



Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C.

Posgrado en ciencias en Energía Renovable

DIGESTIÓN ANAEROBIA EN DOS FASES DE LOS
RESIDUOS DE CEBOLLA BLANCA (*Allium cepa*) Y
DESARROLLO DE UN MODELO LINEAL
ADAPTATIVO PREDICTIVO

Tesis que presenta

M.I. HARVEY ANDRÉS MILQUEZ SANABRIA

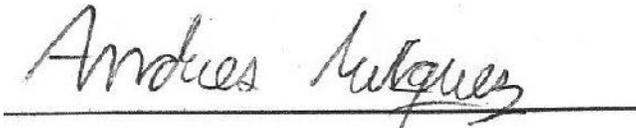
En opción al título de

DOCTOR EN CIENCIAS EN ENERGÍA
RENOVABLE

Mérida, Yucatán. Enero de 2017

DECLARACIÓN DE PROPIEDAD

Declaro que la información contenida en la sección de Materiales y Métodos Experimentales, los Resultados y Discusión de este documento proviene de las actividades de experimentación realizadas durante el período que se me asignó para desarrollar mi trabajo de tesis, en las Unidades y Laboratorios del Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C., y que a razón de lo anterior y en contraprestación de los servicios educativos o de apoyo que me fueron brindados, dicha información, en términos de la Ley Federal del Derecho de Autor y la Ley de la Propiedad Industrial, le pertenece patrimonialmente a dicho Centro de Investigación. Por otra parte, en virtud de lo ya manifestado, reconozco que de igual manera los productos intelectuales o desarrollos tecnológicos que deriven o pudieran derivar de lo correspondiente a dicha información, le pertenecen patrimonialmente al Centro de Investigación Científica, A. C., y en el mismo tenor, reconozco que si derivaren de este trabajo productos intelectuales o desarrollos tecnológicos, en lo especial, estos se registrarán en todo caso por lo dispuesto por la Ley Federal del Derecho de Autor y la Ley de la Propiedad Industrial, en el tenor de lo expuesto en la presente Declaración.



Harvey Andrés Milquez Sanabria

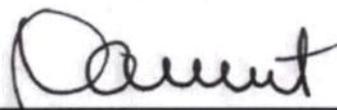
CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA DE YUCATÁN, A. C.
POSGRADO EN CIENCIAS EN ENERGÍA RENOVABLE



RECONOCIMIENTO

Por medio de la presente, hago constar que el trabajo de tesis de **Harvey Andrés Milquez Sanabria** titulado **Digestión anaerobia en dos fases de los residuos de cebolla blanca (*allium cepa*) y desarrollo de un modelo lineal adaptativo predictivo** fue realizado en la Unidad de Energía Renovable, en la línea de investigación Bioenergía en el laboratorio de Bioreactores del Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C. bajo la dirección de la Dra. Liliana Alzate Gaviria perteneciente al Programa de Posgrado en Ciencias en Energía Renovables, del Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C.

Atentamente



Dr. Manuel Martínez Estévez

Director de Docencia

Mérida, Yucatán, México, a Enero 11 de 2017.

AGRADECIMIENTOS

A CONACYT e IICA por la beca otorgada número 372178.

Al Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C. (CICY) y Unidad de Energía Renovable por la disposición de sus instalaciones y equipos.

A la Dra. Liliana Alzate Gaviria, por la dirección y asesoría brindada en la realización de este trabajo, la confianza depositada, la oportunidad de trabajar y aprender de ella a lo largo de estos años.

Al Dr. Jeremy Thomason por su colaboración, asesoría y aportes.

A mis tutores, Dra. Galdy Hernández y Dr. Luis Felipe Barahona, por sus valiosas aportaciones.

A mis revisores, Dr. German Giacoman Vallejos y Dr. Jorge Humberto Ramírez Prado por tomarse el tiempo y paciencia de atender este trabajo.

Al MSc. Jorge Domínguez por sus valiosos conocimientos, apoyo técnico y colaboración en general.

A los técnicos Tanit Toledano, Enrique Escobedo y Gustavo Martínez por su apoyo técnico.

A mis profesores, por abrir mi percepción del panorama científico y motivarme a emprender nuevos retos.

A mis compañeros de generación y de laboratorio por su comprensión, amistad y apoyo.

A Paola Zuluaga por su amable ayuda con las imágenes.

DEDICATORIA

Iniciare mi dedicatoria con el pasado, mi papa y mi mama siempre fueron los que me apoyaron para llegar a donde estoy, gracias a ellos por todo su amor y apoyo. Mi presente eres tú, Linna, gracias a ti pude lograr este gran sueño, y aunque muchas veces complicado supiste ayudarme para salir adelante. Y por último a mis tres hijos, Pipe, Alejo Vale, ustedes son mi futuro y verlos todos los días ha sido la mejor recompensa que tendré.

Índice

RESUMEN.....	10
ABSTRACT.....	11
INTRODUCCIÓN.....	12
CAPÍTULO 1. ANTECEDENTES	15
1.1 Caracterización de la cebolla blanca (<i>Allium cepa.</i>).....	15
1.2 Digestión Anaerobia	16
1.2.1 Temperatura del digestor anaerobio	18
1.2.2 pH.....	20
1.2.3 Amonio libre.....	20
1.2.4 Ácidos grasos volátiles (AGV).....	22
1.2.5 Concentración de sólidos totales y volátiles	23
1.2.6 Tasa de Carga Orgánica.....	24
1.3. Digestión anaerobia en dos fases.....	25
1.4 Pretratamiento químico	27
1.5 Digestión anaerobia de cebolla blanca	28
1.6 Modelamiento Matemático	31
HIPÓTESIS	34
OBJETIVOS	35
CAPÍTULO 2. METODOLOGÍA	36
2.1 Recolección y caracterización de los residuos sólidos de cebolla Blanca.....	36
2.2 Condiciones de pretratamiento químico	37
2.3 Construcción de los reactores	37
2.3.1 Reactor empacado o de hidrólisis	37
2.3.2 Reactor UASB	34
2.4 Aclimatación Reactor UASB	40
2.5 Modelo lineal adaptativo predictivo.....	42
CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	45
3.1 Caracterización de los residuos de cebolla blanca (<i>Allium cepa.</i>).....	45
3.2 Pretratamiento químico	46
3.3 Aclimatación del Reactor UASB	48
3.4 Reactor empacado con Residuos de Cebolla.....	57

3.4.1 Reactor empacado con inóculo.....	57
3.4.2 Reactor empacado con H ₂ SO ₄ como pretratamiento.....	64
3.4.3 Reactor empacado con H ₂ SO ₄ como pretratamiento acoplado a UASB.....	70
3.5 Desempeño reactor UASB acoplado con reactor empacado.....	78
3.6 Modelo lineal adaptativo predictivo.....	88
CONCLUSIONES.....	94
PERSPECTIVAS.....	96
BIBLIOGRAFÍA.....	97

Listado de Tablas

	Pág.
Tabla 1. Composición de la cebolla blanca.....	15
Tabla 2. Modelos matemáticos aplicados a la digestión anaerobia.....	32
Tabla 3. Propiedades analizadas para la caracterización de los residuos de cebolla blanca.....	36
Tabla 4. Condiciones del pretratamiento de residuos de cebolla blanca.....	37
Tabla 5. Métodos utilizados para la determinación de las variables evaluadas.....	41
Tabla 6. Características de los residuos de cebolla blanca y comparación con otros autores.....	45
Tabla 7. Comparación de porcentajes de solubilización actual y otros estudios.....	46
Tabla 8. Comparación del desempeño de varios reactores UASB.....	55
Tabla 9. Desempeño de reactores empacados con y sin pretratamiento acoplado a reactor anaerobio.....	78
Tabla 10. Comparación del desempeño de diferentes sistemas de digestión anaerobia en dos fases.....	86
Tabla 11. Área bajo la curva valores experimentales con relación a los valores del modelo.....	88
Tabla 12. Comparación entre varios modelos aplicados a la digestión anaerobia...	92

Listado de Figuras

	Pág.
Figura 1. Interacciones microbianas en la digestión anaerobia.....	9
Figura 2. Reactor empacado.....	38
Figura 3. Reactor UASB. (a) Vista externa. (b) Esquema interno.....	40
Figura 4. Planteamiento experimental del modelo MLAP.....	43
Figura 5. Desempeño de la aclimatación del reactor UASB. (a) pH, (b) AGV y Alcalinidad, (c) DQO, (d) nitrógeno total y amoniacal, (e) Volumen gas producido y (f) Porcentaje de metano generado.....	51
Figura 6. Desempeño del reactor empacado. (a) pH, (b) AGV, (c) DQO, (d) AGV por componente, (e) alcalinidad, (f) nitrógeno total y amoniacal, (g) Volumen de gas producido y (h) Porcentaje de metano generado.....	61
Figura 7. Desempeño del reactor empacado con pretratamiento con H ₂ SO ₄ . (a) pH, (b) AGV, (c) DQO, (d) Alcalinidad, (e) nitrógeno total y amoniacal, (f) Volumen de gas producido y (g) Porcentaje de metano generado.....	68
Figura 8. Desempeño del reactor empacado con H ₂ SO ₄ como pretratamiento acoplado a UASB. (a) pH, (b) AGV, (c) DQO, (d) Alcalinidad, (e) nitrógeno total y amoniacal, (f) Volumen de gas producido y (g) Porcentaje de metano generado.....	75
Figura 9. Desempeño del reactor UASB acoplado con el reactor empacado. (a) pH, (b) AGV, (c) DQO, (d) Alcalinidad, (e) nitrógeno total y B, (f) Volumen de gas producido y (g) Porcentaje de metano generado.....	83
Figura 10. Modelo matemático lineal adaptativo predictivo. (a) pH, (b) AGV, (c) DQO, (d) nitrógeno total y amoniacal, (e) alcalinidad y (f) Volumen de biogás.....	91

RESUMEN

Los desechos agroindustriales son una fuente de energía para diferentes industrias. Sin embargo, su aplicación no ha llegado a las pequeñas industrias. Las actividades de investigación anteriores y actuales realizadas en la fase acidogénica de los procesos de digestión anaerobia en dos fases tratan particularmente con la optimización del proceso de los reactores de fase ácida que operan con una amplia variedad de sustratos, tanto de naturaleza soluble como compleja. Se han desarrollado modelos matemáticos para la digestión anaerobia con el objetivo de comprender y mejorar el funcionamiento eficiente del proceso. En la actualidad, se han desarrollado modelos lineales con las ventajas de requerir menos datos, predecir el comportamiento futuro y actualizar cuando se dispone de un nuevo conjunto de datos. El objetivo de esta investigación fue contribuir a la reducción de residuos sólidos orgánicos, generar biogás y desarrollar un modelo matemático simple pero preciso para predecir el comportamiento del reactor UASB.

El sistema se mantuvo separado durante 14 días durante los cuales las bacterias hidrolíticas y acetogénicas destruyeron residuos de cebolla, produjeron y acumularon ácidos grasos volátiles. En este día, se acoplaron dos reactores y el sistema continuó durante 16 días más. Los rendimientos de biogás y metano y la reducción de sólidos volátiles fueron $0,6 \pm 0,05 \text{ m}^3 (\text{kg VS}_{\text{removido}})^{-1}$, $0,43 \pm 0,06 \text{ m}^3 (\text{kg VS}_{\text{removido}})^{-1}$ y $83,5 \pm 9,8\%$, respectivamente. La aplicación del modelo mostró una buena predicción de todos los parámetros del proceso definidos; El error máximo entre el valor experimental y el predicho fue de 1,84% para el perfil de alcalinidad.

Se determinó un modelo adaptativo predictivo lineal para la digestión anaerobia de residuos de cebolla en un proceso de dos etapas en condiciones alimentadas por lotes. La tasa de carga orgánica (OLR) se mantuvo constante para toda la operación, modificando la alimentación del reactor de hidrólisis de efluentes al reactor UASB. Esta condición evita la intoxicación del reactor UASB y también limita la adición de tampón externo.

ABSTRACT

Agro-industrial wastes are an energy source for different industries. However, its application has not reached small industries. Previous and current research activities performed on the acidogenic phase of two-phase anaerobic digestion processes deal particularly with process optimization of the acid-phase reactors operating with a wide variety of substrates, both soluble and complex in nature. Mathematical models for anaerobic digestion have been developed to understand and improve the efficient operation of the process. At present, lineal models with the advantages of requiring less data, predicting future behavior and updating when a new set of data becomes available have been developed. The aim of this research was to contribute to the reduction of organic solid waste, generate biogas and develop a simple but accurate mathematical model to predict the behavior of the UASB reactor.

The system was maintained separate for 14 days during which hydrolytic and acetogenic bacteria broke down onion waste, produced and accumulated volatile fatty acids. On this day, two reactors were coupled and the system continued for 16 days more. The biogas and methane yields and volatile solid reduction were $0.6 \pm 0.05 \text{ m}^3 (\text{kg VS}_{\text{removed}})^{-1}$, $0.43 \pm 0.06 \text{ m}^3 (\text{kg VS}_{\text{removed}})^{-1}$ and $83.5 \pm 9.8 \%$, respectively. The model application showed a good prediction of all process parameters defined; maximum error between experimental and predicted value was 1.84 % for alkalinity profile.

A linear predictive adaptive model for anaerobic digestion of onion waste in a two-stage process was determined under batch-fed condition. Organic load rate (OLR) was maintained constant for the entire operation, modifying effluent hydrolysis reactor feed to UASB reactor. This condition avoids intoxication of UASB reactor and also limits external buffer addition

INTRODUCCIÓN

Para el año 2011 la producción mundial de cebolla fue superior a los 4.7 billones de toneladas, el principal productor fue China, México se ubicó en el puesto 13 con 77 millones de toneladas y Colombia en el puesto 59 con 170000 toneladas [1]. Machado y Villamizar evaluaron la cantidad y diversidad de residuos agrícolas generados durante la comercialización en la central de Abastos más grande de Colombia de los siguientes seis productos: mazorca, coliflor, rábano, ajo, cebolla blanca y yuca. La cantidad promedio de cebolla blanca que ingresó al centro de acopio fue 801.9 toneladas/mes, de la cual el 33 % son hojas y el restante 67 % es el producto que se comercializa, lo que indica que existe una problemática reflejada en los volúmenes de residuos de cebolla entregados a la compañía prestadora del servicio de aseo, por un lado los costos asociados al transporte y gestión y por otro lado la disposición final de dichos residuos en el relleno sanitario de la ciudad. El peso de los residuos de cebolla blanca, de acuerdo a los autores, fue de 224.7 toneladas al mes, equivalente al 9.93 % del peso total de producto que ingresa a la central de abastos [2]. Las prácticas agrícolas modernas, la presión de los medios de producción, el avance tecnológico, y el aumento de la población, han provocado una amplia contaminación agrícola, entendida como los desechos sólidos o líquidos, derivados de pesticidas, fertilizantes y sobrantes de forrajes. Este proceso de contaminación provoca degradación del ecosistema, la tierra y el ambiente, debido a los subproductos agrícolas [3-5].

Diversos estudios se han realizado con la finalidad de utilizar los residuos agroindustriales y su incorporación a alguna cadena productiva. Santillana y Moreno presentaron los resultados del uso de residuos vegetales para la obtención de etanol. Los autores indican que es factible obtener 40 L de etanol por tonelada de residuo vegetal, mediante hidrólisis ácida con ácido sulfúrico [6]. Martínez *et al.*, evaluaron la factibilidad de utilizar los residuos no comercializables de la cebolla blanca para la producción de abono orgánico o compost utilizando diferentes mezclas de estiércol y alfalfa, como una solución al problema de los residuos no comercializables que actualmente son dispuestos en rellenos sanitarios o incinerados [7]. Se han utilizado los residuos de cebolla larga (*Allium fistulosum* L.) junto con gallinaza, *Elodea brasílica* y cascarilla de arroz, para preparar un compost y brindar una alternativa a dichos residuos agroindustriales. Se utilizaron

diferentes composiciones de cada materia prima, encontrando que el compostaje es una alternativa viable y segura [8]. Por otro lado, los residuos de cebolla blanca son una fuente de antioxidantes naturales, los cuales pueden ser recuperados y utilizados en la industria alimenticia y farmacéutica. Jin *et al.*, estudiaron la extracción de quercetina para su uso como antioxidante natural [9].

La digestión anaerobia es uno de los procesos biológicos más antiguos empleados por la humanidad, ya sea para la obtención de alimentos y bebidas, como para el tratamiento de residuos orgánicos y la recuperación de energía [10]. El proceso de digestión anaerobia se puede considerar como un conjunto de reacciones en serie y en paralelo. En serie se pueden analizar en función de la producción de metano, debido a que las reacciones de hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis se realizan en ese orden con el fin de obtener el biocombustible. Se pueden plantear las reacciones en paralelo en el análisis correspondiente al sustrato.

Mao *et al.*, indican que los principales factores que afectan la eficiencia de la digestión anaerobia son: temperatura, pH, relación carbono/nitrógeno, tasa de carga orgánica, tiempo de retención, tipo de reactor, entre otros. Dichos factores son cruciales y afectan la eficiencia del proceso de digestión anaerobia, puesto que tienen un rol preponderante en la producción de biogás y determinan las condiciones metabólicas para el crecimiento de los microorganismos [11].

Para el proceso de digestión anaerobia los primeros modelos matemáticos fueron motivados por la necesidad de una operación eficiente en los sistemas anaerobios en la década de 1970, cuyo objetivo era analizar y extrapolar a diferentes sustratos y modificar condiciones de operación del proceso [12]. En términos generales, un modelo matemático es la representación de un fenómeno físico, mediante el cual se busca obtener: conocimiento más detallado del fenómeno, posibilidad de extrapolar condiciones de las cuales fueron realizados los experimentos, optimizar y controlar el proceso y predecir el comportamiento del fenómeno físico [13].

En la década del 1980 se planteó la segunda generación de modelos, considerando la concentración de ácidos grasos volátiles como un parámetro clave, incorporando la

acidogénesis, a la ya estudiada metanogénesis e hidrólisis y separando de esta última la acetogénesis [12]. Batstone *et al.*, propusieron un modelo genérico para la digestión anaerobia, recogiendo la información que se encontraba disponible hasta el momento; se denominó el modelo del proceso de digestión anaerobia 1 (AMD1) [14]. La integración de modelos dispersos (del inglés Fussy modeling) y redes neuronales (del inglés Neural Network), ofrecen una herramienta para el modelamiento de estos sistemas. Los modelos dispersos permiten modelar sistemas complejos y no lineales, como lo son sistemas biológicos [15].

Sendjaja *et al.*, desarrollaron un modelo de regresión lineal basado en el modelo adaptativo para un reactor en dos fases. Dicho modelo incluye el análisis de la correlación entre los datos y desarrollo del modelo, el cual se puede actualizar cada vez que se cuenten con datos nuevos, es por ello que se considera un modelo adaptativo [16]. Los modelos avanzados, como el AMD1, los cuales están basados en un complejo conocimiento de las características del residuo y su cinética, requieren la solución simultánea analítica o numérica, de reacciones secuenciales y productos intermedios, donde factores ambientales no son considerados. Este tipo de modelos no son ideales para sistemas robustos de control de procesos, debido a la complejidad de las ecuaciones. Por otro lado, algunos modelos incluyen parámetros que se suponen constantes, lo cual en un sistema de control robusto, no siempre es cierto, debido a la presencia de cambios en las condiciones internas y externas del proceso [16]. Por su parte, uno de los principales obstáculos de los modelos basados en redes neuronales, es la necesidad de tener una gran cantidad de datos para las fases de aprendizaje y de validación del modelo, para lo cual, las aplicaciones en digestión anaerobia se han limitado a sistemas continuos o semicontinuos [15].

En el presente documento se planteó la metodología para la obtención de biogás a partir de los residuos de cebolla blanca; se identificaron las características del residuo, se determinaron las condiciones para realizar el aprovechamiento del mismo, y se desarrolló un modelo lineal adaptativo predictivo.

CAPÍTULO 1. ANTECEDENTES

1.1 Caracterización de la cebolla blanca (*Allium cepa*)

De acuerdo a la Organización para la Agricultura y Alimentación de las Naciones Unidas (FAO, por sus siglas en inglés) la cebolla blanca (*Allium cepa*) es una de las hortalizas que crece de bulbos secos, perteneciente a la familia de las Liliáceas. Según la variedad puede cultivarse en climas de templado a caliente, sin embargo, en clima caliente se requiere bastante humedad, y suelos livianos que permitan un mejor desarrollo de los bulbos [17].

Diversos estudios se han llevado a cabo para determinar la composición de la cebolla blanca, enfocados en humedad, cenizas, celulosa, lignina, carbono y nitrógeno elementales. En la tabla 1, se muestra un resumen de las composiciones reportadas. Como lo mencionan Acosta y Obaya, un alto contenido de humedad brinda mejores condiciones para el desarrollo de los microorganismos, por ello el material residual más adecuado para la digestión anaerobia implica una humedad alta. De la misma manera, los autores mencionan que debe existir una relación óptima entre C:N, puesto que si el nitrógeno está en exceso puede producirse mucho amoníaco, lo cual a la postre inhibe el proceso; mientras que una alta concentración de carbono implica mayor producción de CO₂ [18]. La determinación de la concentración de celulosa y lignina es básica para el diseño de un sistema de digestión anaerobia de residuos sólidos, puesto que, aun cuando se tenga una alta concentración de carbono elemental su disponibilidad para ser consumida por los microorganismos se ve limitada debido a la configuración de los enlaces químicos del residuo [19].

Tabla 1. Composición de la cebolla blanca

Característica	Base Húmeda	Método Determinación	Referencia
Humedad (%)	92.6	Análisis Proximal	[20]
Cenizas (%)	0.341	Análisis Proximal	[21]
Celulosa (%)	10.4	Método AOAC 73.18, Lignina y	[20]

Lignina (%)	0.4	Celulosa	[20]
Carbono elemental (%)	38.32	Método AOAC 972.43	[20]
Nitrógeno elemental (%)	1.82		[20]

Dos de las principales características de la cebolla son su sabor y su olor, de acuerdo a Raigón, la cebolla blanca contiene 0.015% de aceite esencial incoloro, rico en compuestos sulfurados. Además, el jugo contiene ácido sulfocianico así como sulfocianato e isosulfocianato de alilo. En los compuestos volátiles se destaca el ácido tiopropiónico y el 2-propanotial-S-óxido, sustancias responsables del lagrimeo que produce la cebolla al cortarla. De la misma manera se han encontrado otras sustancias sulfuradas como derivados polifenólicos, glucósidos, flavónicos (sobre todo quercetina) y fitohormonas con efecto gonadotrópico [22].

Existen tres diferentes precursores de sabor en la cebolla: sulfóxido de 1-propenil cisteína el cual usualmente se encuentra en mayor concentración; sulfóxido de metil cisteína y el sulfóxido de propil cisteína. Estos compuestos están distribuidos en el citoplasma celular. La reacción con la alinasa, que se encuentra en la vacuola, solo ocurre cuando la estructura celular es dañada y la enzima y el sustrato se juntan. La descomposición del sulfóxido de 1-propil cisteína es casi instantánea, mientras que los sulfóxidos de metilo y de propilo demoran minutos en descomponerse. Los principales productos de la descomposición de los precursores de sabor incluyen ácido pirúvico, amonio y ácidos sulfónicos [23]. La concentración de ácido pirúvico es una medida del nivel de pungencia (picante) de los alimentos. Para la cebolla blanca, Yoo y Pike indicaron que la concentración de ácido pirúvico fue de $9.27 \pm 1.01 \mu\text{mol/mL}$ [24], mientras Boyhan *et al.*, determinaron que la concentración era de $6.9 \pm 1 \mu\text{mol/g}$ [25].

1.2 Digestión Anaerobia

La digestión anaerobia es un proceso biológico natural que se ha estudiado y aplicado en diversas industrias desde tiempos remotos. En términos generales, la materia orgánica, en ausencia de oxígeno, y mediante la acción de un consorcio microbiológico, produce metano (CH_4), hidrógeno (H_2), dióxido de carbono (CO_2) y agua (H_2O), principalmente. El proceso de degradación anaerobia ha sido dividido en cuatro etapas principales: hidrólisis,

fermentación, acetogénesis y metanogénesis. La primera etapa puede ser considerada como el paso limitante en el proceso, debido a que en el proceso de la hidrólisis, las partículas complejas de las paredes y membranas celulares son digeridas para que los microorganismos puedan realizar posteriormente el proceso de fermentación, en el cual la materia orgánica es degradada a ácidos grasos volátiles de cadena corta, alcoholes, hidrógeno y dióxido de carbono, denominada acidogénesis [10].

En la acetogénesis el ácido acético es producido por cualquiera de los dos diferentes mecanismos acetogénicos: por hidrogenación o deshidrogenación. La acetogénesis por hidrogenación es el mecanismo por el cual se produce acetato como único producto final de la reducción de hidrógeno y dióxido de carbono. Mientras que la acetogénesis por deshidrogenación, se refiere a la oxidación anaeróbica de ácidos grasos de cadena larga. La etapa final es la metanogénesis, que consiste en la formación de metano a partir de dos rutas principales: la acetoclástica y la hidrógenotrófica. Los microorganismos metanógenos son anaerobios estrictos que pertenecen principalmente al dominio Archea. Los metanógenos se encuentran en casi todos los ambientes concebibles, desde el rumen hasta los intestinos de los humanos, pasando por el fondo del océano, pantanos, digestores, tiraderos y sedimentos marinos. Crecen principalmente en sustratos tales como hidrógeno y dióxido de carbono (hidrógenotróficos), y acetato (acetoclásticos) [10].

En la figura 1 se presenta un esquema de las interacciones microbianas en el proceso de digestión anaerobia, incluyendo los nombres de algunos grupos bacterianos específicos. La primera parte del proceso, denominada hidrólisis, se lleva a cabo mediante la acción de enzimas extracelulares, como celulasas y proteasas. Las bacterias responsables de la producción de dichas enzimas ven afectada su productividad, debido a factores ambientales, como: tamaño de partícula, pH, temperatura, difusión de enzimas y adsorción de enzimas a las partículas. La segunda etapa, acidogénesis, ve limitado su rendimiento debido, principalmente, a la producción de hidrógeno. El hidrógeno se produce debido a que parte de los electrones generados y que no son transferidos a bases de piridinas, son descartados vía reducción de protones. La eliminación de hidrógeno en esta fase es fundamental para el siguiente paso de la digestión anaerobia. La regulación de la concentración de hidrógeno la llevan a cabo arqueas metanogénicas hidrógenotróficas, bacterias homoacetogénicas y bacterias sulfato reductoras; esta

regulación es favorecida por la energía libre de Gibbs negativa de las reacciones asociadas. En la fase de metanogénesis, más del 70% del metano se produce por vía acetoclástica, por ello la importancia de una correcta concentración de ácido acético en el reactor, sin llegar a niveles inhibitorios [10].

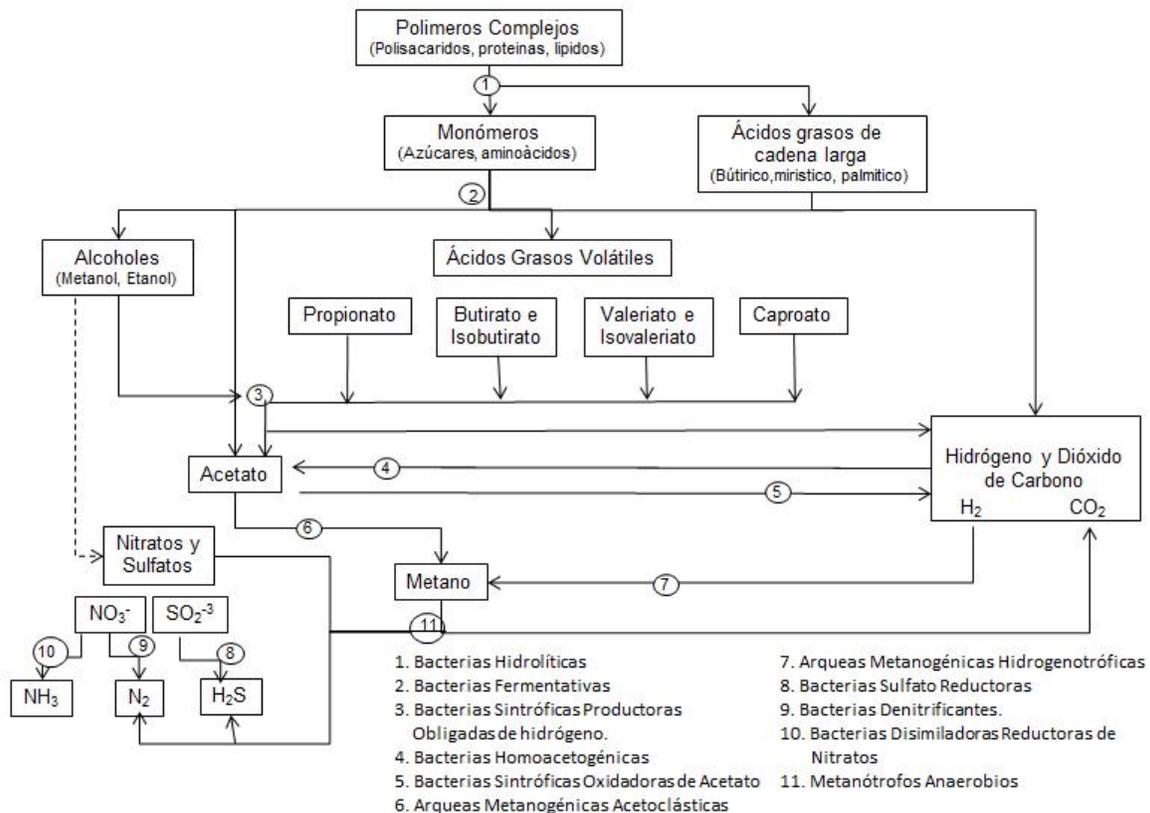


Figura 1. Interacciones microbianas en la digestión anaerobia [10].

1.2.1 Temperatura del digestor anaerobio

La temperatura en el digestor afecta la producción de biogás en el proceso. Existen tres intervalos de temperatura en el cual la fermentación anaerobia puede llevarse a cabo: psicrófilico (<25 °C), mesófilico (30-40 °C) y termófilico (>45 °C) [26-28]. Choorit y Wisarnwan estudiaron el efecto de la temperatura en la digestión anaerobia de los aceites residuales de la producción de aceite de palma, determinando que a condiciones mesófilas (37 °C) existe una menor velocidad de eliminación de material orgánico (12.25 g DQO (demanda química de oxígeno)/L día), menor producción de biogás (3.37 L biogás/L

reactor día) y mayor tiempo de retención hidráulico (7 días) en comparación con temperaturas termófilas (55 °C, 17.01 g DQO/L día, 4.66 L biogás/L reactor/día y 5 días, respectivamente) [29].

Vanegas y Bartlett estudiaron la digestión anaerobia a diferentes condiciones de temperatura para los residuos de la macroalga *Laminaria digitata*, encontrada en el noroeste del océano Atlántico, reconocida por su alto contenido de yodo y recientemente como una fuente promisoría de biocombustibles. En sus resultados reportaron una máxima productividad de metano y de biogás bajo condiciones mesófilas (35 °C, 0.336 m³ biogás/kg de sólidos volátiles (SV) y 0.184 m³ CH₄/kg SV). Para los reactores termófilos (45 °C) obtuvieron 30 % menos de biogás y 23.3 % menos de metano; en condiciones psicrófilas (20 °C) alcanzaron rendimientos del 41 % menos de biogás y 39.7 % menos de metano [27].

Para la digestión anaerobia de los residuos de arroz, Lianhua *et al.*, evaluaron el efecto de la temperatura ambiente (25 °C), mesófilas (35 °C) y termófilas (55 °C), además de la humedad y sólidos totales (7.5 % y 20 % ST, respectivamente), en la productividad de biogás. Se realizaron pruebas por triplicado en botellas de 2.5 L. Se determinó que la mayor productividad de biogás (0.225 m³/kg ST) y rendimiento de metano (0.109 m³/kg ST) se dio para la temperatura termófila a condición de 7.5% sólidos totales, en comparación a condiciones mesófilas y 20 % sólidos totales con una productividad de biogás de 0.194 m³/kg ST y de metano de 0.098 m³/kg ST [30].

De la misma manera que se ha evaluado y comparado la eficiencia a condiciones termófilas y mesófilas de la digestión anaerobia, El-Mashad *et al.*, evaluaron la carga orgánica removida (g DQO/L día) en función de la variación diaria de temperatura bajo condiciones termófilas en un reactor de tanque agitado continuo (del inglés, CSTR) alimentado con estiércol de vaca. Encontraron que la velocidad de producción de metano a 60 °C es menor que a 50 °C, debido al incremento en la concentración de NH₃, el cual prevalece a altas temperaturas; al igual que el proceso en general, donde las etapas de acidogénesis y metanogénesis son afectadas negativamente con el incremento en la concentración de NH₃ [28].

Un aumento en la temperatura del proceso afecta de manera positiva la velocidad metabólica de los microorganismos, sin embargo resulta en una mayor concentración de ácidos grasos volátiles, los cuales afectan el pH de la mezcla y la productividad de metano y, debido a la baja de pH, puede llegar a inhibir los consorcios bacterianos metanogénicos [31].

1.2.2 pH

Cada grupo de microorganismos involucrados en el proceso de digestión anaerobia tienen intervalos óptimos de pH. Las bacterias metanogénicas son bastante sensibles a las variaciones en el pH entre 6.8 y 7.6 [39]. Los microorganismos fermentativos son menos sensibles y pueden sobrevivir en un intervalo de 4 a 8.5 [32]. El pH está relacionado con diferentes variables dentro del sistema de digestión anaerobia, principalmente con la concentración de ácidos grasos volátiles y la concentración de nitrógeno amoniacal.

