



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN INGENIERÍA  
INGENIERÍA AMBIENTAL – RESIDUOS SÓLIDOS

OBTENCIÓN DE METANO RESIDUAL A PARTIR DEL DIGESTATO DE LA  
FRACCIÓN ORGÁNICA DE RESIDUOS SÓLIDOS URBANOS

TESIS  
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:  
MAESTRO EN INGENIERÍA

PRESENTA:  
GABRIEL CASTELÁN RODRÍGUEZ

TUTOR PRINCIPAL  
DR. OSCAR GONZÁLEZ BARCELÓ, INSTITUTO DE INGENIERÍA, UNAM

COMITÉ TUTOR  
DR. ALFONSO DURÁN MORENO, FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM  
DRA. IDANIA VALDEZ VÁZQUEZ, INSTITUTO DE INGENIERÍA, UNAM

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX. ENERO 2018

JURADO ASIGNADO:

Presidente:	Dr. Morgan Sagastume Juan Manuel
Secretario:	Dr. Durán Moreno Alfonso
Vocal:	Dra. Moeller Chávez Gabriela Eleonora
1er. Suplente:	Dra. Váldez Vázquez Idania
2do. Suplente	Dr. González Barceló Oscar

Lugar donde se realizó la tesis:

Laboratorio de Ingeniería Ambiental, Instituto de Ingeniería

TUTOR DE TESIS:

DR. OSCAR GONZÁLEZ BARCELÓ

---

FIRMA

Este trabajo fue realizado en el Laboratorio de Ingeniería Ambiental que cuenta con certificación de la calidad ISO 9001:2008 otorgada por el Instituto Mexicano de Normalización y Certificación, A.C. (IMNC) con registro RSGC 960 de fecha 11 de enero de 2016, vigente al 11 de enero de 2019.

Para un ángel con silueta de conejo, me enseñaste que no hay mejor manera de vivir la vida que vivirla. Estás conmigo siempre hermano.

“Mais les yeux sont aveugles. Il faut chercher avec le coeur”

Antoine de Saint - Exupéry

## AGRADECIMIENTOS

A mis padres Gabriela y Gabriel, por su apoyo incondicional y por siempre brindarme su cariño, por enseñarme a no darme por vencido y perseguir mis sueños, gracias por sus consejos y regaños, a ustedes les debo absolutamente todo en la vida.

A mi hermana Daniela, por ser mi amiga y compañera en toda circunstancia, gracias por todo tu cariño, tus muestras de afecto, por enseñarme que debes ser quien tú quieres ser y por escucharme cuando más lo necesitaba.

A Cinthya, por tu amor y apoyo incondicional, por ser mi cómplice en todo cuanto la vida nos ha puesto enfrente, por motivarme a superarme día a día, por enseñarme a tener una sonrisa en el corazón y un corazón en el alma, gracias por tu entrega y por estar siempre.

A Francisco, por su amistad y hermandad de más media vida, gracias por tu sinceridad y por las palabras de aliento que me has brindado, por enseñarme que los lazos que se cultivan resisten al tiempo y a la adversidad.

A mi familia, fuente de apoyo constante e incondicional en mi vida. Doy gracias por la fortuna de ser parte de ellos y ellos parte de mí. Especialmente a mi abuelita María Leonor sabia y amorosa matriarca que encamino y enlazó las vidas de todos los que a esta, mi hermosa familia pertenecemos.

Agradezco profundamente al doctor Oscar González Barceló, por brindarme su confianza y apoyo en el desarrollo de este proyecto, gracias por su paciencia, participación, compromiso y por esa calidad humana inigualable que posee. Ha sido un sabio guía desde que tengo la fortuna de conocerlo.

Al doctor Alfonso Durán Moreno miembro de mi comité tutorial, por sus consejos y atinados comentarios, por la confianza que depositó en mí para desarrollar mis conocimientos más allá del aula y por su indiscutible carisma y buen humor para abordar casi cualquier situación.

A mi comité tutorial, las doctoras Gabriela Eleonora Moeller Chavéz e Idania Valdéz Vázquez y al doctor Juan Manuel Morgan Sagastume, por su apoyo y comprensión para el desarrollo y culminación del presente trabajo.

A mis compañeros y amigos de la maestría, Alondra, Ernesto, Noé, Daniel y Ulises, por todos esos momentos de alegría, tensión y aprendizaje que pasamos juntos, no habría sido lo mismo sin ustedes.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, a la Facultad de Ingeniería y al Instituto de Ingeniería, por su formación integral y la excelsa calidad de su enseñanza, gracias por los espacios, servicios y todo cuanto me fue proporcionado para el desarrollo de mi formación profesional. Me siento orgulloso de pertenecer a esta mi casa, la máxima casa de estudios.

Al Fondo de Sustentabilidad Energética SENER-CONACYT mediante el proyecto 247006 Clúster de Biocombustibles gaseosos, por las facilidades de beca, infraestructura, equipos y materiales para realizar con éxito mi trabajo de investigación.

Al consejo nacional de ciencia y tecnología (CONACYT) por la beca para estudios de posgrado, que me permitió realizar mi maestría durante estos dos años.

## CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS .....	I
ÍNDICE DE FIGURAS .....	III
ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS .....	IV
RESUMEN .....	1
ABSTRACT .....	2
INTRODUCCIÓN .....	3
OBJETIVO GENERAL.....	4
OBJETIVOS PARTICULARES.....	4
ALCANCES.....	4
ANTECEDENTES .....	5
CAPÍTULO I .....	5
1.1 Digestión Anaerobia .....	5
1.1.1 Diagrama de los procesos catabólicos .....	7
1.1.2 Reacciones bioquímicas.....	8
1.1.2.1 Hidrólisis .....	8
1.1.2.2 Acidogénesis.....	11
1.1.2.3 Acetogénesis.....	12
1.1.2.4 Metanogénesis .....	13
1.1.3 Variables de operación en sistemas de digestión anaerobia .....	13
1.1.3.1 Temperatura.....	14
1.1.3.2 pH .....	14
1.1.3.3 Potencial óxido-reducción.....	14
1.1.3.4 Nutrientes .....	14
1.1.3.5 Toxicidad del medio .....	15
1.1.3.6 Tiempo de retención celular .....	15
1.1.3.7 Tiempo de retención hidráulico .....	15
1.1.3.8 Carga orgánica volumétrica.....	16
1.1.4 Microbiología .....	16
1.1.4.1 Bacterias fermentativas o acidogénicas .....	17
1.1.4.2 Bacterias acetogénicas productoras de hidrógeno.....	18
1.1.4.3 Bacterias homoacetogénicas .....	18

1.1.4.4 Arqueas acetoclásticas e hidrogenotróficas .....	18
CAPÍTULO II .....	20
2.1 Fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos .....	20
2.1.1 Caracterización de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos .....	22
2.1.1.1 Separación mecánica de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos .....	22
2.1.1.2 Recolección separada y de origen de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos .....	26
2.1.2 Procesos para la digestión anaerobia .....	28
2.1.2.1 Procesos de digestión seca y húmeda .....	29
2.1.2.2 Procesos de una y de dos etapas .....	30
CAPÍTULO III .....	31
3.1 Digestato como producto de la digestión anaerobia .....	31
3.1.1 Caracterización del digestato .....	32
3.1.2 Potencial de metano en el digestato de la digestión anaerobia .....	36
CAPÍTULO IV .....	41
4.1 Compuestos recalcitrantes, biomasa lignocelulósica .....	41
4.1.1 Composición de la biomasa lignocelulósica .....	44
4.1.2 Potencial de metano de la biomasa lignocelulósica .....	45
4.1.3 Procesos de pretratamiento de la biomasa lignocelulósica .....	46
CAPÍTULO V .....	50
MATERIALES Y METODOLOGÍA .....	50
5.1 Metodología .....	50
5.1.1 Obtención de la FORSU .....	51
5.1.2 Caracterización de la FORSU y el digestato .....	52
5.1.3 Descripción del equipo de trabajo .....	52
5.1.4 Inóculo y nutrientes .....	53
5.1.5 Estabilización del digestato .....	54
5.1.6 Selección de solvente .....	55
5.1.7 Pretratamiento con organosolv .....	57
5.1.8 Digestión anaerobia del digestato pretratado .....	58
5.2 Métodos analíticos .....	59
5.3 Análisis estadístico .....	60

CAPÍTULO VI .....	61
RESULTADOS .....	61
6.1 Resultados .....	61
6.1.1 Obtención de la FORSU .....	61
6.2 Estabilización del digestato .....	62
6.3 Selección de solvente .....	67
6.4 Pretratamiento con organosolv .....	74
6.5 Digestión anaerobia del digestato pretratado.....	75
CAPÍTULO VII .....	79
CONCLUSIONES .....	79
BIBLIOGRAFÍA.....	80
ANEXOS .....	89
A1. Análisis estadístico.....	89

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1 Cooperación microbiana en la degradación de materia orgánica (Zieminski and Fraç, 2012). .....	17
Tabla 2.3. Características físico-químicas de la separación mecánica de la FORSU en plantas complejas (Cecchi et al., 1991). .....	24
Tabla 2.4. Composición y características de la separación mecánica de FORSU en plantas complejas, en términos del porcentaje de sólidos totales y sólidos totales volátiles de cada fracción típica (Cecchi et al., 1991). .....	24
Tabla 2.5. Características físico-químicas de la separación mecánica de la FORSU en planta de tipo medio compleja (Cecchi et al., 1991). .....	25
Tabla 2.6. Composición de los residuos obtenidos con la criba de agujeros estrechos en planta de tipo medio compleja (Cecchi et al., 1991). .....	25
Tabla 2.7. Composición de los residuos obtenidos con la criba de agujeros amplios en planta de tipo medio compleja (Cecchi et al., 1991). .....	25
Tabla 2.8. Características de la recolección separada y de origen de la fracción orgánica de residuos sólidos urbanos (Cecchi et al., 1997). .....	26
Tabla 2.9. Características de la recolección separada de la FORSU recolectada en cantinas (Cecchi et al., 1997). .....	27
Tabla 2.10. Características promedio de la recolección separada de la FORSU de mercados de frutas y vegetales (Cecchi et al., 1997). .....	27
Tabla 2.11. Tecnologías de digestión anaerobia (Mata-Álvarez, 2003). .....	28
Tabla 3.1. Efectos de la digestión anaerobia en los residuos (Zeshan, 2012). .....	33
Tabla 3.2. Contenido de materia orgánica en digestatos (Teglia et al., 2011). .....	34
Tabla 3.3 Características de RC, FORSU y digestato (Tampio et al. 2015). .....	35
Tabla 3.4 Parámetros de operación de plantas durante el muestreo (Menardo et al., 2010). ....	38
Tabla 3.5 Parámetros del digestato antes y después de la prueba (Menardo et al., 2010). .....	39
Tabla 3.6 Rendimiento de biogás y metano al finalizar la prueba (Menardo et al., 2010). .....	39
Tabla 4.1 Composición de biomasa lignocelulósica (Sawatdeenarunat et al., 2014). .....	45
Tabla 4.2 Potencial de metano de la biomasa lignocelulósica (Weiland 2010). .....	46
Tabla 4.3. Influencia del pretratamiento de organosolvatación en la estructura lignocelulósica (Raspolti y Antonetti, 2011). .....	49
Tabla 5.1 Cantidades utilizadas para prueba de selección de solvente. ....	56

