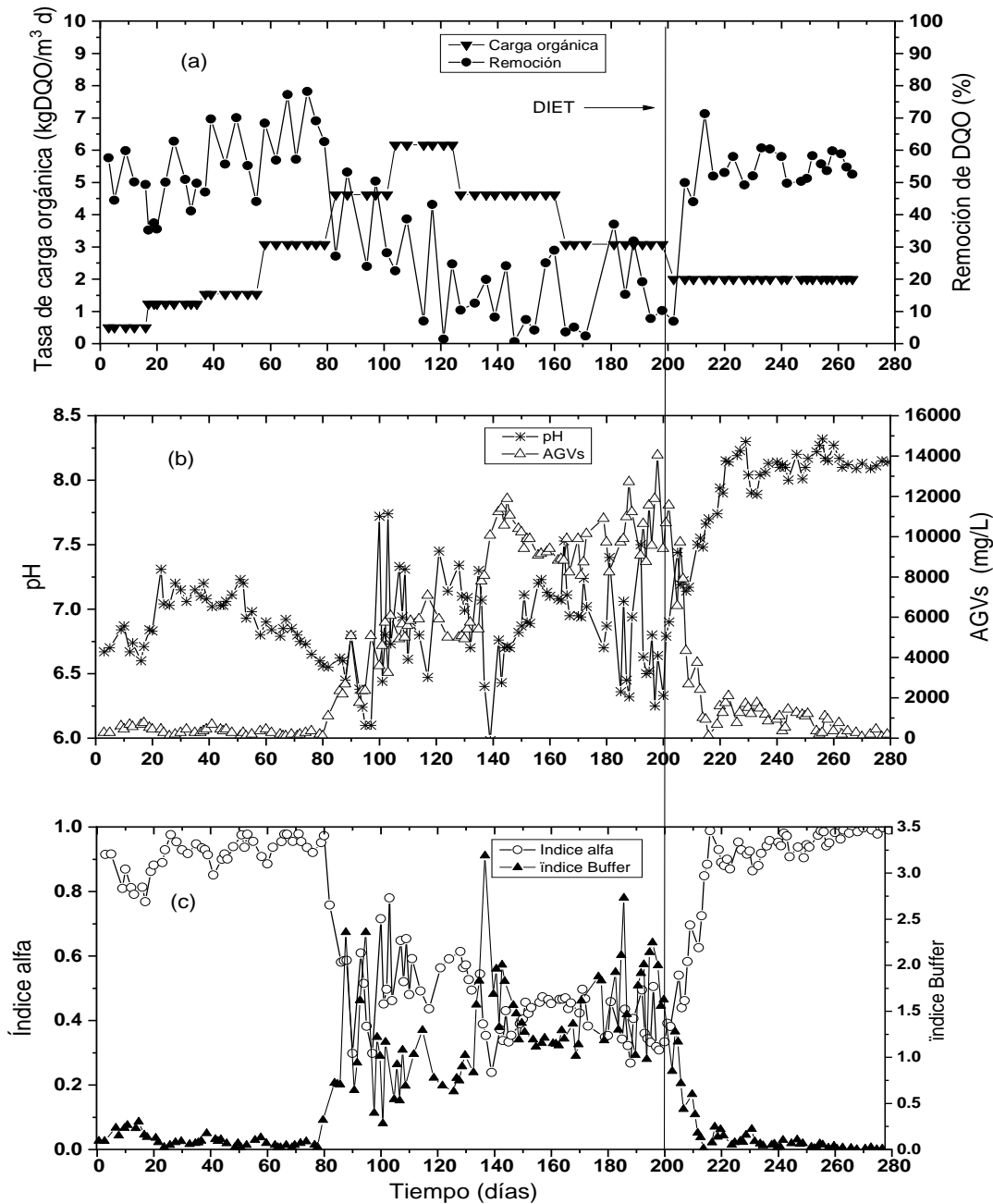


Figura 3.3. Representación esquemática del comportamiento del UASB durante la aclimatación, (a) Carga orgánica como DQO y porcentaje de remoción (b) pH y AGVs, (c) Índice alfa y buffer.

Del día 1 hasta el día 80, la concentración de AGVs se mantuvo en 200 mg/L (figura 3.3b), la remoción de DQO fue mayor al 50% y con una concentración de 70 % de metano en el biogás. En el día 104, la carga orgánica fue incrementada a 6 kg DQO/m³ d y mantenida hasta el día 126. Durante los 22 días en que se mantuvo la carga orgánica a 6 kg DQO/m³ d, el reactor presentó inestabilidad, disminución del pH, acumulación de AGVs hasta 13,000 mg/L; por tanto, inhibición de los microorganismos metanogénicos.

Durante los primeros 80 días de iniciado el ensayo (ver figura 3.3c) el índice alfa registró variaciones en un rango de 0.8 a 0.97 y el índice buffer de 0.05 a 0.2. Durante el tiempo en que el UASB presentó desequilibrio, el índice alfa disminuyó a 0.3, el índice buffer aumentó a valores mayores de 1 y el porcentaje de metano en el biogás registró una disminución de hasta un 30%. Con la finalidad de estabilizar el proceso, en el día 127 se redujo la carga orgánica a 4.5 kg DQO/m³ d y se mantuvo hasta el día 160, posteriormente se disminuyó a 3 kg DQO/m³ d sin que el reactor alcanzará la estabilidad. Gao et al. [186] utilizaron FORSU como sustrato, evaluaron el efecto del aumento de la carga orgánica; describieron que arriba de 2.5 g VS/L d (equivalente como DQO a 3 g/Ld) ocasiona acumulación de AGVs y genera desequilibrio entre la acidogénesis y la metanogénesis en la comunidad microbiana.

Por cuestiones operativas como son: tamaño de los reactores, cantidad de AGVs que se generan en el lixiviado del RACE_{MICRO-AIREADO} y la concentración de ST (20%) que se tiene en la FORSU, se determinó utilizar como carga de trabajo en este estudio 2 kg DQO/m³d.

3.2.3.2 Reactor UASB_{DIET}

Con la finalidad de garantizar la estabilidad del proceso y hacer más eficiente la fase metanogénica, en el interior del reactor se colocaron 2 bolsas de malla de acero inoxidable, una a 45 cm y la otra 80 cm de la parte inferior, cada una con 180 gr de carbón activado granular [137]. Dang et al. [9], quienes estudiaron la DIET utilizando diferentes tipos de carbono en FORSU para mejorar la fase metanogénica, describieron el enriquecimiento de microorganismos como *Sporanaerobacter sp* y *Metanosarcina sp* presentes en la superficie del carbono.

Estos resultados y la capacidad conocida de las especies de *Sporanaerobacter* sp para transferir electrones sugieren que pueden participar en la transferencia electrónica directa entre especies con las *Metanosarcinas* cuando se utiliza un conductor inorgánico como mediador de transferencia de electrones; por lo tanto, el uso de CAG dentro del reactor UASB favoreció la recuperación y la estabilidad en un tiempo más corto (11 días) cuando existe acumulación de AGVs; además, el uso de DIET entre especies aumentó la cantidad de metano en el biogás y disminuyó la concentración de AGVs dentro del UASB. Lo anterior concuerda por lo reportado por Dang et al. [9], quienes estudiaron el efecto de los diferentes tipos de carbón en desechos de alimento para mejorar la fase metanogénica; además, describieron que el uso del CAG dentro del reactor UASB favorece la recuperación de la estabilidad en un menor tiempo por acumulación de AGVs; por lo tanto, incrementa la cantidad de metano en el biogás y disminución de los AGVs.

Durante el tiempo en que el reactor presentó desequilibrio ácido-base, el cual fue debido al aumento en la tasa de carga orgánica, se observó lavado de la biomasa en forma de gránulos voluminosos, esta condición afectó negativamente la retención de lodo dentro del reactor. Para hacer más eficiente la actividad metanogénica se usó DIET en el UASB; además, se evitó la acumulación de AGVs ocasionado por altas cargas orgánicas y desequilibrios por variaciones en el pH; por lo tanto, se consideró que se favoreció la simbiosis microbiana entre las bacterias hidrolíticas y las arqueas metanogénicas, acelerando la conversión de compuestos orgánicos reducidos de cadena corta a metano. Por consiguiente, la adición de un material conductor no biológico como CAG favoreció la transferencia de electrones. El CAG puede servir como soporte de los microorganismos; dado que, tiene la capacidad de absorber compuestos tóxicos y aumentar el pH; por lo tanto, benefició las condiciones del medio y aumentó la actividad metanogénica.

Después de realizar las modificaciones, se determinó la alcalinidad total y se observó que los índices alfa y buffer retornaron a valores dentro del intervalo de operación (alfa 0.7-0.9 y buffer 0.2-0.4) [153-184]. Posteriormente de la adición de carbón activado granular en el reactor, se presentó la mayor estabilidad en el proceso con una remoción de DQO > 50%, AGVs \leq 1500 mg/L y contenido de metano en el biogás > 50 % con una variación menor al 10% según España-Gamboa et al. [146]; por ende, la velocidad de flujo superficial fue de 0.5 m/h [151], el índice alfa de 0.9 e índice buffer de 0.2, la remoción de DQO más del 50% y la concentración de los AGVs menor a 2,000 mg/L; de manera que,

se consideró que los microorganismos se adaptaron a las características del medio, logrando de este modo el arranque y estabilización del UASB_{DIET}[149]

3.3 Acoplamiento de los reactores RACE_{MICRO-AIREADO}- UASB_{DIET}

Los parámetros establecidos para el acoplamiento de los reactores fue la concentración máxima de DQO, así como la cantidad de AGVs en el RACE_{MICRO-AIREADO}, la prueba de acoplamiento finalizó a los 14 días cuando en ambos reactores se obtuvieron resultados similares en los parámetros de DQO, AGVs, alcalinidad y pH, tal como lo mencionó Cirne et al. [187].

La figura 3.4 ilustra los perfiles de los parámetros determinados con el fin de evaluar el comportamiento del sistema. En la figura 3.4a, se ilustra el comportamiento de la DQO en el RACE_{MICRO-AIREADO}. En los primeros 5 días se observó un incremento de hasta 24,750 mg/L, por lo que se determinó acoplar los reactores en ese momento; hay evidencia de este comportamiento en pruebas previas de solubilización de la materia orgánica en donde la máxima concentración de DQO en el lixiviado se registró a los 5 días. Para determinar la cantidad de lixiviado del RACE_{MICRO-AIREADO} a alimentar al UASB_{DIET} por día, se consideró el volumen útil del reactor metanogénico y la carga orgánica por cada día como masa total a agregar (18 g); esta masa se dividió entre la concentración de DQO del lixiviado de RACE_{MICRO-AIREADO} expresada en g/L, lo que dio como resultado la cantidad a dosificar en litros por día; con el fin de mantener la tasa de carga orgánica constante (2 kg DQO/m³ d) en el UASB_{DIET}, y debido a variaciones de DQO en el lixiviado hidrolítico fue necesario realizar el cálculo en cada alimentación.

El registro de la concentración máxima de DQO en el día 5 se ha reportado en otros trabajos, tal como lo menciona Xu et al. [47] con FORSU, en donde describen que la mayor solubilización de la materia orgánica ocurrió en los primeros 5 días en un reactor microaireado. De la misma manera, Stabnikova et al. [188], usando FORSU; también obtuvieron concentraciones cercanas a los 18,000 mg/L de DQO en un tiempo de 6 días; sin embargo, estos autores mencionan el uso de mayores cantidades de sustrato. Además, para evitar el estrés ácido y aumentar la solubilidad de la materia orgánica; estos, describen la adición de químicos básicos al reactor acidogénico y el reemplazo de una proporción de lixiviados hidrolíticos por efluentes metanogénicos.

En esta investigación, no se utilizaron medios para regular el pH, los experimentos se llevaron a cabo de acuerdo con las condiciones del entorno y en 5 días se registraron las concentraciones más altas de DQO en el RACE_{MICRO-AIREADO}; por lo tanto, se considera que la solubilización de la FORSU fue más eficiente, posteriormente la DQO tuvo una disminución de hasta 5,500 mg/L en el día 13 donde permaneció sin variación hasta el final del experimento, esta disminución fue debido al consumo de la DQO en el UASB_{DIET}.

En la figura 3.4b, se ilustra el comportamiento de la alcalinidad bicarbonatada antes y después del acoplamiento, en el RACE_{MICRO-AIREADO} la concentración inicial fue de 716 mgCaCO₃/L; posteriormente, presentó un decremento hasta alcanzar un valor cercano a cero ocasionado por la formación de los AGVs en los primeros 5 días; por lo tanto, la alcalinidad bicarbonatada fue consumida por la acidez y como consecuencia existió una disminución del pH antes del acoplamiento. Este comportamiento fue similar a lo reportado por Martín-González et al. [153] en FORSU, quienes realizaron un análisis del desbalance dentro de los reactores por acumulación de AGVs, mencionan que la alcalinidad bicarbonatada es consumida por la acidez generada dentro del sistema y por lo tanto caída del pH; por su parte, Li et al. [189] quienes realizaron un análisis con diferentes parámetros de control para monitorear fallas en un proceso de DA; por tal razón, mencionan la importancia del control de la alcalinidad total, la relación de alcalinidad bicarbonatada y la alcalinidad total (AP/AT), que son parámetros de alerta temprana sobre el equilibrio de la capacidad buffer del sistema, y pueden reflejar el metabolismo del sistema [72-153].

Después de acoplar los reactores, el RACE_{MICRO-AIREADO} registró un incremento en la concentración de la alcalinidad bicarbonatada hasta alcanzar una concentración de 15,475 mg CaCO₃/L en el día 13 y llegando a 16,600 mg CaCO₃/L en el día 14 figura 3.4b, el cual fue similar a la del reactor UASB_{DIET} en ese momento. Este incremento en la alcalinidad dentro del RACE_{MICRO-AIREADO} se debió al intercambio del lixiviado entre ambos reactores tal como lo mencionan España-Gamboa et al. [146], quienes describen que la recirculación de efluente de un reactor metanogénico a un reactor hidrolítico en un sistema de dos fases de digestión anaerobia incrementa la alcalinidad del reactor acidogénico [51].