1.2.3 Amonio libre

Pohland y Ghosh, citado por Chen *et al.*, indican que en la digestión anaerobia, los microorganismos formadores de ácido y de metano difieren ampliamente en términos de su fisiología, necesidades nutricionales, cinéticas de crecimiento, y sensibilidad a las condiciones ambientales [31]. El desbalance entre estos dos grupos de microorganismos es la principal causa de la inestabilidad del reactor [33].

El efecto inhibitorio relacionado con amonio libre, depende de tres parámetros: concentración, temperatura y pH. Se ha sugerido que la interrelación entre el amonio libre, ácidos grasos volátiles y pH producen lo que Hansen *et al.*, denominan “inhibición en estado estacionario”, caracterizada por rendimiento menor de metano [34]. El amonio libre es producido por la degradación biológica de la materia nitrogenada, la mayoría en forma de proteína y urea. Diferentes mecanismos para la inhibición por amonio libre han sido propuestos, como cambios en el pH intracelular, incremento en los requerimientos energéticos, e inhibición de reacciones enzimáticas específicas [35]. Se ha sugerido que el amonio libre es el principal causante de la inhibición debido a su permeabilidad a la membrana celular (Kroeker *et al.*, y de Baere *et al.*, citados por Chen *et al.*) [31].

De acuerdo a van Velsen *et al.*, citado por Chen *et al.*, se debe mantener la concentración de amonio libre por debajo de 200 mg/L debido a que es un nutriente esencial para los microorganismos anaeróbicos, aun cuando existen múltiples estudios que indican diferencias en la concentración de amonio libre, esto debido a diferencia en sustratos, inóculos, condiciones ambientales y periodos de aclimatación [31]. En condiciones mesofílicas se han publicado estudios en los cuales se indica que la concentración de amonio libre entre 1700 y 1800 mg/L inhibe a los microorganismos en la digestión anaerobia. También se ha demostrado el inicio del proceso inhibitorio para condiciones termófilas en valores cercanos a 1700 mg/L [36]

El incremento de la concentración de amonio libre resulta en la disminución de la velocidad de crecimiento aparente de las bacterias, esto lo reportó Hansen *et al.*, 1997. Realizaron experimentos a concentraciones de amonio libre de 1,100 mg/L hasta 1,900 mg/L, encontrando una tendencia en la disminución de la velocidad de crecimiento. A 1,100 mg/L se obtuvo una constante cinética de crecimiento de 0.15 d^{-1} y a 1,900 mg/L se alcanzó únicamente 0.0119 d^{-1} . También se ve afectado el rendimiento de metano, pasando de $0.188 \text{ m}^3 \text{ CH}_4 / \text{kg SV}_{\text{INICIAL}}$ a $0.022 \text{ m}^3 \text{ CH}_4 / \text{kg SV}_{\text{INICIAL}}$, respectivamente [34].

El principal objetivo del trabajo realizado por El Hadj *et al.*, fue comparar el desempeño de sistemas de digestión anaerobios mesofílicos y termofílicos bajo diferentes concentraciones de amonio libre y ion amonio a varios valores de pH (7, 7.5 y 8). El sustrato utilizado fue sintético, el cual consistió en alimento para perros, que simuló la fracción orgánica de los residuos sólidos municipales. Las principales características fueron 6.1% de cenizas, 24% de proteínas y 15.4% de lípidos. Se utilizaron digestores de 250 mL, volumen efectivo de 200 mL con una alimentación de sustrato-inóculo de 1 a 2. Se adicionaron NH_4Cl , HCl o NaOH para ajustar la concentración de nitrógeno amoniacal y el pH. Los autores determinaron que la cantidad de biogás producida bajo condiciones mesofílicas es mayor que a condiciones termofílicas, para una concentración de amonio libre de 600 mg/L a pH 7 a condiciones mesofílicas se alcanzó una producción específica de $0.35 \text{ m}^3 \text{ CH}_4 / \text{kg SV}_{\text{INICIAL}}$. A condiciones termófilas, para alcanzar el mismo rendimiento la concentración de amonio libre tuvo que mantenerse por debajo de 200 mg/L [37].

En el trabajo de El Hadj *et al.*, también se determinó que existe una disminución en la productividad de biogás cuando aumenta la concentración de amonio libre a pH constante. Para un pH de 7.5 y una concentración de amonio libre cercana a 450 mg/L la productividad fue de 0.25 m³ CH₄/kg SV, sin embargo al aumentar la concentración de amonio libre a 520 mg/L desciende la productividad de biogás a 0.05 m³ CH₄/kg SV [37].

1.2.4 Ácidos grasos volátiles (AGV)

McCarty y McKinney, indicaron que el análisis de los AGV es uno de los parámetros de control más importantes en la digestión anaerobia. Es reconocido que un incremento en la concentración de dichas especies es una de las primeras señales de un mal funcionamiento en el digestor y la imperiosa necesidad de medidas de control antes que ocurra una caída en el pH y un mal funcionamiento del reactor [38]. De acuerdo a Amani *et al.*, los AGV son los intermediarios más importantes en la digestión anaerobia, y su degradación es altamente complicada desde el punto de vista termodinámico. La oxidación anaerobia de ácido propiónico y ácido butírico tienen una energía libre de Gibbs positiva ($\Delta G^{\circ}_{A. \text{ Propiónico}} = +76.1$ y $\Delta G^{\circ}_{A. \text{ Butírico}} = +48.1$ kJ/mol a 25 °C), y por lo tanto no ocurren naturalmente y deben estar acompañadas por la cooperación sintrópica de bacterias oxidantes de ácido propiónico y butírico, además de mantener el sistema a baja presión parcial de hidrógeno [39].

Wang *et al.*, realizaron el estudio de la incidencia de etanol y de AGVs en la eficiencia de la digestión anaerobia. Se tomó un inóculo de un digestor anaerobio que había operado por 2 años, se filtró y se puso a crecer en un medio rico en sustrato por dos meses, teniendo las siguientes características: ST 10.8%, cenizas 4.14%, SV 6.66 %, SV solubles 46.4 g/l y pH 7. Las concentraciones fueron las siguientes: etanol 800, 1600 y 2400 mg/L, ácido acético 800, 1600 y 2400 mg/L, ácido propiónico 300, 600 y 900 mg/L y ácido butírico 600, 1200 y 1800 mg/L respectivamente. Cuando las concentraciones de etanol, ácido acético y ácido butírico estaban en 2400, 2400 y 1800 mg/L, respectivamente. No se observó inhibición significativa para las bacterias metanogénicas. Sin embargo el aumento de ácido propiónico a 900 mg/L, produjo una inhibición significativa, debido a que las bacterias decrecieron de 6×10^7 células/mL a 0.6×10^7 células/mL, produciendo una acumulación de etanol y de AGVs, por lo que la producción total de metano al final de

la experimentación fue muy bajo $0.02 \text{ m}^3 \text{ CH}_4 / \text{kg DQO}_{\text{INICIAL}}$. Los mejores resultados mostraron que las concentraciones de etanol, ácido acético, ácido propiónico y ácido butírico fueron 1600, 1600, 300 y 1800 mg/L, respectivamente, con un rendimiento de metano de $0.167 \text{ m}^3 \text{ CH}_4 / \text{kg DQO}_{\text{INICIAL}}$ y una concentración máxima de bacterias metanogénicas de 7.3×10^8 células/mL [40].

1.2.5 Concentración de sólidos totales y volátiles

Fernández *et al.*, evaluaron el desempeño de reactores discontinuos anaeróbicos a diferentes concentraciones de sustrato. Ellos utilizaron la fracción orgánica de los residuos sólidos municipales de la planta denominada “La Calandria” en la ciudad de Jerez de la Frontera, España, a dos diferentes concentraciones de sustrato: 0.931 g DQO/L, equivalente a 20% de sólidos totales y 1.423 g DQO/L, equivalente a 30% de sólidos totales. Los principales resultados obtenidos indicaron que existe una mayor eficiencia en la remoción de DQO (80.69%) para el sistema con 20% de ST que para el sistema con 30% de ST (69.05%). El mismo comportamiento se evidencia en cuanto a la eliminación de SV: mientras que con 30% de ST se eliminó el 40.91% de SV, para la concentración de 20% de ST se eliminó el 49.95% de SV. De la misma manera el rendimiento para el reactor con 20% de ST fue de 0.11 m^3 de $\text{CH}_4 / \text{kg SV}_{\text{REMOVIDO}}$ después de 45 días de experimentación, mientras que para el reactor con 30% de ST fue de 0.093 m^3 de $\text{CH}_4 / \text{kg SV}_{\text{REMOVIDO}}$ [41].

Cui *et al.*, publicaron los resultados de una investigación en donde utilizaron la paja de trigo en Wooster, OH, Estados Unidos. Utilizaron una concentración inicial de sólidos totales de 22%, con las siguientes características: carbono total 43.1%, nitrógeno total 1%, pH 7.4, alcalinidad 3.4 g $\text{CaCO}_3 / \text{kg ST}$, lignina 22.1%, celulosa 37.9% y hemicelulosa 21.8%. Se planteó la variación en la relación sustrato (S) inóculo (I) en los siguientes valores: 2, 4 y 6. El inóculo fue obtenido del efluente de un digestor anaeróbico mesófilo, alimentado con residuos sólidos municipales y con las siguientes características: ST 10.6%, SV 64.8% basado en la concentración de sólidos totales, carbono total 4.6%, nitrógeno total 0.6%, pH 8 y alcalinidad 14.5 $\text{CaCO}_3 / \text{kg sólidos totales}$. Los resultados mostraron un rendimiento de 0.145 m^3 de $\text{CH}_4 / \text{kg SV}_{\text{INICIAL}}$ para una relación de alimentación-inóculo de 2, y un rendimiento de 0.15 m^3 de $\text{CH}_4 / \text{kg SV}_{\text{INICIAL}}$ para una

relación de 4. Para una relación de 6 todos los reactores fallaron, mostrándose una baja productividad, menor a 0.001 m^3 de $\text{CH}_4/\text{kg SV}_{\text{INICIAL}}$ [42].

1.2.6 Tasa de Carga Orgánica

La tasa de carga orgánica (TCO), se define como la cantidad de material degradable por unidad de tiempo y por unidad de área o volumen. Se utiliza en varias aplicaciones, como el diseño de sistemas de filtración, reactores biológicos y sistemas de tratamiento de agua. Su importancia está relacionada al dimensionamiento y escalamiento de sistemas de tratamiento de agua, comparación de parámetros de operación y eficiencia de sistemas de tratamiento.

Kaparaju *et al.*, investigaron la digestión anaerobia en condiciones termofílicas de los residuos de suero vacuno. Los autores analizaron la influencia que tiene la TCO en el rendimiento de metano, utilizando como inóculo gránulos de lodos de una planta de tratamiento de agua residual del procesamiento de papas. Los autores experimentaron con cuatro TCO: 9.7, 12.4, 17.1 y 41.2 kg DQO/ m^3 día, obteniendo rendimientos de 0.1, 0.127, 0.154, 0.027 m^3 de $\text{CH}_4/\text{kg DQO}_{\text{INICIAL}}$, concluyendo que el aumento de la TCO en el reactor, más allá de 17.1 kg DQO/ m^3 día causa una caída en el rendimiento de metano y un daño completo del reactor [43].

Comino *et al.*, evaluaron el desempeño de un sistema de digestión anaerobia en una sola etapa, alimentado con una mezcla de estiércol vacuno y ensilado de maíz. El principal objetivo del proyecto fue investigar los límites permisibles de la TCO y consecuentemente los cambios en el proceso de digestión. Para TCO de 3.5, 4.45, 5.15, y 7.78 kg SV/ m^3 día, los rendimientos obtenidos fueron de 0.11, 0.237, 0.249 y 0.061 $\text{m}^3 \text{CH}_4/\text{kg SV}_{\text{INICIAL}}$. Los autores determinaron que se presentó un aumento en el rendimiento de metano al incrementar TCO, sin embargo existe un límite de TCO, en el cual, si se sobrepasa, los microorganismos se inhiben por sustrato y falla el reactor [44].

1.3. Digestión anaerobia en dos fases

Las diferentes condiciones de crecimiento y pH óptimos para los microorganismos metanogénicos y acidogénicos, además de diferentes requerimientos en los reactores, han llevado al desarrollo del proceso de digestión anaerobia en dos etapas [45].

El proceso de digestión anaerobia requiere un equilibrio dinámico entre los consorcios bacterianos acidogénicos y metanogénicos, no solo en términos de aspectos nutricionales y pH, sino también en su fisiología, cinética de crecimiento y la habilidad de tolerar condiciones ambientales adversas, como altas temperaturas, concentración alta de sales y concentración alta de amoníaco, entre otras. En una sola fase, el pH y la TCO son ajustados para que los consorcios bacterianos metanogénicos sean más favorables, en el detrimento del crecimiento rápido de los consorcios acidogénicos. Con la finalidad de permitir el desarrollo de las bacterias acidogénicas y metanogénicas se ha desarrollado el proceso de digestión anaerobia en dos fases. Las principales ventajas del sistema en dos fases son: permitir la selección y enriquecimiento de diferentes bacterias en cada fase, logrando que la materia orgánica se degrade a AGV principalmente; incrementar la estabilidad del proceso y controlar la fase de acidogénesis previniendo la sobrecarga del reactor; así, previene la disminución en el pH en la etapa de metanogénesis, y finalmente, el proceso puede ser económicamente más eficiente [46].

Merlino *et al.*, monitorearon por dos meses las comunidades microbiales en un reactor convencional en una sola etapa y los compararon con los registrados en un proceso en dos etapas. Dentro de los hallazgos indican que se genera una evolución significativa de las comunidades bacterianas en el tiempo en la fase acidogénica del sistema en dos fases; con la selección de algunas especies dominantes asociadas a la producción de hidrógeno. En el reactor hidrolítico, para el sistema en dos fases, se observó una mezcla de diferentes especies microbiales, con una variación a lo largo del tiempo, entre las cuales se determinaron especies del filo Firmicutes, del orden de Clostridiales y Termoanaerobacteriales. En el sistema en dos fases, el reactor metanogénico presentó especies de *Archaea* y *Bacteria* en concentraciones similares, durante todo el proceso; además la concentración de especies metanogénicas fue mayor que en el reactor hidrolítico. Al comparar el sistema de dos fases con aquel en una sola fase, se presentó

una variación a lo largo del tiempo, en donde al inicio del proceso se observaron especies similares a las encontradas en el reactor hidrolítico del sistema en dos fases, después de dos semanas, la evolución de las comunidades cambio drásticamente, más del 88% de las comunidades iniciales cambiaron, y se presentaron similitudes con las comunidades encontradas en el reactor metanogénico del sistema en dos fases [47].

Demirer y Chen, realizaron un estudio donde evaluaron el desempeño de un sistema de digestión anaerobia en dos etapas alimentado con residuos de estiércol de bovino sin tratar. El residuo contenía 14.6% de materia seca, la cual estaba compuesta por fibra detergente neutra (49.1%), fibra detergente ácida (37.83%), lignina detergente ácida (11.24%), hemicelulosa (11.27%), celulosa (26.59%) y lignina (11.24%). El reactor acidogénico de 0.6 L se operó durante 26 días con una carga de 1.19 g DBO/ L día, para alcanzar la estabilidad del consorcio bacteriano. En el día 27 el efluente del primer reactor fue alimentado al reactor metanogénico previamente estabilizado, por 21 días más a una tasa de carga orgánica de 1 kg SV/ m³ día. El criterio de estabilización para los reactores, tanto en una fase como en dos, fue que el volumen obtenido de biogás diariamente por tres días seguidos tuviera una desviación menor o igual al 5%. Obteniendo 0.0483 m³ CH₄/ kg SV_{INICIAL}. En el día 48 se aumentó la carga de alimentación a 2 kg SV/ m³ día, aumentando el rendimiento a 0.065 m³ CH₄/ kg SV_{INICIAL}. En la siguiente etapa la carga de alimentación aumentó a 5 kg SV/ m³ día obteniendo un rendimiento de 0.111 m³ CH₄/ kg SV_{INICIAL} [46].

De acuerdo con Yu *et al.*, el pasto es el mayor componente en los residuos sólidos municipales con cerca del 50% de la fracción orgánica. Propusieron un sistema de digestión anaerobia en dos fases, para evaluar la posibilidad de producir metano a partir de los residuos de pasto. El reactor de acidogénesis consistió en un reactor de acero inoxidable con capacidad de 8 m³, con un puerto de entrada y otro de salida, además de un sistema de irrigación para la recirculación de los lixiviados. La carga consistió en 155 kg de pasto con una densidad aparente de 24 kg/m³, con un contenido de humedad inicial de 8% en peso. Se adicionaron 700 L de agua con el fin de brindarle al sistema un 25% de capacidad adicional para la recirculación. El reactor líquido de lecho fluidizado para la metanogénesis consistió en dos tubos de 3.66 m de alto, 30.5 cm de diámetro interno, con un puerto de entrada y uno de salida. El reactor se dispuso con un empaque inerte

comercial (PVC) para facilitar el soporte bacteriano. Se analizaron, para cada una de las entradas y salidas de los dos reactores: DQO, pH, ácidos grasos volátiles y alcalinidad. Además se analizaron los gases de ambos reactores con el fin de identificar CO₂, CH₄, N₂, H₂S y O₂. El tiempo de operación del experimento fue de 190 días, alcanzando un rendimiento de 0.339 m³ CH₄/kg DQO_{REMOVIDO}. Los autores concluyeron que el sistema en dos fases, para el caso de la digestión anaerobia de los residuos de pasto, tiene la ventaja de que el tiempo de operación en dos fases es considerablemente más bajo que el sistema en una sola fase, debido a que el tiempo promedio para la digestión en un sistema en dos fases está entre 6 a 12 meses, mientras que para un sistema en una sola fase puede demorar entre 30 a 50 años, de acuerdo a lo reportado por Brummeler *et al.*, Chynoweth *et al.*, Ghosh *et al.*, y Longworth *et al.*, citados en Yu *et al.*, [48].

1.4 Pretratamiento químico

Con la finalidad de aumentar la degradación de materia orgánica, mediante la acción biológica de consorcios microbianos, se ha propuesto la hidrólisis química y posterior neutralización de la fuente de carbono. De acuerdo a Park *et al.*, para aumentar la conversión de la fuente de carbono, los enlaces químicos entre los monómeros de la celulosa y hemicelulosa deben ser rotos, con la finalidad de obtener monosacáridos con configuración química más simple. Es por ello que el pretratamiento químico es un paso importante en la fermentación [49]. El pretratamiento de la biomasa puede ser químico, físico o biológico, de acuerdo a lo indicado por Devlin *et al.*, [50].

Li *et al.*, analizaron la cogestión de los residuos de alimentos con diferentes proporciones de estiércol bovino. Dicho estiércol fue pretratado con ácido sulfúrico con la finalidad de aumentar la producción de biogás; en cuanto al pretratamiento se realizó con una concentración de ácido sulfúrico 0.18 M por 72 horas, obteniendo una solubilización de 24.5 % [51]. También trataron el tema del pretratamiento con ácido sulfúrico (0.375 M y 0.009 M) de estiércol bovino Jin *et al.*, 2009, sin embargo estos investigadores lo hacen a una temperatura de 120 °C por 0.5 horas, con lo que obtienen una solubilización de 35 y 9 %, respectivamente [52]. Teniendo en cuenta esta información, la temperatura, el tipo y concentración del ácido y el tiempo son variables que afectan el resultado del

pretratamiento. De acuerdo a Taherzadeh y Karimi, el uso de ácidos diluidos en el pretratamiento de materiales lignocelulósicos es uno de los métodos más comunes, sus principales usos se reportan para hidrólisis enzimática. Tiene la ventaja que se puede alcanzar una remoción cercana al 100% de hemicelulosa, mejora el rendimiento de la hidrólisis de celulosa y no afecta la estructura de la lignina [53].

El pretratamiento de los lodos residuales de las plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR) se ha desarrollado mediante el uso de agentes químicos ácidos y básicos. Penaud *et al.*, utilizaron cuatro bases fuertes NaOH, KOH, $Mg(OH)_2$ y $Ca(OH)_2$, a diferentes concentraciones, a dos temperaturas y dos tiempos de operación. Encontraron que a mayor temperatura del proceso, se presentan mayores porcentajes de solubilización de la materia orgánica, reduciendo el tiempo de operación. A temperatura de 25 °C el NaOH presentó mejor porcentaje de solubilización, mientras que a 140 °C el mejor fue el KOH [54]. Es interesante resaltar la información suministrada por Rani *et al.*, , debido a que, para lodos de digestión anaerobia, con el uso de KOH, el máximo de solubilización se da a las 24 h (25 %) mientras que a las 48 h (21 %) disminuyó el valor de esta variable; los autores atribuyen este comportamiento a que se pueden formar compuestos refractarios; además indican que la ventaja de realizar el pretratamiento a bajas temperaturas radica en el ahorro de energía que se le brinda al proceso [55]. Taherzadeh y Karimi, indicaron que el pretratamiento alcalino remueve la lignina y parte de la hemicelulosa, aumentando la accesibilidad de la enzima a la celulosa; aun cuando se pueden obtener compuestos aromáticos complejos a partir de la degradación de la lignina [53]. Cassini *et al.*, realizaron el estudio del pretratamiento con ácido sulfúrico para los lodos de digestión anaerobia, a 25 °C por 8 horas, encontrando que aumenta la solubilidad a medida que aumenta la concentración del ácido, y se logra solubilizar el 70 % de la materia orgánica con una concentración de 0.1 M [56].

1.5 Digestión anaerobia de cebolla blanca

La digestión anaerobia de residuos de cebolla blanca ha sido un tema en el cual se han desarrollado algunos estudios. Inicialmente Romano y Zhang, realizaron la co-digestión de jugo de cebolla blanca con lodos activados de un proceso de tratamiento de agua

residual aerobio en un reactor anaerobio de biopelícula (AMBR – Anaerobic Migrating Blanket Reactor, por sus siglas en inglés), el cual estaba dispuesto con un lecho de lodos en el fondo, y cilindros de polietileno utilizado como material de soporte para el crecimiento microbiano. El jugo de cebolla fue preparado primero, tratando los sólidos de cebolla con hidróxido de calcio al 1 % p/p, para la remoción de la humedad intersticial de las células de cebolla. El inóculo fue obtenido de un clarificador, el cual se utilizó para tratar los efluentes de un proceso de tratamiento aeróbico. Los análisis para el jugo de cebolla y los lodos aeróbicos fueron respectivamente: sólidos totales 33-52 g/L y 12 – 22 g/L, sólidos volátiles 31 – 47 g/L y 10 -20 g/L, carbono orgánico total 22500 y 9500 mg/L, nitrógeno total Kjeldahl 833 y 1554 mg/L, nitrógeno amoniacal 53 y 24 mg/L, nitrato 4 y 0.1 mg/L. En el primer experimento realizado a 35 °C las cargas de digestión orgánica evaluadas fueron 1.24, 2.23, 3.08 y 4.37 kg SV/ m³ día. El rendimiento para el sistema a 1.24 kg SV/m³ día fue de 0.57 m³ CH₄/ kg SV_{INICIAL}, con una remoción de SV cercana al 90%; mientras que el aumento en la carga de alimentación hasta 3.08 kg SV/ m³ día redujo el rendimiento de metano hasta 0.37 m³ CH₄/ kg SV_{INICIAL}, con una remoción de SV equivalente al 76%. Cuando el sistema se alimentó con carga de 4.37 kg SV/ m³ día el reactor metanogénico colapsó, disminuyendo el pH de la solución de 7.2 a 5.4 en tres días, con lo cual la producción de biogás se detuvo [57].

Estos mismos autores, en el año 2011, publicaron los resultados de la digestión anaerobia con dos reactores en condiciones mesófilas (35 °C) de residuos de cebolla blanca. Utilizaron un reactor para la hidrólisis y fermentación y otro para la metanogénesis. El primer reactor consistió en un tanque de 2 L de volumen de trabajo, usando una malla de plástico de 2 mm de abertura ubicada tanto en la parte superior como en la inferior del reactor con el fin de evitar el paso de residuos sólidos al segundo reactor por arrastre del lixiviado. El segundo reactor fue usado para la metanogénesis de los lixiviados del primero, consistiendo en un tanque de 4 L de volumen total y de volumen de trabajo 3 L, operando como un reactor anaerobio de biopelícula (AMBR), que contenía cilindros de polietileno como material de soporte de aproximadamente 10 mm de diámetro, y una densidad de 0.95 g/cm³ para el crecimiento microbial [58].

Las características de los residuos de cebolla blanca utilizados en el estudio de Romano *et al.*, fueron las siguientes: carbono 39.32 %, nitrógeno 1.82 %, fósforo 0.38 %, potasio

1.3 %, sodio 4135 ppm, boro 18.5 ppm, calcio 0.48 %, magnesio 0.13 %, zinc 26 ppm, manganeso 10 ppm, hierro 37 ppm, cobre 13 ppm, fibra 10 % y lignina 0.4 %, todos los resultados reportados en base seca. El inóculo utilizado fue lodos activados de una planta de digestión anaeróbica a condiciones mesófilas de la planta de tratamiento de aguas residuales de la ciudad de Davis, California, Estados Unidos. La carga inicial del reactor fue de 1 kg SV/m³ día, en el día 14 la producción de biogás bajó a 0.05 m³/kg SV y la reacción fue detenida; aunque más biogás pudo haberse producido, los autores consideraron que el incremento en la producción de biogás era despreciable. Durante la prueba, el líquido en el reactor de hidrólisis y en el de metanogénesis se recircularon a una tasa de 42 mL/h para alcanzar una transferencia de 1 L/d. Para la recirculación, el líquido fue transferido de la parte inferior del reactor de hidrólisis al fondo del reactor de metanogénesis, y la misma cantidad de líquido fue devuelto de la parte superior del reactor de metanogénesis al de hidrólisis. Los resultados obtenidos por Romano *et al.*, indicaron que la producción de biogás fue rápida en los primeros 6 días, alcanzando a producir el 90 % del biogás recolectado. El rendimiento de biogás acumulado en el reactor de hidrólisis fue solo de 0.13 m³/kg SV_{INICIAL}, y los contenidos de metano y dióxido de carbono fueron del 30 y 70 %, respectivamente. En el reactor de metanogénesis, el rendimiento de biogás acumulado fue de 0.56 m³/kg SV_{INICIAL}, y los contenidos de metano y dióxido de carbono fueron 61 y 39 %, respectivamente [58].

El Kamah *et al.*, realizaron el estudio del desempeño de un sistema de dos reactores, (UASB, Upflow Anaerobic Sludge Blanket, por sus siglas en inglés) y sistema de esponjas colgantes con flujo vertical (DHS, Downflow Hanging Sponge, por sus siglas en inglés), para el tratamiento del agua residual del proceso de deshidratación de cebolla. Las características del agua residual fueron las siguientes: pH entre 4.5 y 6.6, DQO total 1392 mg/L, DQO soluble 529 mg/L, DBO total 570 mg/L, DBO soluble 367 mg/L, sólidos solubles totales 218 mg/L, nitrógeno total Kjendahl 55 mg/L, nitrógeno amoniacal 20 mg/L, AGV 144 mg/L. El reactor UASB manufacturado en PVC con un volumen efectivo de 5 L, consistía en una columna cilíndrica con fondo cónico y un separador de gas sólido, el reactor midió 70 cm de altura, y diámetro interno de 10 cm. Se inoculó con los lodos obtenidos de una planta de tratamiento de aguas residuales. El lodo tenía 14 g/L de ST, 8.2 g/L de SV [59].

Se aclimató el reactor UASB durante 30 días con el fin de alcanzar el estado estacionario, identificado en el momento en el cual la DQO y la concentración de nitrógeno amoniacal se mantuvieron con una variación en tres días consecutivos menor al 5 %. Después de esto el sistema operó en continuo por 243 días, los cuales se dividieron en dos experimentos. En el primer experimento el reactor UASB operó a una carga orgánica de 4.7 ± 1.9 kg DQO total/m³ día y el DHS a 2.2 ± 0.7 kg DQO total/m³ día, respectivamente. Para el segundo experimento el reactor UASB operó a una carga de 7.4 ± 2.7 y el DHS a 5.1 ± 1.8 kg DQO total/m³ día. Los investigadores encontraron remociones de DQO total del 92%, DBO total 95 %, sólidos solubles totales del 95 % y amonio del 99 %, en el primer experimento [59].

1.6 Modelamiento Matemático

Los principales objetivos de los modelos matemáticos incluyen: la apreciación del comportamiento del sistema e interacción de los componentes, expresión cuantitativa o verificación de una hipótesis y predicción del comportamiento del sistema en el futuro o bajo condiciones similares [12].

Los primeros modelos para la digestión anaerobia fueron relativamente simples, debido al limitado conocimiento sobre el proceso. Estos se enfocaron en describir los pasos limitantes conocidos, considerando que la digestión anaerobia es una secuencia de etapas, donde la limitante puede ser diferente bajo variadas condiciones de operación. La principal ventaja es la simplicidad y facilidad de construcción, pero son inadecuados para describir las condiciones dinámicas [12].

En la tabla 2 se presenta un resumen de algunas aplicaciones de modelos matemáticos en la digestión anaerobia. Se puede observar la gran diversidad de modelos que se pueden aplicar a diferentes sistemas de digestión. Incluyen modelos matemáticos, lógicos y estadísticos. Todos buscan predecir, principalmente, el rendimiento de biogás y metano, bajo el seguimiento de variables fáciles de medir, como son pH, DQO y AGV. Muchos de ellos no solo buscan la predicción de datos puntuales, sino también del comportamiento en función del tiempo.

Tabla 2. Modelos matemáticos aplicados a la digestión anaerobia.

Reactor	Modelo	Sistema	Número de Datos	Constantes supuestas	Variables Independientes	Referencia
UASB	ANFIS	Continuo	85	No	pH, DQO, AGV	[60]
CSTR	ANFIS	Continuo	165	No	pH, SV iniciales, temperatura	[61]
CSTR	AMD1	Continuo	20	Sí	AGV, Rendimiento	[62]
CSTR	AMD1	Continuo	140	Sí	pH, nitrógeno Inorgánico, flujo biogás, DQO	[63]
CSTR - UASB	AMD1	Continuo	120	Sí	DQO, pH, AGV	[64]
LBAR	AMD1	Lotes	81	Sí	AGV, flujo biogás, concentración de metano, pH	[65]
CSTR - CSTR	Modelo adaptativo discreto de estado estacionario	Continuo	85	No	AGV, DQO total, DQO soluble, ST, pH, volumen de metano	[16]

CSTR: Reactor continuo de tanque agitado. UASB: Reactor anaerobio de flujo ascendente. LBAR: Reactor de filtro anaerobio. AGV: Ácidos grasos volátiles. DQO: Demanda química de oxígeno. ST: Sólidos totales. AMD1: Anaerobic Digestion Model No.1. ANFIS: Adaptive Network Fuzzy Inference System.

Erdirencelebi y Yalpir, desarrollaron un modelo adaptativo neuro difuso con inferencia (Adaptive Network Fuzzy Inference System, ANFIS por sus siglas en inglés) donde las variables de entrada y de salida del reactor UASB fueron pH, DQO y AGV en función del tiempo. Los investigadores encontraron tres nodos principales de entrada con nueve relaciones de variables, dicho sistema fue solucionado mediante una aplicación construida en Matlab® [60].

Cakmakci, realizó dos modelos ANFIS para los lodos primarios de una planta de tratamiento de aguas residuales (PTAR), en donde la primera aproximación predijo el comportamiento de los sólidos volátiles en el reactor, las variables de entrada fueron pH, DQO y AGV. El segundo modelo es una refinación del primero, en donde utilizó los resultados del primer modelo junto con la concentración de SV del efluente, lo que

permitió la predicción del rendimiento de metano a la salida del reactor en función del tiempo. Los autores indicaron que, las mediciones rutinarias que se hacen en un digestor anaerobio, pueden ser utilizadas como parámetros de entrada del modelo, obteniendo una buena correlación entre los resultados del modelo y las mediciones reales realizadas. De la misma manera la aplicabilidad del modelo es bastante sencilla, y no se requiere la definición de reacciones complejas o ecuaciones químicas. Y finalmente, debido a la estructura altamente no lineal del modelo ANFIS, un sistema complejo como la digestión anaerobia puede ser fácilmente modelado [61].

Modelos más avanzados incluyen la presión parcial de hidrógeno, como parámetro clave en la regulación del potencial de óxido reducción en la fase líquida y más grupos bacterianos, con diferentes modelos acetolásticos y metanogénicos hidrogenotróficos. Este tipo de modelos se denominan AMD1 (Anaerobic Digestion Model No.1, por sus siglas en inglés), el cual es un balance de materia y energía con reacciones químicas, consistente en el comportamiento dinámico de 24 especies e incluye 19 procesos de bioconversión [12].

Zhao *et al.*, aplicaron el AMD1 a la digestión anaerobia en un reactor CSTR de plantas acuáticas. La experimentación fue llevada a cabo para identificar parámetros, calibrar y validar el modelo. Los valores fueron calculados y estimados para 7 de los 15 parámetros estequiométricos y 9 de los 17 parámetros cinéticos. La validación del modelo requirió de 20 días de operación del reactor CSTR [62]. Mairet *et al.*, también aplicaron el modelo AMD1, con una modificación de la etapa de hidrólisis usando la ecuación de Contois, para la digestión de residuos de microalgas, en donde las características de predicción fueron DQO total, DQO soluble, flujo de biogás, concentración de metano, nitrógeno inorgánico y pH. Después de 140 días de experimentación se obtuvo una buena representación de los datos, incluyendo la inhibición por pH [63]. Chen *et al.*, aplicaron el modelo AMD1 para la predicción de remoción de DQO, acumulación de AGV y pH, para un proceso anaerobio en dos fases. Fue necesario estimar coeficientes estequiométricos y de equilibrio, así como parámetros cinéticos utilizando un método de Runge-Kutta con la corrección de Bogacki y Shampine; sin embargo después de 120 días de experimentación la simulación del reactor CSTR falló [66].