Tabla 5.1 Métodos analíticos .....	59
Tabla 6.1 Caracterización de lodos para producción de digestato. ....	62
Tabla 6.2 Comparación entre FORSU y digestato. ....	64
Tabla 6.3 Producción específica de metano. ....	66
Tabla 6.3 Diseño experimental. ....	74
Tabla 6.4 Producción específica de metano para cada tratamiento establecido con organosolv. .....	77
Tabla 6.5 Caracterización del digestato antes y después del proceso de organosolv (* unidades en mg/kg).....	78
Tabla A1.1 Arreglo de valores obtenidos para diseño experimental.....	89
Tabla A1.2 Tabla de ANOVA para el diseño experimental.....	90

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Reacciones anaerobias biológicas generales (Taricska et al., 2009) .....	6
Figura 1.2. Etapas de la digestión anaerobia (Gujer and Zehnder, 1983) .....	7
Figura 5.1 Diagrama de la metodología .....	51
Figura 5.2 Sistema automático de pruebas de potencial de metano. ....	53
Figura 5.3 Estabilización del digestato. ....	55
Figura 5.4 Selección de solvente. ....	56
Figura 5.5 Arreglo para el pretratamiento con organosolv. ....	57
Figura 5.6 Digestato posterior al pretratamiento. ....	58
Figura 6.1 Monitoreo de parámetros de alcalinidad. ....	63
Figura 6.2 Producción de metano del digestato. ....	65
Figura 6.3 Porcentaje de producción de metano y dióxido de carbono. ....	66
Figura 6.4 Producción específica de biogás con acetato de etilo. ....	68
Figura 6.5 Porcentaje de producción de metano y dióxido de carbono con acetato de etilo. ....	68
Figura 6.6 Producción específica de biogás con éter etílico. ....	69
Figura 6.7 Porcentaje de producción de metano y dióxido de carbono con acetato de etilo. ....	70
Figura 6.8 Producción específica de biogás con diclorometano. ....	70
Figura 6.9 Porcentaje de producción de metano y dióxido de carbono con diclorometano. ....	71
Figura 6.10 Producción específica de biogás con hexano. ....	71
Figura 6.11 Porcentaje de producción de metano y dióxido de carbono con hexano. ....	72
Figura 6.12 Resumen de resultados obtenidos para la selección de solventes. ....	73
Figura 6.13 Producción de biogás a partir de los tratamientos establecidos. ....	75
Figura 6.14 Porcentaje de producción de metano y dióxido de carbono con las diferentes combinaciones en los tratamientos establecidos. ....	76
Figura A1.1 interacción del tiempo de contacto. ....	90
Figura A1.2 Interacción de la temperatura. ....	91

## ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

<b>AGV</b>	Ácidos grasos volátiles.
<b>AI</b>	Alcalinidad intermedia.
<b>AMPTS</b>	Automatic Methane Potential Test System (Sistema automático de medida del potencial de metano).
<b>ANOVA</b>	Analysis of variance (Análisis de varianza).
<b>AP</b>	Alcalinidad parcial.
<b>CEPA</b>	California Environmental Protection Agency (Agencia de Protección Ambiental de California).
<b>COD</b>	Carbono orgánico disuelto.
<b>CSTR</b>	Continuous stirred-tank reactor (Reactor continuo de tanque agitado).
<b>DQO</b>	Demanda química de oxígeno.
<b>FORSU</b>	Fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos.
<b>GDF</b>	Gobierno del Distrito Federal.
<b>IB</b>	Índice buffer o tampón.
<b>IWA</b>	International Water Association (Asociación Internacional del Agua).
<b>NL</b>	Litros normalizados (0 °C y 1 atm).
<b>N-NH<sub>4</sub></b>	Nitrógeno amoniacal.
<b>NK</b>	Nitrogeno Kjeldahl.
<b>PBM</b>	Potencial bioquímico de metano.
<b>pH</b>	Potencial de hidrógeno.
<b>PT</b>	Fósforo total.
<b>SF</b>	Sólidos fijos.
<b>ST</b>	Sólidos totales.
<b>SV</b>	Sólidos volátiles.
<b>TRC</b>	Tiempo de retención celular.
<b>TRH</b>	Tiempo de residencia hidráulica.
<b>UASB</b>	Upflow Anaerobic Sludge Blanket (Reactor anaerobio de flujo ascendente).

## RESUMEN

La digestión anaerobia de la fracción orgánica de residuos sólidos urbanos (FORSU) para obtención de biogás ofrece ventajas en su relación costo beneficio, convirtiéndose en una alternativa viable que permite estabilizar los residuos y recuperar energía en forma de metano. La producción depende principalmente del tipo y cantidad de macromoléculas presentes; sin embargo el rendimiento está restringido por el contenido de compuestos lignocelulósicos, los cuales son de difícil degradación. El objetivo principal de este trabajo fue determinar el potencial de metano que no se alcanza a producir durante la digestión anaerobia de la FORSU debido a la presencia de compuestos orgánicos recalcitrantes a la hidrólisis, principalmente lignocelulósicos. Para la recuperación del metano residual, el digestato, producto de la digestión anaerobia de un lote de FORSU, se sometió a un proceso de extracción con un solvente orgánico antes de la prueba de potencial bioquímico de metano. El pre tratamiento se hizo en dos etapas: 1) selección del solvente y 2) combinación de factores de temperatura (20 y 40 °C) con tiempos de contacto con el solvente seleccionado (10 y 60 minutos). El etilacetato fue el solvente con el que se extrajo la mayor proporción de sustancias orgánicas biodegradables disueltas al producir un mayor rendimiento de metano. La producción de metano para la combinación de 40 °C y 60 minutos de tiempo de contacto, produjo los valores más altos con 179 LNCH<sub>4</sub>/kg SV, lo que representa 82% más que la producción con el control (sin tratamiento con organosolv).