En la figura 3.4c se muestra la variación del pH con respecto al tiempo en los reactores RACE_{MICRO-AIREADO}-UASB_{DIET}. Al inicio del experimento, en el RACE_{MICRO-AIREADO} el pH decreció en los primeros 4 días hasta 5.03, este valor se encuentra dentro del intervalo de 5 a 6 en la cual los microorganismos hidrolíticos pueden llevar sus actividades; resultados similares obtuvieron Wang et al. [77] con FORSU, utilizaron diferentes tipos de inóculo, evaluaron el efecto del pH y la producción de AGVs. En sus trabajos mencionan que el intervalo de 5 a 6 es en donde se alcanzó las concentraciones más altas de acidez en un tiempo de 20 días; del mismo modo, Jiang et al. [169], quienes evaluaron el efecto del pH (5, 6 y 7), la temperatura (35, 45 y 55 °C) y la carga orgánica en FORSU, describen que la más alta producción de AGVs fue de 17 g/L a 35 °C y pH 6 [77-155].

Después del acoplamiento de los reactores, el incremento del pH fue gradual en el RACE_{MICRO-AIREADO}, alcanzando un valor de 8.12 en el día 12, este incremento se debió a la recirculación del lixiviado del reactor hidrolítico al reactor UASB_{DIET} y viceversa, ya que el efluente proveniente del reactor UASB_{DIET} contenía una alcalinidad bicarbonatada promedio de 18,000 mg CaCO₃/L; por lo tanto, una alta capacidad buffer, lo que ocasionó que se regulará el pH originado por la neutralización de los AGVs, tal como lo mencionan Xu et al. [164] quienes trabajaron con residuos de cocina, en la cual mencionaron que la alcalinidad bicarbonatada es consumida por la acidez; por ende, cuando se tiene la concentración requerida para neutralizar los AGVs no se produce acumulación de los mismos, ya que actúa como solución buffer; puesto que, el sistema no presenta desequilibrios en su sistema ácido-base [190]. El pH del efluente del reactor UASB_{DIET} fue de 8.2, después del día 11 de iniciado la prueba, valores similares de pH (8.05) fueron alcanzados en ambos reactores y las variaciones en los siguientes 2 días no se reflejaron.

En la figura 3.4d se muestra el comportamiento de los AGVs con respecto al tiempo. En el día 1, el RACE_{MICRO-AIREADO} registró una concentración de 85.13 mg/L, posteriormente en el día 5, alcanzó la concentración máxima de 7,146 mg/L, por lo que se determinó que es el tiempo de acoplamiento de los reactores. Después del acoplamiento se observó una reducción en la concentración de los AGVs conforme transcurrieron los días principalmente en el RACE_{MICRO-AIREADO} (figura 3.4d), alcanzando valores mínimos de 350 mg/L en el día 14, el cual es menor al tiempo que describieron Michele et al. [72] con FORSU, quienes requirieron más de 20 días para estabilizar los residuos [72]; en cuanto

al comportamiento del reactor UASB_{DIET} como se observa en la figura 3.4d, la concentración de AGVs en el lixiviado del reactor hidrolítico no causó desequilibrio al reactor UASB_{DIET} y mantuvo concentraciones similares del día 1 hasta el 14.

En la figura 3.4e, se muestra el perfil de producción de biogás del reactor, antes del acoplamiento la generación fue de 4,520 mL/d en promedio, con porcentaje de metano en el biogás de 90%. Después del acoplamiento de los reactores, la generación de biogás disminuyó de manera continua del día 5 hasta el día 12 con un volumen mínimo de 800 ml en el día 14. A pesar de la concentración de la DQO de 5,500 mg/L reportado en el RACE_{MICRO-AIREADO} en el día 14, la disminución de la cantidad de metano se atribuye a residuos recalcitrantes que se encontraba dentro de la FORSU como son: materiales lignocelulósicos, partículas de semillas y cáscaras de frutas o vegetales, los cuales no son fácilmente biodegradable, pero sí ocasionan incremento en la DQO cuando son digeridos en medio ácidos y altas temperaturas; por esa razón, no favoreció la generación de AGVs para la producción de metano.

Lo anterior concuerda con lo mencionado por Shahriari et al. [191], quienes trabajaron con FORSU y utilizaron diferentes porcentajes de recirculación del efluente en pruebas de BMP y agua fresca de 0%, 30%, 60 % y 100% con la finalidad de estudiar el impacto de la mezcla sobre la estabilidad del proceso de tratamiento, describieron que la elevada concentración de DQO en el lixiviado se debe a la acumulación de materiales recalcitrantes o menos biodegradable, los cuales pueden producir condiciones ambientales que inhiben los consorcios microbianos responsables de la biodegradación; por tal razón, influye en forma negativa en la actividad de los metanógenos; sin embargo, solo mencionan producción acumulada de biogás de 550 ml en un tiempo de 14 días.

Debido a la similitud en las concentraciones de los AGVs, DQO, alcalinidad bicarbonatada y pH en ambos reactores, en el día 14 se desconectaron (ver figura 3.4), después del proceso de biodegradación se determinó la cantidad de ST y SV en los reactores hidrolíticos, registrando porcentajes de remoción de $67.5 \pm 4\%$ y $69.4 \pm 3\%$ como ST y SV, respectivamente. Forster-Carneiro et al. [100], usaron FORSU como sustrato, informaron una reducción de ST de 34.7% y SV de 44.2% en un tiempo de 60 días; de la misma manera, Fantozzi y Buratti [27], trabajaron con FORSU, registraron una reducción de SV de 55% en un tiempo de 39 días. ..

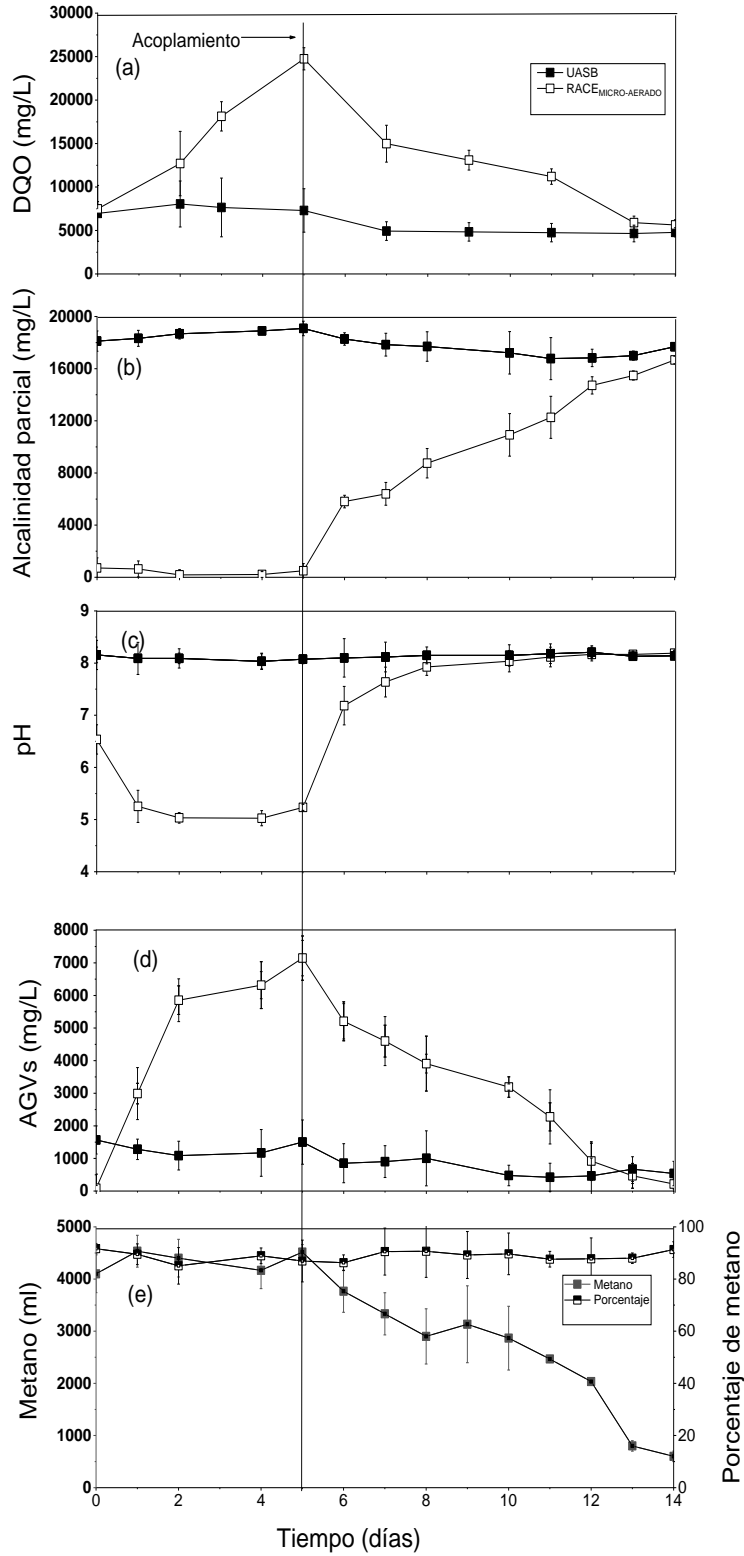


Figura 3.4. Acoplamiento de los reactores con 2 kgDQO/m³d: RACE_{MICROAERADO}–UASB_{DIET} (a) DQO, (b) Alkalinidad, (c) pH, (d) AGVs, (e) Metano en el UASB_{DIET}.

Con base en los resultados anteriores se demostró que en un sistema de dos fases se puede alcanzar la estabilización de los residuos de FORSU en 14 días y obtener un incremento en el rendimiento de metano de 43% comparado con el teórico de 350 LCH₄ /KgSV_{eliminado} [77].

En este trabajo el rendimiento de metano máximo fue 400.2±5 L CH₄ /Kg SV_{eliminado}, y contenido de metano en el biogás de 90%, los cuales fueron más altos a lo encontrado en otros estudios [192-193]. Forster-Carneiro et al. [100] quienes utilizaron FORSU como sustrato en una fase, registraron rendimiento de 0.18 L CH₄/g SV, de la misma manera, Angelidaki et al. [28] trabajaron con FORSU en una fase donde reportaron rendimiento de metano de 320 L CH₄/Kg SV; de igual forma, en otro trabajo realizado por Nguyen et al. [119] quienes trabajaron un proceso DA en una fase se alcanzó un rendimiento de metano de 260 L CH₄/Kg VS.

3.4 Balance de masas

Para que los microorganismos realicen sus funciones metabólicas de forma eficiente, su entorno debe estar en condiciones físico-químicas y tener macronutrientes disponibles como el carbono, nitrógeno y fósforo [66]. La falta de algunos de estos macronutrientes puede afectar el desempeño del proceso DA, la concentración de cada elemento está relacionado con el tipo de sustrato a utilizar; por lo que, tener la información de la composición de los residuos es importante para la selección de los parámetros de control. El balance de masas se realizó cuantificando los contenidos de carbono, nitrógeno y fósforo al inicio del proceso, en las fases sólida, líquida y gaseosa del sistema de DA en dos etapas (figura 3.5).



Figura 3.5. Flujo de nutriente dentro del sistema

3.4.1 Balance de nutrientes

La determinación del balance de carbono, nitrógeno y fósforo dentro del sistema permitió conocer la proporción contenida en la FORSU y estimar la cantidad que es transformada en otros subproductos en las distintas fases del proceso.

A continuación, se detallan los cálculos realizados para la obtención del balance de masas en el sistema acoplado RACE_{MICRO-AIREADO}-UASB_{DIE}.

Cálculo del balance de masas

Para la prueba de DA se tomó 0.5 kg de FORSU; por lo tanto, en base seca tenemos:
Considerando 80% de humedad y ST 20%:

$$0.5 \text{ kg} \times 0.2 = 0.1 \text{ kg} \text{ ó } 100 \text{ g.}$$

Sustrato

Inicial

Humedad en la FORSU: 79.3 ±0.7%.

ST en la FORSU: 20.7 ±0.7%.

$C_T = 46.81 \pm 6.86\%$.

$COT = 43.43 \pm 5.97\%$.

$N_T = 2.0 \pm 0.5\%$.

$P_T = 3.75 \pm 0.55\%$.

Determinación de carbono

Para la determinación de C se utilizó la siguiente ecuación:

$$C_T = C_l + C_s + C_g \quad (8)$$

Donde:

C_T = Carbón total.

C_l = Carbón en líquido.

C_g = Carbón en gas.

C_s = Carbón en sólido.

Determinando el C en la fase líquida tenemos (método 10129 HACH):

$$C_l = (C_{mg/L})(V_T)$$

Donde:

Concentración de C en el líquido ($C_{mg/L}$) = 4643 mg/L

Volumen total del líquido en el RACE_{MICRO-AIREADO} (V_T) = 1.4 L.

$C_l = (4643 \text{ mg/L})(1.4 \text{ L}) = 6500.2 \text{ mg}$ equivalente a 6.5 g.

Calculando el porcentaje de carbono en la fase líquida:

Porcentaje de C en la fase líquida $\frac{\text{Carbono inicial}}{\text{Carbono Final}} \times 100$.

Porcentaje de C en la fase líquida $\frac{6.5 \text{ g}}{46.81 \text{ g}} \times 100 = 13.88 \%$.

Determinación de C en la fase sólida (analizador elemental CHON):

$$C_s = \frac{C\%}{100} \times W_T$$

Calculando el peso de C en los ST digeridos:

Peso total de ST (w_T) = 45.40 ± 5.86 g (APHA, Método 2540).

Porcentaje de C en los ST digerido = 46.1% (CHON).

$$C_s = \frac{46.1\%}{100} \times 45.4 \text{ g} = 20.92 \text{ g}.$$

Calculando el porcentaje de C sin digerir:

Carbono inicial 46.81 g

Carbono al final del proceso DA 20.92 g

Porcentaje de C sin digerir = $\frac{\text{Carbono final}}{\text{Carbono inicial}} \times 100$

Porcentaje de C sin digerir = $\frac{20.92 \text{ g}}{46.81 \text{ g}} \times 100 = 44.69 \%$.

Calculando el porcentaje de C hidrolizado:

Carbono Inicial- carbono final = 46.8-20.92 = 25.88 g equivalente a 55%.

Calculando el porcentaje de C en la fase gaseosa:

$$C_g = \left(\frac{V}{22.4} \right) (12)$$

Donde:

V = Volumen gas (L).

Factor de conversión de Litros a moles 22.4 mol/L.

Calculando la cantidad de C en CH₄.

Volumen de CH₄ 24.5 L.

Carbono inicial 46.81 g.

Calculando los gramos de C en CH₄:

Peso molecular del carbono 12.

$$\text{Carbono } g = \frac{24.5 L}{22.4 \text{ mol/L}} \times 12 \text{ g/mol} = 13.12 \text{ g.}$$

Calculando los gramos de C en CO₂.