Sendjaja *et al.*, desarrollaron un modelo de regresión lineal basado en el modelo adaptativo para un reactor en dos fases. Dicho modelo incluyó el análisis de la correlación entre los datos y desarrollo del modelo. El modelo se puede actualizar cada vez que se cuenta con datos nuevos, es por ello que se considera un modelo adaptativo. Los autores indicaron que se presentaron grandes ventajas mediante el uso de un modelo lineal, frente a los modelos AMD1 o ANFIS, siendo una de las principales que disminuye la necesidad de utilizar parámetros para las ecuaciones de balance de materia, energía, cinéticas y de transferencia, los cuales muchas veces son solo aproximaciones al sistema real, por lo cual es posible obtener errores entre el modelo y los datos experimentales. Para los modelos estadísticos o neurodifusos, se requieren grandes cantidades de datos, puesto que, parte de la metodología necesita una “adaptación” del modelo a los datos experimentales, lo que hace que estén restringidos a sistemas físicos que se encuentren en estado estable o que su variación sea relativamente pequeña en el tiempo. Por otro lado, los autores indican que la adaptabilidad del modelo radica en la generación diaria, o cada vez que tenga un nuevo arreglo de datos experimentales, de los parámetros de ajuste del modelo. Y por último es posible restringir el análisis a variables de laboratorio fácil y rápidamente medibles (DQO, pH, AGV), y la eliminación de otras que requieren mayor tiempo para obtener resultado (sólidos totales y volátiles) [16].

HIPÓTESIS

H0: Los residuos sólidos de cebolla blanca (*Allium cepa*) se pueden utilizar en un sistema de digestión anaerobia en dos fases para la producción de biogás y es posible desarrollar un modelo lineal adaptativo predictivo.

H1: Los residuos sólidos de cebolla blanca (*Allium cepa*) no se pueden utilizar en un sistema de digestión anaerobia en dos fases para la producción de biogás o no es posible desarrollar un modelo lineal adaptativo predictivo

OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar el desempeño de un sistema de reactores en dos fases usando residuos de cebolla blanca (*Allium cepa*) para la obtención de biogás y desarrollar un modelo lineal adaptativo predictivo

Objetivos Específicos

- Determinar la composición (humedad, lignina, celulosa, carbono y nitrógeno) de los residuos de cebolla blanca.
- Establecer las condiciones de operación en función del pH, DQO, AGV, nitrógeno total, nitrógeno amoniacal, alcalinidad y rendimiento de biogás, en la fase de hidrólisis y metanogénesis de los residuos de cebolla blanca.
- Evaluar el desempeño del sistema de digestión anaerobia en dos fases mediante la medición de Demanda Química de Oxígeno, pH, ácidos grasos volátiles, nitrógeno amoniacal y total, volumen de biogás y concentración de metano.
- Desarrollar un modelo lineal adaptativo predictivo, mediante los resultados del seguimiento experimental de pH, DQO, AGV, nitrógeno total, nitrógeno amoniacal, alcalinidad y rendimiento de biogás, por medio de sistemas matriciales.

CAPÍTULO 2. METODOLOGÍA

2.1 Recolección y caracterización de los residuos sólidos de cebolla Blanca

Los residuos sólidos de cebolla blanca (*Allium cepa*) fueron recolectados en un centro de procesamiento en la central de Abastos de la ciudad de Mérida, Yucatán, México. Dichos residuos fueron llevados a las instalaciones de la Unidad de Energía Renovable ubicadas en el Parque Científico y Tecnológico de Yucatán. Las propiedades que se determinaron se encuentran en la tabla 3.

Tabla 3. Propiedades analizadas para la caracterización de los residuos de cebolla blanca.

PROPIEDAD	OBSERVACIONES	REFERENCIA
Humedad	Análisis Proximal	[20]
Cenizas	Análisis Proximal	[21]
Celulosa	Determinación de α , β y γ Celulosa	[20]
Lignina	Determinación de lignina.	[20]
Carbono elemental	Flash EA 1200 Thermo Scientific	[20]
Nitrógeno elemental		

Los análisis de humedad y cenizas se realizaron en Unidad de Energía Renovable ubicado en el Parque Científico y Tecnológico de Yucatán bajo los métodos estándares para la determinación de muestras de agua y agua residual [67]. Los análisis de extractos totales, lignina y celulosa se realizaron en el Centro de Investigación en Propiedades y Usos de la Madera del Departamento de Madera, Celulosa y Papel de la Universidad de Guadalajara, bajo las normas TAPPI T203 om-93 [68] y TAPPI T 222 om-98 [69]. Los análisis elementales de Carbono y nitrógeno se realizaron en el laboratorio de Nutrición Piscícola del CINVESTAV Mérida, mediante el analizador elemental Thermo-Finigan Flash 1112.

2.2 Condiciones de pretratamiento químico

En la tabla 4 se presentan las condiciones a las cuales se realizó el pretratamiento de los residuos de cebolla blanca. Cada experimento se hizo por duplicado, mediante la adición de 172.5 g de residuo de cebolla en un matraz Erlenmeyer con 150 mL de la solución química a analizar, a 25 °C por 24 horas. La variable de respuesta fue el porcentaje de solubilización, de acuerdo a lo reportado por Penaud *et al.*, [54] y Kim *et al.*, [70] definido como:

$$\% \text{ Solubilización} = \frac{DQO_{\text{Soluble}}}{DQO_{\text{Total}}} * 100$$

Donde DQO_{soluble} se refiere a la demanda química de oxígeno después del pretratamiento soluble, el cual se realiza después de la filtración de la alícuota a determinar; y DQO_{total} es la demanda química de oxígeno después del tratamiento.

Tabla 4. Condiciones del pretratamiento de residuos de cebolla blanca

Solución	Concentración	Referencia
HCl	0.5 M y 1 M	[50]
H ₃ PO ₄		[71]
H ₂ SO ₄		[72]
NaOH		[49]

2.3 Construcción de los reactores

2.3.1 Reactor empacado o de hidrólisis

El primer reactor fue de acrílico (2 L) empacado con aros de PVC de ½ pulgada de diámetro para aumentar la oquedad del lecho empacado, facilitar la percolación del lixiviado y servir de soporte al material orgánico. Contó además con una placa cilíndrica

agujereada que sirvió como un falso fondo para permitir el paso del lixiviado (solución rica en ácidos grasos volátiles) y retener los sólidos. En la parte superior interna del reactor tiene ensamblado un aspersor para la irrigación del líquido recirculado sobre el sustrato empacado a una tasa de irrigación de $7.5 \text{ m}^3/\text{m}^2 \text{ día}$, lograda con una bomba marca IWAKI serie LKN32A-VC. El sistema inicial se presenta en la figura 2. En la parte superior se encuentra la salida de gas producido en la etapa de hidrólisis, el cual fue medido con un gasómetro de desplazamiento de salmuera acidificada, de acuerdo a lo indicado por Siegert y Banks [73]. Se hicieron pruebas de estanqueidad para asegurar que no existieran fugas de líquido o de gas.

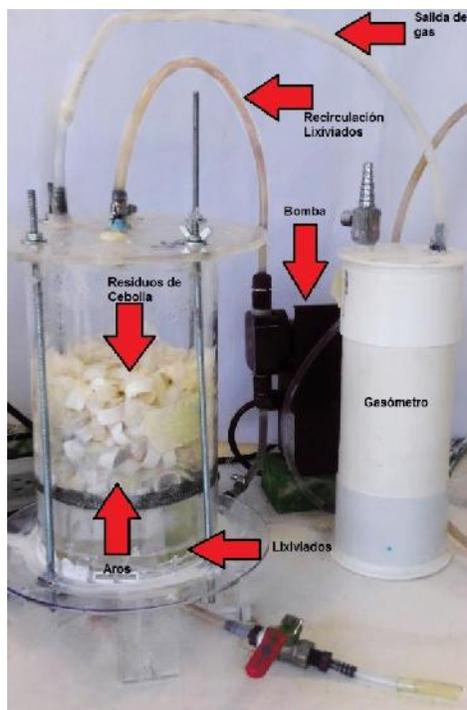


Figura 2. Reactor empacado.

En el primer experimento se tomaron 460 g de residuos de cebolla y 600 mL de inóculo a $25 \pm 3^\circ\text{C}$, de acuerdo a lo reportado por Alzate-Gaviria *et al.*, [74] y se realizó el seguimiento diario de los parámetros: pH, ácidos grasos volátiles, nitrógeno total y amoniacal, volumen de biogás y concentración de metano. Con la finalidad de evaluar la digestión de residuos sólidos de cebolla blanca en una sola etapa.

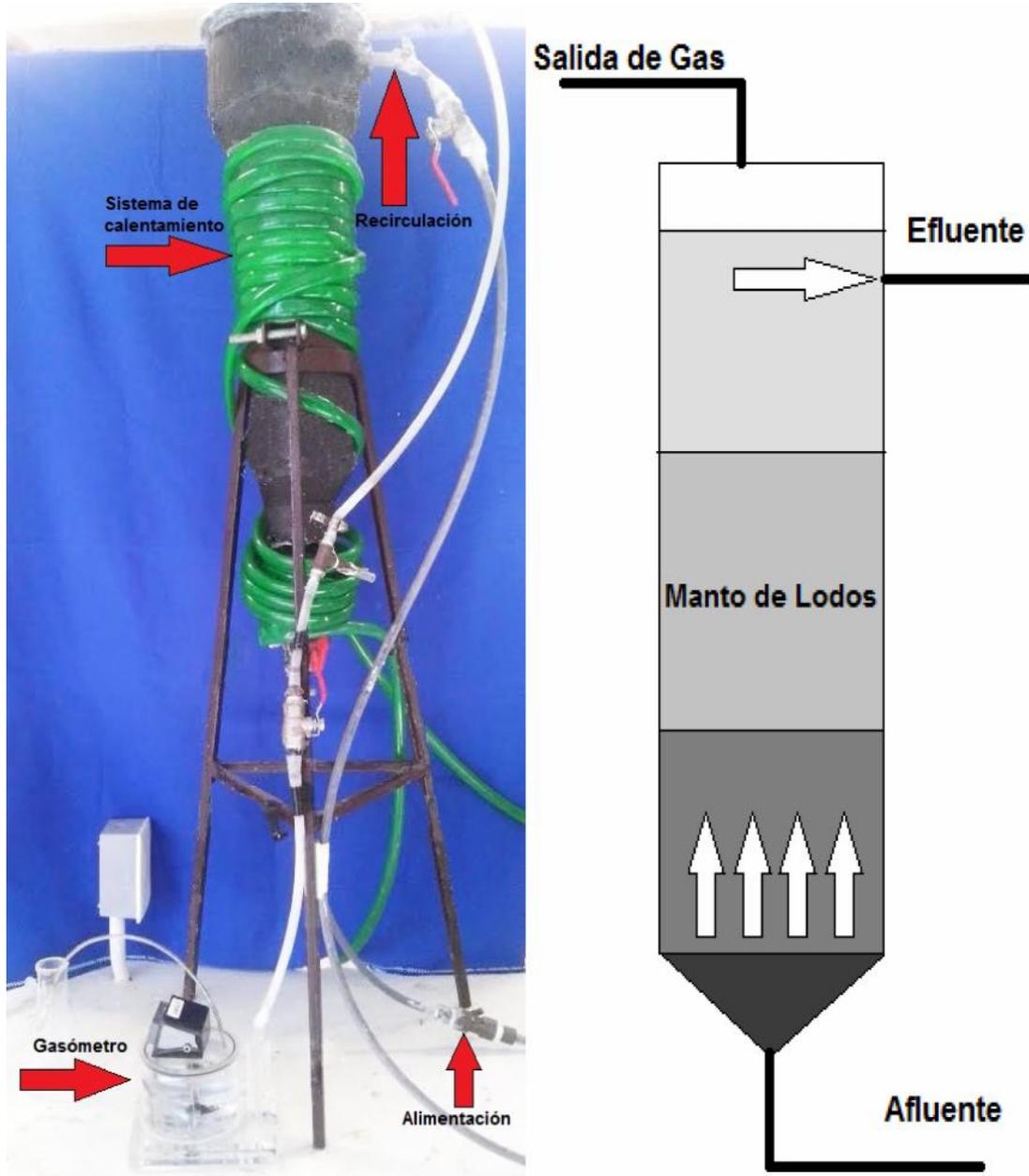
Para analizar el desempeño de la digestión anaerobia con pretratamiento ácido se realizó un segundo experimento, en el cual se usaron 460 g de residuos de cebolla, con la adición de 600 mL de una solución 1M de H_2SO_4 , por 24 horas, pasado este tiempo se abrió el reactor y se neutralizó la solución con carbonato de sodio, después se adicionaron 600 mL de inóculo y se volvió a cerrar el reactor, finalmente se hicieron los mismos análisis que los efectuados en la primera experimentación, todo el proceso se mantuvo a $25\pm 3^\circ C$.

Para el tercer experimento se usaron 460 g de residuos de cebolla, con la adición de 600 mL de una solución 1M de H_2SO_4 , por 24 horas, pasado este tiempo se neutralizó la solución con carbonato de sodio de la misma manera que lo realizado en el segundo experimento, se adicionaron 600 mL de inóculo, manteniendo todo el sistema a $25\pm 3^\circ C$; una vez se evidenció el inicio de la fase de metanogénesis en el reactor empacado, se acopló al reactor UASB, hasta agotar la fuente de carbono. De esta manera se configuró el sistema de digestión anaerobia en dos fases.

2.3.2 Reactor UASB

Se construyó un reactor anaerobio de flujo ascendente (UASB) de 4 L de capacidad neta, (ver figura 3), con un puerto de entrada, ubicado en la parte inferior que sirve como entrada del líquido, y dos puertos de salida en la parte superior, una para el efluente del reactor y otra para la salida de gases. Para mantener una temperatura mesofílica ($35^\circ C$) en el UASB se instaló un intercambiador de calor, que consistió en una manguera de $\frac{1}{2}$ pulgada de plástico enrollada alrededor del reactor con etilenglicol como fluido de calentamiento conectada a un baño termostático (Lauda, Alpha RA 8 para temperatura entre $-25^\circ C$ y $100^\circ C$, con control de temperatura y máxima presión de operación de 0.2 bar, para un flujo de 15 L/min). Se hicieron pruebas de estanqueidad para asegurar que no existieran fugas de líquido o de gas. Una bomba peristáltica (Iwaky EZBD1) se utilizó para mantener el flujo a la entrada al reactor en 7.6 L/min, equivalente a 1 m/s. Internamente, de acuerdo a Bedoya y Sánchez, se cuenta con un fluido en contacto directo con un manto de lodos, como se muestra en la figura 3 (b), en donde las aguas residuales son introducidas en la parte inferior y salen en la parte superior, estableciendo

un flujo ascendente, con una mezcla continua promovida por el flujo de alimentación y las burbujas de gas [75].



(a) (b)
Figura 3. Reactor UASB. (a) Vista externa. (b) Esquema interno.

2.4 Aclimatación Reactor UASB

Se realizó la aclimatación de las bacterias metanogénicas con la alimentación de agua residual sintética con las siguientes características: Azúcar=4g/L, NaHCO₃=1g/L, Na₂CO₃=1g/L, NH₄Cl=0.1 g/L, KH₂PO₄=0.2 g/L y ácido acético 0.1 mL/L, de acuerdo a lo planteado por Blanco-Cocom, *et al* [65], en el UASB por 65 días. Se monitoreó diariamente las concentraciones de ácidos grasos volátiles, alcalinidad, DQO, pH, nitrógeno amoniacal, nitrógeno total, volumen generado de gas y porcentaje de metano. En la tabla 5 se presentan los métodos utilizados para la determinación de las variables evaluadas. El inóculo fue realizado a partir de estiércol de vaca y de cerdo, de acuerdo a lo reportado por Alzate *et al.*, [66].

Tabla 5. Métodos utilizados para la determinación de las variables evaluadas.

Propiedad	Método	Referencia
DQO	HACH Company DR-890	[76]
pH	HQ-40d multi pH-meter	[76]
AGV	Titulación con H ₂ SO ₄	[77]
	Cromatografía de gases	[76]
Nitrógeno amoniacal	HACH Company DR-890	[76]
Nitrógeno total		
Metano	Cromatografía de gases Clarus 500-Perkin Elmer con TCD, columna Molesieve (30 m longitud, 0.53 mm diámetro interno y 0.25 µm espesor)	[78]

La tasa de carga orgánica (TCO) fue seleccionada como el parámetro de conexión entre el reactor empacado y el reactor UASB, de acuerdo a lo reportado por Lehtomäki *et al.*, [79] y Yu *et al.*, [48], para configurar el sistema en dos fases. Para mantener constante la

TCO se midió diariamente la DQO del efluente del reactor empacado, el cual junto con el tiempo de retención hidráulico del UASB permitió el cálculo del volumen alimentado al reactor UASB.

2.5 Modelo lineal adaptativo predictivo

Un modelo lineal adaptativo predictivo (MLAP) fue desarrollado para determinar la relación entre variables, mediante el ajuste a través de una ecuación lineal entre los valores observados y predichos. Considerando la matriz **U** como aquella formada por los valores experimentales de entrada del modelo en el tiempo **t**, el vector **y** como aquel formado por las variables de salida, la matriz **X** como las variables de estado en el tiempo **t+1**, y **v** como el vector de los errores experimentales y numéricos. La relación entre estas variables está dada por las siguientes ecuaciones:

$$\mathbf{X}(t + 1) = \mathbf{U}(t)\mathbf{A} + \boldsymbol{\varepsilon} \quad (1)$$

$$\mathbf{y}(t + 1) = \mathbf{U}(t)\mathbf{b} + \boldsymbol{\varepsilon} \quad (2)$$

Donde **A** y **b**, son la matriz y vector que hacen válidas las ecuaciones, respectivamente. La selección de las variables de salida, variables de entrada y variables de estados del modelo fueron hechas teniendo en cuenta diversos criterios, entre ellos la rapidez de determinación experimental, incidencia en el proceso a estudiar y costos [16]. Teniendo en cuenta los criterios de rapidez en la determinación experimental e incidencia de las variables en el proceso de digestión anaerobia, las variables seleccionadas se presentan en la figura 4.

El modelo fue construido para el sistema en dos fases, en donde el reactor de hidrólisis fue el reactor con H₂SO₄ como pretratamiento, acoplado al reactor UASB. Las condiciones de operación para el reactor UASB fueron: las variables de salida del reactor empacado (**U**), el volumen de metano fue el vector **y**, y el efluente del reactor UASB fue la matriz de variables de estado (**X**).

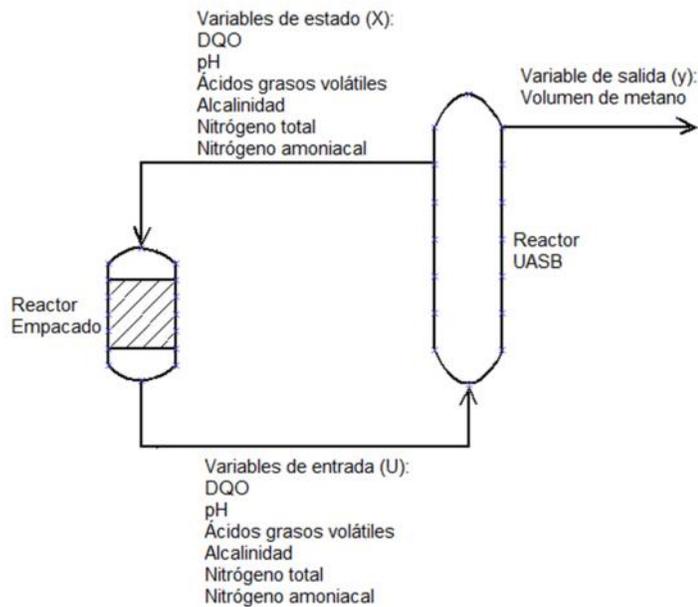


Figura 4. Planteamiento experimental del modelo MLAP

Para la determinación de la matriz de coeficientes \mathbf{A} y el vector de coeficientes \mathbf{b} , que se presentan en las ecuaciones (1) y (2), se requiere evaluar \mathbf{X} , que es la matriz definida por los elementos de los estados $\mathbf{x}_{i,t}$ (3); \mathbf{U} que es la matriz definida por las variables de entrada $\mathbf{u}_{i,t}$ (4); donde i es la variable (DQO, pH, alcalinidad, AGV, nitrógeno total o amoniacal); y t es el tiempo; \mathbf{y} es el vector de volumen de metano (5)

$$\mathbf{X} = \begin{bmatrix} x_{1,1} & \cdots & x_{n,1} \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ x_{1,t-1} & \cdots & x_{n,t-1} \end{bmatrix} \quad (3)$$

$$\mathbf{U} = \begin{bmatrix} u_{1,2} & \cdots & u_{n,2} \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ u_{1,t} & \cdots & u_{n,t} \end{bmatrix} \quad (4)$$

El vector de salida definido como \mathbf{y} , donde T es la transpuesta de la matriz queda:

$$\mathbf{y} = [y_1 \quad \cdots \quad y_t]^T \quad (5)$$

Los coeficientes $\mathbf{a}_{i,t}$ de la matriz \mathbf{A} y el vector \mathbf{b} de las ecuaciones (1) y (2) se determinan resolviendo el siguiente sistema matricial:

$$\mathbf{a}_i = (\mathbf{U}^T \mathbf{U})^{-1} \mathbf{U}^T \mathbf{x}_i \quad (6)$$

$$\mathbf{b} = (\mathbf{U}^T \mathbf{U})^{-1} \mathbf{U}^T \mathbf{y} \quad (7)$$

Con el objetivo de ajustar el modelo lineal adaptativo predictivo, diariamente el procedimiento es repetido cuando un nuevo arreglo de datos está disponible. Todos los días, la primera columna de las matrices \mathbf{X} y \mathbf{U} se elimina y el nuevo arreglo de datos se adiciona a la última columna, generando un nuevo conjunto de coeficientes. Se utilizó Excel para analizar los datos.

CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Caracterización de los residuos de cebolla blanca (*Allium cepa*)

Los resultados obtenidos de la caracterización de los residuos de cebolla blanca se presentan en la tabla 6.

Tabla 6. Características de los residuos de cebolla blanca y comparación con otros autores.

Propiedad	Este estudio	Romano [58]	Benítez et al.,2011 [80]	Dini et al., 2008 [81]
Humedad (%)	83.7	92.6	91.2	89.5
Cenizas (%) ⁽¹⁾	0.58	-		
Extractos totales (%) ⁽¹⁾	14.39			
Lignina (%) ⁽¹⁾	16.14			
Alfa Celulosa (%) ⁽¹⁾	39.81	10.4		
Beta Celulosa (%) ⁽¹⁾	2.50			
Gama Celulosa (%) ⁽¹⁾	27.16			
Carbono elemental (%) ⁽¹⁾	41.5	39.32	-	
Nitrógeno elemental (%) ⁽¹⁾	2.72	1.82		

⁽¹⁾En base seca

El contenido de humedad es menor al reportado por otros autores [58], [80], [81]; debido a que la cebolla utilizada en el proyecto actual, contenía piel, raíces y partes secas; con lo cual disminuye la humedad. De la misma manera existe una diferencia marcada en los contenidos de lignina y celulosa, por lo que en los estudios encontrados se reportan las propiedades de la cebolla para su aplicación como producto alimenticio, en donde se determina la fracción de celulosa y lignina digerible. En el caso del presente estudio, para la lignina, los carbohidratos se hidrolizaron y solubilizaron en ácido sulfúrico, de acuerdo a lo reportado en la norma TAPPI 222 os-74 [69], mientras que para la celulosa se realizó la extracción con agua caliente, agua fría, etanol y benceno [68]

Un alto contenido de material lignocelulósico indica una baja biodegradabilidad del sustrato, debido a que la lignina no es biodegradable en ambientes anaeróbicos [82], porque dado que muchas enzimas extracelulares requieren oxígeno para la degradación de este compuesto [83].

Los factores que afectan la biodegradabilidad de biomasa lignocelulósica incluyen el contenido de lignina, celulosa y hemicelulosa, cristalinidad de la celulosa, volumen de poro, tamaño de partícula y características estructurales de la lignina. Por otro lado, en la digestión anaerobia de los residuos lignocelulósicos, la velocidad de hidrólisis se ha identificado como un factor limitante del proceso [84].

Aunque se tiene un consenso general en la literatura técnica de los inconvenientes que presenta la lignina en la biodegradación de materiales lignocelulósicos, la relación cuantitativa entre la biodegradabilidad y el contenido de lignina no está bien definido aún, y los datos reportados son contradictorios en cuanto a cantidad y características del material [85]. Es por ello que no se puede calificar la incidencia que el contenido de lignina tiene en la digestión anaerobia de los residuos de cebolla blanca [86]

3.2 Pretratamiento químico

Los resultados de los experimentos realizados para definir el pretratamiento químico se observan en la tabla 7, junto con las condiciones más relevantes de estudios similares encontrados en la literatura. Se muestra el porcentaje de solubilización definido de acuerdo a Penaud *et al.*, 1999 [54] y Kim *et al.*, 2003 [70].

Tabla 7. Comparación de porcentajes de solubilización actual y otros estudios.

Tipo de Residuo	Compuesto Químico	Tiempo (h)	Temperatura (°C)	Concentración (M)	Solubilización (%)	Referencia
Estiércol Bovino	H ₂ SO ₄	72	N.D.	0.18	24.5	[51]
Lodos PTAR	NaOH	24	25	0.66	60.4	[54]
	KOH		25	0.46	58.2	
	Mg(OH) ₂		25	0.36	29.1	

	Ca(OH) ₂		25	0.35	30.7	
	NaOH	0.5	140	0.66	71.6	
	KOH		140	0.46	83.7	
	Mg(OH) ₂		140	0.36	55.6	
	Ca(OH) ₂		140	0.35	51.1	
			25	0.063	30	
			130	0.033	60	
			170	0.063	80	
Lodos digestión anaerobia	KOH		6	80	pH=12	3
		9	19			
		12	21			
		24	25			
		36	22			
		48	21			
Lodos digestión anaerobia	H ₂ SO ₄	8	25	0.01	10	[56]
				0.02	10	
				0.04	11	
				0.05	10	
				0.02	60	
				0.04	60	
				0.06	63	
				0.08	62	
Estiércol Bovino	H ₂ SO ₄	0.5	120	0.375	35	[52]
				0.009	9	
Bagazo de caña	NaOH	0.5	25	2	19	[87]
	NaOH	0.5	120	2	56	
Residuos de Cebolla Blanca	HCl	24	25	0.5	27.8±0.99	Este Estudio
	H ₃ PO ₄				16.4±0.23	
	H ₂ SO ₄				22.0±4.23	
	NaOH				23.8±4.36	
	HCl			1	36.8±1.72	
	H ₃ PO ₄				31.3±1.72	
	H ₂ SO ₄				34.5±0.85	
	NaOH				30.4±0.82	

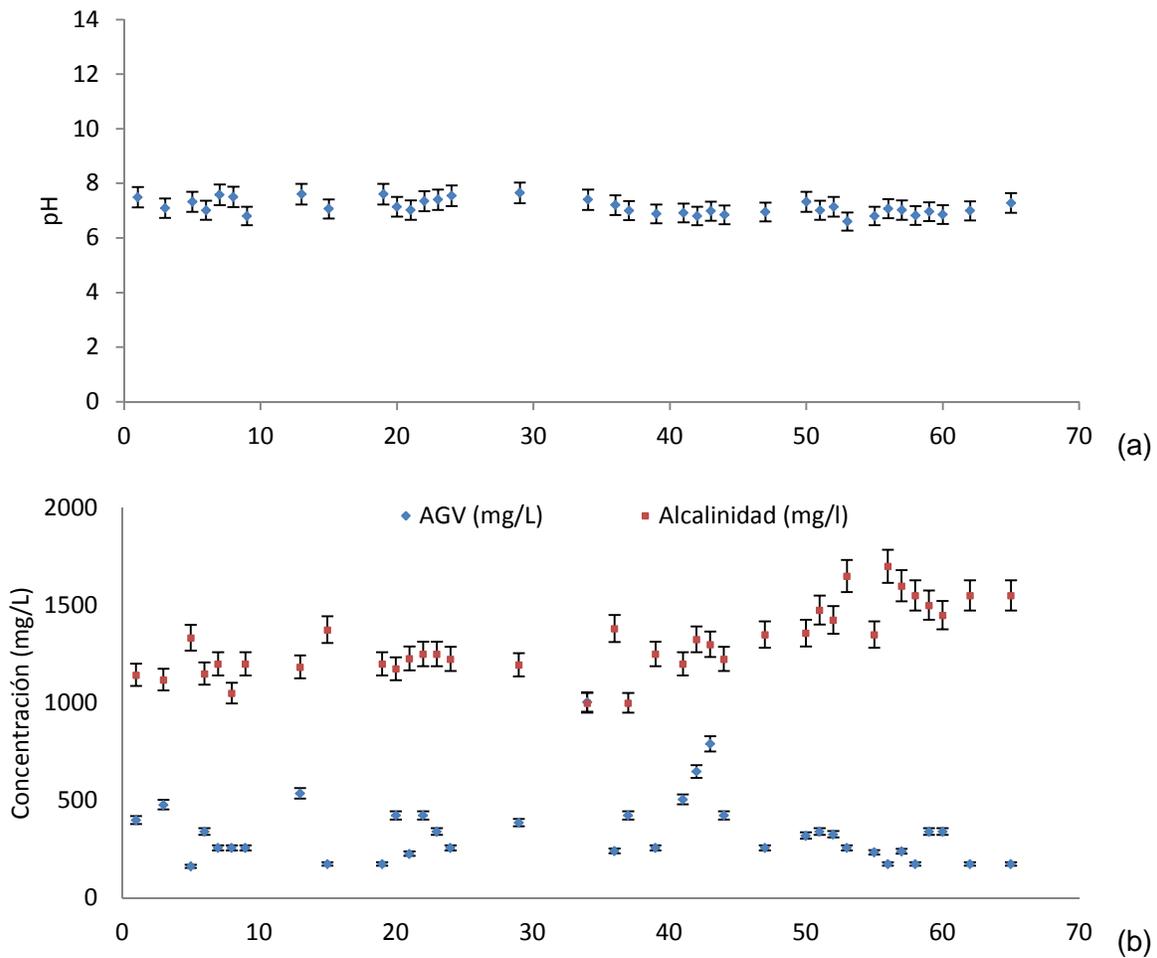
En este estudio se pudo observar que con una concentración de 1 M se aumentó el porcentaje de solubilidad (mayor al 30 %) para los 4 compuestos químicos usados en 24 h de tratamiento. El mayor porcentaje de solubilidad lo generó el pretratamiento con HCl 1 M (36.8 ± 1.72 %), seguido de H₂SO₄ 1M (34.5 ± 0.85 %), H₃PO₄ 1M (31.3 ± 1.72 %), NaOH 1 M (30.4 ± 0.82 %). Estos resultados están acorde a lo mostrado por Li *et al.*, en donde reportan 24.5% de solubilidad al usar H₂SO₄ 0.18 M por 72 h en los residuos de estiércol bovino [51] y a los reportados por Jin *et al.*, para el mismo residuo con H₂SO₄ 0.375 M a 120 °C por 30 minutos con una solubilización de 35 % [52]. Para el bagazo de caña Ozkan *et al.*, determinaron que la solubilización utilizando NaOH 2 M por 0.5 horas a 25 °C era menor que la realizada a 120 °C, pasando de 19% a 56%, pero con un gasto energético mayor [87].