## ABSTRACT

The anaerobic digestion of the organic fraction of municipal solid waste (OFMSW) offers advantages in its cost-benefit ratio to obtain biogas, becoming a viable alternative that allows to stabilize waste and recover energy in the form of methane. The production depends mainly on the type and quantity of macromolecules present; however, the yield is restricted by the content of lignocellulosic compounds, which are difficult to break down. The main objective of this work was to determine the methane potential that can not be produced during the anaerobic digestion of the OFMSW due to the presence of organic compounds recalcitrant to hydrolysis, mainly lignocellulosic. For the recovery of the residual methane, the digestate, product of the anaerobic digestion of a batch of OFMSW, was subjected to an extraction process with an organic solvent before the test of biochemical potential of methane. The pretreatment was done in two stages: 1) selection of the solvent and 2) combination of temperature factors (20 and 40 °C) with contact times with the selected solvent (10 and 60 minutes). Ethyl acetate was the solvent with which the highest proportion of dissolved biodegradable organic substance was extracted by producing a higher methane yield. The production of methane for the combination of 40 °C and 60 minutes of contact time, produced the highest values with 179 LNCH<sub>4</sub>/kgSV, which represents 82% more than the production with the control (without treatment with organosolv).

## INTRODUCCIÓN

La fracción orgánica de residuos sólidos urbanos (FORSU) es un material heterogéneo cuya composición varía ampliamente y es afectada por diversos factores como las diferencias regionales, el clima, la frecuencia y el tipo de recolección, así como las costumbres del lugar en donde esta se genera (Tchobanoglous, 1997).

La digestión anaerobia es el tratamiento biológico de la FORSU que representa la mejor relación costo- beneficio sobre otras tecnologías, debido a la alta recuperación de energía que representa el proceso, así como a su limitado impacto ambiental (Mata-Alvarez, 2003).

De acuerdo a Chambers (2011) al material producto de la digestión anaerobia de la FORSU se le conoce como digestato, el cual es una mezcla de biomasa microbiana y materia sin digerir, que presenta una biodegradabilidad residual y contiene elementos orgánicos complejos como los compuestos lignocelulósicos (celulosa, hemicelulosa y lignina). El uso de este digestato como sustrato para la obtención de bioproductos, reduce el tamaño de partícula de la biomasa después del proceso de digestión, además se han reportado tasas de producción de hasta 15% de metano residual en el digestato (Weiland, 2003).

El uso de pretratamientos para la biomasa lignocelulósica tiene el principal objetivo de incrementar el área de contacto superficial para incrementar la biodegradabilidad del sustrato. El proceso de organosolv tiene un enfoque prometedor en el cual la hemicelulosa y la lignina pueden ser solubilizadas haciendo uso de solventes (Raspolli y Antonetti, 2011).

El principal objetivo de este trabajo es incrementar la producción de metano residual contenido en el digestato de la FORSU mediante un pretratamiento con organosolv. Primero, seleccionando de entre varios solventes aquel que incremente la fracción biodegradable de los compuestos recalcitrantes mediante la medición de la producción de biogás. Posteriormente, determinando la combinación más favorable de temperatura y tiempo de contacto para incrementar la producción de metano, haciendo uso del producto solubilizado para pruebas de potencial bioquímico de metano.

## **OBJETIVO GENERAL**

Aumentar la producción de metano residual en el digestato procedente de la digestión anaerobia de la fracción orgánica de residuos sólidos urbanos, mediante el pretratamiento de organosolvatación.

## **OBJETIVOS PARTICULARES**

- Seleccionar de una lista de solventes, aquel que incremente la fracción biodegradable de los compuestos recalcitrantes del digestato de la digestión anaerobia de la fracción orgánica de residuos sólidos urbanos, registrando la producción de biogás.
- Determinar la combinación más favorable para aumentar la producción de metano de los parámetros de temperatura y tiempo de contacto, utilizando el producto solubilizado para pruebas de potencial bioquímico de metano.

## **ALCANCES**

A continuación, los principales alcances del proyecto:

- a) Se utilizarán reactores anaerobios a nivel laboratorio.
- b) Se utilizará la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos y su respectivo digestato para el proceso de digestión anaerobia.
- c) Producir un digestato en un tanque de 20 litros para ser utilizado en las diferentes corridas experimentales.
- d) Se utilizarán para el pretratamiento de la biomasa lignocelulósica del digestato: hexano, éter dietílico, acetato de etilo y diclorometano en la prueba de organosolvatación.

# ANTECEDENTES

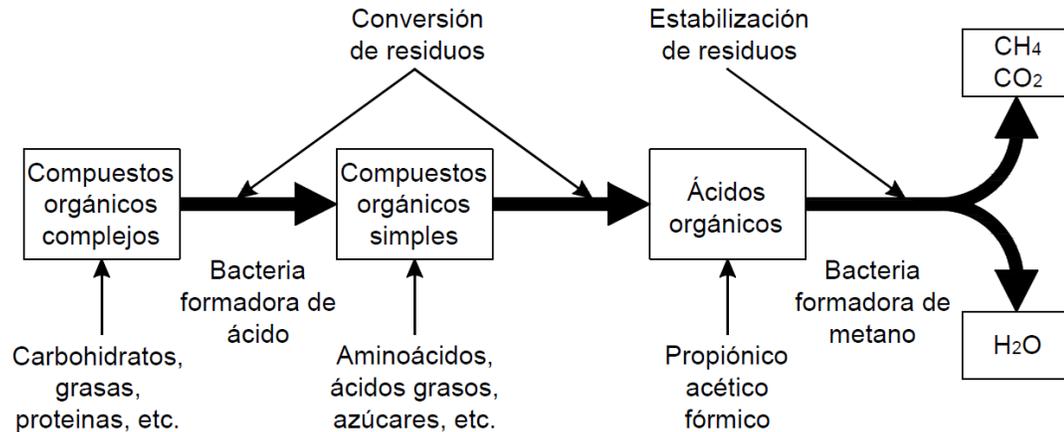
## CAPÍTULO I

### 1.1 Digestión Anaerobia

Se conoce como digestión anaerobia el conjunto de reacciones en que el material orgánico es degradado y existe producción de biogás (compuesto principalmente de metano y dióxido de carbono). El proceso de la digestión anaerobia se presenta en muchos lugares en donde hay disponibilidad de materia orgánica y un bajo potencial redox (sin oxígeno), ejemplo de esto es el estómago de rumiantes, pantanos, sedimentos de lagos, tiraderos municipales e incluso el drenaje (Van Lier et al., 2008).