Volumen de CO₂ 1.8 L.

Peso molecular del carbono 12.

Factor de conversión de Litros a moles 22.4 mol/L.

$$\text{Carbono } g = \frac{1.9 L}{22.4 \text{ mol/L}} \times 12 \text{ g/mol} = 1.0 \text{ g.}$$

Calculando el porcentaje de C en la fase gaseosa:

$$C_{\text{gaseoso}} = C_{\text{CH}_4} + C_{\text{CO}_2} = 13.1 \text{ g} + 1.0 \text{ g} = 14.1 \text{ g.}$$

$$\text{Porcentaje de C en el biogas} = \frac{\text{Carbono gasificado}}{\text{Carbono inicial}} \times 100$$

$$\text{Porcentaje de C en el biogas} = \frac{14.1 \text{ g}}{46.8 \text{ g}} \times 100 = 30.1\% .$$

Aplicando la fórmula para determinar el C_T en las distintas fases del proceso:

$$C_T = C_l + C_s + C_g$$

$$C_T = 6.5 \text{ g} + 20.92 \text{ g} + 14.1 \text{ g} = 41.92 \text{ g.}$$

Por lo tanto, se estimó una cantidad de C de 41.92 g.

Calculando el porcentaje:

$$\text{Porcentaje de C en el sistema DA} = \frac{\text{Carbono final}}{\text{Carbono inicial}} \times 100.$$

$$\text{Porcentaje de C en el sistema DA} = \frac{41.9 \text{ g}}{46.81 \text{ g}} \times 100 = 89.5\%.$$

Lo que representó un total de C de 89 %.

Determinación y análisis de nitrógeno

Para la determinación de N se utilizó la siguiente ecuación:

$$N_T = N_l + N_s \quad (9)$$

Donde:

N_T = Nitrógeno total

N_l = Nitrógeno en líquido.

N_s = Nitrógeno en sólido.

N en el sustrato al inicio = $2.0 \pm 0.5\%$ (CHON).

Por lo tanto, en 100 g de FORSU se tiene:

$$N = 100 \text{ g} \times \frac{2\%}{100} = 2 \text{ g} \text{ al inicio del proceso DA.}$$

Determinación de N en la fase líquida

$$N_l = (N_{mg/L})(V_T)$$

Donde:

$N_{mg/L}$ = Concentración de N en el líquido.

V_T = Volumen total del líquido en el reactor (L).

Calculando el porcentaje de N en la fase líquida.

Concentración de N en el líquido ($N_{mg/L}$) = 600 mg/L (método 10072 HACH).

Volumen total del líquido en el RACE_{MICRO-AIREADO} (V_T) = 1.4 L.

$$N_l = (600 \text{ mg/L})(1.4 \text{ L}) = 840 \text{ mg equivalente a } 0.84 \text{ g.}$$

$$\text{Porcentaje de N en la fase líquida} = \frac{\text{Nitrógeno Inicial}}{\text{Nitrógeno Final}} \times 100$$

$$\text{Porcentaje de N en la fase líquida} = \frac{0.8 \text{ g}}{2 \text{ g}} \times 100 = 40 \%$$

Determinación de N en la fase sólida (análisis elemental del CHON):

$$N_s = \frac{N\%}{100} \times W_T$$

Donde:

$N\%$ = Porcentaje de N en la fase sólida.

W_T = Peso total del residuo (g).

Calculando el peso de N en los ST digeridos:

Peso total del ST (W_T) = 45.40 ± 5.86 g.

Porcentaje de N en los ST digeridos = 2.55% (CHON).

$$N_s = \frac{2.55\%}{100} \times 45.4 \text{ g} = 1.15 \text{ g.}$$

Calculando el porcentaje de N en la fase sólida.

N inicial 2 g (CHON).

$$\text{Porcentaje de N} = \frac{\text{Nitrógeno final}}{\text{Nitrógeno inicial}} \times 100$$

$$\text{Porcentaje de N} = \frac{1.15 \text{ g}}{2 \text{ g}} \times 100 = 57.5\%.$$

Porcentaje de nitrógeno hidrolizado:

Nitrógeno Inicial- Nitrógeno final = 2-1.15 = 0.85 g equivalente a 43 %.

Aplicando la fórmula para determinar el N_T en las distintas fases del proceso:

$$N_T = N_l + N_s$$

$$N_T = 0.8 \text{ g} + 1.15 \text{ g} = 1.95 \text{ g}$$

Como resultado, se estimó una cantidad de N de 1.95 g.

Calculando el porcentaje:

$$\text{Porcentaje de N en el sistema DA} = \frac{\text{Nitrógeno final}}{\text{Nitrógeno inicial}} \times 100$$

$$\text{Porcentaje de N en el sistema DA} = \frac{1.95 \text{ g}}{2 \text{ g}} \times 100 = 97.5 \%$$

Lo que representó un total de N de 97 %.

Determinación y análisis de P_T

P_T inicial 3.75 ± 0.55 % (método 8190 HACH).

Para la determinación de P_T se utilizó la siguiente ecuación:

$$P_T = P_l + P_s \quad (10)$$

Donde:

P_T=Fósforo total.

P_l= Fósforo en líquido.

P_s= Fósforo en sólido.

Donde:

P_T al inicio = 3.75± 0.56%.

Por lo tanto, en 100 gr de FORSU se tiene:

$$P_T = 100 \text{ g} \times \frac{3.75 \%}{100} = 3.75 \text{ g} \text{ al inicio del proceso DA.}$$

Determinación de P en la fase líquida

$$P_l = (P_{mg/L})(V_T)$$

Donde:

P_{mg/L}= Concentración de P en el líquido.

V_T= Volumen total del líquido en el reactor (L).

Calculando el porcentaje de P en la fase líquida

Concentración de P en el líquido (P_{mg/L}) = 600 mg/L (método 8190 HACH)

Volumen total del líquido en el RACE_{MICRO-AIREADO} (V_T) = 1.4 L.

$$P_l = (600 \text{ mg/L})(1.4 \text{ L}) = 840 \text{ mg equivalente a } 0.84 \text{ g.}$$

$$\text{Porcentaje de P en la fase líquida} = \frac{\text{Fósforo Inicial}}{\text{Fósforo Final}} \times 100$$

$$\text{Porcentaje de P en la fase líquida} = \frac{0.8 \text{ g}}{3.75 \text{ g}} \times 100 = 21.3\%.$$

Determinación de P en la fase sólida.

$$P_s = \frac{P\%}{100} \times W_T$$

Donde:

$P\%$ = Porcentaje de N en la fase sólida.

W_T = Peso total del residuo (g).

Calculando el peso de P en los sólidos digeridos:

Porcentaje de P en los ST digeridos = 6.65 % (método 8190 HACH)

Peso total del sólido (w_T) = 45.40 ± 5.86 g.

$$P_s = \frac{6.65\%}{100} \times 45.4 \text{ g} = 3.02 \text{ g.}$$

Calculando el porcentaje de P en la fase sólida.

P inicial 3.75 g (método 8190 HACH).

$$\text{Porcentaje de P} = \frac{\text{Fósforo final}}{\text{Fósforo inicial}} \times 100$$

$$\text{Porcentaje de P} = \frac{3.02 \text{ g}}{3.75 \text{ g}} \times 100 = 81.5 \%.$$

Aplicando la fórmula para determinar el P_T en las distintas fases del proceso:

$$P_T = P_l + P_s$$

$$P_T = 0.84 \text{ g} + 3.02 \text{ g} = 3.86 \text{ g.}$$

Calculando el porcentaje:

$$\text{Porcentaje de P en el sistema DA} = \frac{\text{Fósforo final}}{\text{Fósforo inicial}} \times 100.$$

$$\text{Porcentaje de P en el sistema DA} = \frac{3.86 \text{ g}}{3.75 \text{ g}} \times 100 = 103\%.$$

Lo que representó un total de P de 103 %.

En la tabla 3.3, se registraron los resultados obtenido desde el inicio y hasta el final del proceso DA, en el RACE control, RACE_{MICRO-AIREADO}; así como en el sistema acoplado RACE_{MICRO-AIREADO}-UASB_{DIET}, y el análisis del balance de masas como se mencionó anteriormente se realizó en el proceso acoplado

Tabla 3.3 Flujo de nutrientes dentro del proceso de digestión anaerobia
BALANCE ELEMENTAL DE CARBONO NITRÓGENO Y FÓSFORO

	Parámetro	Sustrato	RACE Control	RACE _{MICRO-AIREAD}	RACE _{MICRO-AIREADO-UASB_{DIET}} Acoplado
			Inicial	Final	Final
Determinación de sólidos	ST %	100	18.9 ± 1.92	20.22 ± 5.85	45.40 ± 5.86
	SF %	1.22	0.66 ± 0.01	0.903 ± 0.21	2.15 ± 0.22
	SV %	98.78	18.24 ± 1.94	19.32 ± 5.64	43.25 ± 6.07
Fase líquida	DQO mg/L		2550 ± 848	2800 ± 141.42	5100 ± 934
	Nitrógeno Total g		0.65 ± 0.1	0.72 ± 0.19	0.84 ± 0.11
	Fósforo total g		0.32 ± 0.02	0.2905 ± 0.01	0.84 ± 0.13
	COT g		1.93 ± 0.25	2 ± 0.14	6.5 ± 0.32
Fase sólida	Fósforo total g	3.75 ± 0.55	3.4 ± 0.08	3.08 ± 0.3	3.02 ± 0.81
	COT g	43.43 ± 5.97	1.69 ± 0.45	4.76 ± 2.61	12.36 ± 2.49
Análisis elemental	Carbón Total g	46.81 ± 6.86	6.86 ± 0.35	6.5 ± 2.70	20.92 ± 1.91
	Nitrógeno g	2 ± 0.50	0.67 ± 0.10	0.63 ± 0.05	1.15 ± 0.07
	Hidrógeno g	3.42 ± 3.5	0.43 ± 0.4	0.68 ± 0.12	1.66 ± 0.63
	Sulfuro	0.016 ± 0.03	0.34 ± 0.4	0 ± 0	0 ± 0.0
	C. Inorgánico g	3.38 ± 0.90	3.5 ± 0.5	0.165 ± 0.19	6.51 ± 0.94
Fase gaseosa	Biogás L		0.5 ± 0.14		24.5 ± 1.98
	Carbón en CH ₄ g		0.014 ± 0.01		13.31 ± 1.53
	Carbón de CO ₂ g		0.3 ± 0.08		1 ± 0.18
	Hidrogeno g		0.0012 ± 0.0003		

ST, sólidos totales; SF, sólidos fijos volátiles; SV, sólidos volátiles; ORP, DQO, demanda química de oxígeno; COT, carbón orgánico total; C, carbón; CH₄, metano; CO₂, Dióxido de carbono.

Con la aplicación de la ecuación 8 (ver tabla 2.10) se determinó la cantidad de carbono en el ensayo de acoplamiento, en donde la cantidad inicial fue $46.81 \pm 6.86\%$, este valor fue superior a lo reportados por Cabbai et al. [194], quienes registraron 37.7% y Dong et al. [22] 37%.

De la cantidad total de carbono inicial, se determinó que el 45% permaneció en la fase sólida (20.92 ± 1.91 mg/L) y el 55% estuvo disponible en el RACE para la generación de AGVs, CO_2 y H_2 en el ensayo de acoplamiento; sin embargo, una parte fue utilizado para la formación de biomasa y el 28.4% se consideró que fue convertida en CH_4 . Del total de carbono contenido en el sustrato, se estimó que el 93% correspondió al carbono orgánico total, que fue la materia orgánica oxidable que estuvo disponible para ser hidrolizada por los microorganismos.

El nitrógeno contenido en la materia orgánica es necesario para el desarrollo de las bacterias y funcionamiento del sistema de biodegradación. La cantidad porcentual inicial de nitrógeno en el sustrato fue de $2 \pm 0.5\%$; de esta cantidad, se consideró en el RACE control y microaireado que el 35% permaneció soluble en el lixiviado y estuvo disponible para la conversión de las proteínas a AGVs y el crecimiento celular. En el ensayo de acoplamiento, en la fase líquida del RACE_{MICRO-AIREADO} se determinó 800 ± 11 mg/L, lo que representó el 40% y $1,150 \pm 7$ mg/L permaneció en la fase sólida lo que representó aproximadamente un 57%; la cantidad restante de nitrógeno que no se registró, pudo haber sido por pérdidas durante el monitoreo y fugas al entorno durante el proceso en forma de gas; además, se considera la posibilidad de formar un precipitado en forma de estruvita, el cual ocurre a valores de pH arriba de 7

Considerando los resultados de carbono y nitrógeno, es importante realizar un análisis con la finalidad de determinar la susceptibilidad de usar el sustrato en un proceso DA; ambos elementos son fuentes necesarias para el desarrollo de las bacterias, principalmente las metanogénicas. El carbono es una fuente energética y las bacterias lo consumen 30 veces más que el nitrógeno, el cual es utilizado para la síntesis y desarrollo de nuevas células.

Cuando se tiene una relación de C/N superior a 35:1, la descomposición de los residuos ocurre lentamente, porque la multiplicación y desarrollo de las bacterias es baja

por falta de nitrógeno, el periodo de producción de biogás se incrementa y la generación de bióxido de carbono aumenta; sin embargo, el bióxido de carbono puede contribuir a regular el pH por medio de la formación de bicarbonato. Cuando la relación de C/N es menor a 8:1 se inhibe la actividad bacteriana debido a la formación excesiva de amonio; por lo tanto, la producción de metano decrece [60]. En este trabajo se tuvo una relación promedio de C/N $24.5 \pm 5.5/1$, por lo que el sustrato utilizado se encuentra dentro del intervalo recomendado para ser usado en el proceso de digestión anaerobia.

Al igual que en todas las reacciones bioquímicas se requiere de fósforo para la síntesis de nuevas células y requerimiento de energía. El valor inicial de fósforo fue de $3.75 \pm 0.55\%$, en la fase líquida del RACE control y RACE_{MICRO-AIREADO}, la cantidad porcentual de fósforo fue de 8% aproximadamente (300 mg/L); sin embargo, en la fase sólida se tuvo diferencias, el control registró 3.4 ± 0.08 mg/L (92%) y en el reactor microaireado 3.08 ± 0.3 mg/L (82%); la presencia de iones como calcio y magnesio puede dar lugar a la formación de fosfato cálcico y magnésico e incluso formar estruvita. Esto ocurre cuando exceden el producto de solubilidad y se tienen las condiciones adecuadas como es el pH alcalino y temperatura, dando lugar a un precipitado que no es fácil de solubilizar [47].