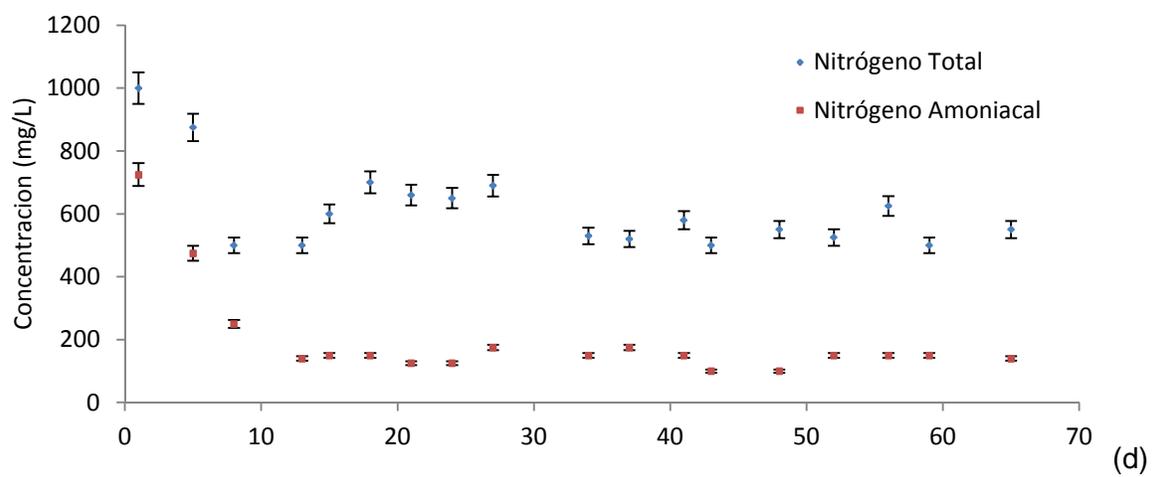
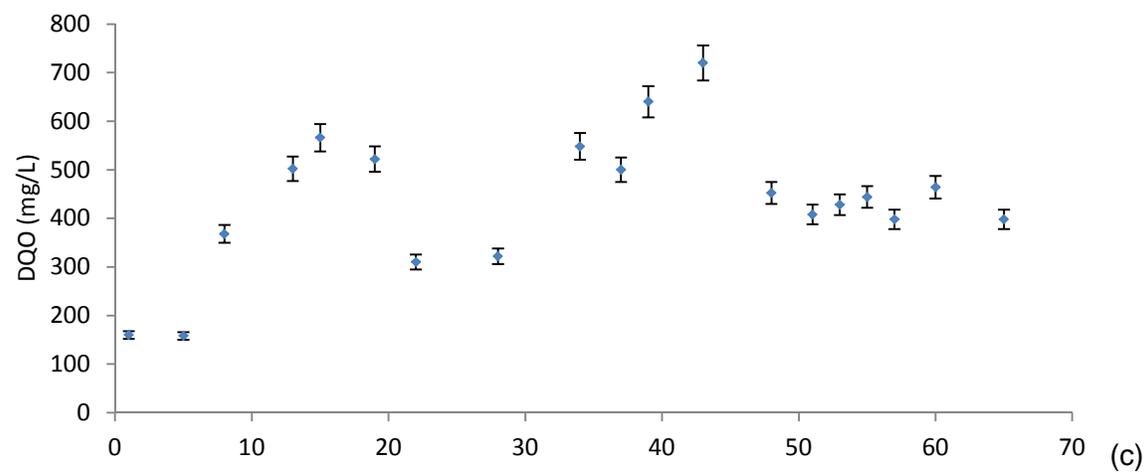
De acuerdo a los resultados de los experimentos realizados para los residuos de cebolla blanca y a la información bibliográfica consultada, se seleccionó el uso de H₂SO₄ 1M por 24 h a 25 °C. Aun cuando el porcentaje de solubilidad de HCl fue ligeramente mayor (HCl: 36.8 ± 1.72 % vs H₂SO₄: 34.5 ± 0.85 %). Kim y Lee, indican que la difusividad del ácido sulfúrico en residuos agroindustriales es significativamente mayor que en maderas duras y que la presentada por otros tipos de ácidos [88]. De la misma manera, su amplia aplicación en diversos estudios se da debido a su costo reducido y efectividad para un amplio espectro de materiales lignocelulosicos [89]. Por otro lado, Meinita *et al.*, indicaron que se presentan mayores concentraciones de azúcares reductores cuando se utiliza ácido sulfúrico para la hidrólisis de *Gongronema latifolium*, en comparación con ácido clorhídrico [90].

3.3 Aclimatación del Reactor UASB

En la figura 5 (a) se muestra el seguimiento de pH durante el periodo de aclimatación, el cual fue de 65 días, el valor promedio fue de 7.13 ± 0.28 . De acuerdo a Mao *et al.*, estos valores se encuentra dentro del intervalo que es considerado ideal para la digestión anaerobia, el cual es de 6.8 a 7.4 [11]. El seguimiento de alcalinidad y de ácidos grasos volátiles se presenta en la figura 5 (b), la alcalinidad promedio del reactor UASB fue de

1310 ± 176 mg/L, Hashimoto, citado por Romano, indica que la alcalinidad debe mantenerse entre 2500 y 5000 mg/L, para asegurar suficiente capacidad de amortiguamiento de los cambios repentinos en la concentración de AGV [57]. Aun cuando el valor obtenido en el reactor UASB es menor al indicado por Hashimoto, la variación de este parámetro a lo largo de los 65 días de aclimatación no superó el 13 %, debido a esto se puede concluir que la capacidad de amortiguamiento de la solución fue suficiente para las condiciones experimentadas.





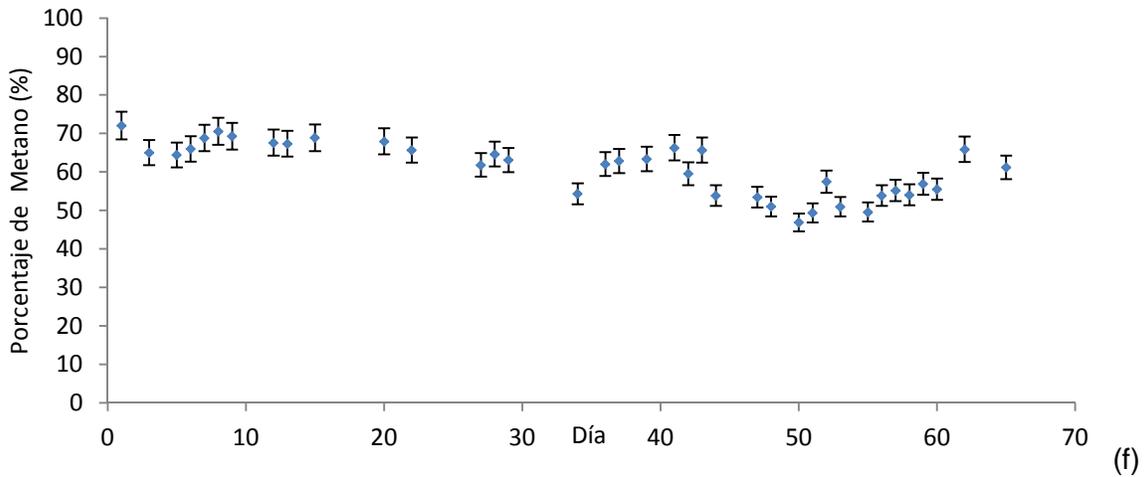
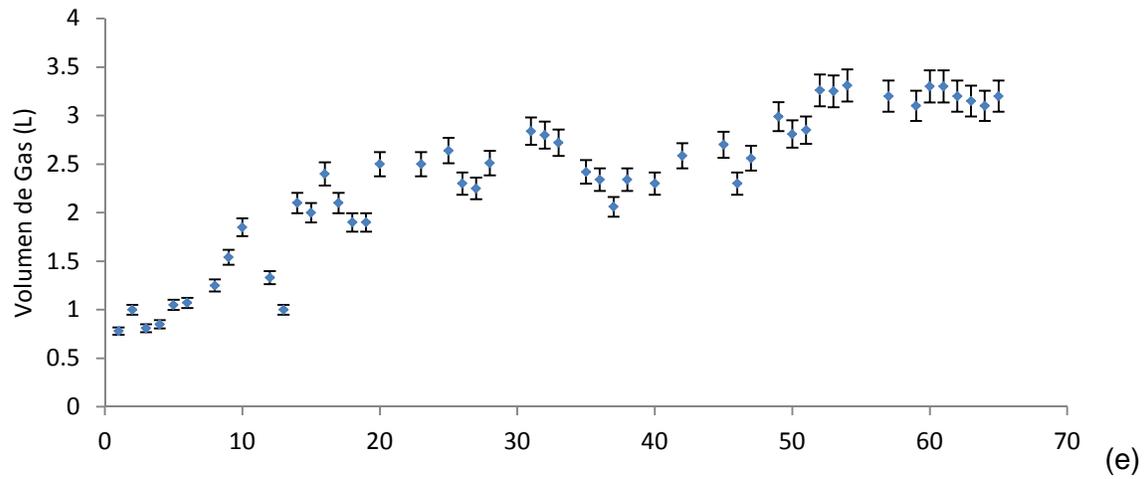


Figura 5. Desempeño de la aclimatación del reactor UASB. (a) pH, (b) AGV y Alcalinidad, (c) DQO, (d) nitrógeno total y amoniacal, (e) Volumen gas producido y (f) Porcentaje de metano generado.

La concentración de ácidos grasos volátiles en el efluente del reactor se midió diariamente, los resultados se presentan en la figura 5 (b) y se obtuvo un valor promedio de 340.8 ± 163 mg/L. Este valor indica que el proceso está lejos de los valores inhibitorios para ácidos grasos volátiles reportados por Wang *et al.*, que se encuentran en valores superiores a 4000 mg/L [40]. Estos resultados están de acuerdo con lo reportado por diferentes autores. Como se puede ver en la tabla 8 la concentración de AGV en el efluente del reactor UASB, no supera los 1000 mg/L, con la excepción del caso para el agua residual sintética a 15 °C en donde fue de 1200 mg/L [91], paja de trigo como fuente de carbono con una concentración de salida de 1350 mg/L [43] y vinazas con 2850 mg/L

[76], este comportamiento se debe a que la carga orgánica de alimentación fue de 7.2, 41.2 y 17.05 kg DQO/m³ día, respectivamente [91], [43], [76].

Para un valor promedio inicial de agua residual sintética de alimentación de 7900 mg DQO/L, de acuerdo a lo reportado por Blanco-Cocom *et al*, [92], se obtuvo una concentración de DQO en el efluente promedio de 437.6 ± 141.3 mg DQO/L, como se observa en la figura 5 (c). Entre el día 38 y 42 se presentó un ligero aumento en la concentración de DQO en la corriente de salida del reactor UASB, debido al aumento en la concentración de AGV en el reactor, por lo cual se eliminó la alimentación por un día; con lo cual disminuyó tanto los AGV como el DQO. La remoción de carga orgánica promedio fue de 94 %, este valor está en concordancia con diversos estudios realizados para el tratamiento de aguas residuales (>90 %) [93], tratamiento de aguas residuales sintéticas en un reactor UASB a temperatura psicrófila (>90 %) [91] y tratamiento de aguas residuales sintéticas a temperatura mesófila (>96 %) [94]. Además, de acuerdo a lo reportado en la tabla 8, los valores de remoción de carga orgánica son superiores a los reportados para el agua residual sintética a temperatura psicrófila, en donde determinaron un porcentaje de remoción de 90 y 83 para las dos condiciones investigadas [91]. Como era de esperarse, por ser un agua residual sintética donde la fuente de carbono es glucosa, la reducción en la carga orgánica en porcentaje fue mayor que en los casos de: beneficio de café (59.2 – 77.2 %) [95], vinazas (69 %) [72] y (73 %) [96], paja de trigo (31.5 – 76.8 %) [43], agua residual de matadero (68 – 83 %) [97] y agua residual industria papelera (90 %) [98].

La figura 5 (d) presenta el seguimiento realizado tanto al nitrógeno total como al nitrógeno amoniacal en el efluente del reactor UASB. En los primeros diez días se puede observar un decaimiento tanto en la concentración de nitrógeno total como amoniacal, lo cual puede ser atribuido a la formación de biomasa en el medio, como parte de la aclimatación del reactor UASB. Luego se mantuvo estable tanto la concentración de nitrógeno total (578.67 ± 70.83 mg/L) como de nitrógeno amoniacal (142 ± 21.9 mg/L). De acuerdo a Yenigün y Demirel, la concentración de nitrógeno amoniacal en donde inicia el proceso inhibitorio para la digestión anaerobia sin aclimatación del inoculo es 1700 mg/L [36] y Chen *et al.*, mencionan que la concentración de nitrógeno amoniacal por debajo de 200

mg/L es benéfica para el proceso anaerobio puesto que es un nutriente esencial para los microorganismos [31].

En la figura 5 (e) se presenta el registro de volumen de biogás producido por el reactor, en los primeros 16 días se observa una tendencia creciente con un valor máximo 2.4 L en el día 16, después continua creciendo pero con una pendiente menor, alcanzando un promedio entre los días 60 y 65 de 3.23 L. En la figura 5 (f) la concentración de metano, con un valor promedio de 61 ± 6.9 %. De acuerdo a la información reportada en la tabla 8, la cantidad de biogás producida diariamente por un reactor UASB y su concentración de metano varían en función de la temperatura y la fuente de carbono, principalmente. Para el agua residual del beneficio de café, en un proceso de digestión anaerobia, para cargas entre 3.6 y 4.1 kg DQO/m³ día y con una temperatura de 37 °C, se tienen volúmenes de biogás entre 1.73 y 1.64 L, con concentraciones de metano entre 41 y 58 % [95]. Para agua sintética residual en un UASB con inóculo adaptado a bajas temperaturas, con cargas de 7.2 y 1 kg DQO/m³ día a 15 °C, se encontraron volúmenes de biogás de 1.3 y 1.8 L y concentraciones de metano de 70 y 78 %, respectivamente [91]. De acuerdo al estudio de España, *et al.*, para el tratamiento de vinazas con una carga de 17.05 kg DQO /m³ día, se generaron 24.5 L de biogás con una concentración de metano del 55 % [76]. También para el tratamiento de vinazas, con una carga de 11.75 kg DQO /m³ día se obtienen 46 L/día de biogás con una concentración de metano del 60 %, de acuerdo a lo reportado por Selvamurugan *et al.*, [96]. Para la digestión anaerobia de agua residual de la industria de papel, en donde la fuente de carbono está contaminada principalmente con concentraciones altas de iones Cl⁻, se puede observar que la carga orgánica inicial es baja (2.1 kg DQO /m³ día) en comparación, por ejemplo con las vinazas (17.05 o 11.75 kg DQO /m³ día), esto, de acuerdo a los autores, se debe a la presencia de componentes tóxicos para los consorcios bacterianos, para lo cual proponen la aclimatación por más de 120 días del reactor UASB antes de iniciar con el estudio; esta aclimatación permitió obtener 7.1 L/día de biogás con una concentración del 69 % [98]. Se observa en la tabla 8 que para la digestión anaerobia de paja de trigo, después de una hidrólisis térmica, con cargas entre 2.3 y 41.2 kg DQO /m³ día, el volumen de biogás generado no alcanzó a 1 L/día con una concentración máxima de 70.2% (TCO=9.7 kg DQO /m³ día) y mínima de 21.8 %, cuando el reactor operó a la máxima carga aplicada, esto se debe a que el reactor utilizado contaba con un volumen efectivo de 255 mL [43]. De acuerdo a este último autor,

la concentración de metano se ve afectada en el momento que el reactor empieza a tener una sobrecarga de alimentación.

El rendimiento promedio de biogás para el UASB fue de $0.52 \pm 0.037 \text{ m}^3 \text{ biogás /kg DQO}_{\text{REMOVIDO}}$ y de metano fue de $0.32 \pm 0.01 \text{ m}^3 \text{ CH}_4 \text{ /kg DQO}_{\text{REMOVIDO}}$. Según la información reportada en la tabla 8, el rendimiento promedio de metano en un reactor UASB está entre 0.1 y $0.3 \text{ m}^3 \text{ CH}_4 \text{ /kg DQO}_{\text{REMOVIDO}}$. Guardia-Puebla *et al.*, reportan rendimientos de metano entre 0.1 y $0.14 \text{ m}^3 \text{ CH}_4 \text{ /kg DQO}_{\text{REMOVIDO}}$, para el agua residual de beneficio de café a condiciones mesófilas [95]. En un intervalo similar, se encuentran los resultados proporcionados por Kaparaju *et al.*, en donde el rendimiento está entre 0.027 y $0.1578 \text{ m}^3 \text{ CH}_4 \text{ /kg DQO}_{\text{REMOVIDO}}$, para el tratamiento de los residuos de paja a condiciones termófilas; los autores indican que el bajo rendimiento se puede deber a los contaminantes inhibitorios que puede tener la biomasa luego del pretratamiento hidrotérmico, como pueden ser compuestos fenólicos, hidroximetilfurfuranos y furfurano [43]. Para el agua residual sintética reportan rendimientos entre 0.25 y $0.3 \text{ m}^3 \text{ CH}_4 \text{ /kg DQO}_{\text{REMOVIDO}}$, para cargas de 7.2 y $1 \text{ kg DQO/m}^3 \text{ día}$; indican los autores que un aumento en la carga del reactor, para un reactor sin aclimatación puede disminuir el rendimiento de metano producido [91]. Este mismo comportamiento se muestra para suero lechero, encontrándose que para una carga de $41.2 \text{ kg DQO/m}^3 \text{ día}$ se obtuvo un rendimiento de $0.027 \text{ m}^3 \text{ CH}_4 \text{ /kg DQO}_{\text{REMOVIDO}}$, mientras que para $2.3 \text{ kg DQO/m}^3 \text{ día}$ el rendimiento alcanzado fue de $0.1453 \text{ m}^3 \text{ CH}_4 \text{ /kg DQO}_{\text{REMOVIDO}}$ [43]. Para vinazas se obtuvo rendimiento de $0.182 \text{ m}^3 \text{ CH}_4 \text{ /kg DQO}_{\text{REMOVIDO}}$ con una carga de $17.5 \text{ kg DQO/m}^3 \text{ día}$ [76] y de $0.191 \text{ m}^3 \text{ CH}_4 \text{ /kg DQO}_{\text{REMOVIDO}}$ con una carga de $11.75 \text{ kg DQO/m}^3 \text{ día}$ [96].

La relación carbono – nitrógeno (C:N) fue de 15.25, de acuerdo a lo reportado en la tabla 8, cercano al valor reportado por Romano, 2011 (C:N= 21.6) [58], y Romano, 2008 (C:N= 15) [57]. Se encuentra dentro del intervalo adecuado para bacterias metanogénicas, debido a que un incremento de carbono produce mayor formación de CO_2 , y mayor concentración de nitrógeno aumentará el contenido de amoníaco gaseoso y por ende el pH de la solución [82].

Tabla 8. Comparación del desempeño de varios reactores UASB.

Tipo de residuo	OLR (kg DQO/m ³ día)	pH	TRH	Rendimiento (m ³ de CH ₄ /kg DQO _{REMOVIDO})	Temperatura (°C)	% Remoción DQO	AGV efluente (mg/L)	V Biogás (L/día)	% Metano	Referencia
Agua residual del beneficio de café	3.6	7.8 - 8.4	21.5 h	0.145	37	77.2	210.5 ± 18	1.73	58.5 ± 0.03	[95]
	3.8		18.5 h	0.109	37	72.1	216.3 ± 17	1.62	45.3 ± 0.03	
	4.1		15.5 h	0.111	37	59.2	237.8 ± 17	1.64	41.3 ± 0.03	
Agua residual sintética	7.2	7 - 8.2	7 d	0.25	15	90	1,200 ± 32	1.3	70	[91]
	1		1 d	0.3	15	83	30 ± 5	1.8	78	
Glucosa + AGV	0.5	7	N.D.	N.D.	35	70	550 ± 15	N.D.	N.D.	[99]
	3		N.D.	N.D.	35	68	200 ± 24	N.D.	N.D.	
Vinazas	17.05	7	7.5 d	0.182	30	69	2,850	24.5	55	[76]
Suero lechero	2.3	8.1	48 h	0.1453	55	56.9	640	0.07871	61.6	[43]
	9.7	7.2	48 h	0.1	55	63.4	290	0.2234	70.2	
	12.4	7.2	48 h	0.127	55	76.8	90	0.459	67.2	
	17.1	6.8	48 h	0.1578	55	75.9	210	0.8588	63.7	
	41.2	5.4	48 h	0.027	55	31.5	1,350	0.410	21.8	
Agua residual matadero	13 ± 2.9	6.8 - 7.8	7.1 h	0.20	33	78 ± 14	N.D.	N.D.	N.D.	[97]
	16.7 ± 3.3		6.8 h	0.23	33	73 ± 11	N.D.	N.D.	N.D.	
	17.4 ± 1.1		6.7 h	0.25	33	77 ± 15	N.D.	N.D.	N.D.	
	27.4 ± 4.8		4.1 h	0.28	33	83 ± 7	N.D.	N.D.	N.D.	
	39.5 ± 9		2.3 h	0.22	33	68 ± 10	N.D.	N.D.	N.D.	
Vinazas	11.75	7.2 - 7.5	10 d	0.191	N.D.	72.98	N.D.	46	60	[96]
Agua residual industria papelera	2.1	6.5 - 7.8	N.D.	0.276	35	90	27 - 130	7.1	69	[98]
Agua residual lechería	0.331	6.14 - 7.68	5.21 d	0.25	15	84.42	N.D.	N.D.	N.D.	[100]
	0.521		5.21 d	0.25	15	86.12	N.D.	N.D.	N.D.	
	0.88		5.21 d	0.27	15	89.72	N.D.	N.D.	N.D.	

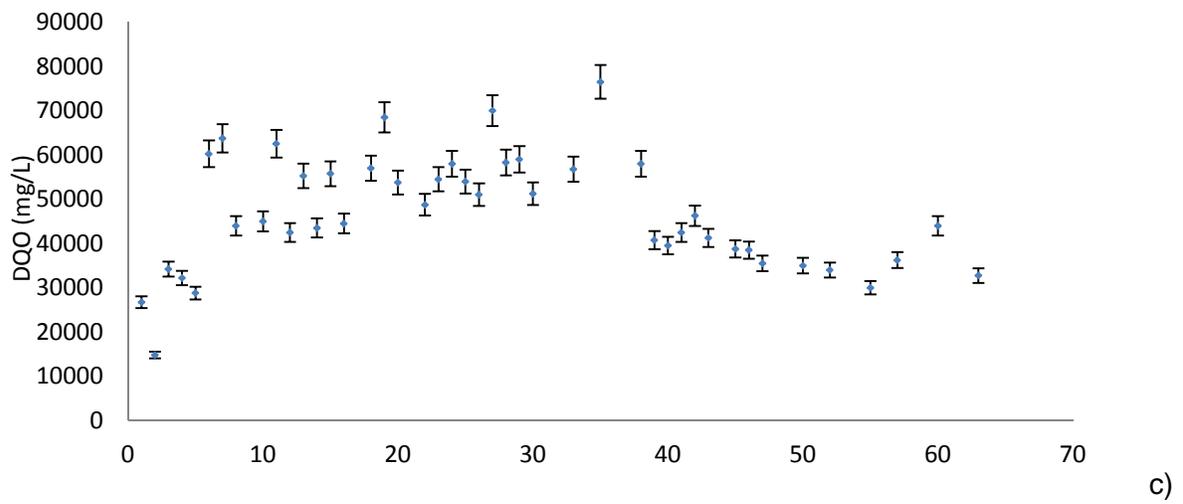
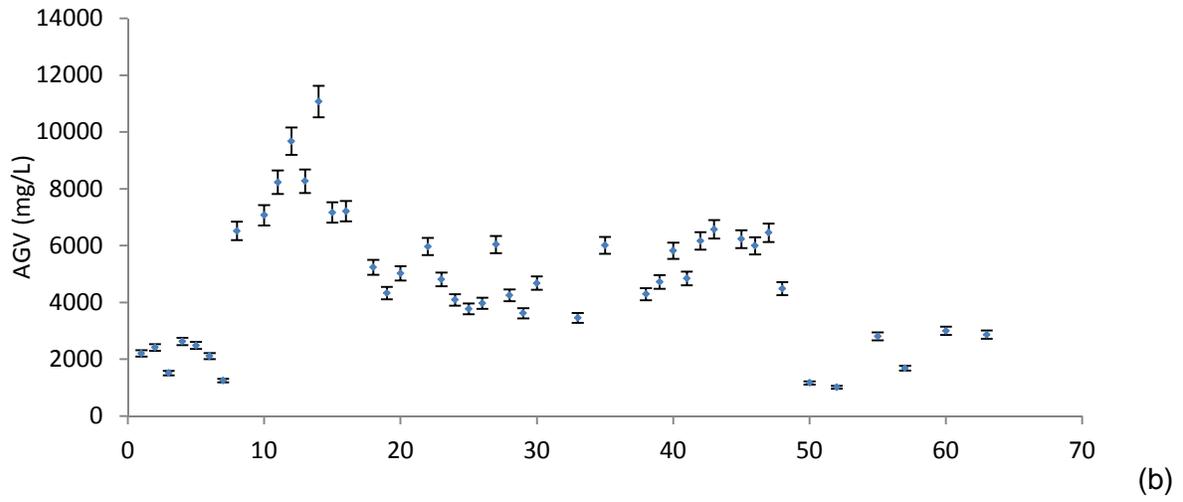
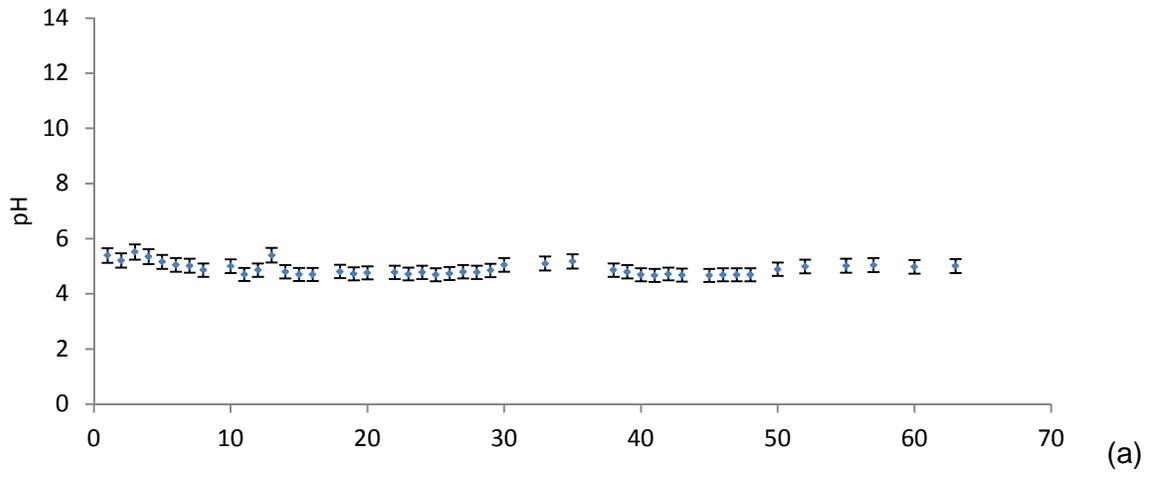
	0.7		5.21 d	0.26	15	91.42	N.D.	N.D.	N.D.	
	0.77		5.21 d	0.27	15	88.34	N.D.	N.D.	N.D.	
	0.427	6.23 - 7.89	5.21 d	0.22	30	87.7	N.D.	N.D.	N.D.	
	0.54		5.21 d	0.23	30	91.5	N.D.	N.D.	N.D.	
	0.63		5.21 d	0.25	30	94.7	N.D.	N.D.	N.D.	
	0.74		5.21 d	0.26	30	92.4	N.D.	N.D.	N.D.	
	0.85		5.21 d	0.27	30	88.4	N.D.	N.D.	N.D.	
Agua residual sintética	1	6.8 - 7.8	12 d	0.32 ± 0.01	35	94	340.8 ± 163	2.7 ± 0.6	61 ± 6.9	Este estudio

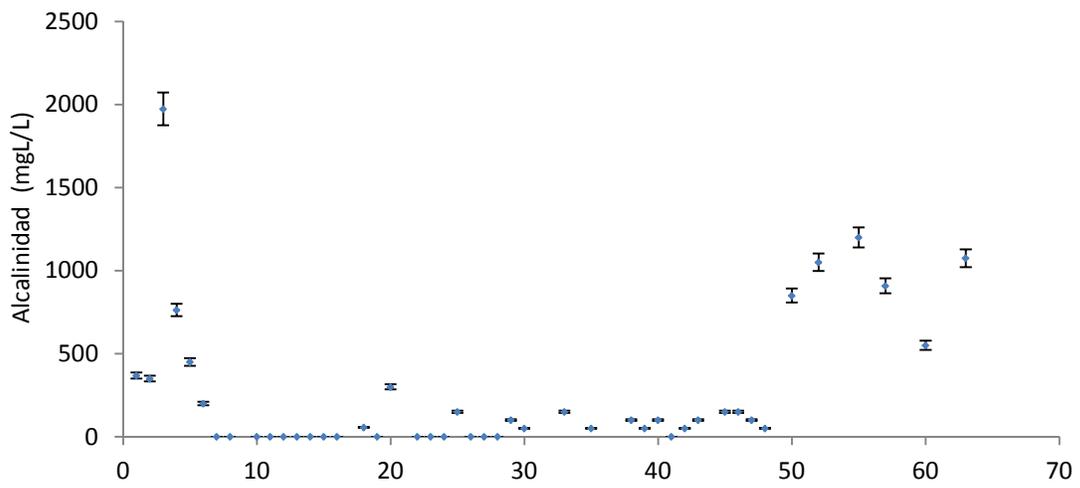
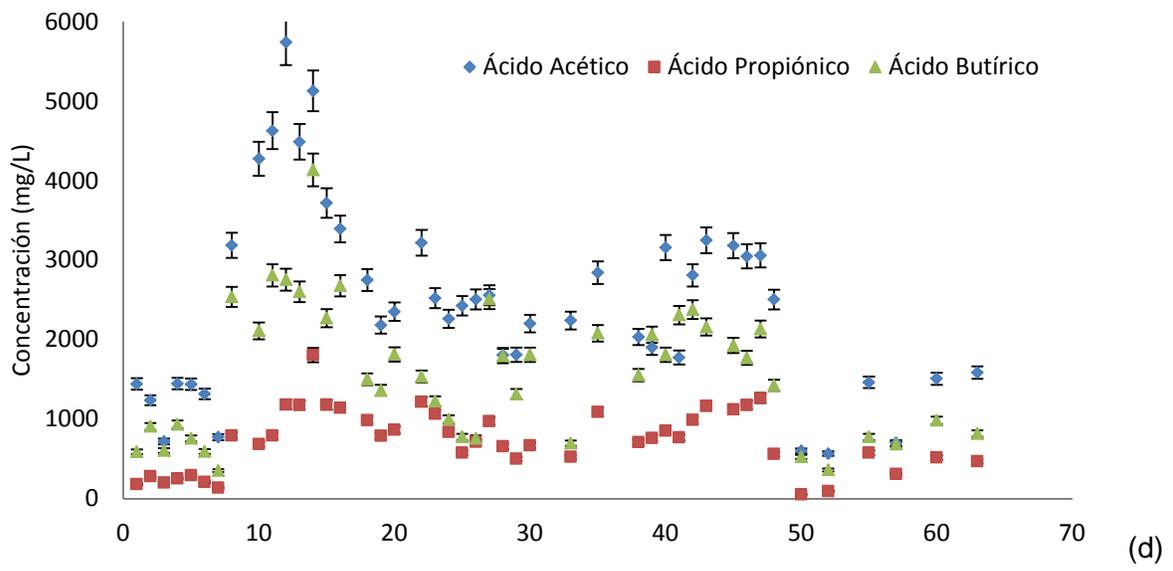
3.4 Reactor empacado con Residuos de Cebolla

A continuación se presentan los resultados de los dos experimentos de digestión anaerobia en una etapa utilizando como fuente de carbono residuos de cebolla. Se muestran los resultados con la adición de inóculo y el pretratamiento con H_2SO_4 1M, seguido de neutralización del pH y adición de inóculo.

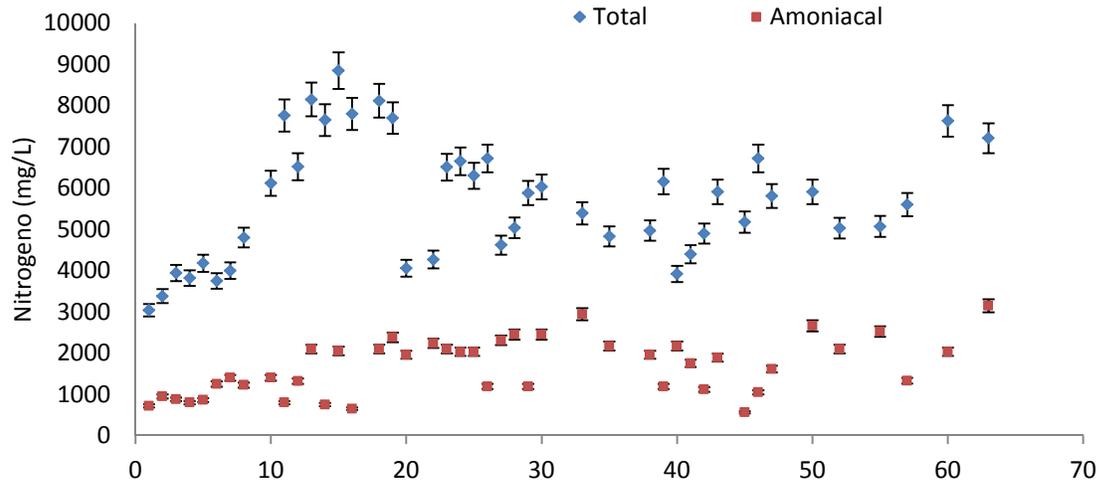
3.4.1 Reactor empacado con inóculo

Inicialmente, como se puede observar en la figura 6 (a), el pH del lixiviado promedio, en los 63 días, fue de 4.9 ± 0.35 , el cual es característico del proceso de hidrólisis biológica, de acuerdo a lo reportado por Kim *et al.*, la hidrólisis ocurre a pH de 5.5 [70] mientras que Kapdan y Kargi indican que se alcanzan valores de pH entre 5 y 6 [101].