El tratamiento anaerobio es muy efectivo en la remoción de compuestos orgánicos biodegradables, dejando compuestos mineralizados como  $NH_4^+$ ,  $PO_4^{3-}$ ,  $S^{2-}$  en la solución. El tratamiento anaerobio se puede llevar a cabo en sistemas técnicamente simples y los procesos se aplican a cualquier escala en casi cualquier lugar. Por otra parte, la cantidad de lodos de exceso producidos es muy pequeña y presenta una buena estabilidad, incluso tiene un valor de mercado cuando el llamado lodo anaeróbico granular se produce en el bioreactor (Van Lier et al., 2008).

Al proceso de la digestión anaerobia se le considera como una reacción biológica de mínimo dos etapas, la conversión de residuos y la estabilización, involucrando al menos dos grupos diferentes de microorganismos, las bacterias formadoras de ácido y las arqueas formadoras de metano. Esta también se refiere a la descomposición anaerobia de materia orgánica resultante en la gasificación, licuefacción y mineralización parcial, siendo principalmente los productos finales: metano ( $CH_4$ ), dióxido de carbono ( $CO_2$ ) y residuos orgánicos estables (Taricska et al., 2009).



**Figura 1.1. Reacciones anaerobias biológicas generales (Taricska et al., 2009)**

Según Taricska et al. (2009), la digestión anaerobia tanto de residuos sólidos como de lodos de aguas residuales ha sido utilizada desde hace tiempo para estabilizar estos residuos antes de su disposición final, generando los siguientes beneficios de dicho tratamiento:

- Reducción de la fracción orgánica de los lodos.
- Deshidratación mejorada de los lodos.
- Destrucción de la mayoría de los patógenos.
- Generación de un bioproducto potencialmente valioso (metano).
- Reducción de volúmenes.

En años recientes el tratamiento anaerobio está generando más atención debido no solo a la producción de metano, sino también a una serie de avances generados durante el proceso como mencionan Taricska et al. (2009) y que se mencionan a continuación:

- Obtención de un alto grado de estabilización de los residuos.
- Generación relativamente pequeña de residuos orgánicos.
- No se requiere el uso de oxígeno.
- El requerimiento de nutrientes es muy bajo.

### 1.1.1 Diagrama de los procesos catabólicos

La ruta anaerobia para la degradación de materia orgánica es un proceso de múltiples reacciones que se presentan de manera secuencial y de manera paralela entre estas, en este proceso de degradación de materia orgánica se presentan cuatro etapas sucesivas llamadas: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis. Un ecosistema anaerobio es el resultado de múltiples interacciones entre organismos de diferentes especies, la mayoría de los grupos que se presentan en el medio son: las bacterias fermentativas, las bacterias acetogénicas productoras de hidrógeno, las bacterias hidrogenotróficas, los metanógenos reductores de dióxido de carbono y los metanógenos acetoclásticos (Van Lier et al., 2008). En la figura 1.2 se muestra el diagrama elaborado por Gujer and Zehnder (1983), en el cual se ejemplifica el proceso de la digestión anaerobia, las fases que lo comprenden y el grupo de microorganismos que intervienen.

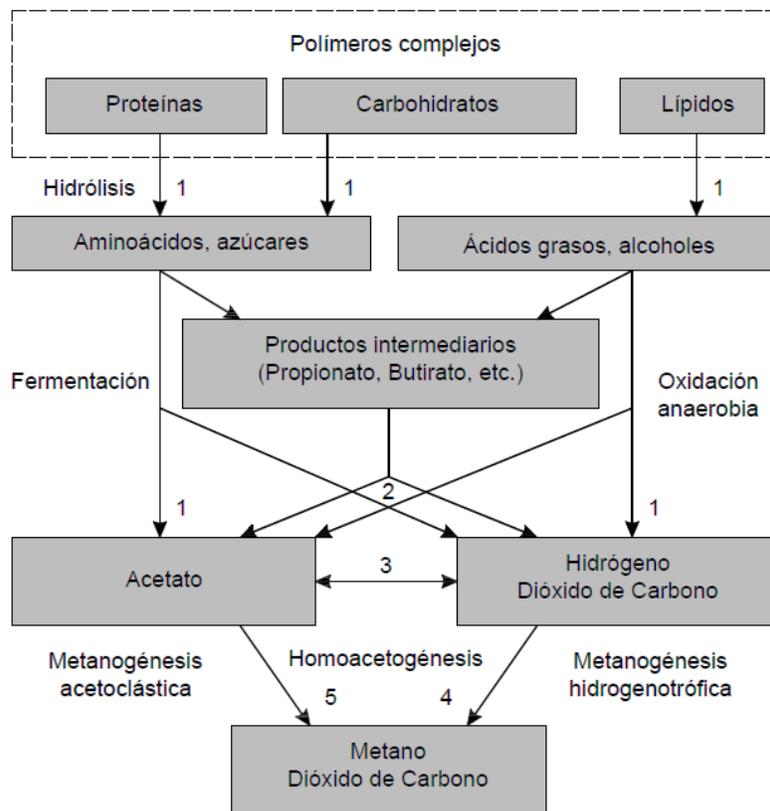


Figura 1.2. Etapas de la digestión anaerobia (Gujer and Zehnder, 1983)