En la fase líquida del RACE_{MICRO-AIREADO} en la prueba de acoplamiento registró la concentración de 840 ± 0.11 mg/L lo que representó el 22% del resultado inicial de fósforo y en la fase sólida fue de 80% (3.02 ± 0.81 mg/L). El porcentaje de más encontrado con respecto a la inicial, provino de la alimentación en el reactor UASB_{DIET} que se le adiciona como nutriente para el crecimiento de las bacterias metanogénicas antes del acoplamiento.

En la figura 3.6, se muestra la composición porcentual en promedio de los nutrientes en la FORSU antes del proceso de digestión, el carbono es el elemento que se encuentra en mayor proporción con un $46.8 \pm 6\%$, el fósforo en un $3.7 \pm 0.5\%$ y el nitrógeno en un $2 \pm 0.5\%$; razón por la cual, se puede utilizar para el proceso.

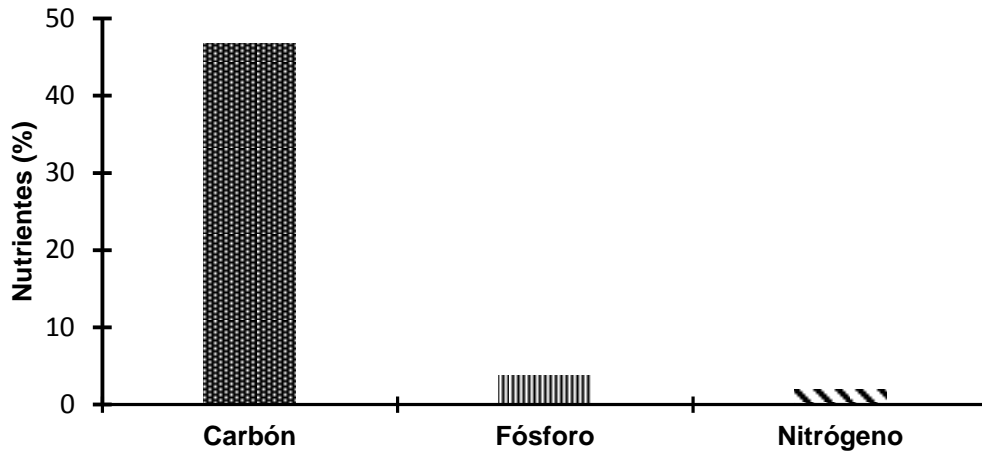


Figura 3.6. Distribución de los nutrientes de la FORSU

En la figura 3.7, se muestra la distribución de la composición de carbono al inicio del proceso, el cual se observa que el $43.43 \pm 5.97\%$ corresponde al carbono orgánico total (93% del carbono total), lo que representan la fracción aprovechable por los microorganismos para la síntesis de otros subproductos, su cuantificación durante el proceso proporciona información de la cantidad de materia orgánica disponible, la eficiencia y estado del proceso; a su vez, puede proporcionar resultados para evaluar la eficacia de la hidrólisis y el carbono inorgánico constituye el 7% del total contenido en el sustrato, el cual representó la parte no biodegradable.

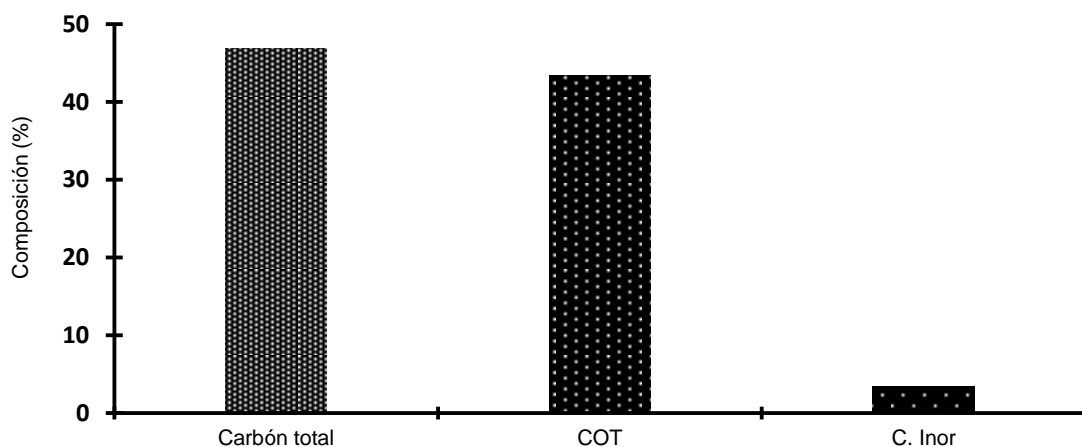


Figura 3.7. Distribución de carbono al inicio del proceso

En la figura 3.8, se muestra la distribución porcentual de carbono al inicio y al final en las distintas fases de la prueba de acoplamiento. El porcentaje de carbono en la fase sólida fue de $20.92 \pm 1.91\%$, lo que representó un 45% con respecto a la cantidad de carbono inicial en los residuos estabilizados y el 55% fue hidrolizada, la cual es mayor a lo que reportan Alcántara et al. [129] quienes obtuvieron un 50% de hidrólisis del carbono contenido en biomasa; por su parte, Leite et al. [195], realizaron un balance de masa en un sistema de dos fases, señalando que la mayor cantidad de carbono se encontró en los sólidos estabilizados dentro del reactor hidrolítico; de manera similar; Li et al. [71], quienes realizaron balance de masas utilizando diferentes tipos de sustrato, en los resultados obtenidos describen que la mayor cantidad de carbono después de estabilizar los residuos se encontró en la fase sólida. En la fase gaseosa la cantidad de carbono que se determinó fue de 14.31%, el cual fue utilizado para la generación de CH_4 (13.31%) y CO_2 (1%), y en la fase líquida fue de 6.5%.

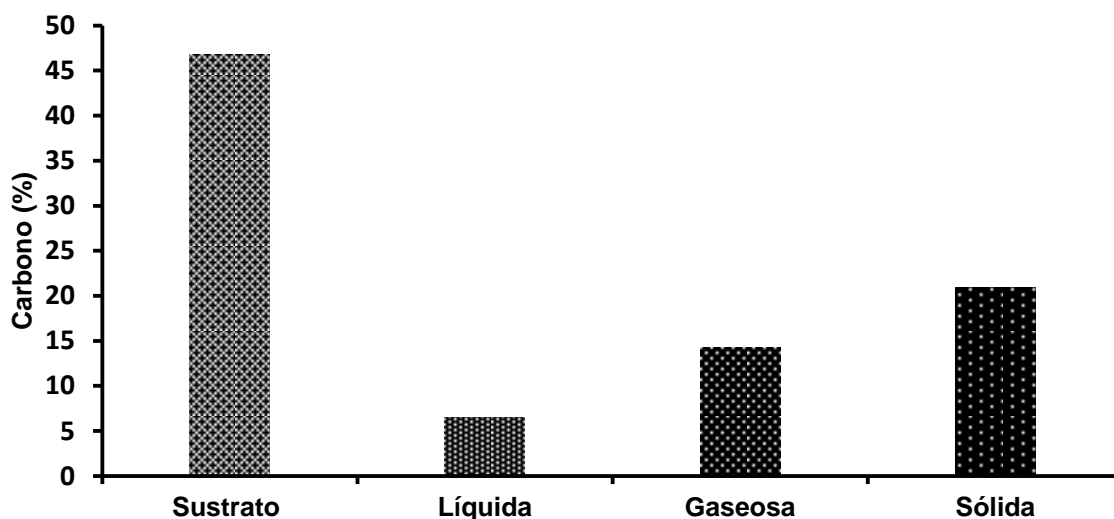


Figura 3.8. Distribución de carbono al inicio y en las 3 fases al final del proceso

En la figura 3.9, se muestra la distribución porcentual de los nutrientes al final del proceso en los distintos ensayos realizados, la comparación se efectuó considerando los valores que registró el sustrato al inicio. Como se observa en la figura 3.9, el porcentaje de carbono en el RACE control y RACE_{MICRO-AIREADO} son similares (8.5%), aunque esta similitud que se registró fue debido a que ambos reactores permanecieron en operación después de los 25 días de iniciado el ensayo, el cual se realizó con la finalidad de conocer

el tiempo en la cual se alcanza la máxima concentración de AGVs y son consumidos en su totalidad. En cuanto al comportamiento del RACE_{MICRO-AIREADO} en el ensayo de acoplamiento (RACE_{MICRO-AIREADO} – UASB_{DIET}) la cantidad de carbono al final del proceso fue de $20.92 \pm 1.91\%$, que representó un porcentaje mayor comparado con los otros ensayos (RACE control y RACE_{MICRO-AIREADO}); sin embargo, en la prueba de acoplamiento, los reactores permanecieron en operación 14 días, lo que representó menor tiempo de tratamiento para la FORSU; por consiguiente, el contenido de sólidos fue mayor.

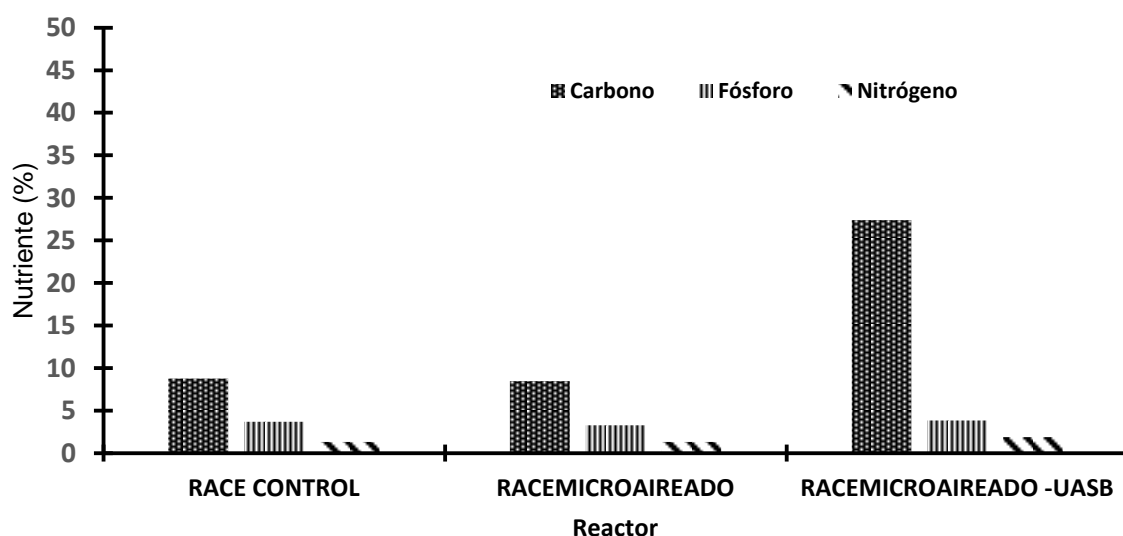


Figura 3.9. Distribución de los nutrientes al final del proceso

Xu et al. [47], quienes realizaron pruebas con microaireación, señalan que la adición de oxígeno propicia condiciones microaeróbicas del entorno; como resultado, activa los microorganismos facultativos, los que a su vez utilizan este elemento para su respiración, generando mayor cantidad de biomasa y CO_2 . Diferentes autores han señalado que es importante controlar la tasa de flujo de aire, por lo que un exceso puede ocasionar que la materia orgánica sea oxidado por la presencia de oxígeno; por lo tanto, incrementará la cantidad de biomasa y disminuirá la cantidad de metano [6-53-78]

En cuanto a la cantidad de fósforo (fase líquida más fase sólida), se observan valores de 3.7% en el RACE control, mientras que en el RACE_{MICRO-AIREADO} presentó 3.37%, estos valores son similares al que se tenía inicialmente dentro de la composición

porcentual en el sustrato. En el RACE_{MICRO-AIREADO} acoplado no se apreció disminución de este nutriente. Con respecto a la cantidad de inicial de nitrógeno, tanto en el RACE control como en el RACE_{MICRO-AIREADO} se observó un 1.3%, y en el ensayo de acoplamiento de 1.9%, en este nutriente se registró una pérdida estimada de 3% que pudo haber sido durante el muestreo y por fugas durante la operación, el cual es menor al que registró Li et al. [71].

En la figura 3.10, se muestra la distribución de fósforo y nitrógeno al inicio, en las fases líquida y sólida al final del RACE_{MICRO-AIREADO} en el ensayo de acoplamiento. La cantidad de fósforo que se encontró en la fase líquida fue $0.84 \pm 0.11\%$ y en la fase sólida fue $3.02 \pm 0.81\%$; con respecto al nitrógeno en la fase líquida la concentración fue de $0.84 \pm 0.11\%$ y en la fase sólida fue $1.15 \pm 0.07\%$, estos 2 nutrientes por lo general son muy estables en las condiciones de nuestro entorno, por lo que las pérdidas en el proceso se dan en condiciones muy particulares, como es el caso del nitrógeno que puede transformarse en amonio o reducirse a nitrógeno gas y liberarse a la atmósfera, la cual ocurre en ambientes alcalinos; por tal razón, existe disminución o pérdida durante la estabilización de los residuos; razón por la cual, es importante el control de los parámetros operacionales.

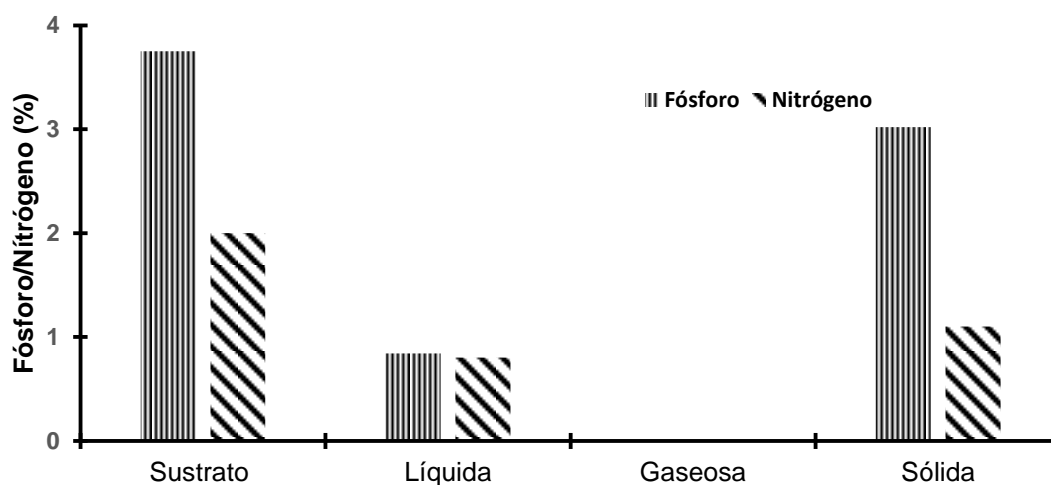


Figura 3.10. Distribución de fósforo y nitrógeno al inicio (sustrato) y en las 3 fases del RACE_{MICRO-AIREADO-UASB_{DIET}} al final del proceso

En la tabla 3.4 se muestra los resultados del balance de masas estimados en las distintas fases en el ensayo de acoplamiento.