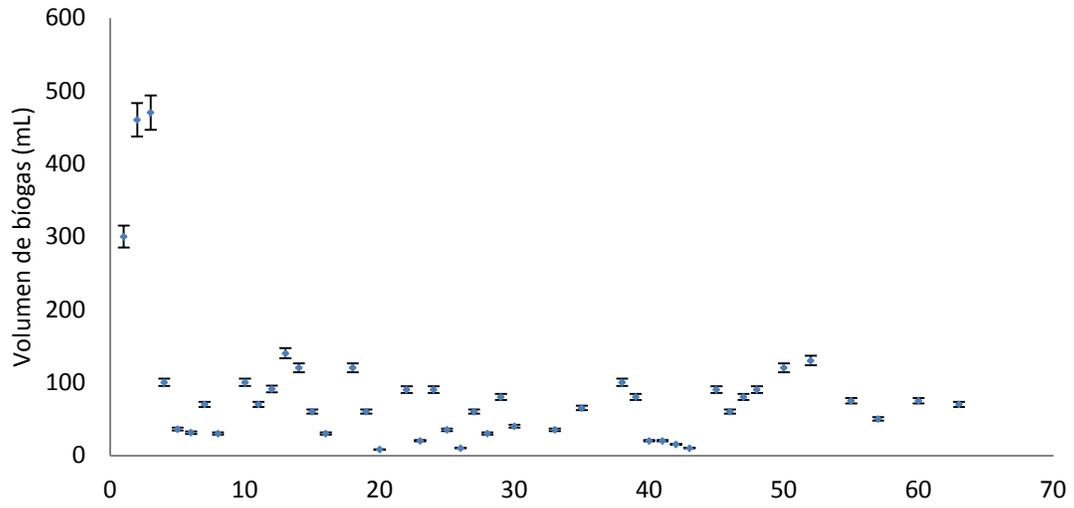




e)



(f)



(g)

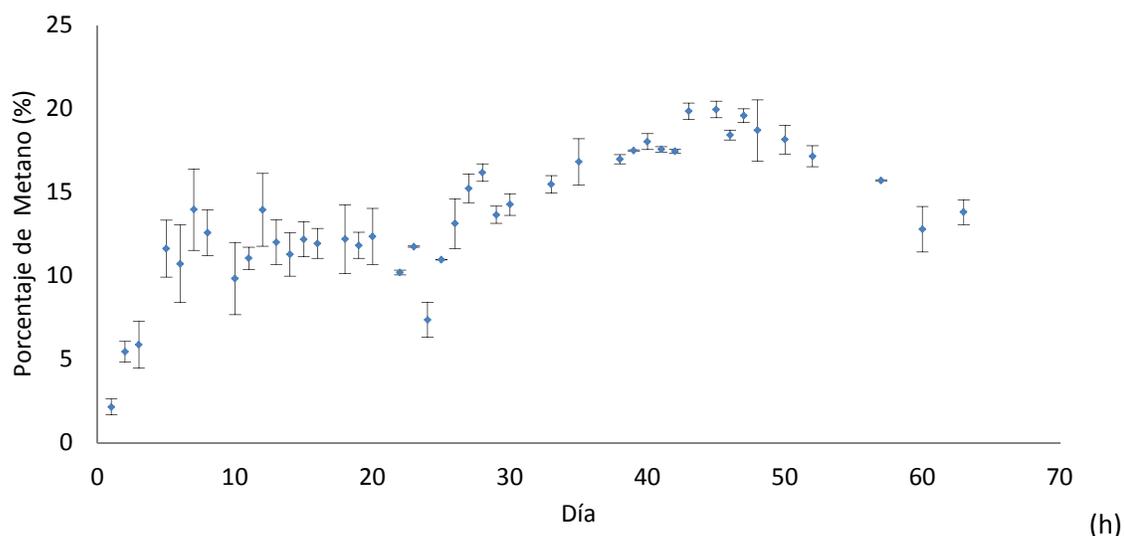


Figura 6. Desempeño del reactor empacado. (a) pH, (b) AGV, (c) DQO, (d) AGV por componente, (e) alcalinidad, (f) nitrógeno total y amoniacal, (g) Volumen de gas producido y (h) Porcentaje de metano generado.

De acuerdo al perfil de AGV reportado en la figura 6 (b) se puede observar una fase de adaptación del microorganismo a la fuente de carbono de nueve días con una concentración promedio de 2000 mg/L, después de los cuales hay un aumento en la concentración de AGV alcanzando un máximo a los 14 días de iniciado el proceso, con un valor máximo de 11800 mg/L. Después se produce un decaimiento de la concentración de AGV hasta alcanzar en 19 días 4444 ± 1527 mg/L. De acuerdo a Romano, la concentración máxima de AGV obtenida con residuos de cebolla en un reactor de flujo pistón fue 12000 mg/L, alcanzada en 10 días de iniciado el experimento [57]. Para los residuos sólidos de piña (cáscara) en un reactor empacado, con una carga orgánica de $10 \text{ kg SV/m}^3 \text{ día}$, se obtuvo una concentración de 20000 mg/L a pH 7, 11000 a pH 6, 9500 a pH 8 y 5100 a pH 5 [102]. Esto indica que: 1) para los residuos de cebolla blanca se da una concentración máxima similar a la obtenida por otros autores con otros residuos, 2) el tiempo de acetogénesis fue mayor, debido a la menor carga utilizada y a la diferencia en la fuente de carbono y, 3) el pH de la solución es inversamente proporcional a la generación de AGV. La relación entre el pH y los AGV, la atribuye Cysneiros *et al.*, a que las bacterias acidogénicas tienen un óptimo intervalo de pH entre 5.2 y 6.5, aunque si la producción de AGV aumenta y el pH no se controla puede llegar a inhibir este consorcio bacteriano [103].

El comportamiento de los AGV concuerda con estudios de otros investigadores como Yu *et al.*, en donde realizan la digestión anaerobia de residuos de corte de pasto, en el cual hacen una recirculación continua de los lixiviados del reactor empacado hasta alcanzar una tasa de carga orgánica de 2.7 kg de DQO/m³ día, punto en el cual el lixiviado es alimentado al reactor UASB, en flujo ascendente por lotes. En la investigación de Yu *et al.*, también se reconocen las tres fases presentadas, adaptación, crecimiento y decaimiento. La fase de adaptación duró 45 días con un promedio de AGV de 4000 mg/L, seguido de una fase de crecimiento de 30 días con un punto máximo de AGV de 8000 mg/L y una fase de decaimiento superior a los tres meses con un promedio de 2000 mg/L [48].

En la figura 6 (c) se presenta el perfil de DQO para el reactor empacado con residuos de cebolla obtenido en este estudio, se puede observar una fase inicial de adaptación de las bacterias al sustrato de 5 días, con un valor promedio de DQO de 30000 mg/L, alcanzándose un pico máximo en el día 35 de 76500 mg/L y finalizar después del día 36 alrededor de 36500 mg/L. Romano, reportó un valor máximo de 40000 mg/L para la digestión anaerobia de residuos de cebolla y con residuos de cebolla mezclados con lodos de una planta de tratamiento de aguas residuales en un reactor de flujo pistón [104].

Como se puede observar en la figura 6 (d) existe en promedio una concentración más alta de ácido acético que de ácido propiónico o butírico. La concentración media de ácido acético después del día 30 fue de 2226.7 ± 756 mg/L, de ácido propiónico 758.31 ± 314 mg/L y de ácido butírico 1459.7 ± 611 mg/L. Aun cuando estaban disponibles los AGV para iniciar la metanogénesis, esta fase no se alcanzó debido a que el pH de solución estaba por debajo de 5; de acuerdo a Mao *et al.*, el pH de la solución debe estar entre 6.8 y 7.6, para alcanzar la fase metanogénica del proceso de digestión anaerobia [11]. Amani *et al.*, indican que la mayor producción de ácido acético se da porque la reacción es exotérmica, mientras las de producción de ácido propiónico y butírico son endotérmicas [39].

La figura 6 (e) presenta el seguimiento a la alcalinidad del reactor empacado con residuos de cebolla. Tiene un rápido aumento hasta alcanzar en el día 3 el valor de 1974 ± 0.09

mg/L, después se evidencia una disminución total de la alcalinidad, razón por la cual se hizo una adición de agua el día 48, lo que hizo que aumentara la alcalinidad del reactor. Jun *et al.*, indican que la adición de una mezcla que aumente la alcalinidad del sistema, puede aliviar la inhibición que la acumulación de AGV o nitrógeno puede tener en los consorcios metanogénicos [105]

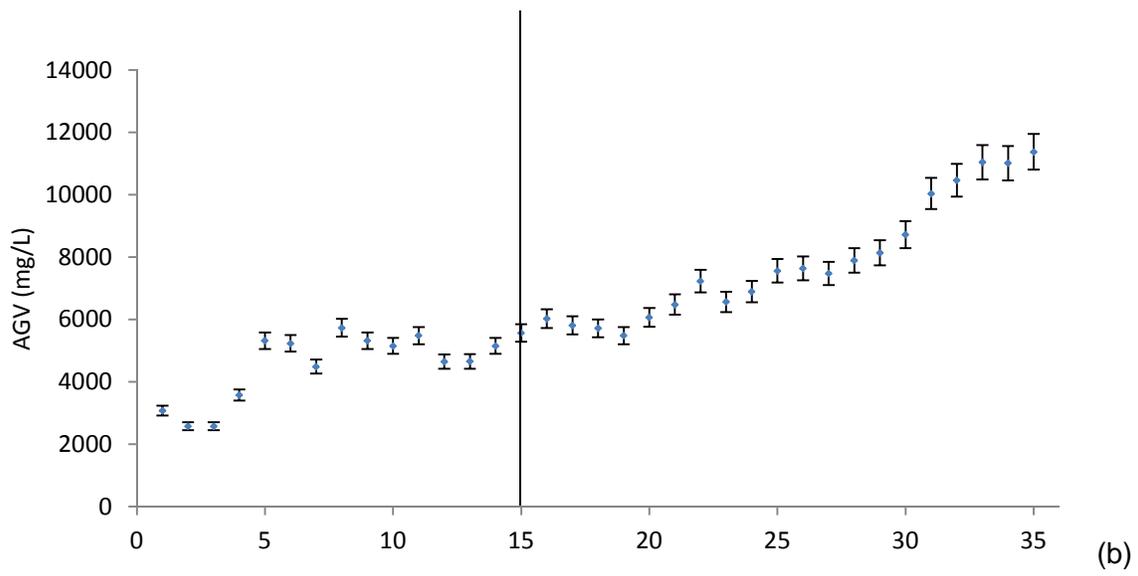
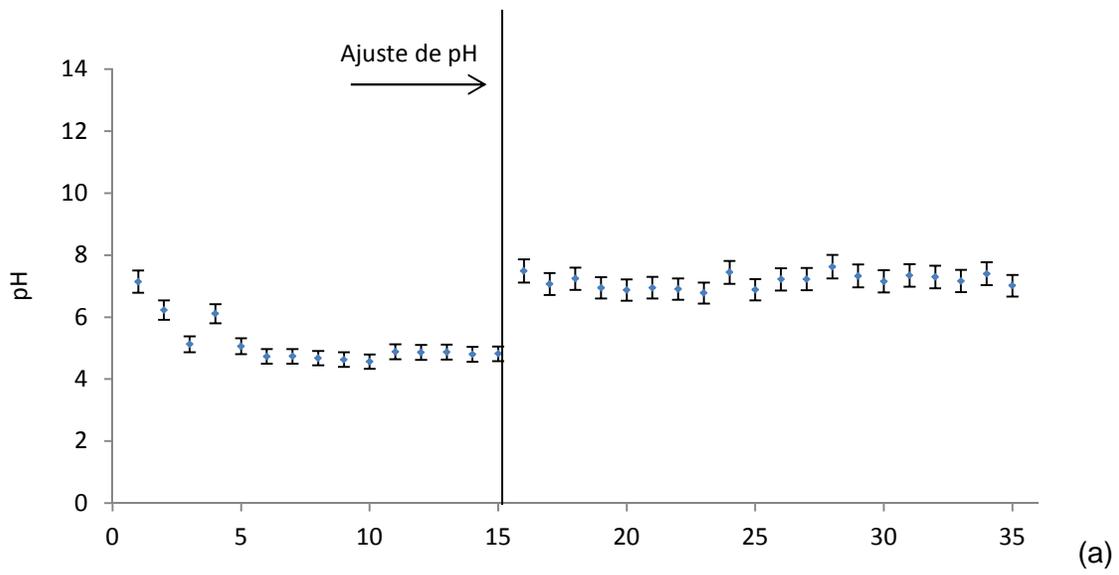
En la figura 6 (f) se presenta el perfil de nitrógeno total y nitrógeno amoniacal para el reactor empacado con residuos de cebolla. Para el nitrógeno total se observa una tendencia positiva de aumento con un valor máximo de 8850 mg/L, y un decaimiento con un valor promedio de 5742.7 ± 1111.6 mg/L. Para el nitrógeno amoniacal el promedio fue de 1676.9 ± 672.2 mg/L. De acuerdo a Yenigün y Demirel, una concentración de nitrógeno amoniacal superior a 1700 mg/L puede causar un efecto inhibitorio en la digestión anaerobia a condiciones mesófilicas, para sustratos complejos y sin aclimatación de inóculo. La inhibición se observa en menor volumen de biogás generado y baja concentración de metano [36]. Angelidaki, citado por Chen *et al.*, indica que la inestabilidad en el proceso debida a la inhibición por nitrógeno amoniacal, frecuentemente genera una acumulación de AGV, los cuales permiten se reduzca el pH de la solución, que a su vez disminuyen la concentración de amoniaco. La interacción entre amoniaco, AGV y pH pueden producir un “estado estacionario inhibitorio”, una condición en la cual el proceso está estable pero con un rendimiento menor de metano [31].

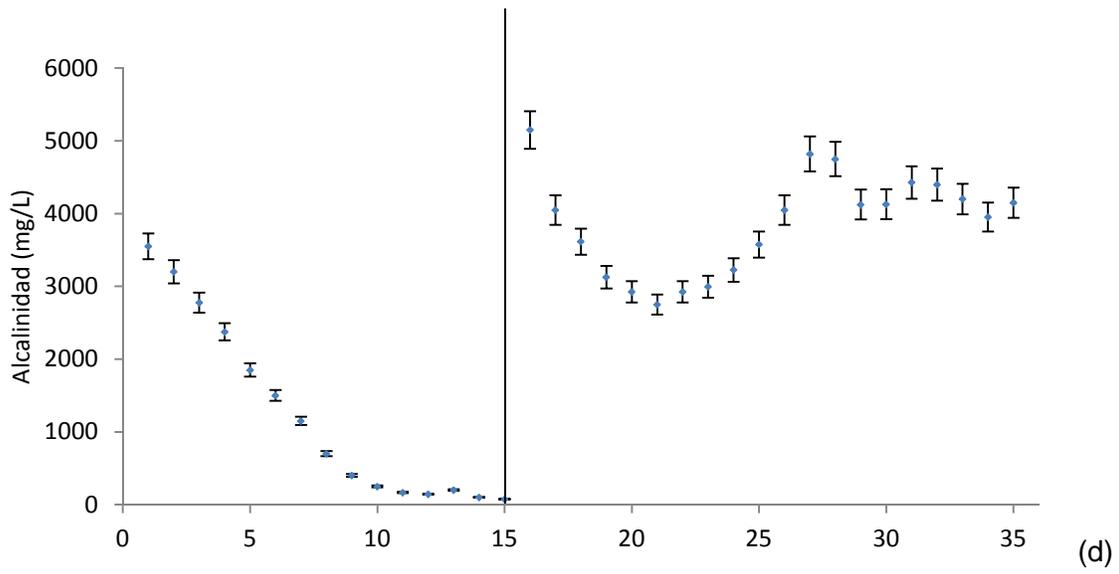
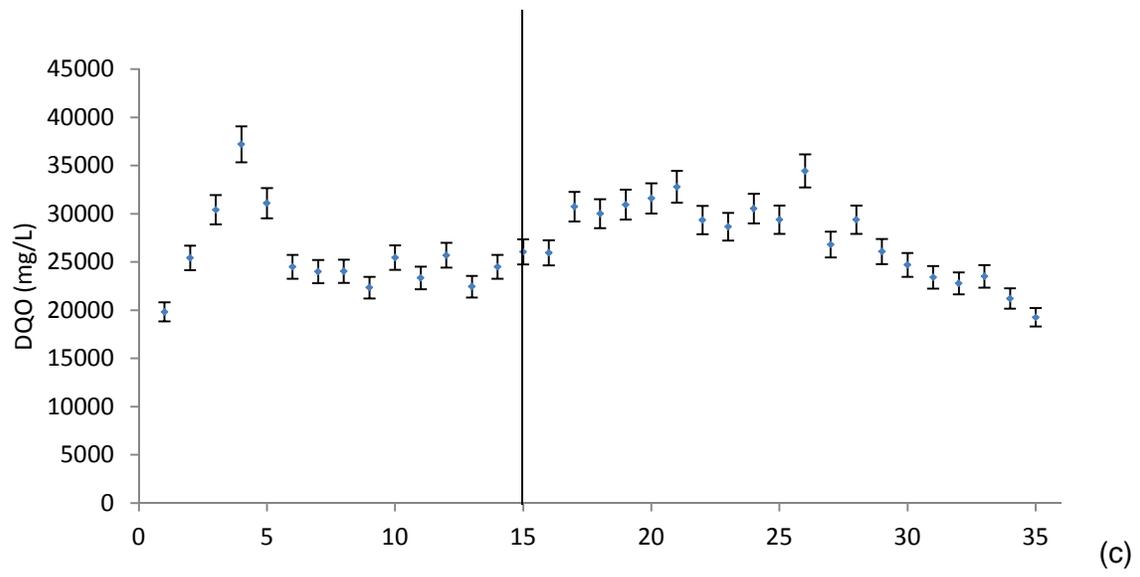
En las figuras 6 (g) y (h) se muestran los resultados de volumen de biogás producido y concentración de metano, respectivamente. Para el volumen de biogás, figura 6 (f), inicialmente se tienen valores cercanos a 500 mL/d con una concentración de metano inferior al 5%, lo cual es típico del proceso de hidrólisis. Luego el volumen de gases rápidamente disminuyó, hasta tener un valor promedio diario 70 ± 30 mL, con una concentración de metano que no superó el 20%. Esta concentración de metano y volumen de biogás producido es un indicador que el proceso no llegó a la etapa de metanogénesis, lo cual se confirma al verificar que el pH promedio de la solución fue 4.9 ± 0.35 . De la misma manera la concentración de nitrógeno amoniacal en el reactor, sugiere que existe inhibición en el reactor, como indica Angelidaki, citado por Chen *et al.*, [31].

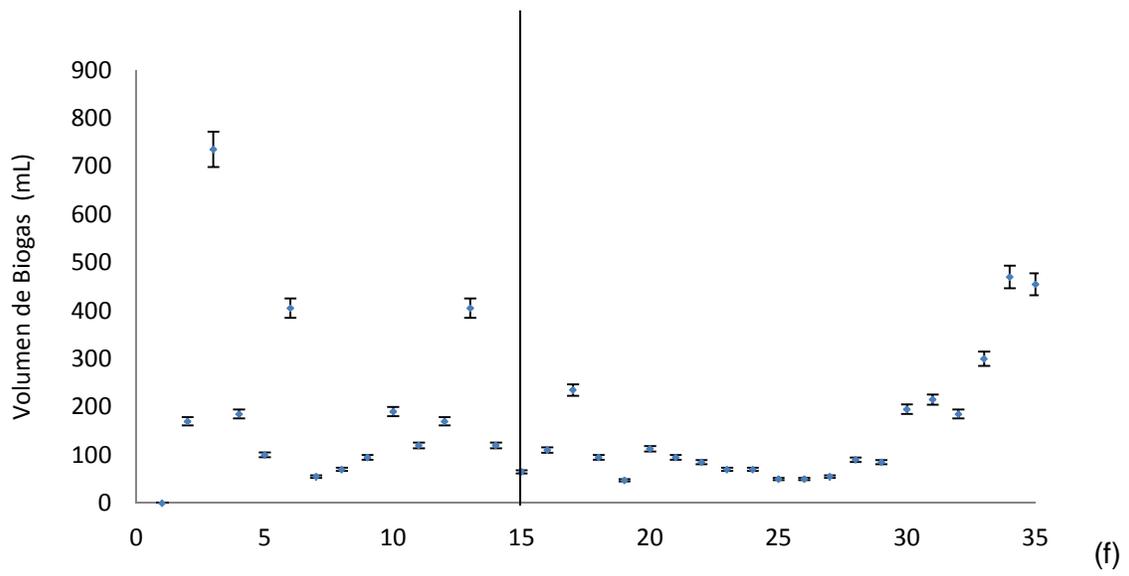
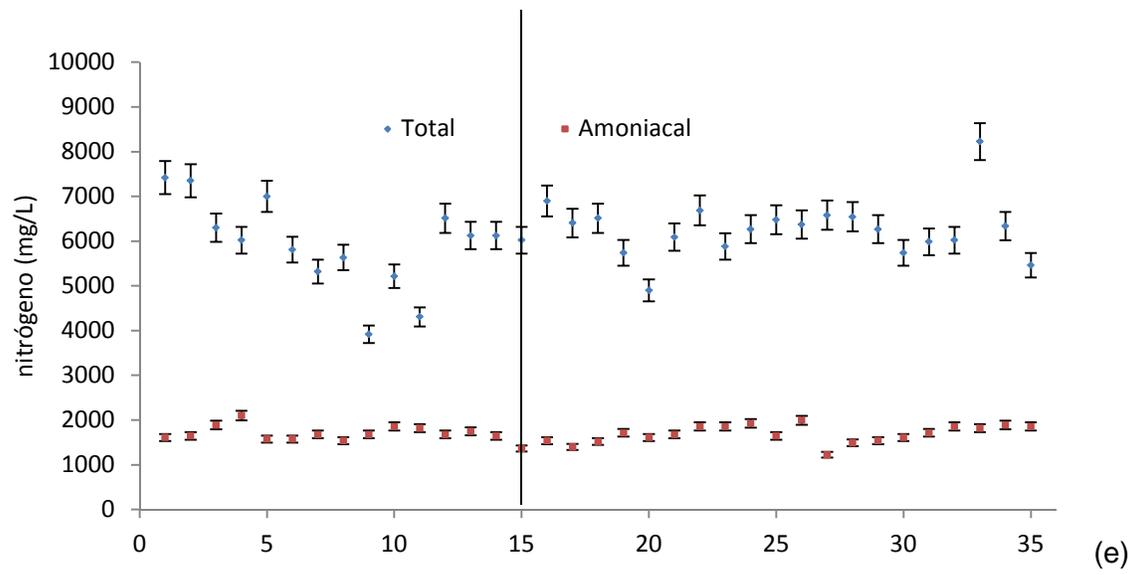
Los sólidos totales y volátiles de los residuos de cebolla fueron 0.093 ± 0.014 % y 0.081 ± 0.0098 %, respectivamente. Esta información es equivalente a que el 95% de los sólidos totales son sólidos volátiles. Romano *et al.*, reportaron que el contenido de sólidos volátiles fue del 96.1% de los sólidos totales en el residuo de la cebolla blanca. Para el presente estudio los sólidos totales y volátiles de los residuos de cebolla cuando se finalizó el tratamiento fueron 0.0279 ± 0.0121 g ST /g muestra y 0.012 ± 0.0015 g SV /g muestra, respectivamente, esto es equivalente a una reducción de sólidos totales del 70 % y de sólidos volátiles del 85.2 %. Los resultados están acorde con lo presentado por Romano *et al.*, en donde indica que para la digestión anaerobia en dos fases de los residuos de cebolla se alcanza una reducción de sólidos volátiles del 62 ± 17 % [58].

3.4.2 Reactor empacado con H₂SO₄ como pretratamiento

En la figura 7 (a) se muestra el registro de pH por 35 días que duró el experimento. Como se mencionó en materiales y métodos, antes de iniciar con la digestión anaerobia de los residuos de cebolla blanca se realizó un pretratamiento con H₂SO₄ 1M a 25°C por 24 h, y después se neutralizó la solución. Una vez se inició la digestión anaerobia, se evidenció una rápida caída del pH desde un valor inicial de 7.14 ± 0.36 hasta un mínimo de 4.56 ± 0.25 en el día 10. Se hizo un ajuste de pH en el día 15, mediante la adición de Na₂HCO₃, con el propósito de alcanzar pH neutro, por lo que a partir del día 16 se mantuvo con un valor promedio de 7.18 ± 0.24 . Bolzonella *et al.*, mencionan que un pH muy bajo hace que el tiempo requerido para la estabilización de la fracción orgánica de los residuos se amplíe, puesto que las bacterias metanogénicas son bastante sensibles a estos valores de pH [106].







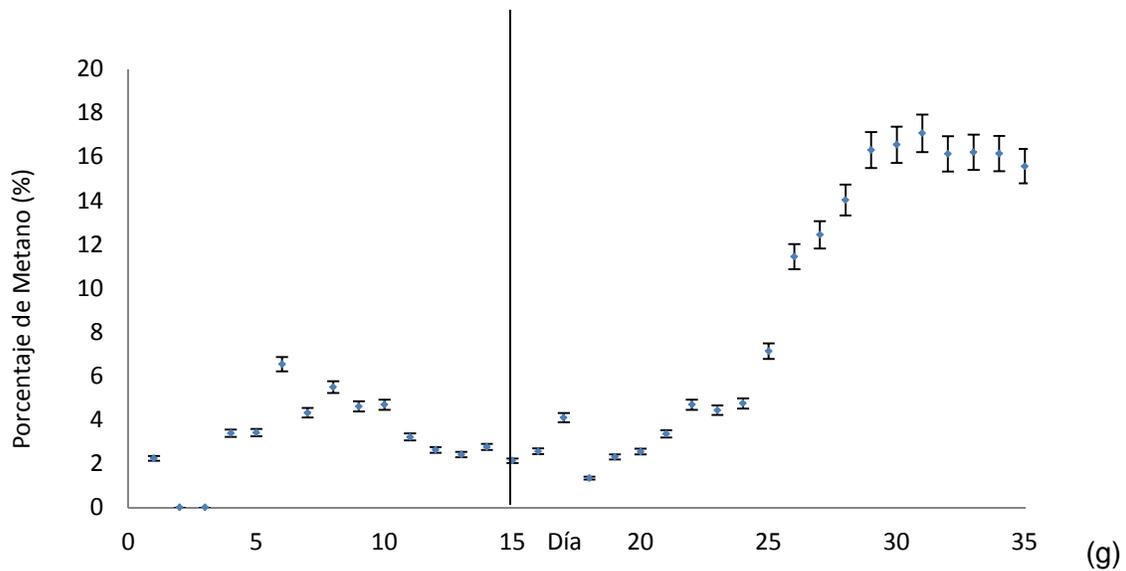


Figura 7. Desempeño del reactor empacado con pretratamiento con H_2SO_4 . (a) pH, (b) AGV, (c) DQO, (d) Alcalinidad, (e) nitrógeno total y amoniacal, (f) Volumen de gas producido y (g) Porcentaje de metano generado.

El perfil de AGV se presenta en la figura 7 (b), se muestra una tendencia creciente desde el inicio del experimento. Sin embargo la tendencia es oscilatoria antes del ajuste de pH, con un máximo en el día 8 de 5735 ± 286.7 mg/L. Después del ajuste de pH se produjo una mayor producción de AGV alcanzando un máximo de 11379 ± 568.9 mg/L. La concentración máxima de AGV encontrada es similar a la que reporta Romano *et al.*, el cual en el día 10 alcanzó un valor máximo de 12000 mg/L [58]. Zhu *et al.*, mencionan que en las etapas de hidrólisis y acidogénesis se presenta una rápida producción de AGV, los cuales pueden inhibir la fase de metanogénesis, sin embargo, un sistema con suficiente alcalinidad, puede controlar la disminución del pH, aumentando de esta forma la concentración de AGV e iniciar correctamente la fase de producción de metano, en la cual los AGV van a ser consumidos [107].

Los resultados de la demanda química de oxígeno se presentan en la figura 7 (c), con un valor inicial de 19825 ± 946.3 mg/L y un incremento sostenido hasta alcanzar un valor máximo de 37200 ± 1860 mg/L en el día 3, para después disminuir y mantenerse en promedio 24745 ± 2492.3 mg/L, hasta antes del ajuste de pH. Después del ajuste de pH, la DQO aumentó de la misma manera que los AGV, hasta un máximo de 34450 ± 1722.5 mg/L en el día 26, para después disminuir, indicando el inicio de la fase de metanogénesis

en el reactor empacado, como se comprobará más adelante. El valor de DQO máximo obtenido fue superior al encontrado por otros autores como Lehtomäki *et al.*, para residuos de ensilado de pasto (15000 mg/L) [108], Ahn *et al.*, para estiércol de cerdo (33000 mg/L); pero inferior a los residuos de gallinaza (50000 mg/L) y residuos de leche (48000 mg/L) [109]; indicando que se encuentra en el mismo orden de magnitud que otros estudios realizados con diversos residuos.

El perfil para la alcalinidad se muestra en la figura 7 (d), con un valor inicial de 3550 ± 177.5 mg/L que cae rápidamente a 75 ± 3.8 mg/L en el día 15, lo cual confirma la necesidad de ajustar la alcalinidad de la solución. Después del ajuste de pH, la alcalinidad alcanzó un valor máximo de 5150 ± 257 mg/L, disminuyendo hasta un mínimo de 2750 ± 137.5 mg/L en el día 21. El comportamiento de la alcalinidad, junto con la caída de pH, confirma la inhibición que se estaba produciendo debido a la acumulación de AGV; de acuerdo con Chugh *et al.*, a pH bajo se producen radicales libres a partir de los AGV, los cuales consumen la alcalinidad del medio, en la fase metanogénica estos AGV son consumidos y se produce CO_2 y CH_4 , parte del CO_2 se mantienen en la fase líquida y contribuye al incremento en la alcalinidad de la solución [110].

El perfil de nitrógeno tanto total como amoniacal se presenta en la figura 7 (e). En términos generales el nitrógeno total se mantiene entre 3920 ± 196 mg/L y 8220 ± 411 mg/L. Mientras, el nitrógeno amoniacal no presenta mayor variación a lo largo de los 35 días que duró el experimento, con un valor promedio de 1690.1 ± 185 mg/L. Jun *et al.*, reportan un comportamiento creciente del perfil de nitrógeno total, con un valor máximo entre 1510.08 y 1759.88 mg/L y luego una caída hasta llegar a valores mínimos entre 851.37 y 1035.36 mg/L al finalizar el experimento. Indican los autores que la adición de CO_3^{2-} y HCO_3^- , tiene una influencia positiva en el consumo de nitrógeno total [105]. En la digestión de residuos de cebolla no se observó una reducción de nitrógeno total o amoniacal debido a la concentración de AGV y la caída en la alcalinidad de la solución.

En las figuras 7 (f) y 7 (g) se muestran los perfiles de volumen de biogás producido y porcentaje de metano en la mezcla gaseosa para el reactor empacado con pretratamiento con H_2SO_4 . En el tercer día del experimento se dio un punto máximo en la producción de biogás con 735 ± 36.8 mL, con una concentración baja de metano. Este comportamiento

es típico del proceso de digestión anaerobia en la fase temprana de hidrólisis, debido a que se producen, en la fase gaseosa, principalmente CO_2 e hidrógeno [111]. La producción de biogás, a partir del día 5, se mantuvo en un valor promedio de 127.9 ± 95 mL, hasta el día 29, en donde se observó que el ajuste de pH en la solución permitió que las bacterias metanogénicas prosperaran, como se puede evidenciar por el aumento de la concentración de metano en la mezcla gaseosa, la cual aumentó de forma sostenida a partir del día 24, ver figura 7 (g).

Los sólidos totales y volátiles iniciales de los residuos de cebolla fueron 0.087 ± 0.0029 g ST /g muestra y 0.068 ± 0.0023 g SV /g muestra, respectivamente. Una vez finalizado el experimento, se procedió a la apertura de los reactores y determinación de los sólidos totales y volátiles los cuales fueron 0.065 ± 0.0014 g ST /g muestra y 0.013 ± 0.004 g SV /g muestra, respectivamente, esto es equivalente a una reducción de sólidos totales del 24.1 % y de sólidos volátiles del 81.4 %. Los resultados están acorde con lo presentado por Romano *et al.*, quienes indicaron que para la digestión anaerobia en dos fases de los residuos de cebolla se alcanza una reducción de sólidos volátiles del 62 ± 17 % [58].