En la figura 1.2 se pueden distinguir los siguientes procesos:

- a) Hidrólisis de biopolímeros
  - Hidrólisis de proteínas
  - Hidrólisis de polisacáridos
  - Hidrólisis de lípidos
- b) Acidogénesis
  - Consumo de aminoácidos y azúcares
  - Oxidación anaerobia de ácidos grasos superiores y alcoholes
- c) Acetogénesis
  - Formación de ácido acético y  $H_2$  de productos intermediarios (principalmente ácidos grasos volátiles de más de dos carbonos)
  - Homoacetogénesis: formación de ácido acético a partir de  $H_2$  y  $CO_2$
- d) Metanogénesis
  - Formación de metano a partir de ácido acético
  - Formación de metano a partir de  $H_2$  y  $CO_2$

## 1.1.2 Reacciones bioquímicas

### 1.1.2.1 Hidrólisis

En esta primera etapa los monómeros, como los aminoácidos, azúcares simples y ácidos grasos de cadena larga son convertidos en materiales menos complejos por enzimas excretadas por bacterias fermentativas, haciendo que los compuestos disueltos pasen a través de la membrana celular para ser aprovechados por la célula (Van Lier et al., 2008).

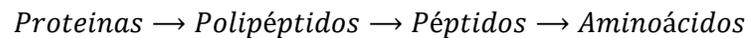
Durante el proceso de hidrólisis enzimática, las proteínas son hidrolizadas en aminoácidos, los polisacáridos en azúcares simples y los lípidos en ácidos grasos de cadenas largas. El proceso de hidrólisis es muy sensible a los cambios de temperatura y es por esa razón que el diseño de digestores anaerobios para sustratos sólidos y aguas residuales con alto contenido de DQO se base en este parámetro. La hidrólisis es realizada por exoenzimas producidas por bacterias acidogénicas y el producto de este proceso es el sustrato de estas últimas (Van Lier et al., 2008). La hidrólisis está considerada generalmente como limitante del proceso de digestión anaerobia de sustratos complejos; sin embargo, usualmente esto no es debido a la falta de actividad enzimática si no a la disponibilidad de libre acceso al área superficial de las partículas y de la estructura general del sustrato (Zeeman et al., 1996).

En esta etapa las macromoléculas pasan por difusión a través de enzimas extracelulares del grupo de hidrolasas (amilasas, proteasas y lipasas) producidas por cepas de bacterias hidrolíticas apropiadas. La velocidad de proceso de hidrólisis depende de parámetros tales como el tamaño de partículas, pH, producción de enzimas, difusión, y la adsorción de las enzimas sobre las partículas de desechos sometidos al proceso de digestión. La hidrólisis se lleva a cabo, principalmente, por las bacterias del grupo de los anaerobios relativas a los géneros *Streptococos* y *Enterobacterias* (Shah et al., 2014).

En la investigación sobre la cinética de la hidrólisis Goel et al (1998), reportan que la mayoría de actividad enzimática se localiza en los lodos y que las macromoléculas deben ser difundidas en el lodo para ser hidrolizadas. Investigaciones del proceso de hidrólisis en sustratos particulados demuestran que la tasa de hidrólisis está relacionada con el tamaño de partícula o el número de sitios de adsorción de la superficie de la partícula (Veeken and Hamelers, 1999).

#### **1.1.2.1.1 Hidrólisis de proteínas**

Las proteínas son hidrolizadas durante la digestión anaerobia por dos grupos de enzimas, proteasas y peptidasas, a cuyo grupo suele referirse como proteinasas, según Stryer (1988) el proceso general para la ruptura enzimática de proteínas está dado por:



De acuerdo a experimentos realizados con colonias puras, los microorganismos comienzan a producir proteinasas cuando la concentración de aminoácidos y nutrientes inorgánicos en el agua son bajos o cuando las concentraciones de proteínas y péptidos son altas. La producción de proteinasas por bacterias es inhibida por compuestos como aminoácidos y altos niveles de fosfato inorgánico y glucosa, lo cual implica que para conservar un alto nivel de actividad de proteinasas, no debe permitirse la acumulación de aminoácidos durante la digestión. Estos aminoácidos son degradados mediante oxidación anaerobia vinculados a la producción de hidrógeno o mediante fermentación (Glenn, 1976).

### 1.1.2.1.2 Hidrólisis de carbohidratos

La hidrólisis de celulosa se lleva a cabo mediante la mezcla de enzimas celulóticas como exoglucanasas, endoglucanasas y celobiasas, siendo la mezcla de estas enzimas usualmente conocida como celulasa. La hidrólisis de almidón se lleva a cabo por la mezcla de amilasas capaces de hidrolizar los enlaces  $\alpha - 1 - 4$  y  $\alpha - 1 - 6$  de la amilosa y la amilopectina. Con respecto a la producción de celulosa, hallazgos similares fueron hechos con la proteinasa, siendo su producción inhibida por altos niveles de glucosa y estimulada de manera inversa; sin embargo, no se encontró un efecto de la concentración de aminoácidos libres en la producción de celulosa (Glenn, 1976).

### 1.1.2.1.3 Hidrólisis de lípidos

Durante la hidrólisis, estos compuestos son hidrolizados a glicerol y a tres ácidos grasos de cadena larga y la reacción enzimática es ejecutada por la enzima lipasa, siendo más activa en sustratos insolubles que en aquellos solubles. La actividad de las lipasas se incrementa cuando la concentración de sustrato alcanza su máxima solubilidad y comienza a formar una segunda fase. Las lipasas son adsorbidas a la interfaz lípido-agua de la segunda fase, de acuerdo con la adsorción isotérmica de Langmuir y la cantidad de lipasas adsorbidas está fuertemente relacionada con la cantidad medida de actividad enzimática (Sanders, 2001).