Tabla 3.4. Distribución de nutrientes en el ensayo de acoplamiento

Nutriente	Sustrato		Fase		
	Inicial	Líquida	Sólida	Gaseosa	Total
Carbono %	46.8 ± 6	14	45	30	89
Nitrógeno %	2 ± 0.5	40	57	0	97
Fósforo %	3.2 ± 0.5	22	81	0	103

En la determinación del balance de masas se encontró que el 55% del carbono inicial fue hidrolizado, el 30% fue convertido en CH₄ y CO₂, 14% permaneció en la fase líquida y 45% del total se registró en los sólidos estabilizados, el 57% del nitrógeno permaneció en la fase sólida y 40% en la fase líquida; el 81% del fósforo se registró en la fase sólida y el 22% en la fase líquida (ver tabla 3.4), de acuerdo a Li et al. [71], es considerado aceptable cuando se tiene una pérdida de carbono 4 a 10%, en este trabajo la pérdida de este elemento fue de 11%. El nitrógeno registró una pérdida de 3%, el cual se encuentra dentro del rango que consideran aceptable de 3–15%, con respecto al fósforo, no se observan pérdidas; sin embargo, el porcentaje que registro de más, provino de la alimentación del reactor UASB_{DIET}, el cual le es suministrado como nutriente para alimentar a las bacterias metanogénicas.

El balance de masas arrojó información de las cantidades de ST y SV que fueron eliminados a través de la formación de biogás, la transformación en compuestos orgánicos solubles y la cantidad que permaneció en el digestato; también, el conocimiento del balance de masas evalúa la eficiencia y la distribución de carbono, nitrógeno y fosforo en el proceso, su estudio es esencial para comprender y modificar los parámetros operacionales con la finalidad de mejorar el sistema y controlar la producción de bioenergía a través de la DA.

La aplicación de la microaireación ocasionó cambios en las macromoléculas contenidas en la FORSU y en las características físico-químicas del lixiviado; como son,

incremento en la DQO, en los AGVs y en la actividad enzimática; además, disminución del pH y de la alcalinidad bicarbonatada como consecuencia de los subproductos formados durante la hidrólisis como son el ácido acético, butírico lactato, propiónico e hidrógeno.

En la prueba de la DQO, del día 1 al día 5, se registraron los mayores incrementos siendo mayor en el RACE_{MICRO-AIREADO}. Estos incrementos se asocian con mayor solubilidad de las partículas sólidas. Al inicio la concentración de la DQO en ambos RACE fue de 6,000 mg/L; sin embargo, en el RACE_{MICRO-AIREADO} la concentración máxima fue de 25,600 mg/L, lo que represento una diferencia en DQO de más de 200% comparado con el RACE control. Una proporción de la DQO lo forman los AGVs; por lo tanto, el incremento también se refleja en este parámetro. En el día 1 la concentración de los AGVs fue de 91 y 500 mg/L representando el 1.4% del total de la DQO en el RACE control y 1.9% del total de la DQO del RACE_{MICRO-AIREADO}, estos resultados se incrementaron a valores máximos de 2,850 mg/L y 8,800 mg/L representando el 24.1% y 34.3% de la DQO de cada reactor. En el caso del pH, en ambos RACE oscilaron en un rango de 5.5-6.5 y 5.4-5.8; aunque, en el RACE_{MICRO-AIREADO} se mantuvo un tiempo mayor, dándole a los microorganismos hidrolíticos las condiciones para realizar sus funciones y degradar aún más la materia orgánica.

Las macromoléculas presentes en la FORSU no pueden ser absorbidas por las células; por lo tanto, las exoenzimas hidrolíticas tienen que romper la estructura a cadenas más cortas para facilitar su absorción. Al inicio del ensayo se registraron concentraciones de 2 µg/ml min de la CMC_{ase} en ambos reactores; pero, en el RACE_{MICRO-AIREADO} la concentración máxima fue de 17.57 µg/ml min en el día 10 y prolongándose la actividad enzimática hasta el día 15; sin embargo, en el RACE control la actividad solo alcanzó un valor máximo de 3.18 µg/ml min, lo que represento una diferencia de más 300%. Estos resultados demuestran que las condiciones del medio como son: hidrólisis ácida y la presencia de oxígeno son necesarios para romper los anillos aromáticos e incrementar la degradación de los materiales lignocelulósicos tal como lo señalan Lynd et al. [176] y Dollhofer et al. [177].

En cuanto al ORP, en el RACE control se mantuvo en un rango de -320 y -370, en el RACE_{MICRO-AIREADO} de -167 y -215. Ambos presentaron decremento en los días 1 y 2

producto de la formación de subproductos en la hidrólisis como son los AGVs e hidrogeno; sin embargo, en el $RACE_{MICRO-AIREADO}$ se mantuvo en el rango en donde las *firmicutes*, *proteobacterias* y *bacteriodes* encuentran las condiciones adecuadas para su desarrollo, el cual se vio reflejada en la actividad enzimática. El oxígeno contenido en el aire reaccionó con el hidrogeno generado durante la hidrólisis y acidogénesis formando agua, ocasionando que el ORP del medio sea menos reductor y creará un entorno favorable para la producción de AGVs, lo que se traduce en una mayor eficiencia hidrolítica [93].

Durante la aclimatación del reactor UASB, se realizaron mediciones de AGVs, alcalinidad total y pH con la finalidad de evaluar la estabilidad y el comportamiento de los índices alfa y Buffer. Se realizó el arranque del reactor con tasas de carga orgánica 0.5 y 1.5 kg DQO/m³d, el índice alfa se mantuvo en un rango de 0.85 a 0.95, el índice buffer en un rango de 0.15 a 0.09, los AGVs de 257 mg/L a 91 mg/L, el pH de 6.84 a 7.2 y porcentaje de CH₄ ≥ 75%, estos valores indicaron que el sistema se encontraba estable [51]. En el día 102, se incrementó la tasa de carga orgánica a 6 kg DQO/m³d; durante los siguientes 22 días el reactor presentó desequilibrio, el índice alfa decreció hasta 0.2 y el índice buffer aumento a valores mayores de 1.2; además, los AGVs incrementaron a concentraciones mayores de 10,000 mg/L, el pH de decayó hasta 6.2 y el porcentaje de CH₄ en un 30%; por lo tanto, la velocidad de generación de los AGVs superó la velocidad de consumo, este desequilibrio entre la cantidad que se genera y la cantidad que se consume ocasiona caídas de pH cuando no se tiene suficiente capacidad buffer para regular este incremento; por lo consiguiente, inhibición del proceso.

Con la finalidad reestablecer el equilibrio en el reactor UASB, se adicionó CAG; a los 11 días después de la adición se reestableció la estabilidad; en consecuencia, se mejoró la sintrofia microbiana entre las bacterias hidrolíticas y las arqueas metanogénicas, acelerando la conversión de compuestos orgánicos reducidos de cadena corta a metano; por consiguiente, la adición de un material conductor no biológico como CAG mejoró la transferencia de electrones; además, sirvió de soporte a los microorganismos y benefició las condiciones del medio para la realización de la actividad metanogénica. Con base a los resultados anteriores, se demuestra que la hipótesis planteada en esta investigación se cumplió.

CONCLUSIONES

La aplicación de la microaireación y el CAG (estímulo la DIET) en un sistema de dos fases, puede ser usado en la biodegradación de sustratos con altas concentraciones de sólidos como la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos; además, la microaireación favoreció la solubilización de la materia orgánica y el CAG redujo el tiempo de estabilización en 11 días del reactor UASB_{DIET}.

La intensidad de las condiciones de microaireación (254 L-aire/kg ST/d) incrementó la tasa de hidrólisis, favoreciendo posiblemente el desarrollo de microorganismos facultativos, incrementando 300% la actividad enzimática de la CMC_{ase}. En el RACE_{MICRO-AIREADO}, la concentración de la DQO en el lixiviado fue 200% más alta y la formación de AGVs fue 250% mayor debido a la solubilización de la materia orgánica, la cual, ocasionó una reducción en el tiempo de acoplamiento con el UASB_{DIET}; por lo tanto, el tratamiento de los residuos para alcanzar la estabilización fue menor a otros reportados (en este caso de 14 días).

La aplicación del CAG en la fase metanogénica incrementó 10% la producción de biogás con un contenido de metano de hasta 90%; además, mejoró el desempeño del UASB_{DIET}, alcanzando la estabilidad en 11 días y un rendimiento de metano de 400.2 ± 57 L CH₄/kg SV_{eliminado}, el cual fue mayor comparada con la literatura con una remoción de ST de $67.5 \pm 4\%$. El rendimiento de metano (400.2 L CH₄/kg SV_{eliminado}) obtenido en este trabajo fue mayor en comparación con una sola fase y la degradación de FORSU a través del sistema DA en dos fases es más eficiente que llevarla a cabo en una fase.

Para mantener el equilibrio ácido-base es importante cuidar en el reactor UASB el pH, la concentración de AGVs en valores inferiores de 1,500 mg/L y el porcentaje de metano en el biogás en un intervalo de 80 a 90%. La aplicación de CAG para promover la DIET en la fase metanogénica ayudó a restablecer el equilibrio ácido-base del reactor UASB_{DIET} después de la intoxicación, y la aplicación de microaireación en el RACE incrementó la solubilidad de la materia orgánica durante el acoplamiento sin afectar el consumo de los AGVs presentes en el reactor hidrolítico.

En la determinación del balance de masas se encontró en los sólidos estabilizados la mayor cantidad de sustrato no hidrolizado el cual fue de 45% como ST y 45% de carbono; el 55% fue transformado en otros subproductos, durante el monitoreo y mediciones de los parámetros para el control del proceso se registraron pérdidas, en el carbono se encontró el 11% y el nitrógeno de 3%; aunque por las características químicas del fósforo y nitrógeno son muy estables; por lo tanto, durante la operación de un proceso de DA con este tipo de sustrato se debe de considerar estas pérdidas y evitar deficiencias en la operación por falta de nutrientes.

La determinación del balance de masas es útil para evaluar la eficiencia de las distintas fases y transformaciones en el proceso de digestión anaerobia e incrementar el rendimiento de metano.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] SEMARNAT, "Informe de la Situación del Medio Ambiente en México," México, D.F., 2015.
- [2] SEMARNAT, "Diagnóstico Básico para la Gestión Integral de Residuos," in "Versión Extensa," México D.F., 2012, Disponible: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/187440/diagnostico_basico_extenso_2012.pdf.
- [3] Martínez-Vega, H. A. (2014) Diagnosticar El Estado Actual Del Manejo De Los Residuos Solidos Ordinarios En La Ciudad De Villavicencio Meta, En El Componente De Disposicion Final. Licenciatura, Univesidad Nacional Abierta y a Distancia, Villavicencio-Meta-Colombia.
- [4] Jiménez-Martínez, N. M. (2015) Solid Waste Management In Mexico: Between The Intention And The Reality, Revista Latinoamericana de Estudios Socioambientales. 29-56, 17
- [5] CEDMA. (2017). *Marco jurídico de las enrgías renovables en México*. disponible: <https://www.cemda.org.mx/wp-content/uploads/2016/06/Marco-jur%C3%ADdico-de-las-energ%C3%ADas-renovables-en-México.pdf>
- [6] Nguyen, D. and Khanal, S. K. (2018) A little breath of fresh air into an anaerobic system: How microaeration facilitates anaerobic digestion process, Biotechnol. Adv. 1971-1983, 36
- [7] Masebinu, S. O., Akinlabi, E. T., Muzenda, E., and Aboyade, A. O. (2019) A review of biochar properties and their roles in mitigating challenges with anaerobic digestion, Renewable Sustainable Energy Rev. 291-307, 103
- [8] Barua, S. and Dhar, B. R. (2017) Advances towards understanding and engineering direct interspecies electron transfer in anaerobic digestion, Bioresour. Technol. 698–707, 244
- [9] Dang, Y., Holmes, D. E., Zhao, Z., Woodard, T. L., Zhang, Y., Sun, D., Li-Ying, W., Nevin, K. P., and Lovley, D. R. (2016) Enhancing anaerobic digestion of complex organic waste with carbon-based conductive materials, Bioresour. Technol. 516-522, 220
- [10] Motul, A. d., "Plan Municipal de desarrollo 2015-2018," Motul, Yucatán, 2016.
- [11] Heaven, S., Zhang, Y., Arnold, R., Paavola, T., Vaz, F., and Cavinato, C. (2010) Compositional Analysis Of Food Waste From Study Sites In Geographically Distinct Regions Of Europe, 56,
- [12] Hansen, T. L., Jansen, J. I. C., Spliid, H., Davidsson, Å., and Christensen, T. H. (2007) Composition of source-sorted municipal organic waste collected in Danish cities, Waste Manage. 510-518, 27
- [13] Seadi, T. A., Owen, N., Hellström, H., and Kang, H. (2013) Source separation of MSW, IEA Bioenergia. 1-50,
- [14] Melts, I., Normak, A., Nurk, L., and Heinsoo, K. (2014) Chemical Characteristics Of Biomass From Nature Conservation Management For Methane Production, Bioresour. Technol. 226-231, 167
- [15] Alibardi, L. and Cossu, R. (2015) Composition Variability Of The Organic Fraction Of Municipal Solid Waste And Effects On Hydrogen And Methane Production Potentials, Waste Manage. 147-155, 36