3.4.3 Reactor empacado con H_2SO_4 como pretratamiento acoplado a UASB

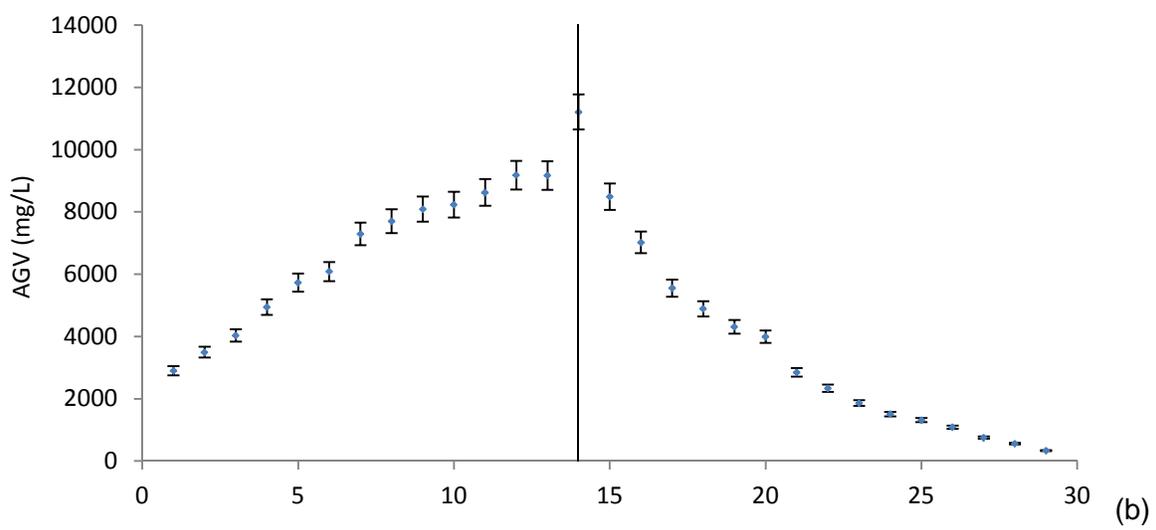
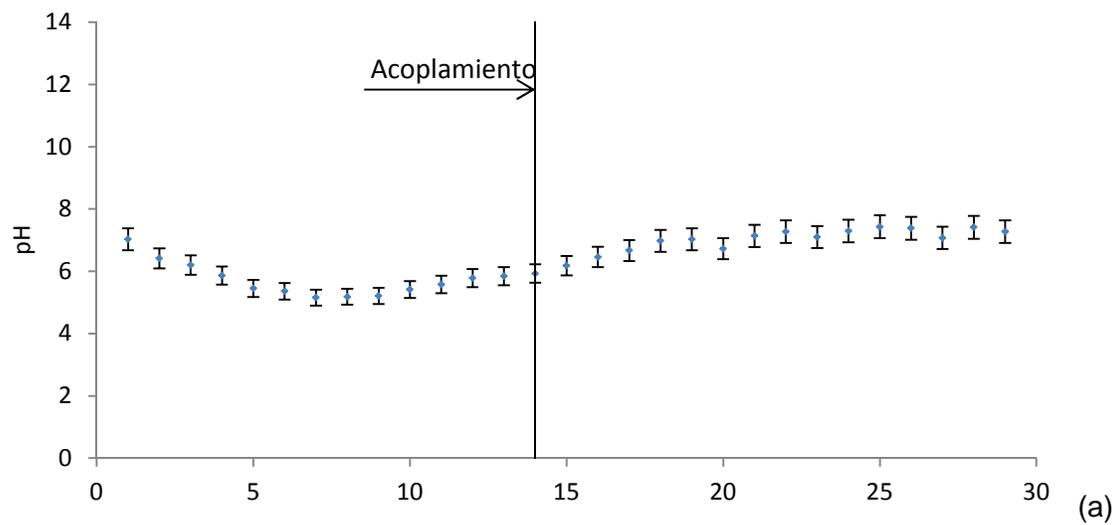
Lehtomäki *et al.*, sugieren que la conexión entre el reactor empacado y el reactor UASB debe darse en el momento que la carga orgánica del lixiviado del empacado sea aproximadamente igual a la carga orgánica de alimentación del UASB. Esta configuración, permite la adaptación del reactor UASB a las condiciones de entrada del nuevo lixiviado. Los autores indican que realizaron la conexión entre un reactor empacado, con residuos de ensilaje de pasto con inóculo de una planta de digestión activa, desde el inicio del proceso de digestión; esta configuración hizo que el pH del reactor UASB decreciera hasta 4.1 después de dos días de ser realizada la conexión. Para evitar este comportamiento, los autores decidieron desconectar los reactores, y ponerlos a funcionar en forma independiente, hasta que la carga orgánica del lixiviado del reactor empacado fuera similar a la del reactor UASB, manteniendo el pH del reactor empacado por encima de 5.5 [108].

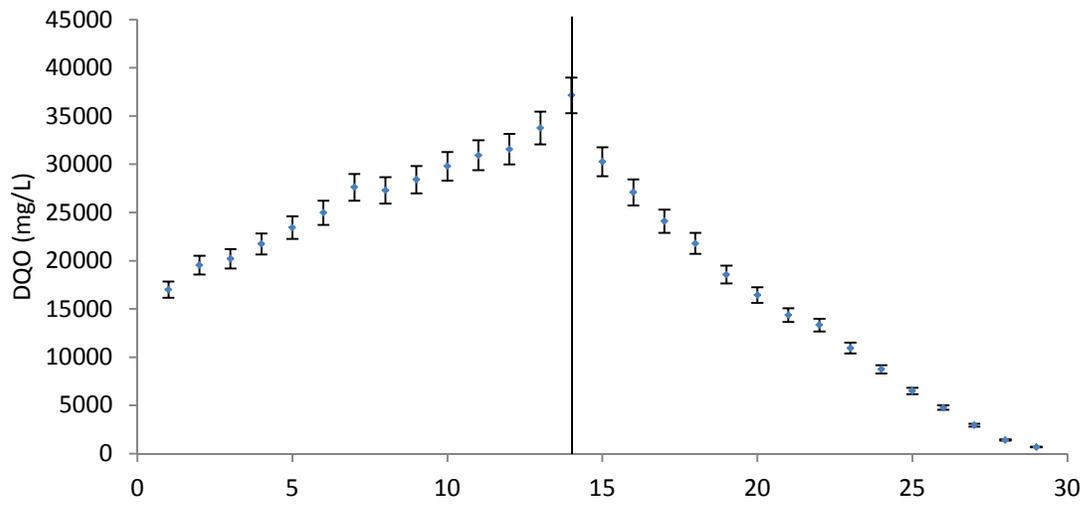
Romano y Zhang., realizaron la digestión anaerobia de los residuos de cebolla blanca mediante un reactor empacado y un reactor de lecho fluidizado. La conexión entre los reactores la realizaron desde el inicio del proceso de hidrólisis de los residuos de cebolla en el reactor empacado; dicha situación provocó que el pH del reactor de lecho fluidizado bajara de 6. Los investigadores realizaron continuas adiciones de carbonato de calcio y después de hidróxido de calcio para aumentar el pH en el reactor de lecho fluidizado [58].

Yu *et al.*, indicaron que para un sistema de digestión anaerobia en dos fases, la conexión entre el reactor empacado y el reactor UASB se debe realizar una vez el reactor empacado alcanzó una concentración de ácidos grasos volátiles definida por los investigadores [48]. Nkemka y Murto, reportaron que la configuración utilizada para la conexión de un reactor empacado con residuos de mejillones a un reactor UASB, se dio después de un día de recirculación constante de los lixiviados del reactor empacado, adicionando una cantidad diaria variable de los lixiviados al reactor UASB, manteniendo la carga orgánica del reactor UASB constante [112].

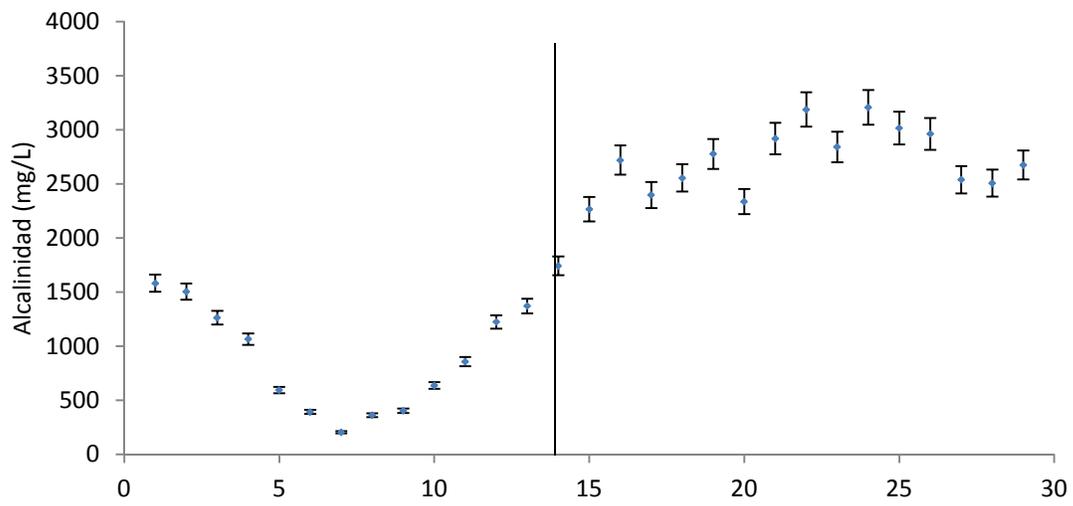
Debido a estas razones, se decidió que el parámetro de conexión entre el reactor empacado y el reactor UASB fuera la carga orgánica de este último. Dicho parámetro fue 1 kg DQO/m³ día, equivalente a 2.7 kg SV/m³ día. Para la conexión del reactor empacado se midió diariamente la DQO de los lixiviados del reactor empacado, y se determinó el volumen de lixiviado alimentado diariamente al reactor UASB.

En la figura 8 (a) se presentan los registros de pH para el reactor empacado, antes y después del acoplamiento. El pH promedio para el reactor empacado fue 7.0 ± 0.5 . En la figura 8 (b) se muestra el perfil de AGV para el reactor. Se puede observar que al inicio de la experimentación el valor promedio fue de 2596.1 ± 129.8 mg/L, alcanzando un máximo de 5790.3 ± 289.5 mg/L en el día 13. El día del acoplamiento, día 14, el valor de los ácidos grasos volátiles fue de 4407 ± 444 mg/L, y tal como se muestra en la figura 8 (b) hubo una reducción hasta alcanzar en el día 29 un valor de 699.6 ± 33.5 mg/L, equivalente a una reducción del 84.1 %.

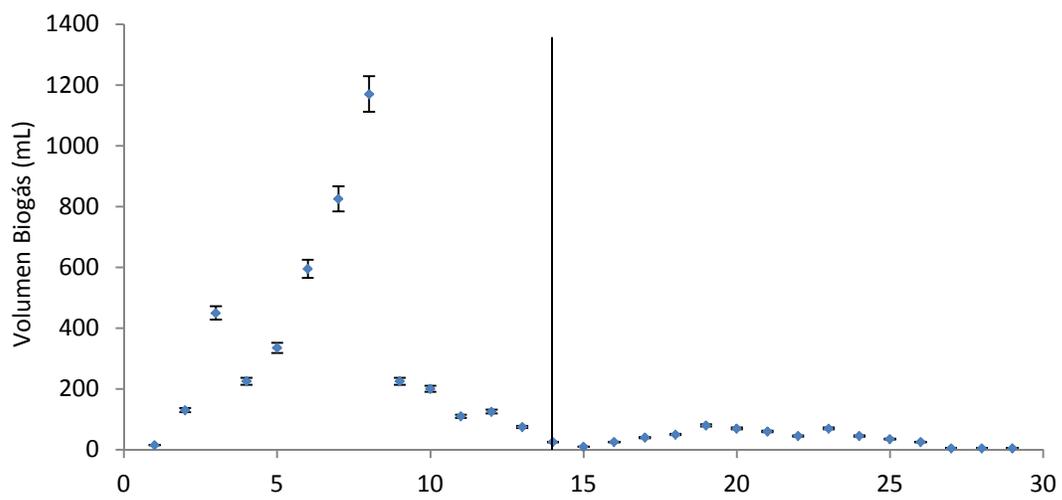
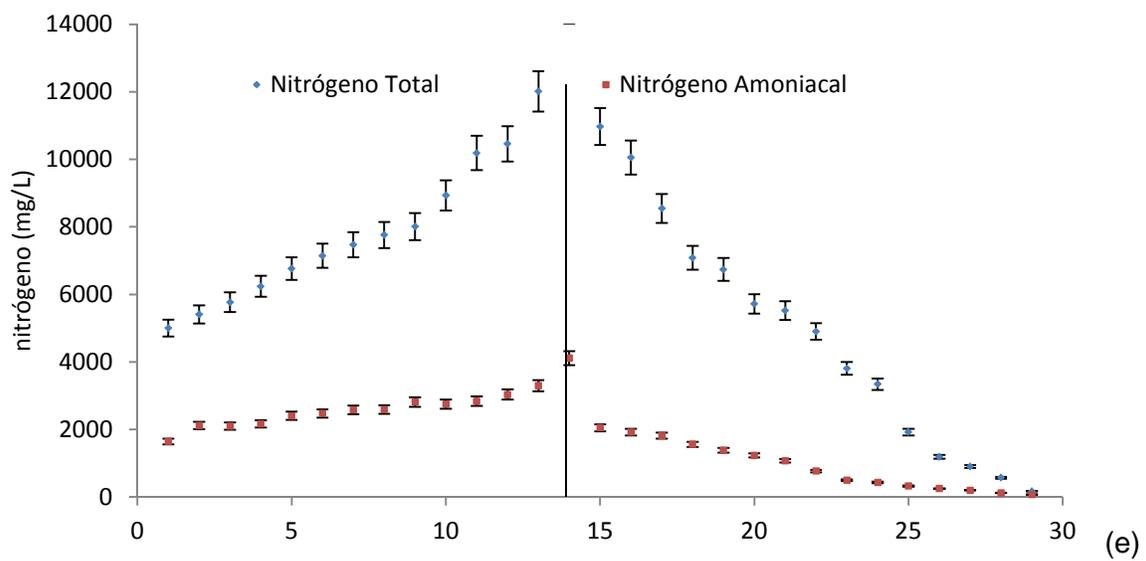




(c)



(d)



(f)

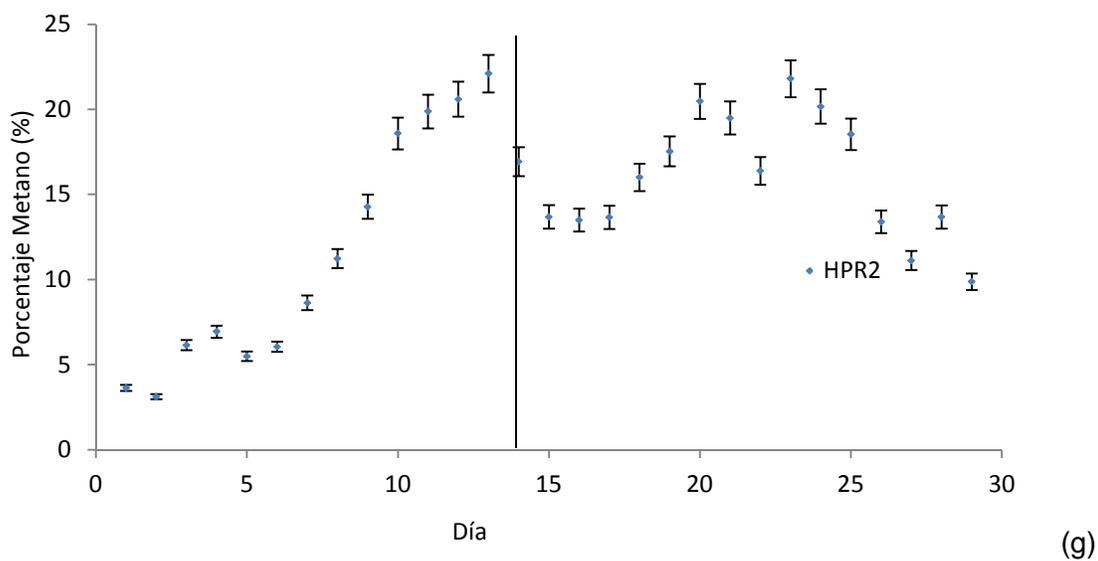


Figura 8. Desempeño del reactor empacado con H_2SO_4 como pretratamiento acoplado a UASB. (a) pH, (b) AGV, (c) DQO, (d) Alcalinidad, (e) nitrógeno total y amoniacal, (f) Volumen de gas producido y (g) Porcentaje de metano generado.

La figura 8 (c) presenta el perfil de DQO para el reactor empacado. Inició con 26650 ± 1332.5 mg/L y se logró un valor máximo en el día 8 con un promedio de 34450 ± 1722.5 mg/L. El día del acoplamiento, el valor de DQO fue de 23575 ± 1187.5 mg/L, y después de 15 días de acoplamiento finalizó con 5085 ± 254.5 mg/L, equivalente a una reducción de 78.4 %.

La figura 8 (d) muestra el perfil de la alcalinidad de la mezcla en el reactor empacado, se aprecia una disminución de dicho valor hasta alcanzar un mínimo de 175 ± 8.8 mg/L, en el día 9. En el día 10 se evidencia la recuperación de la alcalinidad, indicando el inicio de la etapa de metanogénesis, de acuerdo a lo que se puede apreciar en las figuras 8 (f) y 8 (g). Después del acoplamiento de los reactores, este parámetro se mantuvo en constante crecimiento, alcanzando un máximo de 3300 ± 165 mg/L en el día 28.

En la figura 8 (e) se muestra el perfil de nitrógeno total y amoniacal para el reactor empacado. El nitrógeno total tiene una ligera tendencia creciente, con un máximo de 11895 ± 594.8 mg/L, el día 14, y una rápida caída con un mínimo de 400 ± 20 mg/L, equivalente a una reducción de 96.6 %. Por su parte, el nitrógeno amoniacal presenta un máximo de 3772.5 ± 188.7 mg/L que también se presenta en el día 14, con un mínimo el

día final de la experimentación de 212.5 ± 10.6 mg/L, equivalente a una reducción de 94.4 %. Estos resultados son similares a los reportados por El-Kamah *et al.*, quienes utilizaron un reactor de manto de lodos acoplado a un reactor UASB para el tratamiento del agua residual de la deshidratación de cebolla, encontrando una reducción del 72 % en el nitrógeno total Kjeldahl y 99 % en nitrógeno amoniacal [59]. De la misma manera Li *et al.*, reportaron una eficiencia de la remoción de nitrógeno total de 73 % y del nitrógeno amoniacal del 99 %, con un sistema de filtros biológicos de tres etapas, alimentado con lixiviados de rellenos sanitarios [113].

En las figuras 8 (f) y 8 (g) se presentan los perfiles de volumen de biogás y porcentaje de metano en la mezcla de gases. El volumen de biogás aumentó rápidamente después del cuarto día de la experimentación, alcanzando un máximo de 1170 ± 58.5 mL en el día 8, con una concentración promedio de metano para dicho día de 11.23 ± 0.56 %. Aun cuando el volumen de biogás generado disminuyó, su concentración evidenció el inicio de la fase de metanogénesis, alcanzando un máximo de 22.09 ± 1.1 % en el día 13. Para mantenerse después del acoplamiento entre 13.5 ± 0.68 % y 21.8 ± 1.1 % en el día 23, en donde disminuyó nuevamente debido al agotamiento en la fuente de carbono. El porcentaje de metano obtenido en el presente estudio fue relativamente bajo para un sistema de digestión anaerobia debido a que el objetivo era identificar el momento en que iniciaba la fase de metanogénesis.

Los sólidos totales y volátiles de los residuos de cebolla al inicio de la prueba fueron 0.118 ± 0.06 g ST/g muestra y 0.099 ± 0.07 g SV/ g muestra, respectivamente. Una vez finalizado el experimento, se procedió a la apertura del reactor empacado y determinación de los sólidos totales y volátiles, los cuales fueron 0.07 ± 0.12 g ST/g muestra y 0.05 ± 0.06 g SV/g muestra. Esto es equivalente a una reducción de sólidos totales del 36.4 % y de sólidos volátiles del 49.5 %.

En la tabla 9 se presentan los resultados de rendimiento del reactor empacado, bajo las tres configuraciones estudiadas (Reactor empacado con inóculo, Reactor empacado con H_2SO_4 como pretratamiento y Reactor empacado con H_2SO_4 como pretratamiento acoplado a UASB), de la misma manera se muestra la comparación con otros autores. Como se puede observar en la tabla 9 el rendimiento de biogás obtenido en la fase de

hidrólisis del presente estudio es similar al obtenido por otros autores. Lehtömaki *et al.*, realizaron la digestión anaerobia de los residuos de ensilaje de pasto en un reactor de lecho empacado a condiciones mesófilas en una sola etapa, obteniendo un rendimiento de metano de $0.061 \text{ m}^3 \text{ CH}_4 / \text{kg SV}_{\text{REMOVIDO}}$ [108]. Por su parte Ahn *et al.*, realizaron el estudio de la digestión anaerobia de pasto mezclado con diferentes residuos, como son estiércol de cerdo, lactosuero y estiércol de aves de corral, en reactores CSTR a condiciones termofílicas, encontrando rendimientos de 0.337, 0.028 y $0.002 \text{ m}^3 \text{ CH}_4 / \text{kg SV}_{\text{REMOVIDO}}$, respectivamente [109]. También para los residuos de comida se realizó la digestión anaerobia en un reactor de lecho empacado a condiciones mesófilas, obteniendo un rendimiento de $0.065 \text{ m}^3 \text{ CH}_4 / \text{kg SV}_{\text{REMOVIDO}}$ [114]. Tian *et al.*, estudiaron el pretratamiento del rastrojo de maíz con H_2SO_4 a condiciones termofílicas en un reactor CSRT, obteniendo un rendimiento de $0.046 \text{ m}^3 \text{ CH}_4 / \text{kg SV}_{\text{REMOVIDO}}$ [115]. Como se puede observar el rendimiento para el sistema de digestión anaerobia en una sola etapa en un reactor empacado a condiciones mesofílicas es de $0.013 \text{ m}^3 \text{ CH}_4 / \text{kg SV}_{\text{REMOVIDO}}$, similar al obtenido con el pretratamiento por 24 horas, el cual fue de $0.014 \text{ m}^3 \text{ CH}_4 / \text{kg SV}_{\text{REMOVIDO}}$. Sin embargo la principal diferencia se observa en el tiempo de digestión, el cual para el sistema sin pretratamiento fue de 63 días, mientras que el sistema con pretratamiento fue de tan solo 35 días. El mayor rendimiento fue el obtenido con el sistema de digestión anaerobia con pretratamiento con H_2SO_4 y acoplamiento a un reactor UASB, con un rendimiento, para el reactor empacado, de $0.017 \text{ m}^3 \text{ CH}_4 / \text{kg SV}_{\text{REMOVIDO}}$, en 29 días de experimentación.

También se puede apreciar en lo reportado en la tabla 9 que el pretratamiento con H_2SO_4 redujo el tiempo de hidrólisis de 63 días a 35, y el acoplamiento con el reactor UASB redujo el tiempo hasta 29 días. El tiempo de digestión sin pretratamiento es similar al obtenido por Ahn para tres diferentes sustratos: mezcla de pasto y estiércol de cerdo, mezcla de pasto y lactosuero y mezcla de pasto con estiércol de aves de corral [109]. Las experimentaciones realizadas con pretratamiento de los residuos de cebolla tienen tiempos de digestión ligeramente superiores a los reportados por Browne *et al.*, [116], Xu *et al.*, [114]., Tian *et al.*, [115] sin embargo hay que tener en cuenta que la temperatura en dichos estudios fue superior a la utilizada en el presente trabajo.

Tabla 9. Desempeño de reactores empacados con y sin pretratamiento acoplado a reactor anaerobio.

Tipo de Residuo	Reactor	Temperatura (°C)	Tiempo (d)	ST _{INICIAL} (%)	SV _{INICIAL} (%)	Rendimiento (m ³ CH ₄ /kg SV _{REMOVIDO})	Referencia
Ensilaje de Pasto	Lecho Empacado	35±1	55	25.9	24	0.06	[108]
Mezcla de pasto y estiércol de cerdo	CSTR	55	62	15.2	14.4	0.337	[109]
Mezcla de pasto y lactosuero				16.5	15.7	0.028	
Mezcla de pasto y estiércol de aves de corral				15.6	14.5	0.002	
Residuos de comida	CSTR	37	24	29.4	27.96	0.007	[116]
Residuos de comida	Lecho Empacado	35	17	39.5	38.35	0.065	[114]
Rastrojo de Maíz + H ₂ SO ₄	CSTR	55	24	8	7.28	0.046	[115]
Residuos de cebolla + Inóculo mixto	Lecho Empacado	25	63	9.25 ± 1.34	8.05 ± 0.98	0.013	Este estudio
Residuos de cebolla + H ₂ SO ₄ + Inóculo mixto			35	8.65 ± 0.29	6.82 ± 0.23	0.014	
Residuos de cebolla + H ₂ SO ₄ + Inóculo mixto + UASB			29	11.8 ± 0.65	9.97 ± 0.67	0.017	

CSRT: Reactor continuo de tanque agitado

3.5 Desempeño reactor UASB acoplado con reactor empacado

En la figura 9 se muestra el seguimiento del desempeño del reactor UASB antes y después del acoplamiento con el reactor empacado, previamente pretratado con H₂SO₄. El pH promedio para el reactor UASB fue 7.3 ± 0.1, no se observa una modificación amplia en el pH del reactor UASB una vez se acopló con el reactor empacado. Romano y Zhang, identificaron que existen inconvenientes al realizar el ensamble de los reactores desde el principio del periodo de hidrólisis, debido a que disminuyó de forma drástica el pH de dicho reactor (de 7 a 5.5 en dos días), afectando también el pH del reactor de metanogénesis (de 7.5 a 6 en siete días), lo cual los obligó a desconectar los reactores por cuatro días y ajustar el pH del reactor UASB. [58].

En la figura 9 (b) se presenta el seguimiento de la concentración de ácidos grasos volátiles del reactor UASB. El intervalo de variación de este parámetro, antes del acoplamiento estuvo entre 215.5 ± 10.8 mg/L y 594.7 ± 29.7 mg/L. Después del acoplamiento dicha variable se mantuvo en el mismo orden de magnitud, entre 311.7 ± 15.6 mg/L y 526.8 ± 26.3 mg/L, con lo que se puede inferir que el acoplamiento del reactor

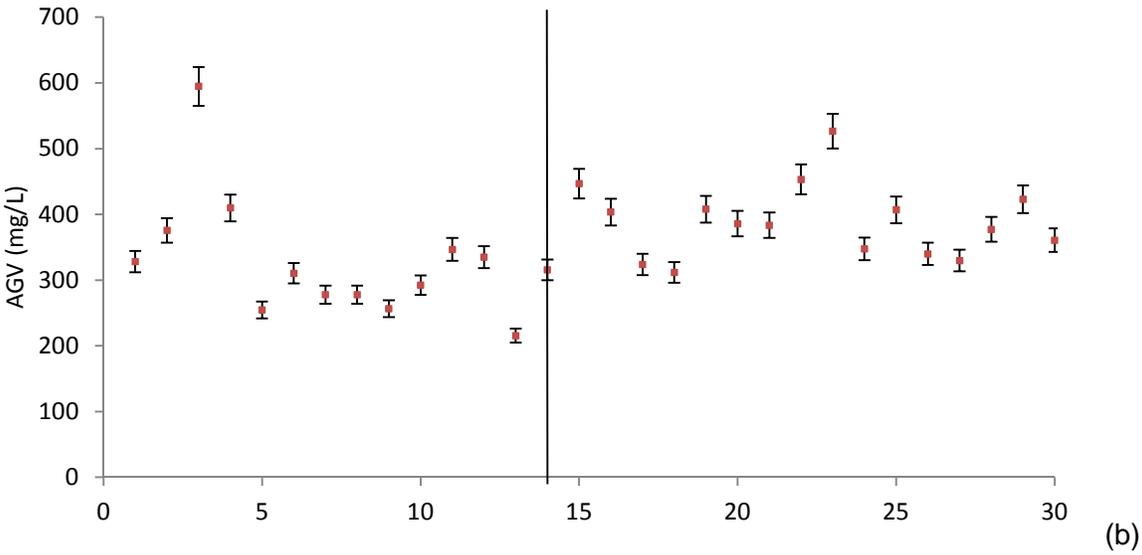
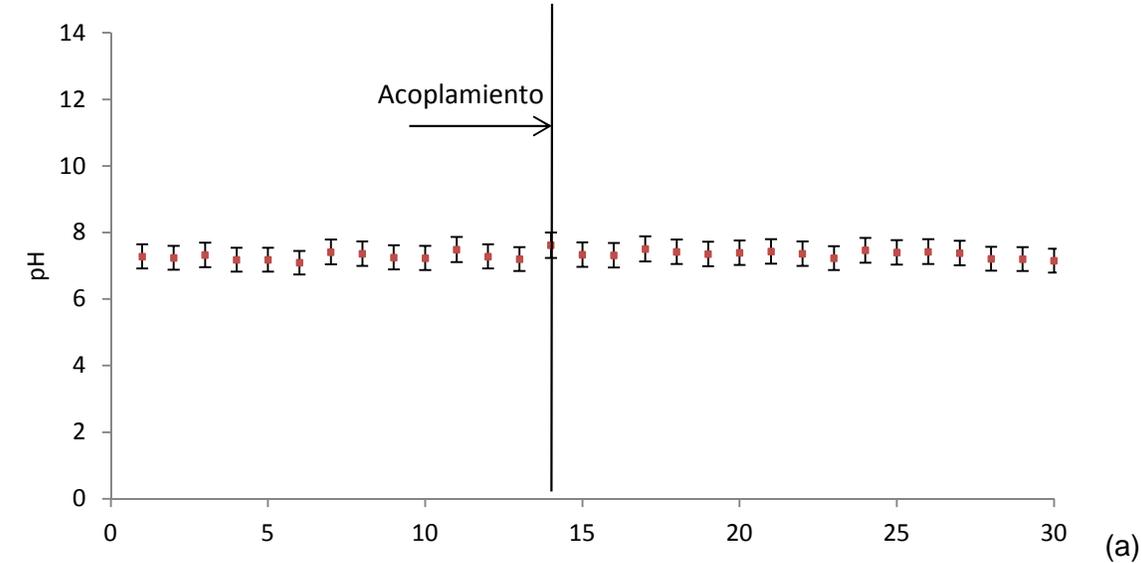
empacado al UASB no afectó la concentración de salida de los ácidos grasos volátiles de este último.

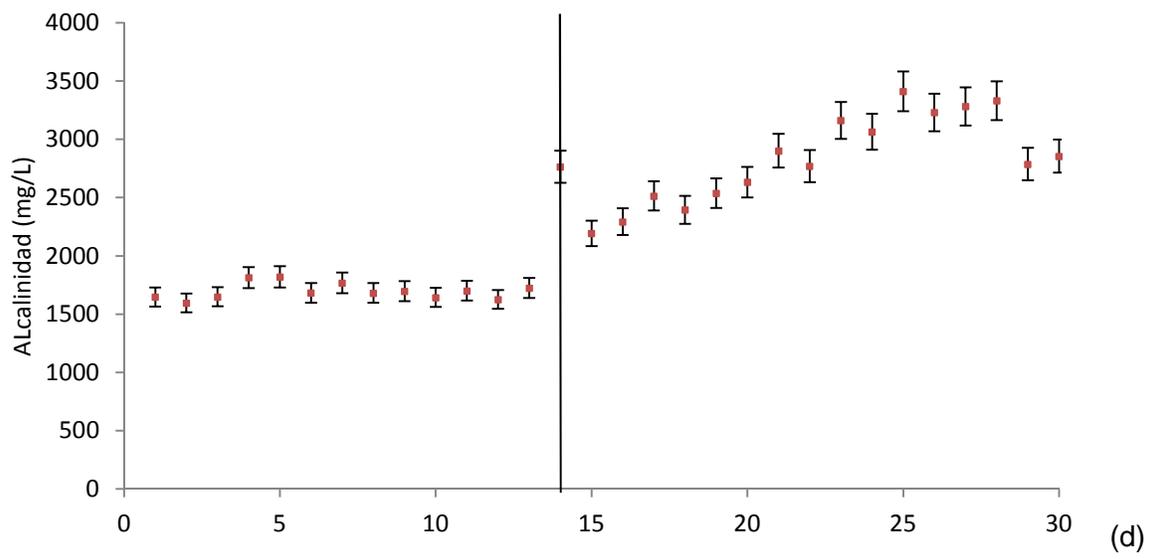
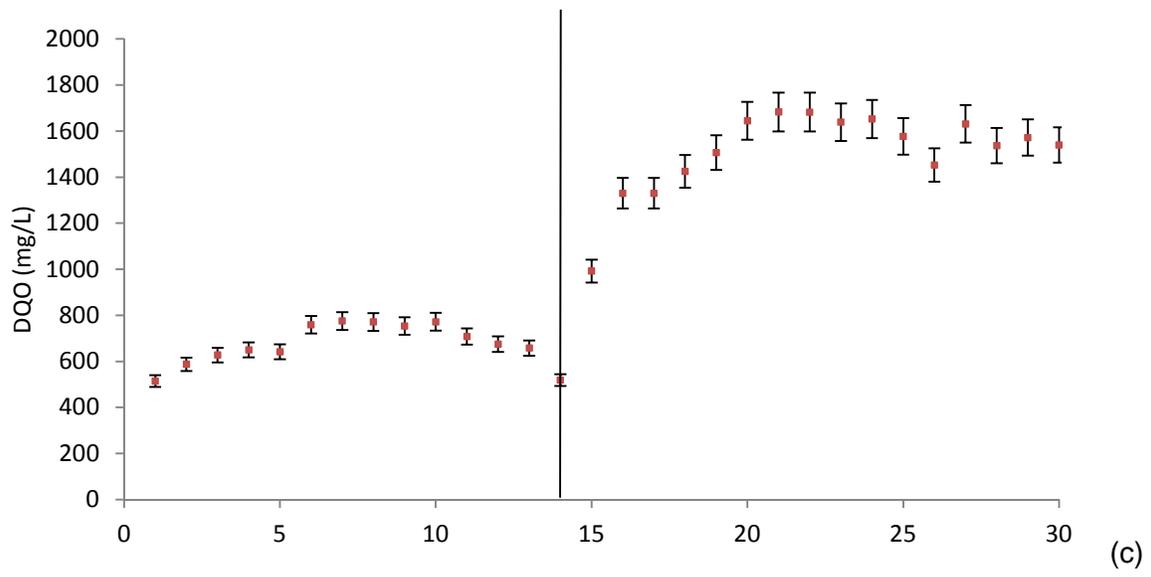
El perfil de DQO se presenta en la figura 9 (c), antes del acoplamiento con el reactor empacado, dicha variable tiene un valor promedio de 672.4 ± 33.6 mg/L, mientras que después el promedio fue de 1512.17 ± 75.6 mg/L. Lo cual implica un aumento en la DQO de salida del reactor UASB, pero sin llegar a niveles tóxicos para el desempeño del mismo. El perfil de alcalinidad se presenta en la figura 9 (d). Antes del acoplamiento se mantuvo en 1772.2 ± 88.6 mg/L, después subió hasta un promedio de 2835.5 ± 141.8 mg/L, también se observó un aumento en dicha variable. En términos generales tiene un comportamiento similar, con tendencia creciente debido al consumo de AGV en ambos reactores y a la recirculación diaria del efluente del reactor UASB hacia el reactor empacado.