Durante la digestión anaerobia de residuos complejos, no solo los lípidos sino también otros sustratos y lodos están presentes en el digestor. Debido a que las lipasas tienen un sustrato específico relativamente pobre, este fácilmente se adhiere a los lodos y una vez adsorbido es difícil establecer un buen contacto entre las lipasas y la superficie del agua. La hidrólisis de la mayoría de los lípidos no conduce a la formación de monómeros solubles. En el caso de los lípidos, los ácidos grasos de cadena larga representan la porción más grande de la reducción equivalente. Los ácidos grasos de cadena larga libres serán adsorbidos a la biomasa existente en el reactor, a las paredes del reactor o será acumulada en la superficie de la emulsión grasosa (Sanders, 2001).

### 1.1.2.2 Acidogénesis

Durante la etapa de acidogénesis, los productos de la hidrólisis (aminoácidos, azúcares sencillos y ácidos grasos de cadena larga) que son compuestos solubles relativamente pequeños, son difundidos dentro de las células bacterianas a través de la membrana celular y subsecuentemente fermentadas u oxidadas anaeróbicamente. La acidogénesis es una reacción muy común y es desarrollada por un extenso grupo de microorganismos hidrolíticos y no hidrolíticos. Alrededor del 1% de todas las bacterias son facultativas, fermentativas. La productos de este proceso de acidificación consisten en una pequeña variedad de compuestos orgánicos, principalmente ácidos grasos volátiles, como por ejemplo acetato y ácidos orgánicos mayores como propionato y butirato, así como  $H_2$ ,  $CO_2$ , ácido láctico, etanol y amonio (Van Lier et al., 2008).

La acidogénesis se presenta en dos direcciones debido a los efectos de varias poblaciones de microorganismos, puede ser tanto la hidrogenación como la deshidrogenación. El camino básico de las transformaciones se da a través de acetatos,  $H_2$  y  $CO_2$  en donde otros productos de la acidogénesis juegan un papel insignificante. Como resultado de estas transformaciones los metanógenos usan directamente los nuevos productos como sustrato y fuente de energía. La acumulación de electrones por compuestos como el lactato, etanol, propionato, butirato y ácidos grasos volátiles es la respuesta bacteriana a un incremento en la concentración de hidrógeno en la solución. Sin embargo, los nuevos productos pueden no ser usados directamente por las bacterias metanogénicas y deben ser convertidos necesariamente por bacterias productoras de hidrógeno en el proceso de acetogénesis. (Shah, 2014).

Los compuestos neutrales como azúcares y proteínas son convertidos en ácidos grasos volátiles y ácido carbónico, siendo los principales productos finales. Por consiguiente, los organismos fermentativos son usualmente designados como microorganismos acidificantes o acidogénicos, y el proceso se indica como acidogénesis. Es común que el tipo de productos finales dependan de las condiciones en el medio del reactor, por ejemplo si el  $H_2$  es removido eficientemente por microorganismos como los metanógenos, el principal producto final será el acetato, sin embargo si la metanogénesis se retarda y se acumula el  $H_2$ , productos más reducidos como propionato y butirato serán más comunes y la posibilidad de compuestos aún más reducidos como lactatos y alcoholes aumenta. Debido a esto efluentes sobrecargados o reactores anaerobios perturbados (reactores designados como reactores acidificantes, en un proceso anaeróbico de dos fases) suelen contener más de estos productos intermedios (Van Lier et al., 2008).

La acidogénesis es el paso de conversión más rápido en la cadena trófica anaerobia. La energía libre de Gibbs de reacciones acidificantes es la más alta de todas las conversiones anaerobias, resultando en tasas de crecimiento de microorganismos que van de 10 a 20 veces comparada con la metanogénesis. Por esa razón los reactores anaerobios están sujetos a acidificar el medio en caso de una caída de pH por sobrecargas o compuestos tóxicos. Una vez que la alcalinidad es consumida por los ácidos producidos el pH comienza a disminuir, resultando en una alta concentración de ácidos grasos volátiles no disociados, lo que propicia la inhibición más severa de metanógenos. La conversión acidogénica de aminoácidos generalmente sigue la reacción de Stickland, en la cual los aminoácidos son desamoniados por oxidaciones anaerobias flexibles, en conjunto con la desamoniación reductiva de otros aminoácidos que consume el  $H_2$  producido. De ambas reacciones el amoníaco es liberado para actuar como receptor de protones, lo que conlleva a un incremento de pH. En esta reacción no hay producción de protones y no hay manera de disminuir el pH (Van Lier et al., 2008).

### 1.1.2.3 Acetogénesis

Los ácidos grasos de cadena corta, con excepción del acetato, que son producidos en la etapa de acidogénesis son transformados en acetato, gas hidrógeno y dióxido de carbono por bacterias acetogénicas. Los sustratos acetogénicos más importantes son el propionato y el butirato, intermediarios clave en el proceso de digestión anaerobia. Sin embargo, tanto el lactato, el etanol, el metanol e incluso el  $H_2$  y el  $CO_2$  son acetogénicamente convertidos en acetato. Los ácidos grasos de cadena larga son transformados por una bacteria acetogénica específica mediante la  $\beta$ -oxidación. Las bacterias acetogénicas son productoras obligadas de hidrógeno y su metabolismo es inhibido por hidrógeno (Van Lier et al., 2008). El metabolismo de las bacterias acetogénicas es inhibido a presiones de hidrógeno mayores a  $10^{-3}$  atm, en presiones superiores se desarrollan condiciones termodinámicas desfavorables; sin embargo, la presión de  $H_2$  disminuye a medida que es consumido durante la metanogénesis hidrogenotrófica y la homoacetogénesis (Khanal, 2008)

Las asociaciones entre las bacterias acetogénicas productoras de  $H_2$  y las bacterias metanogénicas consumidoras de  $H_2$ , regulan los niveles de  $H_2$  en el medio. Bajo condiciones de digestión estables, la presión parcial del hidrógeno es mantenida en niveles muy bajos, esto se logra por una eficiente captación de hidrógeno por las metanógenas o las bacterias sulfato reductoras. Las primeras suelen utilizar hidrógeno molecular en el digester anaerobio tan rápido que la presión del hidrógeno cae al punto en el que se asegura la ocurrencia de la reacción

acetogénica de producción de hidrógeno. Esta dependencia significa que la degradación de ácidos grasos y alcoholes depende de las actividades de microorganismos como las arqueas metanogénicas, llevándose a cabo una relación sintrófica entre organismos productores de  $H_2$  y consumidores de  $H_2$  (Van Lier et al., 2008).