- [16] Triolo, J. M., Sommer, S. G., Møller, H. B., Weisbjerg, M. R., and Jiang, X. Y. (2011) A New Algorithm To Characterize Biodegradability Of Biomass During Anaerobic Digestion: Influence Of Lignin Concentration On Methane Production Potential, *Bioresour. Technol.* 9395–9402, 102
- [17] Paritosh, K., Kushwaha, S. K., Yadav, M., Pareek, N., Chawade, A., and Vivekanand, V. (2017) Food Waste to Energy: An Overview of Sustainable Approaches for Food Waste Management and Nutrient Recycling, *Biomed Res. Int.* 1-19,
- [18] SENER, "Prospectiva De Energías Renovables," 2012.
- [19] Eliyan, C. (2007) Anaerobic Digestion Of Municipal Solid Waste In Thermophilic Continuous Operation Master of Science in Environmental Engineering and Management Asian Institute of Technology Thailand
- [20] Díaz-Domínguez, Y., Fernández-Santana, E., Sárvári-Horváth, L., and Rodríguez-Muñoz, S. (2014) Hidrólisis Química Y Digestión Anaerobia Termofílica De La Fracción Orgánica De Los Residuos Sólidos Urbanos *Revista Cubana de Ingeniería.* . 1-8, 1
- [21] Forster-Carneiro, T., Pérez, M., and Romero, L. I. (2008) Thermophilic anaerobic digestion of source-sorted organic fraction of municipal solid waste, *Bioresour. Technol.* 6763-6770, 99
- [22] Dong, L., Zhenhong, Y., and Yongming, S. (2010) semi-dry mesophilic anaerobic digestion of water sorted organic fraction of municipal solid waste (WS-OFMSW), *Bioresour. Technol.* 2722-2728, 101
- [23] Zhu, M., Li, F. L., Hao, P., He, P. J., and Shao, L. M. (2009) Regulating the hydrolysis of organic wastes by micro-aeration and effluent recirculation, *Waste Manage.* 2042–2050, 29
- [24] Zhang, R., El-Mashad, H. M., Hartman, K., Wang, F., Liu, G., Choate, C., and Gamble, P. (2007) Characterization of food waste as feedstock for anaerobic digestion, *Bioresour. Technol.* 929–935, 98
- [25] Nayono, S. E. (2009) Anaerobic digestión of organic solid waste for energy production Doctor in engineering, Yogyakarta State University Yogyakarta, Indonesia.
- [26] Michele P. Giuliana D., C. M., Sergio S., Fabrizio A. (2015) Optimization of solid state anaerobic digestion of the OFMSW by digestate recirculation: A new approach, *Waste Management* 35
- [27] Fantozzi, F. and Buratti, C. (2011) Anaerobic digestion of mechanically treated OFMSW: Experimental data on biogas/methane production and residues characterization, *Bioresour. Technol.* 8885-8892, 102
- [28] Angelidaki, I., Chen, X., Cui, J., Kaparaju, P., and Ellegaard, L. (2006) Thermophilic anaerobic digestion of source-sorted organic fraction of household municipal solid waste: Start-up procedure for continuously stirred tank reactor, *ScienceDirect.* 2671-2678, 40
- [29] Hernández-Berriel, M. C., Márquez-Benavides, L., González-Pérez, D. J., and Buenrostro-Delgado, O. (2008) The effect of moisture regimes on the anaerobic degradation of municipal solid waste from Metepec (Mexico), *Waste Manage.* 514-520, 28

- [30] Ariunbaatar, J., Panico, A., Esposito, G., Pirozzi, F., and Lens, P. N. L. (2014) Pretreatment methods to enhance anaerobic digestion of organic solid waste, *Appl. Energy*. 143-156,
- [31] Carlsson, M., Lagerkvist, A., and Morgan-Sagastume, F. (2012) The Effects Of Substrate Pre-Treatment On Anaerobic Digestion Systems: A Review, *Waste Manage.* 1634–1650, 32
- [32] LA, F. (2008) Caracterización Cinética De La Degradación Anaerobia Termofílica Seca De La Forsu, Efectos De Diferentes Pretratamientos Sobre La Biodegradabilidad Del Residuo. Doctorado, Universidad de Cadiz,
- [33] Knezevic, A., Milovanovic, I., Stajic, M., Lonca, N., Brceski, I., Vukojevic, J., and Cilerdzic, J. (2013) Lignin degradation by selected fungal species, *Bioresour. Technol.* 117-123, 138
- [34] Wan, C. and Li, Y. (2011) Effectiveness of microbial pretreatment by *Ceriporiopsis subvermispora* on different biomass feedstocks, *Bioresour. Technol.* 7507-7512, 102
- [35] Fernández-Güelfo, L. A., Álvarez-Gallego, C., Márquez, D. S., and García, L. I. R. (2011) The effect of different pretreatments on biomethanation kinetics of industrial Organic Fraction of Municipal Solid Wastes (OFMSW), *Chem. Eng. J.* 411-417,
- [36] Cesaro, A. and Belgiorno, V. (2014) Pretreatment methods to improve anaerobic biodegradability of organic municipal solid waste fractions, *Chem. Eng. J.* 24-27, 240
- [37] Cuervo, L., Folch, J., and Quiroz, R. E. (2009) Lignocelulosa Como Fuente de Azúcares Para la Producción de Etanol., *Bio-Tecnología.* 1-15, 13
- [38] Hansen, T. L., Jansen, J. I. C., Davidsson, A., and Christensen, T. H. (2007) Effects Of Pretreatment Technologies On Quantity And Quality Of Sourcesorted Municipal Organic Waste For Biogas Recovery, *Waste Manage.* 398–405, 27
- [39] Hilbert, J., "Manual Para La Producción De Biogás," S/A.
- [40] Tsapekos, P., Kougias, P. G., Vasileiou, S. A., Lyberatos, G., and Angelidaki, I. (2017) Effect of micro-aeration and inoculum type on the biodegradation of lignocellulosic substrate, *Bioresource Technology* 225 (2017) 246–253. 246-253, 225
- [41] Donoso-Bravo, A., Mailier, J., Martin, C., Rodríguez, J., Aceves-Lara, C. A., and Wouwer, A. V. (2011) Model selection, identification and validation in anaerobic digestion: A review, *Water Res.* 5347-5364, 45
- [42] Li, Y., Zhang, R., Liu, G., Chen, C., He, Y., and Liu, X. (2013) Comparison Of Methane Production Potential, Biodegradability, And Kinetics Of Different Organic Substrates, *Bioresour. Technol.* 565–569, 149
- [43] Colón, J., Cadena, E., Belen-Colazo, A., Quirós, R., Sánchez, A., Font, X., and Artola, A. (2015) Toward the implementation of new regional biowaste management plans: Environmental assessment of different waste management scenarios in Catalonia, *Resour. Conserv. Recycl.* 143-155, 95
- [44] Khan, M. A., Ngo, H. H., Guo, W. S., Liu, Y., Nghiem, L. D., Hai, F. I., Deng, L. J., Wang, J., and Y.Wu (2016) Optimization of process parameters for production of volatile fatty acid, biohydrogen and methane from anaerobic digestion, *Bioresour. Technol.* 738-748, 219
- [45] Botheju, D., Samarakoon, G., Chen, C., and Bakke, R. (2010) An Experimental Study on the Effects of Oxygen in Bio-gasification – Part 2, *European Association for the Development of Renewable Energies.* 1-7, 23

- [46] Sarkar, O. and Mohan, S. V. (2017) Pre-aeration of food waste to augment acidogenic process at higher organic load: Valorizing biohydrogen, volatile fatty acids and biohythane, *Bioresour. Technol.* 68-76, 242
- [47] Xu, S., Selvam, A., and Wong, J. W. C. (2014) Optimization of micro-aeration intensity in acidogenic reactor of a two-phase anaerobic digester treating food waste, *Waste Manage.* 363–369 34
- [48] Sen, B., Aravind, J., Kanman, P., and Chyi-How, L. (2016) State of de art an future concept of food wate feremetation to bioenergy, *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 5478-557, 53
- [49] Veeken, A., Kalyuzhnyi, S., Scharff, H., and Hamelers, B. (2000) Effect of pH And VFA on Hydrolysis of Organic Solid Waste, *J. Environ. Eng.* 1-6,
- [50] Dogan, E., Dunaev, T., Erguder, T. H., and Demirer, G. N. (2008) Performance of leaching bed reactor converting the organic fraction of municipal solid waste to organic acids and alcohols, *Chemosphere* 797-803, 74
- [51] España-Gamboa, E. I. (2010) Obtención de metano mediante el tratamiento de vinazas de etanol hidratado utilizando un Reactor Anaerobio de Manto de Lodos modificado. Maestría, Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C.,
- [52] Cárdenas-Cleves, L. M., Parra-Orobio, B. A., Torres-Lozada, P., and Vásquez-Franco, C. H. (2016) Perspectivas del ensayo de Potencial Bioquímico de Metano - PBM para el control del proceso de digestión anaerobia de residuos, *ION.* 95-108, 29
- [53] Botheju, D. and Bakke, R. (2011) Oxygen Effects in Anaerobic Digestion – A Review, *The Open Waste Management Journal.* 1-19, 4
- [54] Sarkar, O., Kumar, A. N., Dahiya, S., Krishna, K. V., Yeruva, D. K., and Mohan, S. V. (2016) Regulation of acidogenic metabolism towards enhanced short chain fatty acid biosynthesis from waste: metagenomic profiling, *R. Soc. Chem.* 1-13,
- [55] Yen-Han, L., Wan-Shan, C., and Kow-Jen, D. (2010) Correlations between reduction–oxidation potential profiles and growth patterns of *Saccharomyces cerevisiae* during very-high-gravity fermentation, *Process Biochem.* 765-770, 45
- [56] Abudi, Z. N., Hu, Z., Sun, N., Xiao, B., Rajaa, N., CuixiaLiu, and Guo, D. (2016) Batch anaerobic co-digestion of OFMSW (organic fraction of municipal solid waste), TWAS (thickened waste activated sludge) and RS (rice straw): Influence of TWAS and RS pretreatment and mixing ratio, *Energy* 131-140, 107
- [57] Garcia-Peña, E. I., Parameswaran, P., Kang, D. W., Canul-Chan, M., and Krajmalnik-Brown, R. (2011) Anaerobic digestion and co-digestion processes of vegetable and fruit residues: Process and microbial ecology, *Bioresour. Technol.* 9447-9455, 102
- [58] Siegert, I. and Banks, C. (2005) The effect of volatile fatty acid additions on the anaerobic digestion of cellulose and glucose in batch reactors, *Process Biochem.* 3412-3418, 40
- [59] Lim, J. W. and Wang, J. Y. (2013) Enhanced hydrolysis and methane yield by applying microaeration pretreatment to the anaerobic co-digestion of brown water and food waste, *Waste Manage.* 813-819, 33
- [60] Zupancic, G. D. and Gril, V., "Anaerobic Treatment and Biogas Production from Organic Waste," Slovenia, 2012.
- [61] Raposo, F., Fernández, V., Rubia, M. D. I., Borja, R., Beline, F., Cavinato, C., Demirer, G., Fernández, B., Fernández, M., Frigon, J., Ganesh, R., Kaparaju, P., Koubova, J., Méndez, R., Menin, K., Peene, A., Scherer, P., Torrijos, M., Uellendahl, H., Wierinckm, I., and deWildep, V. (2011 B)) Biochemical methane

- potential (BMP) of solid organic substrates: evaluation of anaerobic biodegradability using data from an international interlaboratory study, *Technol Biotechnol* 25
- [62] Lettinga, G., Rebac, S., and Zeeman, G. (2001) Challenge Of Psychrophilic Anaerobic Wastewater Treatment, *ResearchGate*. 362-370, 19
- [63] Bouallagui, H., Haouari, O., Touhami, Y., Cheikh, R. B., Marouani, L., and Hamdi, M. (2004) Effect of temperature on the performance of an anaerobic tubular reactor treating fruit and vegetable waste, *Process Biochemistry* 39 (2004) 2143–2148. 2143-2148, 39
- [64] Young-Man, Y., Seung-Hwan, K., Kook-Sik, S., and Chang-Hyun, K. (2014) Effects of Substrate to Inoculum Ratio on the Biochemical Methane Potential of Piggery Slaughterhouse Wastes, *Asian Australas. J. Anim. Sci.* 600-607, 27
- [65] Boulanger, A., Pinet, E., Bouix, M., Bouchez, T., and Mansour, A. A. (2012) Effect of inoculum to substrate ratio (I/S) on municipal solid waste anaerobic degradation kinetics and potential, *Waste Manage.* 2258-2265, 32
- [66] Khanal, S. (2008) *Anaerobic Biotechnology*, Hawaii
- [67] Jensen, T. R., Milone, T. L., Petersen, G., and Andersen, H. R. (2017) Accelerated anaerobic hydrolysis rates under a combination of intermittent aeration and anaerobic conditions, *Water Sci Technol.* 1944-1951, 75
- [68] Chen, Y., Jay, J., Cheng, J., and Creamer, K. S. (2008) Inhibition of anaerobic process: a review. *Bioresour Technol*, *ScienceDirect*. 4044–4064, 99
- [69] Horiuchi, J., Shimizu, T., Kanno, T., and Kobayashi, M. (1999) Dynamic Behavior In Response To Ph Shift During Anaerobic Acidogenesis With A Chemostat Culture, *Biotechnology Techniques*. 155–157, 13
- [70] Siddharth, J., Shivani, J., Wolf, T., Lee., J., and Wah-Tong, Y. (2015) A comprehensive review on operating parameters and different pretreatment methodologies for anaerobic digestion of municipal solid waste, *Renewable Sustainable Energy Rev.* 142–154, 52
- [71] Li, H., Tan, F., Ke, L., Xia, D., Wang, Y., He, N., Zheng, Y., and Li, Q. (2016) Mass Balances And Distributions Of C, N, And P In The Anaerobic Digestion Of Different Substrates And Relationships Between Products And Substrates, *Chem. Eng. J.* 329-336, 287
- [72] Michele, P., Giuliana, D. I., Carlo, M., Sergio, S., and AdaniFabrizio (2015) Optimization of solid state anaerobic digestion of the OFMSW by digestate recirculation: A new approach, *Waste Manage.* 111-118, 35
- [73] Deublein, D. and Steinhauser, A. (2008) *Biogas from waste and renewable Resources: An introduction.*, Wiley-VCH., Weinheim, Alemania
- [74] Mata, J. (2003) *Fundamentals of digestión anairobic digestión process* United Kingdom
- [75] Dennis, A. and Burke, P. (2001) *Dairy Waste Anaerobic Digestion Handbook*. Option for recovering beneficial products from dairy manure, E. E. Company, Olympia Washington, EEUU
- [76] Hills, D. and Roberts, D. (1981) Anaerobic digestion of dairy manure and field crop residues, *Agricultural Wastes*. 179-189, 3
- [77] Wang, K., Yin, J., Shen, D., and Li, N. (2014) Anaerobic digestion of food waste for volatile fatty acids (VFAs) production with different types of inoculum: Effect of pH, *Bioresour. Technol.* 395-401, 161
- [78] Jagadabhi, P. S., Kaparaju, P., and Rintala, J. (2010) Effect of micro-aeration and leachate replacement on COD solubilization and VFA production during mono-