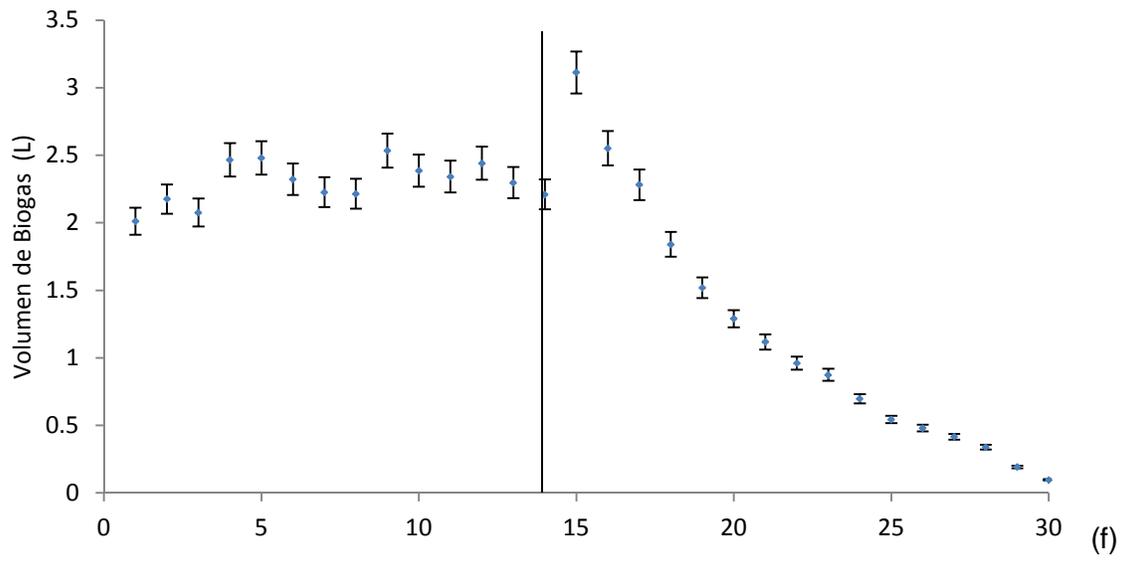
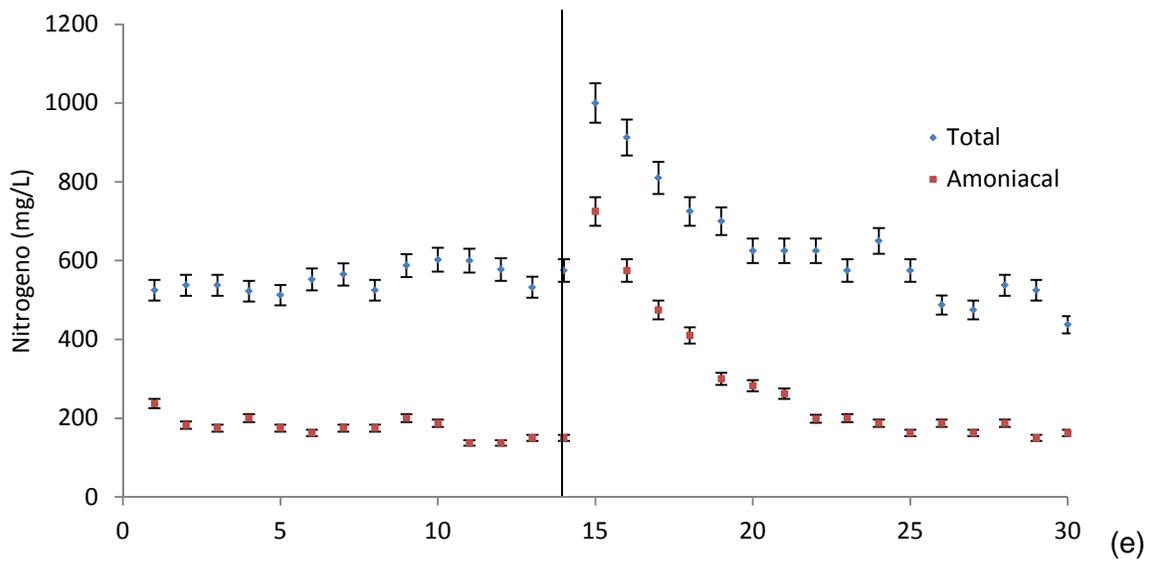
Tanto el perfil de nitrógeno total como amoniacal se presentan en la figura 9 (d). Antes del acoplamiento se muestra un promedio de 553.75 ± 27.7 mg/L en el nitrógeno total, pero después del acoplamiento hay un aumento significativo, con un máximo de 1000 ± 50 mg/L el día después del acoplamiento, para volver al nivel original al final de la experimentación. El nitrógeno amoniacal tiene el mismo comportamiento, con un promedio antes del acoplamiento de 174.6 ± 8.7 mg/L, y después de este un máximo de 725 ± 36.3 mg/L. De acuerdo a Xu *et al.*, la reducción en la concentración de nitrógeno se puede dar por cualquiera de las siguientes tres vías: formación de biomasa, dilución y/o producción de nitrógeno gaseoso a condiciones anóxicas [114].

La figura 9 (f) presenta el perfil de biogás producido en el reactor UASB, una vez acoplados los reactores. Se presenta un pico máximo después del primer día de acoplamiento con un valor promedio de 3.11 ± 0.5 L, el cual disminuyó diariamente debido al agotamiento de la fuente de carbono, puesto que es un proceso por lotes. En los 16 días que permanecieron acoplados los reactores se produjeron 18.3 L de biogás. Hay que tener en cuenta que más del 90% del biogás se generó en los primeros 11 días del acoplamiento. Por último, en la figura 9 (g) se presenta el perfil de concentración de metano en el reactor UASB; el porcentaje de metano en la mezcla de biogás fue de $76.7 \pm$

3.8%. Este porcentaje es mayor al obtenido durante la aclimatación del reactor UASB, en donde la concentración promedio una vez llegó al estado estable fue de $61 \pm 6.9 \%$.







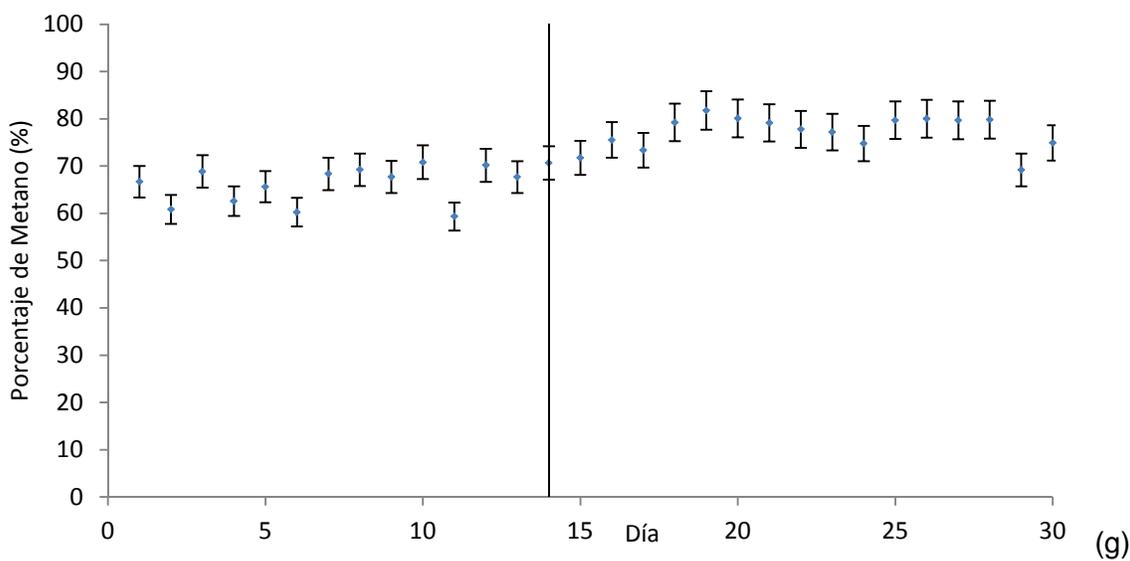


Figura 9. Desempeño del reactor UASB acoplado con el reactor empacado. (a) pH, (b) AGV, (c) DQO, (d) Alcalinidad, (e) nitrógeno total y B, (f) Volumen de gas producido y (g) Porcentaje de metano generado.

El rendimiento promedio fue $0.56 \pm 0.04 \text{ m}^3$ de biogás/kg $\text{SV}_{\text{REMOVIDO}}$ y para metano $0.43 \pm 0.06 \text{ m}^3$ de CH_4 /kg $\text{SV}_{\text{REMOVIDO}}$, como se puede apreciar en la tabla 10. Este rendimiento es superior al reportado por Romano *et al.*, en donde el rendimiento de metano estuvo entre 0.29 y 0.33 m^3 de CH_4 /kg $\text{SV}_{\text{REMOVIDO}}$, para la digestión anaerobia de residuos de cebolla [58]. Los resultados son superiores a los reportados por Zuo *et al.*, para la digestión anaerobia en dos fases de una mezcla de residuos vegetales bajo diversas tasas de recirculación, con un rendimiento de metano entre 0.29 y 0.33 m^3 de CH_4 /kg $\text{SV}_{\text{REMOVIDO}}$, con una tasa de carga orgánica similar [72]. Para tasas de cargas orgánicas superiores, como se muestra en la tabla 10, el rendimiento de metano en el sistema de digestión anaerobia en dos fases es superior a lo reportado por Ganesh *et al.*, [117] y De Giouannis *et al.*, [118].

Zuo *et al.*, realizaron el estudio de la digestión anaerobia en dos fases de residuos vegetales en un sistema formado por un reactor CSTR (hidrólisis) y RALF (metanogénesis) a condiciones mesófilas, los residuos tenían en promedio un porcentaje de sólidos totales de $5.4 \pm 0.6 \%$ y sólidos volátiles $4.9 \pm 0.6 \%$. Trabajaron con cuatro diferentes cargas para el reactor CSTR, las cuales fueron: 0.15 , 0.1 , 0.17 y 0.23 kg SV/m^3 día; los tiempos de retención de sólidos fueron: 48, 43, 44 y 45 días, respectivamente. Los

investigadores obtuvieron rendimientos de metano de: 0.29 ± 0.01 , 0.33 ± 0.02 , 0.33 ± 0.03 y 0.31 ± 0.05 m³ de CH₄/kg SV_{REMOVIDO}, con un porcentaje de remoción de sólidos volátiles equivalente a 91 ± 1.2 , 91.1 ± 2.4 , 90.9 ± 2.8 , 77.2 ± 1.8 , respectivamente. Los autores indican que la recirculación de los efluentes alcalinos del reactor metanogénico ayudaron a crear condiciones favorables para la formación de biogás en el reactor acidogénico, así como el de colaborar en la capacidad de amortiguamiento del pH en dicho reactor, indicando que se debe mantener una relación AGV/Alcalinidad inferior a 0.6. Además mencionan, en su comparación con otros autores, que si bien la recirculación de los efluentes del reactor de metanogénesis ayuda en aumentar la capacidad de amortiguamiento del reactor de hidrólisis, una vez que se ha disminuido el pH de dicho reactor, debe realizarse una adición de buffer externo [72].

En otro estudio con los residuos de vegetales y de frutas, realizado por Ganesh *et al.*, se encontraron resultados similares a los de Zuo *et al.* Para un sistema de dos reactores CSRT, en donde el primero tenía un pH de 5.6 ± 0.3 y el segundo de 7.4 - 7.8, con una carga inicial de 7 kg SV/m³ día, obtuvieron un rendimiento de 0.307 m³ CH₄/kg SV_{REMOVIDO}, con una eficiencia de remoción de sólidos volátiles del 97.5 %. Para llegar a estas condiciones, los investigadores indican que la conexión entre el reactor de hidrólisis y de metanogénesis se debe realizar con un paso adicional de centrifugación de los lixiviados, con la finalidad de retornar la fracción sólida al reactor de hidrólisis y alimentar el reactor de metanogénesis con el líquido centrifugado [117].

Para los residuos sólidos y líquidos de una curtiembre, se propuso un sistema de digestión anaerobia en dos fases, mediante el uso de dos reactores CSTR, logrando un rendimiento de metano de 0.31 m³ de CH₄/kg SV_{REMOVIDO} con una reducción de sólidos volátiles del 67%, bajo una carga inicial para el reactor de hidrólisis de 1.05 ± 0.05 kg SV/m³ día y del reactor de metanogénesis de 0.4 kg DQO/m³ d. El tiempo de retención de sólidos fue 10 días y el tiempo de retención hidráulico 20 días. El sistema se operó bajo condiciones continuas, con la finalidad de generar un modelo basado en el sistema adaptativo neuro-difuso [119].

Jagadabhi *et al.*, realizaron la investigación de la digestión anaerobia en dos fases de los residuos de tomate, pepino, caña común y ensilado de pasto, con un reactor empacado y

un reactor UASB. Los rendimientos encontrados por los investigadores fueron: 0.04, 0.07, 0.011, 0.011 m³ de CH₄/kg SV_{REMOVIDO}, para cargas de 6.7, 1.6, 15.2, 14.5 kg SV/m³ día. El bajo rendimiento de metano se debe a la forma en que los reactores fueron conectados, en el día 0 se realizó la conexión de los reactores, sin embargo, debido a la rápida acumulación de ácidos grasos volátiles el pH de ambos reactores disminuyó hasta valores entre 4 y 6.4 [120].

El rendimiento para la digestión anaerobia en dos fases de los residuos de mejillones azules y rojos fueron de 0.33 y 0.22 m³ de CH₄ /kg SV_{REMOVIDO}, respectivamente. Las cargas iniciales para ambos sistemas fueron 0.5 kg SV/m³ día, condiciones mesófilas y pH del reactor de hidrólisis entre 5.2 y 6.7. Aun cuando el rendimiento de ambos sistemas fue similar al obtenido por otros investigadores, el tiempo de retención de sólidos en la digestión de mejillones azules fue de 44 días, mientras que para mejillones rojos fue de 107 días. Esta diferencia la atribuyen los autores, al porcentaje de sólidos volátiles, que en el sistema con mejillón azul fue 7.7 % mientras en el sistema con mejillón rojo fue 76.3 %. Los investigadores también reconocen la necesidad de realizar un pretratamiento debido al alto porcentaje de lignocelulosa que tiene el mejillón rojo, además indican el riesgo de acumulación de nitrógeno amoniacal debido a la mineralización de las proteínas [112].

En relación con los resultados de la digestión anaerobia en dos fases con pretratamiento con H₂SO₄, realizados en este estudio, se puede observar que el rendimiento de metano (0.43 ± 0.035 m³ de CH₄/kg SV_{REMOVIDO}) es superior al obtenido por Romano *et al.*, (0.29, 0.32 y 0.31 m³ de CH₄/kg SV_{REMOVIDO}) a tres diferentes cargas (0.5, 1 y 2 kg SV/m³ día) [58]. Sin embargo está en el mismo orden de magnitud con lo reportado por Takashima *et al.*, en donde utilizó un pretratamiento con ácido sulfúrico, previo a la digestión en dos etapas, logrando un rendimiento de 0.45 m³ de CH₄ /kg SV_{REMOVIDO}, indicando que el rendimiento depende de la fuente de carbono utilizada, principalmente de si son carbohidratos, proteínas o lípidos [121]. Por otro lado Wang *et al.*, presentaron los resultados de la digestión en dos fases de los residuos de producción de vinagre mezclados con lodos residuales de una PTAR, con un pretratamiento de HCl, reportando un rendimiento de 0.19 CH₄/kg SV_{REMOVIDO}. [122].

Tabla 10. Comparación del desempeño de diferentes sistemas de digestión anaerobia en dos fases

Tipo de Residuo	Sistema	Reactor 1						Reactor 2				Digestión en dos fases		Referencia
		OLR (kg SV/m ³ día)	% ST	% SV	SRT (d)	pH	T (°C)	OLR (kg DQO/m ³ d)	TRH (d)	T (°C)	pH	Rendimiento UASB (m ³ CH ₄ /kg SV REMOVIDOS)	% Remoción SV	
Residuos Vegetales	CSTR - RALF	0.15	5.4±0.6	4.9±0.6	48	5 - 5.5	37	N.D.	8	37	7.4 - 8.2	0.29±0.01	91.0±1.2	[72]
		0.1			43	5.7 - 6.5						0.33±0.02	91.1±2.4	
		0.17			44	5.7 - 6.5						0.33±0.03	90.9±2.8	
		0.23			45	6.5 - 7						0.31±0.05	77.2±1.8	
Residuos de vegetales y frutas	CSTR - CSTR	7.0	12.7±0.9	11.0±0.8	25	5.6±0.3	35	N.D	5	35	7.4 - 7.8	0.307	97.5	[117]
Residuos sólidos y líquidos de una curtiembre	CSTR - CSTR	1.05±0.05	7.04	2.82	10	7.0 - 7.4	35	0.4	20	35	7.7 - 8.3	0.31	67	[119]
Residuos de Cebolla	SBR - AMBR	0.5	7.4	7.11	14	5.5 - 7	35	N.D.	3	35	6 - 7.5	0.29	N.D.	[58]
		1					35		3	35		0.32	N.D.	
		2					35		3	35		0.31	N.D.	
Tomate	Leach Bed Anaerobic Digester - UASB	6.7	10	7.6	31	5.1 - 6.9	21	2	N.D.	37	4 - 6.4 y 7.2 - 7.8	0.04	47	[120]
Pepino		1.6	6.8	4.5		6.3 - 7.8						0.07	54	
Caña Común		15.2	44.3	41		3.9 - 6.2						0.011	7.7	
Ensilado de Pasto		14.5	41	39		3.9 - 6.2						0.011	31.6	
Mejillón Azul	Leach Bed Anaerobic Digester - UASB	0.5	41.2	7.7	44	5.2 - 6.7	37	1	N.D.	37	7.2 - 7.7	0.33	N.D.	[112]
Mejillón Rojo		0.5	81.9	76.3	107						7.1 - 7.3	0.22	N.D.	
Lodos aguas residuales con pretratamiento con H ₂ SO ₄	CSTR - CSTR	1.43	N.D	N.D.	20	4.9 - 7.3	N.D.	2.3	N.D.	37	6.8 - 7.3	0.45	59.6	[121]
Residuos de vinagre + lodos residuales pretratamiento con HCL	CSTR - CSTR	2.6	30.8	24.7	N.D.	5.1 - 6.7	N.D.	N.D.	N.D.	35	6.5 - 7.2	0.192	N.D.	[122]
Residuos de Cebolla	LBR -	2.7	8.65±0.3	6.83±0.2	30	5.1 - 7.1	25	1	12	35	7.13±0.3	0.43±0.06	87.8	Este

con pretratamiento con H ₂ SO ₄	UASB														Estudio
--	------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	---------

CSRT: Reactor continuo de tanque agitado, UASB: Reactor anaerobio de flujo ascendente, LBR: Reactor de lecho empacado, SBR: Reactor Biológico secuencial, AMBR: Reactor biológico de membrana, RALF: Reactor anaerobio de lecho fluidizado.

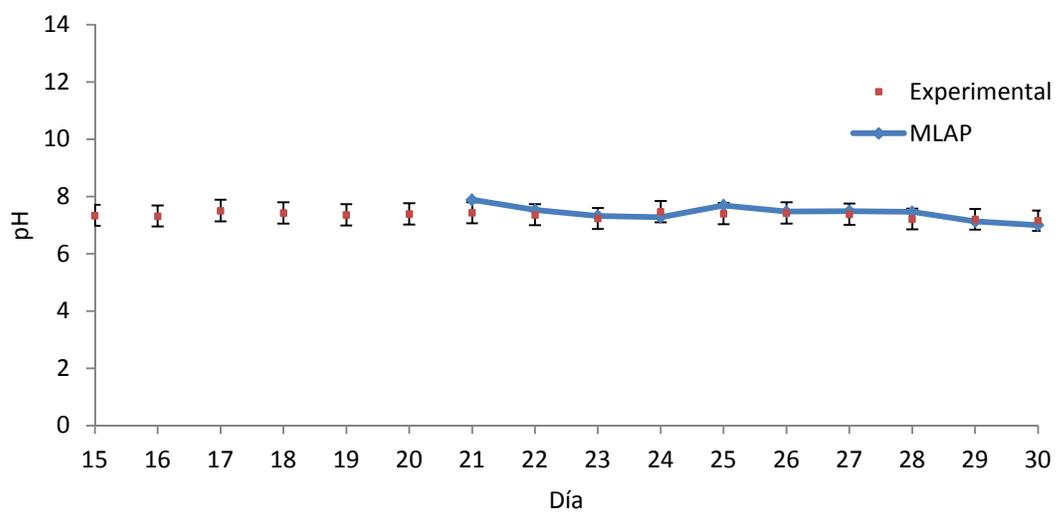
3.6 Modelo lineal adaptativo predictivo

El modelo fue aplicado una vez los dos reactores (empacado y UASB) fueron acoplados, el día 14. Como el modelo requiere un arreglo de variables de referencia, los datos desde el día 14 al 19 fueron usados para construir las matrices **X** y **U**. La predicción de las variables de estado y la generación diaria de metano inició el vigésimo día de la experimentación. Los valores experimentales, la predicción diaria de la producción de metano, así como las variables de estado, se presentan como puntos y líneas continuas, respectivamente, en la figura 10.

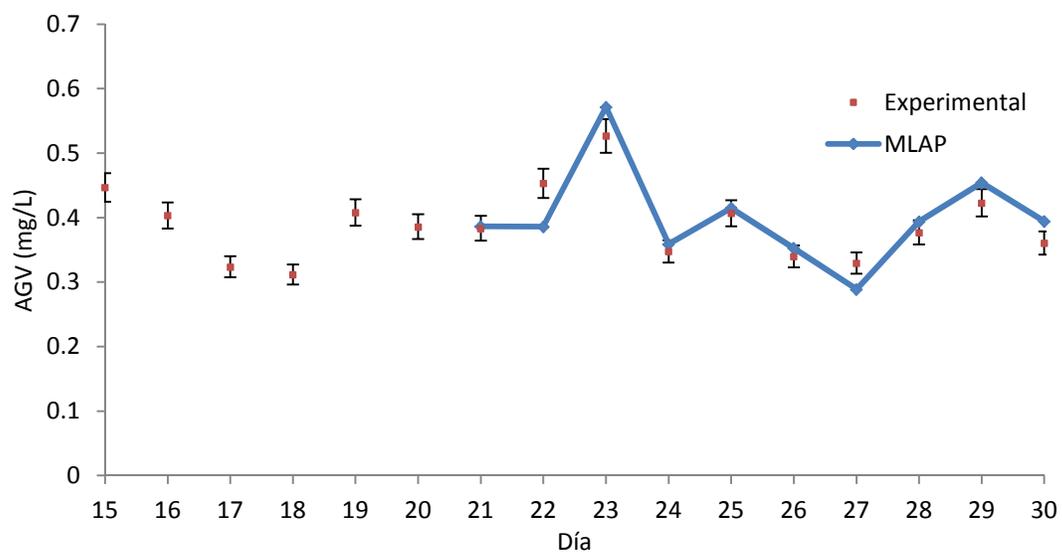
Como menciona Sendjaja *et al.*, aunque los perfiles muestren una buena correlación entre los valores predichos y experimentales, es necesaria una medida cuantitativa para expresar la relación entre el modelo matemático y los datos experimentales. Por esta razón la precisión de la medición se evaluó comparando el área bajo la curva de los datos experimentales y los generados por el modelo [16]. El error se define como la relación entre el área total delimitada por los datos experimentales y el área delimitada por el modelo matemático y el eje x. Los resultados se resumen en la tabla 11. El máximo error entre el modelo matemático y los datos experimentales fue para la alcalinidad, 1.84 %; seguido de AGV 1.48 %, DQO 0.74 %, nitrógeno amoniacal 0.69 %, volumen de metano 0.61%, nitrógeno total 0.27 % y, finalmente, pH 0.26%. Estos resultados son menores a los reportados por Sendjaja *et al.*, donde, para el reactor UASB, el error para AGV fue 7.09 %, DQO 2.33 %, pH 0.59 % y volumen de metano 7.26 %; los autores atribuyen el error entre el modelo y los datos experimentales a la intoxicación por acumulación de AGV que tuvieron en el reactor UASB [16].

Tabla 11. Área bajo la curva valores experimentales con relación a los valores del modelo.

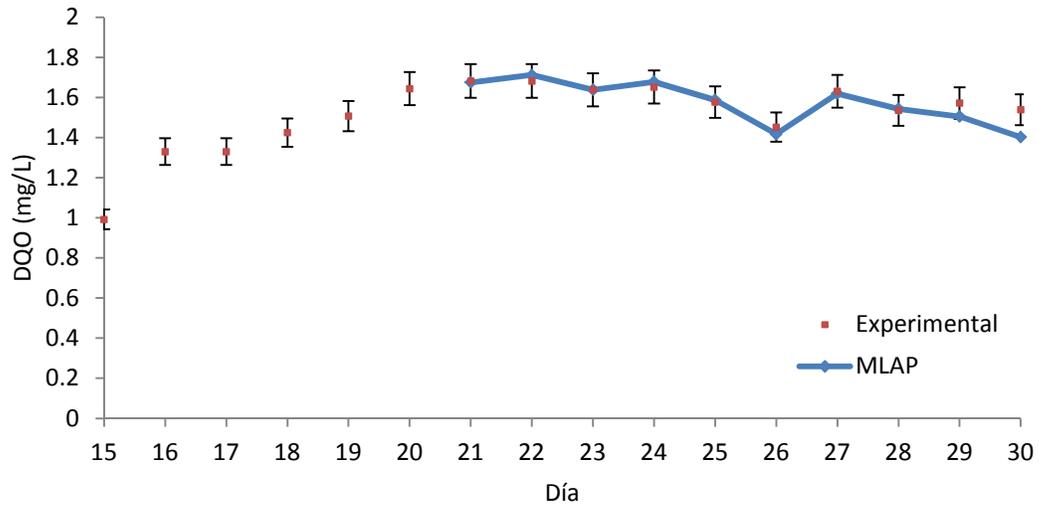
Parámetro	V CH ₄	DQO	pH	AGV	Alcalinidad	Nitrógeno total	Nitrógeno amoniacal
Experimental	17.02	22068.17	146.88	7175.45	47282.50	11785.00	4472.83
Predicción	16.92	21905.17	147.27	7281.90	46411.02	11752.74	4503.86
Error (%)	0.61	0.74	0.26	1.48	1.84	0.27	0.69



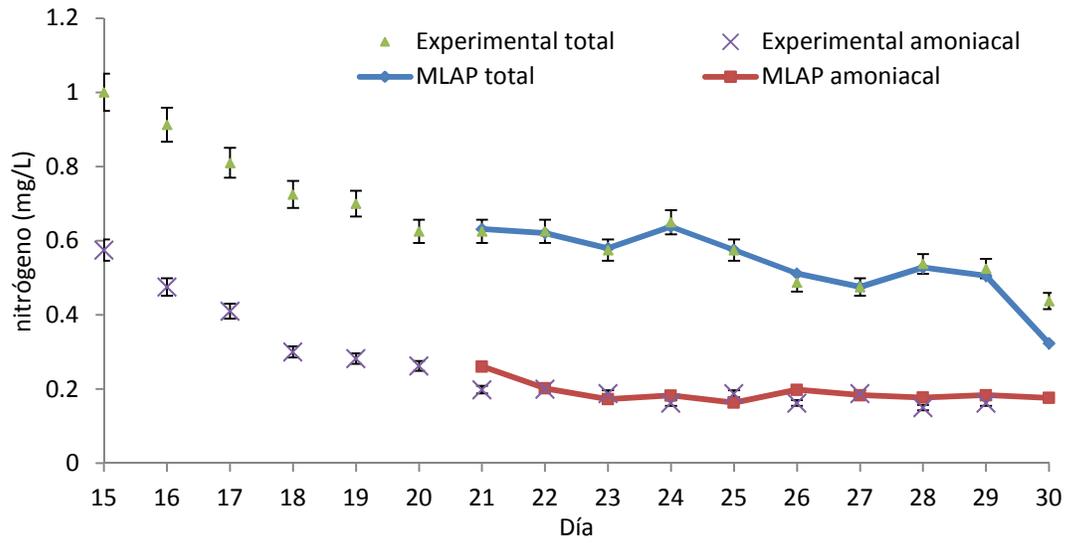
(a)



(b)



(c)



(d)

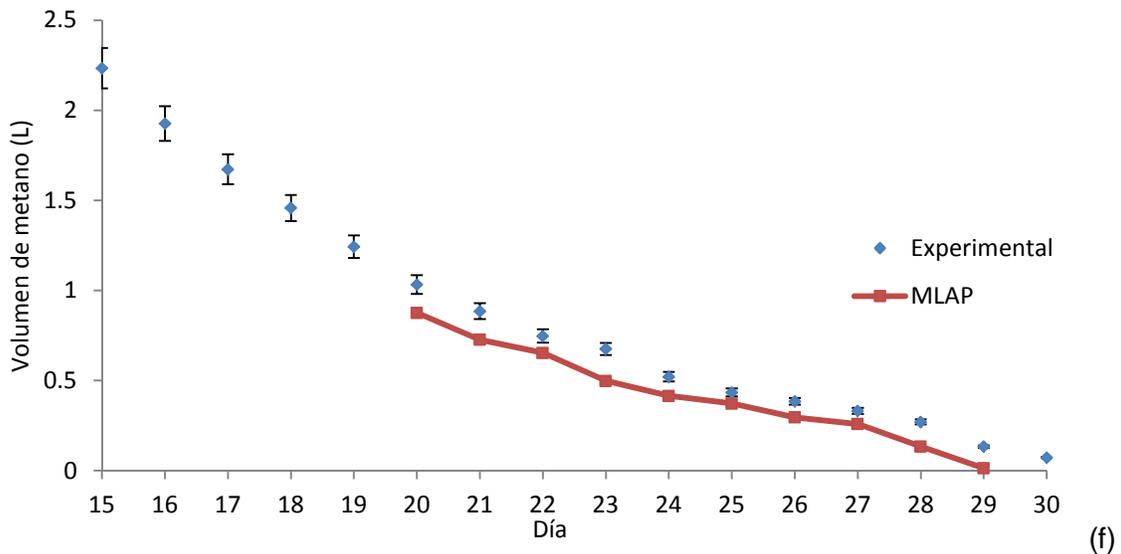
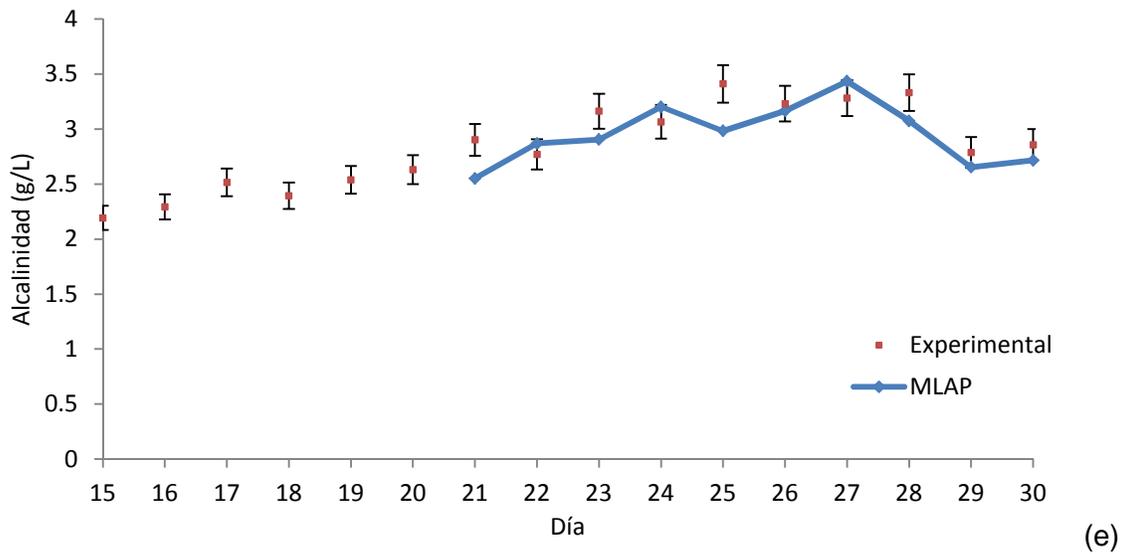


Figura 10. Modelo matemático lineal adaptativo predictivo. (a) pH, (b) AGV, (c) DQO, (d) nitrógeno total y amoniacal, (e) alcalinidad y (f) Volumen de biogás.

En la tabla 12 se presenta el resumen de varios estudios en donde se aplican modelos matemáticos a la digestión anaerobia. Erdirencelebi *et al.*, realizaron el modelamiento de un sistema de digestión anaerobia usando un modelo ANFIS; mencionan que requieren 85 datos, únicamente para la etapa de aprendizaje [60], por lo cual es necesario que el sistema se encuentre en estado estable para asegurar precisión y exactitud del modelo. Cakmakci *et al.*, usaron el modelo ANFIS para predecir la concentración y volumen de biogás en un sistema de digestión anaerobia de lodos primarios, para lo cual requirió de

135 días de aprendizaje y 35 días para la validación del modelo [61]. De acuerdo a Sendjaja *et al.*, una de las debilidades de los modelos basados en datos históricos es la necesidad de obtener una cantidad apreciable de datos, como también mantener la estabilidad en el proceso [16].