- digestion of grass-silage in one-stage leach-bed reactors, *Bioresour. Technol.* 2818-2824, 101
- [79] Angelidaki, I., Alves, M., Bolzonella, D., Borzacconi, L., Campos, J., Guwy, A. J., Kalyuzhnyi, S., Jenicek, P., and Lier, B. v. (2009) Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: a proposed protocol for batch assays, *Water Sci Technol.* 927-234, 59.5
- [80] Bolzonella, D., Innocenti, L., Pavan, P., Traverso, P., and Cecchi, F. (2003) Semi-dry thermophilic anaerobic digestion of the organic fraction of municipal solid waste: focusing on the start-up phase, *Bioresour. Technol.* 129-129, 86
- [81] Jun, D., Yong-Sheng, Z., Mei, H., and Wei-Hong, Z. (2009) Influence of alkalinity on the stabilisation of municipal solid waste in anaerobic simulated bioreactor, *J. Hazard. Mater.* 217-722, 163
- [82] Mata, A., Mac, S., and Llabrés, P. (2000) Anaerobic digestion of organic solid wastes. An overview of research achievements and perspectives, *Bioresour. Technol.* 3-16, 74
- [83] Kongjan, P. and Angelidaki, I. (2010) Extreme thermophilic biohydrogen production from wheat straw hydrolysate using mixed culture fermentation: Effect of reactor configuration, *Bioresour. Technol.* 7789-7796, 101
- [84] Karhdkar, P. P., Audic, J.-M., Faup, G. M., and Khanna, P. (1987) Sulfide and sulfate inhibition of methanogenesis, *Pergamon Journals Ltd.* 1061-1066, 21
- [85] Paula, D. and Foresti, E. (2009) Sulfide Toxicity Kinetics Of A Uasb Reactor, *Braz. J. Chem. Eng.* 669-675, 26
- [86] Fernández-Polanco, F. and Seghezzo, L., " Upflow anaerobic sludge blanket (UASB)," España, 2015.
- [87] Moller, H. B., Sommer, S. G., and Ahring, B. K. (2004) Methane productivity of manure, straw and solid fractions of manure, *Biomass Bioenergy.* 485-495, 26
- [88] Alzate-Gaviria, L. M., Pérez-Hernández, A., Nevárez-Moorillón, V. G., Rinderknecht-Seijas, N., Poggi-Varaldot, H. M., and (2003) Comparación De Dos Sistemas Anaerobios Acoplados Para La Biometanización De La Fracción Orgánica De Residuos Sólidos Urbanos, *INVERCIENCIA.* 436-442, 28
- [89] Hartmann, H. and Ahring, B. K. (2005) Anaerobic Digestion Of The Organic Fraction Of Municipal Solid Waste: Influence Of Co-Digestion With Manure, *Water Research* 1543-1552, 39
- [90] Bolzonella, D., Fatone, F., Pavan, P., and Cecchi, F. (2005) Anaerobic Fermentation of Organic Municipal Solid Wastes for the Production of Soluble Organic Compounds, *I & E. C. Research, Industrial, Engineering Chemistry Research.* 341-3418, 44
- [91] Borowski, S. (2015) Co-digestion of the hydromechanically separated organic fraction of municipal solid waste with sewage sludge, *J. Environ. Manage.* 87-94, 147
- [92] Murray, D., Haynes, K., and Tomita, M. (2011) Redox regulation in respiring *Saccharomyces cerevisiae*, *Biochim. Biophys.* 945-958, 1810
- [93] Guang, L. C., Xue, C., Yen-Han, L., and Feng-Wu, B. (2013) Redox potential control and applications in microaerobic and anaerobic fermentations, *Biotechnol Adv.* 257-265, 31
- [94] Rajeshwari, K. V., Balakrishnan, M., Kansa, A., Lata, K., and Kishore, V. V. N. (2000) State-Of-The-Art Of Anaerobic Digestion Technology For Industrial Wastewater Treatment, *Renewable Sustainable Energy Rev.* 135-156, 4

- [95] Xu, S. Y., Lam, H. P., Karthikeyan, O. P., and Wong, J. W. C. (2011) Optimization of food waste hydrolysis in leach bed coupled with methanogenic reactor: Effect of pH and bulking agent, *Bioresour. Technol.* 3702-3708, 102
- [96] Shawaqfad, M. (2014) Enhancing the Removal of Organic Matter and Nutrient from Wastewater by Using the Packed Bed Biological Reactor, *J. Environ. Prot.* 232-239, 5
- [97] Scoma, A., Bertin, L., and Fava, F. (2013) Effect Of Hydraulic Retention Time On Biohydrogen And Volatile Fatty Acids Production During Acidogenic Digestion Of Dephenolized Olive Mill Wastewaters, *Biomass Bioenergy.* 51 -58, 48
- [98] Santosh, Y., Sreekrishnan, T. R., Kohli, S., and Rana, V. (2004) Enhancement Of Biogas Production From Solid Substrates Using Different Techniques—A Review, *Bioresour. Technol.* 1-10, 95
- [99] Berglund, M. and Borjesson, P. (2006) Assessment Of Energy Performance In The Life-Cycle Of Biogas Production, *Biomass Bioenergy.* 254–266, 30
- [100] Forster-Carneiro, T., Pérez, M., and Romero, L. I. (2008) Thermophilic anaerobic digestion of source-sorted organic fraction of municipal solid waste, *ScienceDirect.* 6763-6770, 99
- [101] Carneiro, T. F., García, M. P., and García, L. I. R. (2007) Biomethanization of solid urban waste urban: Laboratory scale and pilot scale, *HOLOS Environment.* 87-104, 7
- [102] Messa, F. J. C. (2006) Diseño, Construcción Y Arranque De Un Reactor U.A.S.B. Piloto Para El Tratamiento De Lixiviados. ESPECIALIZACIÓN EN INGENIERIA AMBIENTAL – ÁREA SANITARIA MANIZALES, Universidad Nacional De Colombia,
- [103] Márquez-Vázquez, M. and Martínez-González, S. A., "Reactores Anaerobios De Flujo Ascendente," 2011.
- [104] Parawira, W., Murto, M., Read, J. S., and Mattiasson, B. (2005) Profile of hydrolases and biogas production during two-stage mesophilic anaerobic digestion of solid potato waste, *Process Biochem.* 2945-2952, 40
- [105] Dogan, E., Dunaev, T., Erguder, T. H., and Demirer, G. N. (2009) Performance of leaching bed reactor converting the organic fraction of municipal solid waste to organic acids and alcohols, *Chemosphere* 797-803, 74
- [106] Rincón, B., Borja, R., Martín, M., and Martín, A. (2009) Evaluation of the methanogenic step of a two-stage anaerobic digestion process of acidified olive mill solid residue from a previous hydrolytic–acidogenic step, *Waste Manage.* 2566-2573, 29
- [107] Campuzano, R. and González-Martínez, S. (2016) Characteristics of the organic fraction of municipal solid waste and methane production: A review, *Waste Manage.* 3-12, 54
- [108] Schievano, A., Tenca, A., Lonati, S., Manzini, E., and Adani, F. (2014) Can two-stage instead of one-stage anaerobic digestion really increase energy recovery from biomass?, *Appl. Energy.* 335-342, 124
- [109] Massanet-Nicolau, J., Dinsdale, R., Guwy, A., and Shipley, G. (2015) Utilising biohydrogen to increase methane production, energy yields and process efficiency via two stage anaerobic digestion of grass, *Bioresour. Technol.* 379-383, 189
- [110] Aslanzadeh, S., Rajendran, K., and J.Taherzadeh, M. (2014) A comparative study between single- and two-stage anaerobic digestion processes: Effects of organic loading rate and hydraulic retention time, *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 184-188, 95

- [111] Jeihanipour, A., Aslanzadeh, S., Rajendran, K., Balasubramanian, G., and J.Taherzadeh, M. (2013) High-rate biogas production from waste textiles using a two-stage process, *Renewable Energy*. 128-135, 52
- [112] Park, M. J., Jo, J. H., Park, D., Lee, D. S., and Park, J. M. (2010) Comprehensive study on a two-stage anaerobic digestion process for sequential production of hydrogen and methane from cost-effective molasses, *International journal of hydrogen energy*. 6194 - 6202, 35
- [113] Rubia, M. A. D. L., Raposo, F., Rincón, B., and Borja, R. (2009) Evaluation of the hydrolytic–acidogenic step of a two-stage mesophilic anaerobic digestion process of sunflower oil cake, *Bioresour. Technol.* 4133-4138, 100
- [114] Ariunbaatar, J., Perta, E. S. D., Panico, A., Frunzo, L., Esposito, G., Lens, P. N. L., and Pirozzi, F. (2015) Effect of ammoniacal nitrogen on one-stage and two-stage anaerobic digestion of food waste, *Waste Manage.* 388-389, 38
- [115] Yu, H. W., Samani, Z., Hanson, A., and Smith, G. (2002) Energy recovery from grass using two-phase anaerobic digestion, *Waste Manage.* 1-5, 22
- [116] Luo, G., Xie, L., Zhou, Q., and Angelidaki, I. (2011) Enhancement of bioenergy production from organic wastes by two-stage anaerobic hydrogen and methane production process, *Bioresour. Technol.* 8700-8706, 102
- [117] Lehtomaki, A., Huttunen, S., Lehtinen, T. M., and Rintala, J. A. (2008) Anaerobic digestion of grass silage in batch leach bed processes for methane production, *Bioresour. Technol.* 3267-3278, 99
- [118] Cysneiros, D., and, C. B., and Heave, S. (2008) Anaerobic digestion of maize in coupled leach-bed and anaerobic filter reactors, *Water Sci Technol.* 1505-1512,
- [119] Nguyen, P. H. L., Kuruparan, P., and Visvanathan, C. (2007) Anaerobic digestion of municipal solid waste as a treatment prior to landfill, *Bioresour. Technol.* 380-387, 98
- [120] Pinto, P., Gertner, P., Montalvo, S., Guerrero, L., and C.Huiliñir (2015) Efecto Simultáneo de la Micro-Aireación y Suplementación de Cenizas Volantes Sobre la Digestión Anaerobia de Lodos Residuales, *Research Gate* 1-7,
- [121] Charles, W., Walker, L., and Cord-Ruwisch, R. (2009) Effect of pre-aeration and inoculum on the start-up of batch thermophilic anaerobic digestion of municipal solid waste, *Bioresour Technol*, 2329-2335, 100
- [122] Johansen, J. and Bakke, R. (2006) Enhancing hydrolysis with microaeration, *Water Sci Technol.* 53
- [123] Díaz, I., Donoso-Bravo, A., and Fdz-Polanco, M. (2011) Effect of microaerobic conditions on the degradation kinetics of cellulose, *Bioresour. Technol.* 10139-10142, 102
- [124] Jagadabhi, P. S., Kaparaju, P., and Rintala, J. (2010) Effect of micro-aeration and leachate replacement on COD solubilization and VFA production during mono-digestion of grass-silage in one-stage leach-bed reactors, *Bioresour. Technol.* 2818-2824, 101
- [125] Bohn, I., Bjornsson, L., and Mattiasson, B. (2007) The energy balance in farm scale anaerobic digestion of crop residues at 11–37 °C, *Process Biochem.* 57-64, 42
- [126] Nasrullah, M., Vainikka, P., Hannula, J., and Hurme, M. (2015) Elemental balance of SRF production process: Solid recovered fuel produced from municipal solid waste, *Fuel*. 1-11, 145
- [127] Lindorfer, H., Kirchmayr, R., and Braun, R. (2006) Self-heating of anaerobic digesters using energy crops, *Water Sci. Technol.* 53

- [128] Hoh, C. Y. and Cord-Ruwish, R. (1996) A practical kinetic model that considers endproduct inhibition in anaerobic digestion processes by including the equilibrium, *Biotechnol. Bioeng.* 597-604, 51
- [129] Alcántara, C., García-Encina, P. A., and Muñoz, R. (2013) Evaluation of mass and energy balances in the integrated microalgae growth-anaerobic digestion process, *Chem. Eng. J.*, 238-246, 221
- [130] Ocotero, V. M. (2015) *Lecturas de apoyo para comprender mejor la Química*,
- [131] Abbas, M., Jardani, A., Ahmed, A. S. S., Revil, A., Brigaud, L., Bégassat, P., and Dupont, J. P. (2017) Redox potential distribution of an organic-rich contaminated site obtained by the inversion of self-potential data, *J. Hydrol.* 1-45,
- [132] Varnero, M., "Manual de Biogas, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, Santiago de Chile," Santiago de Chile, 2011.
- [133] Lim J., J.-Y. W. (2013) Enhanced hydrolysis and methane yield by applying microaeration pretreatment to the anaerobic co-digestion of brown water and food waste, *Waste Manage.* 33
- [134] Jun Yin J., Y. X., Zhang Y., Shen D., Wanga M., Long Y., Chen T. (2016) Enhancement of acidogenic fermentation for volatile fatty acid production from food waste: Effect of redox potential and inoculum, *Bioresource Technology* 216
- [135] Chen, S., Amelia-Elena, R., Liu, F., Philips, J., Woodard, T. L., Nevin, K. P., and Lovley, D. R. (2014) Carbon cloth stimulates direct interspecies electron transfer in syntrophic co-cultures, *Bioresour. Technol.* 82-86, 173
- [136] Morita, M., Malvankar, N. S., Franks, A. E., Summers, Z. M., Giloteaux, L., Rotaru, A. E., Rotaru, C., and Lovley, D. R. (2019) Potential for Direct Interspecies Electron Transfer in Methanogenic Wastewater Digester Aggregates, *Mbio.* 1-8,
- [137] Park, J.-H., Kang, H.-J., Park, K.-H., and Park, H.-D. (2018) Direct interspecies electron transfer via conductive materials: A perspective for anaerobic digestion applications, *Bioresour. Technol.* 300-311, 254
- [138] Stams, A. J. M. and Plugge, C. M. (2009) Electron transfer in syntrophic communities of anaerobic bacteria and archaea, *Nature.* 568-577, 7
- [139] Sasaki, K., Morita, M., Hirano, S. I., Sasaki, D., Ohmura, N., and Igarashi, Y. (2010) Efficient degradation of rice straw in the reactors packed by carbon fiber textiles, *Appl Microbiol Biotechnol* 1579-1586, 87
- [140] Hoon, P. J., Hun, P. J., Hoon, J. S., Jun, S. W., Hyun, J. K., and Deung, P. H. (2018) Metagenomic insight into methanogenic reactor promoting direct interspecies electron transfer via granular activated carbon, *Bioresour. Technol.* 414-422, 259
- [141] Zhang, B., He, P.-J., Lü, F., Li-Ming, S., and Wang, P. (2007) Extracellular enzyme activities during regulated hydrolysis of high-solid organic wastes, *Water Research.* 4468-4478, 41
- [142] Alibardi, L. and Cossu, R. (2016) Effects of carbohydrate, protein and lipid content of organic waste on hydrogen production and fermentation products, *Waste Manage.* 69-77, 47
- [143] Browne, J. D. (2014) *Biomethane Production From Food Waste And Organic Residues.* Doctorado, University College Cork, Irlanda.
- [144] APHA (2005) *Standard Methods for the Examination of Water Wastewater*, Washinton, DC., USA.
- [145] Purser, B. J. J., Thai, S. M., Fritz, T., Esteves, S. R., Dindale, R. M., and Guwy, A. J. (2014) An improved titration model reducing over estimation of total volatile fatty

- acids in anaerobic digestion of energy crop, animal slurry and food, waste, water research. 62-70, 61
- [146] España-Gamboa, E., Domínguez-Maldonado, J. A., Tapia-Tussell, R., Chale-Canul, J. S., and Alzate-Gaviria, L. (2017) Corn industrial wastewater (nejayote): a promising substrate in Mexico for methane production in a coupled system (APCR-UASB), *Environ Sci Pollut Res.* 1-11, 25
- [147] Milquez-Sanabria, H., Blanco-Cocom, L., and Alzate-Gaviria, L. (2016) A fast linear predictive adaptive model of packed bed coupled with UASB reactor treating onion waste to produce biofuel, *Microb. Cell Factories.* 1-10,
- [148] Fernández-Rodríguez, J., Pérez., M., and Romero., L. I. (2014) Dry thermophilic anaerobic digestion of the organic fraction of municipal solid wastes: Solid retention time optimization, *Chem. Eng. J.* 435-440, 251
- [149] Hina, R., Ahmad, N., Abbas, F., Bukhari, I. H., Yasar, A., Ali, S., Yasmeen, T., and Riaz, M. (2015) Start-Up Of Uasb Reactors Treating Municipal Wastewater And Effect Of Temperature/Sludge Age And Hydraulic Retention Time (Hrt) On Its Performance, *Arab. J. Chem.* 780–786, 8
- [150] Yin, J., Yu, X., Zhang, Y., Shen, D., Wang, M., Long, Y., and Chen, T. (2016) Enhancement of acidogenic fermentation for volatile fatty acid production from food waste: Effect of redox potential and inoculum, *Bioresour. Technol.* 996-1003, 216
- [151] Latif, M. A., Ghufran, R., Wahid, Z. A., and Ahmad, A. (2011) Integrated application of upflow anaerobic sludge blanket reactor for the treatment of wastewaters, *Water Research.* 4683-4699, 45
- [152] Ahring, B. K., Angelidaki, I., Dolfig, J., Euegaard, L., Gavala, H. N., Haagensen, F., Mogensen, A. S., Lyberatos, G., Pind, P. E., Schmidt, E., Skiadas, I. V., and Stamatelatou, K. (2003) *Advances in Biochemical Engineering / Biotechnology*, Board,
- [153] Martín-González, L., Font, X., and Vicent, T. (2013) Alkalinity ratios to identify process imbalances in anaerobic digesters treating source-sorted organic fraction of municipal wastes, *Biochem. Eng. J.* 1-5, 76
- [154] Pezzolla, D., Maria, F. D., Zadra, C., Massaccesi, L., Sordi, A., and Gigliotti, G. (2017) Optimization of solid-state anaerobic digestion through the percolate recirculation, *Biomass Bioenergy.* 112-118, 96
- [155] Ji, C., Kong, C.-X., Zi-Li, M., and Li, J. (2017) A Review of the Anaerobic Digestion of Fruit and Vegetable Waste, *Biochem Biotechnol.* 906-922, 183
- [156] Cysneiros, D., J.Banks, C., Heaven, S., and G.Karatzas, K. A. (2012) The effect of pH control and hydraulic flush on hydrolysis and Volatile Fatty Acids (VFA) production and profile in anaerobic leach bed reactors digesting a high solids content substrate, *Bioresour. Technol.* 263-271, 123
- [157] Cirne, D. G., Agbor, V. B., and Bjornsson, L. (2008) Enhanced solubilisation of the residual fraction of municipal solid waste, *Waf. Sci. Tech.* 995-1002, 57
- [158] Jeongsik, K., Chulhwan, P., Tak-Hyun, K., Lee, M., Kim, S., Seung-Wook, K., and Lee, J. (2003) Effects of Various Pretreatments for Enhanced Anaerobic Digestion with Waste Activated Sludge, *J. Biosci. Bioeng.* 271-275, 95
- [159] Alibardi, L. and Cossu, R. (2015) Composition variability of the organic fraction of municipal solid waste and effects on hydrogen and methane production potentials, *Waste Manage.* 147-155, 36
- [160] Martín, L., Potts, L., and Reeves, A. (1997) Small -scale simulati3n of waste degradati3n in landfills *Biotechnol Lett.* 19

- [161] Martínez-Sepulveda, A., Pérez-Junco, M., and Reinaldo-Casallas, M., "Producción de biocombustibles en Colombia a partir de fuentes no convencionales," Universidad Pontificia Bolivariana, Facultad de Ingeniería, Colombia, 2015.
- [162] Garcia, E., Parameswaran, P., Kang, D., Canul, M., and Krajmalnik, R. (2011) Anaerobic digestion and co-digestion processes of vegetable and fruit residues: Process and microbial ecology, *Bioresource Technology* 102
- [163] Buffiere, P., Loisel, D., Bernet, N., and Delgenes, J. P. (2006) Towards new indicators for the prediction of solid waste anaerobic digestion properties, *Water Sci Technol.* 233-241, 53
- [164] Xu, Z., Zhao, M., Miao, H., Huang, Z., Gao, S., and Ruan, W. (2014) In situ volatile fatty acids influence biogas generation from kitchen wastes by anaerobic digestion, *Bioresour. Technol.* 186-192, 163
- [165] Lindmark, J., Eriksson, P., and Thorin, E. (2014) The effects of different mixing intensities during anaerobic digestion of the organic fraction of municipal solid waste, *Waste Manage.* 1391-1397, 34
- [166] Zhang, C., Su, H., and Tan, T. (2013) Batch and semi-continuous anaerobic digestion of food waste in a dual solid-liquid system, *Bioresour. Technol.* 10-16, 145
- [167] Li, W., Kai-Chee, L., Zhang, J., WahTong, Y., and Dai, Y. (2018) Two-stage anaerobic digestion of food waste and horticultural waste in high-solid system, *Appl. Energy.* 400-408, 209
- [168] Kuczman, O., Gueri, M. V. D., Souza, S. N. M. D., Schirmer, W. N., Alves, H. J., Secco, D., Buratto, W. G., Ribeiro, C. B., and Hernandez, F. B. (2018) Food waste anaerobic digestion of a popular restaurant in Southern Brazil, *J. Cleaner Prod.* 382-389, 196
- [169] Jiang, J., Zhang, Y., Li, K., Wang, Q., Gong, C., and Li, M. (2013) Volatile fatty acid production from food waste: Effects of pH, temperature, and organic loading rate, *Bioresour. Technol.* 525-530, 143
- [170] Li, L., Peng, X., Wang, X., and Wu, D. (2018) Anaerobic digestion of food waste: A review focusing on process stability, *Bioresour. Technol.* 20-28, 248
- [171] Raposo, F., Rubia, M. A. D. I., Fernández-Cegri, V., and Borja, R. (2011) Anaerobic Digestion Of Solid Organic Substrates In Batch Mode: An Overview Relating To Methane Yields And Experimental Procedures, *Renewable Sustainable Energy Rev.* 861-877, 16
- [172] Lim, J. W., Chiam, J. A., and Jing-Yuan, W. (2014) Microbial community structure reveals how microaeration improves fermentation during anaerobic co-digestion of brown water and food waste, *Bioresour. Technol.* 132-138, 171
- [173] Shan-Fei, F., Wang, F., Xiao-Shuang, S., and Guo, G. R.-B. R. (2016) Impacts of microaeration on the anaerobic digestion of corn straw and the microbial community structure, *Chem. Eng. J.* 523-528, 287
- [174] Zhang, B., Zhang, B., He, P.-J., Lü, F., Li-Ming, S., and Wang, P. (2007) Extracellular enzyme activities during regulated hydrolysis of high-solid organic wastes, *Water Research.* 4468-4478, 41
- [175] Zhang, Y.-H. P. and Lynd, L. R. (2004) Toward an Aggregated Understanding of Enzymatic Hydrolysis of Cellulose: Noncomplexed cellulase Systems, *Wiley Inter Science.* 1-28,
- [176] Lynd, L. R., Weimer, P. J., Zyl, W. H. v., and Pretorius, I. S. (2002) Microbial Cellulose Utilization: Fundamentals and Biotechnology, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 506-577, 66

- [177] Dollhofer, V., Podmirseg, S. M., Callaghan, T. M., Griffith, G. W., and Fliegerová, K. (2015) Anaerobic Fungi and Their Potential for Biogas Production, *Biogas Science and technology*. 41-61, 200
- [178] Astolfi, V., Astolfi, A. L., Mazutti, M. A., Rigo, E., Luccio, M. D., Camargo, A. F., Dalstra, C., Kubeneck, S., Fongaro, G., and Treichel, H. (2019) Cellulolytic enzyme production from agricultural residues for biofuel purpose on circular economy approach, *Bioprocess. Biosyst. Eng.* 1-9,
- [179] Demirel, B. and Yenigun, O. (2002) Two-phase anaerobic digestion processes: a review, *technology and biotechnology*. 743-755, 77
- [180] Agdag, O. N. and Sponza, D. T. (2012) Effect of Aeration on the Performance of a Simulated Landfilling Reactor Stabilizing Municipal Solid Wastes, *J. Environ. Sci. Health*. 1-20, 39
- [181] Liu, R., Liang, L., Jiang, M., Ma, J., Chen, K., Honghua Jia, Wei, P., and Ouyang, P. (2014) Effects of redox potential control on succinic acid production by engineered *Escherichia coli* under anaerobic conditions, *Process Biochem.* 740-744, 49
- [182] Lettinga, O. and Pol, L. W. H. (1991) UASB Process design for various types of wastewaters, *Waf. Sci. Tech.* 87-107, 24
- [183] Poggi-Varaldo, H. M., Alzate-Gaviria, L. M., Pérez-Hernández, A., Nevarez-Morillón, V. G., and Rinderknecht-Seijas, N. (2005) A side-by-side comparison of two systems of sequencing coupled reactors for anaerobic digestion of the organic fraction of municipal solid waste, *Waste Manage. & Research*. 270-280, 23
- [184] Torres-Llozada, P., Cajigas-Ceron, A. A., and Pérez-Vidal, A. (2005) Importancia del pH y la Alcalinidad en el Tratamiento Anaerobio de las Aguas Residuales del Proceso de Extracción de Almidón de Yuca, *Research Gate* 243-248, 27
- [185] Jun, D., Yong-Sheng, Z., Mei, H., and Wei-Hong, Z. (2009) Influence of alkalinity on the stabilization of municipal solid waste in anaerobic simulated bioreactor, *J. Hazard. Mater.* 717-722, 163
- [186] Gao, Y., Kong, X., Xing, T., Sun, Y., Zhang, Y., Luo, X., and Sun, Y. (2018) Digestion Performance and Microbial Metabolic Mechanism in Thermophilic and Mesophilic Anaerobic Digesters Exposed to Elevated Loadings of Organic Fraction of Municipal Solid Waste, *Energies*. 1-12,
- [187] Cirne, D. G., Lehtoma, A., Bjornsson, L., and Blackall, L. L. (2006) Hydrolysis and microbial community analyses in two-stage anaerobic digestion of energy crops, *J. Appl. Microbiol.* 1-12, 103
- [188] Stabnikova, O., Xue-Yan, L., and Jing-Yuan, W. (2008) Anaerobic digestion of food waste in a hybrid anaerobic solid-liquid system with leachate recirculation in an acidogenic reactor, *Biochem. Eng. J.* 198-201, 41
- [189] Li, L., He, Q., Y. Wei, He, Q., and Peng, X. (2014) Early warning indicators for monitoring the process failure of anaerobic digestion system of food waste, *Bioresour. Technol* 171
- [190] López-López, A., León-Becerril, E., Rosales-Contreras, M. E., and Villegas-García, E. (2015) Influence of alkalinity and VFAs on the performance of an UASB reactor with recirculation for the treatment of Tequila vinasses, *Environ. Technol.* 2468-2476, 36
- [191] Shahriari, H., Warith, M., Hamoda, M., and Kennedy, K. (2012) Effect of leachate recirculation on mesophilic anaerobic digestion of food waste, *Waste Manage.* 400-403, 32

- [192] Zuo, Z., Wub, S., Zhang, W., and Dong, R. (2014) Performance of two-stage vegetable waste anaerobic digestion depending on varying recirculation rates, *Bioresour. Technol.* 266-272, 162
- [193] Schievano, A., Tenca, A., Scaglia, B., Merlino, G., Rizzi, A., Daffonchio, D., Oberti, R., and Adani, F. (2012) Two-Stage vs Single-Stage Thermophilic Anaerobic Digestion: Comparison of Energy Production and Biodegradation Efficiencies, *American Chemical Society.* 8502-8510, 46
- [194] Cabbai, V., Ballico, M., Aneggi, E., and Goi, D. (2013) Bmp Tests Of Source Selected Ofmsw To Evaluate Anaerobic Codigestion With Sewage sludge, *Waste Manage.* 1-7,
- [195] Leite, W. R. M., Gottardo, M., Pavan, P., Filho, P. B., and Bolzonella, D. (2016) Performance and energy aspects of single and two phase thermophilic anaerobic digestion of waste activated sludge, *Renewable Energy.* 1324-1331, 86