Zhao *et al.*, aplicaron el modelo AMD1 para la digestión anaerobia de plantas acuáticas ricas en compuestos lignocelulósicos. Fue necesario realizar diversos experimentos para identificar y calibrar los parámetros, además de los requeridos para la validación del modelo. Se utilizaron 15 parámetros estequiométricos de los cuales tuvieron que estimar 7; por otro lado de los 17 parámetros cinéticos 9 fueron determinados. Además, de los experimentos realizados para estimar las constantes cinéticas y estequiométricos, la validación tomo 20 días más [62]. Mairet *et al.*, propusieron una versión modificada del modelo AMD1, en donde la cinética de la hidrólisis fue modelada por la ecuación de Contois, para representar la digestión anaerobia de residuos de microalgas. Después de 140 días de experimentación se obtuvo una buena representación de los datos, incluyendo la inhibición por una reducción en el pH [63].

Chen *et al.*, implementaron un modelo matemático basado en las ecuaciones de AMD1 para simular la digestión anaerobia en dos fases de las aguas residuales de una medicina tradicional China; los autores indicaron que fue necesario estimar coeficientes estequiométricos y de equilibrio, además de parámetros cinéticos por medio del método explícito de Runge - Kutta con la modificación de Bogacki y Shampine. Sin embargo después de 120 días de experimentación, la simulación falló [64].

Tabla 12. Comparación entre varios modelos aplicados a la digestión anaerobia

Reactor	Modelo	Sistema	Numero de Datos	Parámetros Constantes	Variables Independientes	Referencia
UASB	ANFIS	Continuo	85	No	pH, DQO, AGV	[60]
CSTR	ANFIS	Continuo	165	No	pH, SV ingreso, temperatura	[61]
CSTR	ADM1	Continuo	20	Sí	AGV, Rendimiento	[62]
CSTR	AMD1	Continuo	140	Sí	pH, nitrógeno inorgánico, flujo	[63]

					de biogás, DQO	
CSTR - UASB	AMD1	Continuo	120	Sí	DQO, pH, AGV	[64]
CSTR - CSTR	Modelo de estado estacionario discreto adaptativo	Continuo	85	No	AGV, DQO total, DQO soluble, ST, pH, Volumen de metano	[16]
LBR	AMD1	Lotes	81	Sí	AGV, volumen de biogás, concentración de metano, pH	[65]
Reactor empacado con pretratamiento-UASB	Modelo lineal adaptativo predictivo	Semi-Continuo	30	No	VFA, COD, nitrógeno total, nitrógeno amoniacal, alcalinidad, volumen de metano	Este Estudio

CSRT: Reactor Continuo de Tanque Agitado, UASB: Reactor Anaerobio de Flujo Ascendente, LBR: Reactor de Lecho Empacado.

CONCLUSIONES

- El sistema de digestión anaerobia en dos etapas presenta claras ventajas frente a la de una sola etapa, incrementa la velocidad de degradación de la materia orgánica, aumenta el rendimiento de metano y permite plantear un modelo sencillo para predecir el desempeño del reactor.
- Mediante el acoplamiento del reactor empacado con el reactor metanogénico una vez se alcanzó un parámetro de diseño establecido, se logra evitar la inhibición de este último.
- El tiempo de digestión anaerobia para el reactor empacado con inóculo fue de 63 días, mientras que el transcurrido con ácido sulfúrico como pretratamiento fue de 35 días.
- El sistema alcanzó un rendimiento de metano de $0.43 \text{ m}^3 / \text{kg SV}_{\text{REMOVIDO}}$, el cual es superior al reportado por otros autores para el mismo tipo de residuo.
- La reducción de AGV, DQO, nitrógeno total y amoniacal fueron de 93.6 %, 98.0 %, 98.7 % y 95.0 %, respectivamente; alcanzando remociones similares a las obtenidas por otros investigadores en sistemas de digestión anaerobia en dos fases.
- Se mantuvo la tasa de carga orgánica constante como parámetro de acople entre el reactor empacado y el reactor UASB, lo cual permite evitar la intoxicación del reactor UASB y no se hace necesaria la adición de un amortiguador externo.
- El rendimiento del reactor empacado sin pretratamiento fue de $0.013 \text{ m}^3 \text{ CH}_4 / \text{kg SV}_{\text{REMOVIDO}}$, con pretratamiento presentó un rendimiento de $0.014 \text{ m}^3 \text{ CH}_4 / \text{kg SV}_{\text{REMOVIDO}}$, mientras que el sistema con pretratamiento y acoplado al UASB tuvo un rendimiento de $0.017 \text{ m}^3 \text{ CH}_4 / \text{kg SV}_{\text{REMOVIDO}}$.
- Se dio la inhibición de las bacterias acetogénicas y metanogénicas debido a la acumulación de ácidos grasos volátiles, los cuales disminuyeron el pH de la solución en el reactor empacado.
- La DQO para el reactor empacado, después del acoplamiento con el reactor UASB se redujo en 78.4 %, mientras que la concentración de AGV en el mismo reactor tuvo una reducción del 84.1 %.

- Para el sistema de dos fases, con la conexión entre el reactor empacado con pretratamiento y el UASB, se redujo en 96.6 % la concentración de nitrógeno total y en 94.4 % el nitrógeno amoniacal.
- El reactor UASB no se vio afectado por la alimentación del lixiviado del reactor empacado, no fue apreciable la modificación del pH, AGV y nitrógeno total y amoniacal en el UASB.
- Aumentó la concentración de DQO a la salida del reactor UASB al pasar de 672.4 ± 33.6 mg/L, a 1512.17 ± 75.6 mg/L.
- El MLAP para la digestión anaerobia en dos fases de los residuos de cebolla blanca, presenta una excelente correlación entre los datos experimentales y los entregados por el modelo.
- El MLAP fue capaz de predecir el desempeño del proceso de digestión anaerobia, incluyendo el volumen de metano, DQO, pH, AGV, alcalinidad y nitrógeno total y amoniacal.
- El MLAP puede ser una herramienta para establecer procedimiento de control en sistemas de digestión anaerobia en dos fases.

PERSPECTIVAS

Los estudios realizados en este proyecto sugieren que los residuos de cebolla son un buen candidato para la digestión anaeróbica. La limitación en rendimiento debido al uso de un residuo sólido con una alta carga orgánica se puede resolver mediante la separación de la fase de hidrólisis y metanogénesis. Para evitar la intoxicación del reactor UASB se sugiere que la conexión entre el reactor empacado y el reactor metanogénico se realice una vez de inicio la fase de metanogénesis en el reactor empacado. El pretratamiento del residuo disminuye el tiempo necesario para llegar a la etapa de metanogénesis, lo cual es recomendable para el uso industrial.

Es recomendable seguir investigando el uso de modelos lineales adaptativos para otras configuraciones de reactores biológicos, además de otros tipos de residuos; con la finalidad de incrementar el conocimiento en los sistemas de control de reactores de digestión anaerobia. Sobre este mismo aspecto, es recomendable seguir con la investigación de sistemas por lotes, puesto que la información de aplicación de modelos matemáticos no diferenciales en esta área es muy poca, principalmente por el número limitado de datos que se pueden obtener en un sistema por lotes.

BIBLIOGRAFÍA

1. FAOSTAT. **Food and Agricultural commodities production**. <http://faostat3.fao.org/home/E>. Consultado 15 Julio 2016.
2. Machado JEO, Villamizar F: **Evaluación de residuos y daños en hortalizas de alto consumo en centrales de abastos en Colombia**. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha* 2003, **5**(1):1-7.
3. Mahdizadeh Khasraghi M, Gholami Sefidkouhi MA, Valipour M: **Simulation of open-and closed-end border irrigation systems using SIRMOD**. *Archives of Agronomy and Soil Science* 2015, **61**(7):929-941.
4. Valipour M: **Sprinkle and trickle irrigation system design using tapered pipes for pressure loss adjusting**. *Journal of Agricultural Science* 2012, **4**(12):125.
5. Yannopoulos SI, Lyberatos G, Theodossiou N, Li W, Valipour M, Tamburrino A, Angelakis AN: **Evolution of water lifting devices (pumps) over the centuries worldwide**. *Water* 2015, **7**(9):5031-5060.
6. Santanilla EBF, Moreno GAM: **Aprovechamiento de los residuos vegetales de una central de abastos para la obtención de etanol**. *Épsilon* 2010(14):21-31.
7. Martínez RM, Miglierina AM, Luna M, Konijnenburg Av, Pellejero G: **Evaluación del compostaje de los residuos del procesamiento de cebolla**. *Pilquen Sección Agronomía* 2008, **9**:8.
8. Martínez-Nieto P, García-González D, Silva-Bonilla PS, Vargas-Chaparro G, Valderrama-Escallón F: **Manejo de residuos generados directa o indirectamente por el cultivo de cebolla en Aquitania (Boyacá-Colombia)**. *Revista AIDIS de Ingeniería y Ciencias Ambientales: investigación, desarrollo y práctica* 2011, **4**(2):23-34.
9. Jin EY, Lim S, oh Kim S, Park Y-S, Jang JK, Chung M-S, Park H, Shim K-S, Choi YJ: **Optimization of various extraction methods for quercetin from onion skin using response surface methodology**. *Food Science and Biotechnology* 2011, **20**(6):1727-1733.
10. Almeida A, Nafarrate R, Alvarado A, Cervantes O, Luevanos OR, Balagurusamy N: **Expresión genética en la digestión anaerobia: un paso adelante en la comprensión de las interacciones tróficas de esta biotecnología**. *Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila [revista en internet]* 2011, **3**(6).

11. Mao C, Feng Y, Wang X, Ren G: **Review on research achievements of biogas from anaerobic digestion.** *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 2015, **45**:16.
12. Donoso-Bravo A, Mailier J, Martin C, Rodríguez J, Aceves-Lara CA, Wouwer AV: **Model selection, identification and validation in anaerobic digestion: a review.** *Water research* 2011, **45**(17):5347-5364.
13. Scenna NJ, Aguirre PA, Benz SJ, Chiotti OJ, Espinosa HJ, Ferrero MB, Montagna JM, Mussati MC, Pérez GA, Rodríguez J: **Modelado, simulación y optimización de procesos químicos.** 2015.
14. Batstone DJ, Keller J, Angelidaki I, Kalyuzhnyi S, Pavlostathis S, Rozzi A, Sanders W, Siegrist H, Vavilin V: **The IWA anaerobic digestion model no 1 (ADM1).** *Water Science and Technology* 2002, **45**(10):65-73.
15. Tay J-H, Zhang X: **Neural fuzzy modeling of anaerobic biological wastewater treatment systems.** *Journal of Environmental Engineering* 1999, **125**(12):1149-1159.
16. Sendjaja A, Tan Y, Pathak S, Zhou Y, Abdul M, Liu J, Ng W: **Regression based state space adaptive model of two-phase anaerobic reactor.** *Chemosphere* 2015, **140**:8.
17. **Cebolla (*Allium cepa*).** Organización Mundial de las Naciones Unidas. FAO; 2006. Consultado 30 de Septiembre de 2013.
18. Acosta YL, Obaya Abreu MC: **La digestión anaerobia. Aspectos teóricos. Parte I. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar** 2005, **XXXIX**:13.
19. Cuervo L, Folch JL, Quiroz RE: **Lignocelulosa como fuente de azúcares para la producción de etanol.** *BioTecnología* 2009, **13**(3):11-25.
20. Romano RT, Zhang R: **Anaerobic digestion of onion residuals using a mesophilic Anaerobic Phased Solids Digester.** *biomass and bioenergy* 2011, **35**(10):4174-4179.
21. **The Definition of Dietary Fiber.** *American Association of Cereal Chemists* 2011, **46**(3).
22. Raigón Jiménez MD: **El nivel de pungencia de las cebollas.** *Horticultura internacional* 2006(51):48-51.

23. Anthon GE, Barrett DM: **Thermal inactivation of lipoxygenase and hydroperoxytrienoic acid lyase in tomatoes.** *Food Chemistry* 2003, **81**(2):275-279.
24. Yoo KS, Pike LM: **Determination of background pyruvic acid concentrations in onions, Allium species, and other vegetables.** *Scientia horticulturae* 2001, **89**(4):249-256.
25. Boyhan G, Schmidt N, Woods P, Himelrick D, Randle WM: **Adaption of a spectrophotometric assay for pungency in onion to a microplate reader.** *Journal of food quality* 1999, **22**(2):225-233.
26. Sreekrishnan T, Kohli S, Rana V: **Enhancement of biogas production from solid substrates using different techniques—a review.** *Bioresource technology* 2004, **95**(1):1-10.
27. Vanegas C, Bartlett J: **Anaerobic digestion of Laminaria digitata: the effect of temperature on biogas production and composition.** *Waste and Biomass Valorization* 2013, **4**(3):509-515.
28. El-Mashad HM, Zeeman G, Van Loon WK, Bot GP, Lettinga G: **Effect of temperature and temperature fluctuation on thermophilic anaerobic digestion of cattle manure.** *Bioresource technology* 2004, **95**(2):191-201.
29. Choorit W, Wisarnwan P: **Effect of temperature on the anaerobic digestion of palm oil mill effluent.** *Electronic Journal of Biotechnology* 2007, **10**(3):376-385.
30. Lianhua L, Dong L, Yongming S, Longlong M, Zhenhong Y, Xiaoying K: **Effect of temperature and solid concentration on anaerobic digestion of rice straw in South China.** *International journal of hydrogen energy* 2010, **35**(13):7261-7266.
31. Chen Y, Cheng JJ, Creamer KS: **Inhibition of anaerobic digestion process: a review.** *Bioresource technology* 2008, **99**(10):4044-4064.
32. Hwang MH, Jang NJ, Hyun SH, Kim IS: **Anaerobic bio-hydrogen production from ethanol fermentation: the role of pH.** *Journal of Biotechnology* 2004, **111**(3):297-309.
33. Demirel B, Yenigün O: **Two-phase anaerobic digestion processes: a review.** *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 2002, **77**(7):743-755.
34. Hansen KH, Angelidaki I, Ahring BK: **Anaerobic digestion of swine manure: inhibition by ammonia.** *Water research* 1998, **32**(1):5-12.

35. Wittmann C, Zeng A-P, Deckwer W-D: **Growth inhibition by ammonia and use of a pH-controlled feeding strategy for the effective cultivation of *Mycobacterium chlorophenicum***. *Applied microbiology and biotechnology* 1995, **44**(3-4):519-525.
36. Yenigün O, Demirel B: **Ammonia inhibition in anaerobic digestion: A review**. *Process Biochemistry* 2013, **48**:901.
37. El Hadj TB, Astals S, Gali A, Mace S, Mata-Alvarez J: **Ammonia influence in anaerobic digestion of OFMSW**. *Water science and technology* 2009, **59**(6):1153-1158.
38. McCarty PL, McKinney RE: **Volatile Acid Toxicity in Anaerobic Digestion**. *Journal (Water Pollution Control Federation)* 1961, **33**(3):223-232.
39. Amani T, Nosrati M, Mousavi SM, Kermanshahi RK: **Study of syntrophic anaerobic digestion of volatile fatty acids using enriched cultures at mesophilic conditions**. *International Journal of Environmental Science & Technology* 2011, **8**(1):83-96.
40. Wang Y, Zhang Y, Wang J, Meng L: **Effects of volatile fatty acid concentrations on methane yield and methanogenic bacteria**. *Biomass and Bioenergy* 2009, **33**:6.
41. Fernández J, Pérez M, Romero LI: **Effect of substrate concentration on dry mesophilic anaerobic digestion of organic fraction of municipal solid waste (OFMSW)**. *Bioresource technology* 2008, **99**(14):6075-6080.
42. Cui Z, Shi J, Li Y: **Solid-state anaerobic digestion of spent wheat straw from horse stall**. *Bioresource technology* 2011, **102**(20):9432-9437.
43. Kaparaju P, Serrano M, Angelidaki I: **Optimization of biogas production from wheat straw stillage in UASB reactor**. *Applied Energy* 2010, **87**(12):3779-3783.
44. Comino E, Rosso M, Riggio V: **Investigation of increasing organic loading rate in the co-digestion of energy crops and cow manure mix**. *Bioresource Technology* 2010, **101**(9):3013-3019.
45. Ghosh S, Conrad JR, Klass DL: **Anaerobic acidogenesis of wastewater sludge**. *Journal (Water Pollution Control Federation)* 1975:30-45.
46. Demirel G, Chen S: **Two-phase anaerobic digestion of unscreened dairy manure**. *Process biochemistry* 2005, **40**(11):3542-3549.

47. Merlino G, Rizzi A, Schievano A, Tenca A, Scaglia B, Oberti R, Adani F, Daffonchio D: **Microbial community structure and dynamics in two-stage vs single-stage thermophilic anaerobic digestion of mixed swine slurry and market bio-waste.** *Water research* 2013, **47**(6):1983-1995.
48. Yu H, Samani Z, Hanson A, Smith G: **Energy recovery from grass using two-phase anaerobic digestion.** *Waste management* 2002, **22**:5.
49. Park GW, Kim I, Jung K, Seo C, Han J-I, Chang HN, Kim Y-C: **Enhancement of volatile fatty acids production from rice straw via anaerobic digestion with chemical pretreatment.** *Bioprocess and biosystems engineering* 2015, **38**(8):1623-1627.
50. Devlin D, Esteves S, Dinsdale R, Guwy A: **The effect of acid pretreatment on the anaerobic digestion and dewatering of waste activated sludge.** *Bioresource Technology* 2011, **102**(5):4076-4082.
51. Li R, Chen S, Li X, Saifullah Lar J, He Y, Zhu B: **Anaerobic codigestion of kitchen waste with cattle manure for biogas production.** *Energy & Fuels* 2009, **23**(4):2225-2228.
52. Jin Y, Hu Z, Wen Z: **Enhancing anaerobic digestibility and phosphorus recovery of dairy manure through microwave-based thermochemical pretreatment.** *Water research* 2009, **43**(14):3493-3502.
53. Taherzadeh MJ, Karimi K: **Pretreatment of lignocellulosic wastes to improve ethanol and biogas production: a review.** *International journal of molecular sciences* 2008, **9**(9):1621-1651.
54. Penaud V, Delgenes J, Moletta R: **Thermo-chemical pretreatment of a microbial biomass: influence of sodium hydroxide addition on solubilization and anaerobic biodegradability.** *Enzyme and microbial technology* 1999, **25**(3):258-263.
55. Rani RU, Kumar SA, Kaliappan S, Yeom I-T, Banu JR: **Low temperature thermo-chemical pretreatment of dairy waste activated sludge for anaerobic digestion process.** *Bioresource technology* 2012, **103**(1):415-424.
56. Cassini S, Andrade M, Abreu T, Keller R, Goncalves R: **Alkaline and acid hydrolytic processes in aerobic and anaerobic sludges: effect on total EPS and fractions.** *Water Science and Technology* 2006, **53**(8):51-58.

57. Romano RT, Zhang R: **Co-digestion of onion juice and wastewater sludge using an anaerobic mixed biofilm reactor.** *Bioresource Technology* 2008, **99**:7.
58. Romano RT, Zhang R: **Anaerobic digestion of onion residuals using a mesophilic Anaerobic Phased Solids Digester.** *Biomass and bioenergy* 2011, **35**:6.
59. El-Kamah H, Mahmoud M, Tawfik A: **Performance of down-flow hanging sponge (DHS) reactor coupled with up-flow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor for treatment of onion dehydration wastewater.** *Bioresource Technology* 2011, **102**:7.
60. Erdirencelebi D, Yalpir S: **Adaptive network fuzzy inference system modeling for the input selection and prediction of anaerobic digestion effluent quality.** *Applied Mathematical Modelling* 2011, **35**:12.
61. Cakmakci M: **Adaptive neuro-fuzzy modelling of anaerobic digestion of primary sedimentation sludge.** *Bioprocess and Biosystems Engineering* 2007, **30**:9.
62. Zhao B-H, Yue Z-B, Ni B-J, Mu Y, Yu H-Q, Harada H: **Modeling anaerobic digestion of aquatic plants by rumen cultures: Cattail as an example.** *Water Research* 2009, **43**:9.
63. Mairet F, Bernard O, Ras M, Lardon L, Steyer J-P: **Modeling anaerobic digestion of microalgae using ADM1.** *Bioresource Technology* 2011, **102**:7.
64. Chen Z, Hu D, Zhang Z, Ren N, Zhu H: **Modeling of two-phase anaerobic process treating traditional Chinese medicine wastewater with the IWA Anaerobic Digestion Model No. 1.** *Bioresource Technology* 2009, **100**:9.
65. Lai TE, Koppa AK, Pullammanappallil PC, Clarke WP: **Mathematical Modeling of Batch, Single Stage, Leach Bed Anaerobic Digestion of Organic Fraction of Municipal Solid Waste:** Springer; 2009.
66. Chen Z, Hu D, Zhang Z, Ren N, Zhu H: **Modeling of two-phase anaerobic process treating traditional Chinese medicine wastewater with the IWA Anaerobic Digestion Model No. 1.** *Bioresource technology* 2009, **100**(20):4623-4631.
67. **Standard methods for the examination of water and wastewater.** Washington; American Public Health Association; 1998. Consultado 28 de Enero de 2014.

68. TAPPI: **TAPPI Standard T 203 om-93. Alpha-, beta- and gamma-cellulose in pulp and wood.** In., vol. T 203 om-93. PO Box 105113, Atlanta, GA 30348; 15 Technology Parkway South, Norcross, GA 30092: TAPPI; 1988.
69. TAPPI: **TAPPI Standard T 222 om-98. Acid insoluble lignin in wood and pulp.** In. PO Box 105113, Atlanta, GA 30348; 15 Technology Parkway South, Norcross, GA 30092: TAPPI; 1998.
70. Kim J, Park C, Kim T-H, Lee M, Kim S, Kim S-W, Lee J: **Effects of various pretreatments for enhanced anaerobic digestion with waste activated sludge.** *Journal of bioscience and bioengineering* 2003, **95**(3):271-275.
71. Lenihan P, Orozco A, O'neill E, Ahmad M, Rooney D, Walker G: **Dilute acid hydrolysis of lignocellulosic biomass.** *Chemical Engineering Journal* 2010, **156**(2):395-403.
72. Zhuang Zuo SW, Wanqin Zhang, Renjie Dong: **Performance of two-stage vegetable waste anaerobic digestion depending on varying recirculation rates.** *Bioresource Technology* 2014, **162**:7.
73. Siegert I, Banks C: **The effect of volatile fatty acid additions on the anaerobic digestion of cellulose and glucose in batch reactors.** *Process Biochemistry* 2005, **40**(11):3412-3418.
74. Alzate-Gaviria LM, Pérez-Hernández A, Nevárez Moorillón V, Rinderknecht Seijas N, Poggi Veraldo H: **Comparación de dos sistemas anaerobios acoplados para la biometanización de la fracción orgánica de residuos sólidos urbanos.** *Interciencia* 2003, **28**(8):436-442.
75. Bedoya O, Sanches L: **Tratamiento de aguas residuales de la industria láctea en sistemas anaerobios tipo UASB.** *Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial* 2009, **7**(2):24-31.
76. España-Gamboa E, Mijangos-Cortes J, Hernández-Zárate G, Domínguez-Maldonado J, Alzate-Gaviria L: **Methane production by treating vinasses from hydrous ethanol using a modified UASB reactor.** *Biotechnology for Biofuels* 2012, **5**:9.
77. Purser BJJ, Thai S-M, Fritz T, Esteves SR, Dinsdale RM, Guwy AJ: **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* 2014, **61**:9.

78. Blanco-Cocom L, Guerrero-Alvarez A, Dominguez-Maldonado J, Avila-Vales E, Alzate-Gaviria L: **Mathematical model for a continuous hydrogen production system: Stirred fermenter connected to a biocatalyzed electrolysis cell.** *Biomass and bioenergy* 2013, **48**:10.
79. Lehtomäki A, Huttunen S, Lehtinen T, Rintala J: **Anaerobic digestion of grass silage in batch leach bed processes for methane production.** *Bioresource technology* 2008, **99**(8):3267-3278.
80. Benítez V, Mollá E, Martín-Cabrejas MA, Aguilera Y, López-Andréu FJ, Cools K, Terry LA, Esteban RM: **Characterization of Industrial Onion Wastes (*Allium cepa* L.): Dietary Fibre and Bioactive Compounds.** *Plant Foods Hum Nutr* 2011, **66**:10.
81. Dini I, Tenore GC, Dini A: **Chemical composition, nutritional value and antioxidant properties of *Allium cepa* L. Var. tropeana (red onion) seeds.** *Food chemistry* 2008, **107**(2):613-621.
82. Dioha IJ, Ikeme CH, Nafi'u T, Soba NI, M.B.S. Y: **Effect of carbon to nitrogen ratio on biogas production.** *International Research Journal of Natural Sciences* 2013, **1**(3):10.
83. Mauseth JD: **Plant anatomy**, vol. 560: Benjamin/Cummings Publ. Co.: Menlo Park, Calif; 1988.
84. Triolo JM, Sommer SG, Møller HB, Weisbjerg MR, Jiang XY: **A new algorithm to characterize biodegradability of biomass during anaerobic digestion: influence of lignin concentration on methane production potential.** *Bioresource Technology* 2011, **102**(20):9395-9402.
85. Himmel ME, Ding S-Y, Johnson DK, Adney WS, Nimlos MR, Brady JW, Foust TD: **Biomass recalcitrance: engineering plants and enzymes for biofuels production.** *science* 2007, **315**(5813):804-807.
86. Liew LN, Shi J, Li Y: **Methane production from solid-state anaerobic digestion of lignocellulosic biomass.** *Biomass and Bioenergy* 2012, **46**:125-132.
87. Ozkan L, Erguder TH, Demirer GN: **Effects of pretreatment methods on solubilization of beet-pulp and bio-hydrogen production yield.** *International Journal of hydrogen energy* 2011, **36**(1):382-389.

88. Kim SB, Lee Y: **Diffusion of sulfuric acid within lignocellulosic biomass particles and its impact on dilute-acid pretreatment.** *Bioresource technology* 2002, **83**(2):165-171.
89. Sun Y, Cheng JJ: **Dilute acid pretreatment of rye straw and bermudagrass for ethanol production.** *Bioresource technology* 2005, **96**(14):1599-1606.
90. Meinita MDN, Marhaeni B, Winanto T, Setyaningsih D, Hong Y-K: **Catalytic efficiency of sulfuric and hydrochloric acids for the hydrolysis of Gelidium latifolium (Gelidiales, Rhodophyta) in bioethanol production.** *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* 2015, **27**:108-114.
91. Akila G, Chandra T: **Performance of an UASB reactor treating synthetic wastewater at low-temperature using cold-adapted seed slurry.** *Process Biochemistry* 2007, **42**(3):466-471.
92. Blanco-Cocom L, Guerrero-Álvarez A, Domínguez-Maldonado J, Ávila-Vales E, Alzate-Gaviria L: **Mathematical model for a continuous hydrogen production system: Stirred fermenter connected to a biocatalyzed electrolysis cell.** *Biomass and Bioenergy* 2013, **48**:90-99.
93. Rajeshwari KV, Balakrishnan M, Kansal A, Lata K, Kishore VVN: **State-of-the-art of anaerobic digestion technology for industrial wastewater treatment.** *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 2000, **4**:22.
94. Hinken L, Huber M, Weichgrebe D, Rosenwinkel K-H: **Modified ADM1 for modelling an UASB reactor laboratory plant treating starch wastewater and synthetic substrate load tests.** *Water research* 2014, **64**:82-93.
95. Guardia-Puebla Y, Rodríguez-Pérez S, Jiménez-Hernández J, Sánchez-Girón V: **Performance of a UASB reactor treating coffee wet wastewater.** *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias* 2013, **22**(3):35-41.
96. Selvamurugan M, Doraisamy P, Maheswari M, Nandakumar N: **Comparative study on startup performance of UAHR and UASB reactors in anaerobic treatment of distillery spentwash.** *International Journal of Environmental Research* 2011, **6**(1):235-244.
97. Torkian A, Eqbali A, Hashemian S: **The effect of organic loading rate on the performance of UASB reactor treating slaughterhouse effluent.** *Resources, Conservation and Recycling* 2003, **40**(1):1-11.

98. Mahadevaswamy M, Murthy B, Girijamma A: **Performance evaluation of up-flow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor for treatment of paper mill wastewater.** *Journal of Environmental Sciences* 2004, **16**(2):194-198.
99. Brito A, Rodrigues A, Melo L: **Granulation during the start-up of a UASB reactor used in the treatment of low strength wastewaters.** *Biotechnology Letters* 1997, **19**(4):363-368.
100. Sivakumar R, Sekaran V: **Comparative Study of Performance Evaluation of UASB Reactor for Treating Synthetic Dairy Effluent at Psychrophilic and Mesophilic Temperatures.** *Nature Environment and Pollution Technology* 2015, **14**(3):679.
101. Kapdan I, Kargi F: **Bio-hydrogen production from waste materials.** *Enzyme and Microbial Technology* 2006, **38**(5):13.
102. Babel S, Fukushi K, Sitanrassamee B: **Effect of acid speciation on solid waste liquefaction in an anaerobic acid digester.** *Water Research* 2004, **38**(9):2417-2423.
103. Cysneiros D, Banks CJ, Heaven S, Karatzas K-AG: **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.** *Bioresource technology* 2012, **123**:263-271.
104. Romano RT: **Anaerobic digestion of onion processing waste and biochemical methods for enhanced anaerobic digestion:** ProQuest; 2008.
105. Jun D, Yong-sheng Z, Mei H, Wei-Hong Z: **Influence of alkalinity on the stabilization of municipal solid waste in anaerobic simulated bioreactor.** *Journal of hazardous materials* 2009, **163**(2):717-722.
106. Bolzonella D, Battistoni P, Mata-Alvarez J, Cecchi F: **Anaerobic digestion of organic solid wastes: process behaviour in transient conditions.** *Water Science and Technology* 2003, **48**(4):1-8.
107. Zhu J, Wan C, Li Y: **Enhanced solid-state anaerobic digestion of corn stover by alkaline pretreatment.** *Bioresource technology* 2010, **101**(19):7523-7528.
108. Lehtomaki A, Huttunen S, Lehtinen TM, Rintala JA: **Anaerobic digestion of grass silage in batch leach bed processes for methane production.** *Bioresource Technology* 2008, **99**:12.

109. Ahn HK, Smith MC, Kondrad SL, White JW: **Evaluation of Biogas Production Potential by Dry Anaerobic Digestion of Switchgrass–Animal Manure Mixtures.** *Applied Biochemistry and Biotechnology* 2010, **160**:11.
110. Chugh S, Chynoweth DP, Clarke W, Pullammanappallil P, Rudolph V: **Degradation of unsorted municipal solid waste by a leach-bed process.** *Bioresource Technology* 1999, **69**:13.
111. Appels L, Baeyens J, Degrève J, Dewil R: **Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge.** *Progress in energy and combustion science* 2008, **34**(6):755-781.
112. Nkemka VN, Murto M: **Two-stage anaerobic dry digestion of blue mussel and reed.** *Renewable Energy* 2013, **50**:6.
113. Hongjiang L, Youcai Z, Lei S, Yingying G: **Three-stage aged refuse biofilter for the treatment of landfill leachate.** *Journal of Environmental Sciences* 2009, **21**(1):70-75.
114. Xu SY, Lam HP, Karthikeyan OP, Wong JW: **Optimization of food waste hydrolysis in leach bed coupled with methanogenic reactor: effect of pH and bulking agent.** *Bioresource technology* 2011, **102**(4):3702-3708.
115. Tian Y, Zhang H, Mi X, Wang L, Zhang L, Ai Y: **Research on anaerobic digestion of corn stover enhanced by dilute acid pretreatment: Mechanism study and potential utilization in practical application.** *Journal of Renewable and Sustainable Energy* 2016, **8**(2):023103.
116. Browne JD, Allen E, Murphy JD: **Improving hydrolysis of food waste in a leach bed reactor.** *Waste management* 2013, **33**(11):2470-2477.
117. Ganesh R, Torrijos M, Sousbie P, Lugardon A, Steyer JP, Delgenes JP: **Single-phase and two-phase anaerobic digestion of fruit and vegetable waste: Comparison of start-up, reactor stability and process performance.** *Waste Management* 2014, **34**:11.
118. De Gioannis G, Diaz LF, Muntoni A, Pisanu A: **Two-phase anaerobic digestion within a solid waste/wastewater integrated management system.** *Waste Management* 2008, **28**(10):1801-1808.
119. Arumugam T, Parthiban L, Rangasamy P: **Two-Phase Anaerobic Digestion Model of a Tannery SolidWaste: Experimental investigation and Modeling with ANFIS.** *Arabian Journal for Science and Engineering* 2015, **40**:10.

120. Jagadabhi PS, Kaparaju P, Rintala J: **Two-stage anaerobic digestion of tomato, cucumber, common reed and grass silage in leach-bed reactors and upflow anaerobic sludge blanket reactors.** *Bioresource Technology* 2011, **102**:8.
121. Takashima M, Tanaka Y: **Application of acidic thermal treatment for one- and two-stage anaerobic digestion of sewage sludge.** *Water Science & Technology* 2010, **61**:10.
122. Wang Z, Shao S, Zhang C, Lu D, Ma H, Ren X: **Pretreatment of vinegar residue and anaerobic sludge for enhanced hydrogen and methane production in the two-stage anaerobic system.** *International journal of hydrogen energy* 2015, **40**:8.