#### **1.1.2.4 Metanogénesis**

Las arqueas metanogénicas completan la fase final en la conversión anaerobia final de materia orgánica a metano y dióxido de carbono. Durante esta cuarta etapa, el grupo de arqueas metanógenas reducen el dióxido de carbono usando el hidrógeno como donador de electrones y descarboxilan el acetato para formar metano. Para propósitos ingenieriles, las metanógenas están clasificadas en dos grandes grupos: las convertidoras de acetato o metanógenas acetoclásticas y las utilizadoras de hidrógeno o metanógenas hidrogenotróficas. Hasta un 70% de la producción de metano se origina teniendo al acetato como precursor, mientras que el resto proviene de  $H_2$  y  $CO_2$ . La tasa de crecimiento de las metanógenas acetoclásticas es muy baja, de incluso varios días, lo cual explica por qué los reactores anaerobios requieren un tiempo muy largo de arranque con inóculos inadaptados, a diferencia de la bacteria hidrogenotrófica que tiene una tasa de crecimiento mayor, debido a esta característica y a pesar de que la fase acetogénica sea muy delicada, los sistemas de reactores de alta tasa anaeróbica ejercen una notable estabilidad en condiciones variables (Van Lier et al., 2008).

#### **1.1.3 Variables de operación en sistemas de digestión anaerobia**

La microbiología de un sistema de tratamiento anaerobio es mucho más complicada que la de un sistema aerobio. Un proceso anaerobio es un proceso de múltiples pasos en el cual un diverso grupo de microorganismos degradan la materia orgánica de manera secuencial en una acción sinérgica. La estabilidad de un sistema de tratamiento anaerobio es frágil debido a la naturaleza de los microorganismos presentes en el proceso y a las condiciones ambientales y operacionales que alteran su metabolismo como lo son el pH, la temperatura, el potencial óxido-reducción, los nutrientes, la toxicidad del medio, el tiempo de retención celular, tiempo de retención hidráulico y la carga orgánica entre otros (Khanal, 2008).

### **1.1.3.1 Temperatura**

Así como otros procesos biológicos, los procesos anaerobios, dependen fuertemente del parámetro de la temperatura. La conversión de materia orgánica anaerobia tiene su máxima eficiencia en temperaturas que van de 35°C a 40°C para condiciones mesofílicas y alrededor de 55°C para condiciones termofílicas (Van Haandel y Lettinga, 1994). Sin embargo, es posible que los procesos anaerobios operen en el rango de temperatura de 10°C a 45°C sin mayores cambios en el sistema microbiano. Generalmente los procesos de tratamiento anaerobio son mucho más sensibles a los cambios en la temperatura que los procesos de tratamiento aerobios (Khanal, 2008).

### **1.1.3.2 pH**

Existen dos grupos de organismos en términos de pH óptimo, uno son las bacterias productoras de ácido (acidogénicas) y las arqueas productoras de metano (metanogénicas). Las acidogénicas prefieren un pH de 5.5 a 6.5, mientras que las metanogénicas prefieren un rango de 7.8 a 8.2. En un ambiente en donde ambas coexisten, el rango óptimo de pH se ubica en el rango de 6.8 a 7.4. La metanogénesis es considerada como el paso limitante en donde ambos grupos de microorganismos están presentes y es necesario mantener el pH del reactor lo más cercano a la neutralidad (Khanal, 2008).

### **1.1.3.3 Potencial óxido-reducción**

Morris (1975) reportó que, para obtener el crecimiento de anaerobios obligados en cualquier medio, los valores de potencial óxido-reducción deben mantenerse entre los -200mV y los 350mV a un pH de 7. Está bien establecido que los metanógenos requieren un medio extremadamente reducido con potenciales redox tan bajos como -400mV (Archer and Harris, 1986).

### **1.1.3.4 Nutrientes**

Todos los procesos que involucran microorganismos requieren nutrientes durante la estabilización de los residuos. A pesar de que los nutrientes no están involucrados en la estabilización de los residuos, son compuestos esenciales de la célula microbiana y por lo tanto son requeridos para el crecimiento y síntesis de nuevas células. Además, los nutrientes proporcionan condiciones físico-químicas adecuadas para el crecimiento óptimo de microorganismos (Khanal, 2008).

### **1.1.3.5 Toxicidad del medio**

Los microorganismos anaerobios son inhibidos por las sustancias presentes en el flujo de residuos y por los subproductos metabólicos de microorganismos. El amonio, metales pesados, compuestos halogenados y cianuro son ejemplos de la primera, mientras que el amoniaco, el sulfuro y los ácidos grasos volátiles son ejemplos de este último. Algunos microorganismos anaerobios son capaces de degradar orgánicos refractarios que de otro modo podrían ser considerados tóxicos (Stronach et al., 1986). En algunos casos, la tolerancia se manifiesta por la aclimatación a las sustancias tóxicas, proporcionando una causa considerable para la viabilidad del tratamiento anaerobio de residuos que contienen concentraciones significativas de compuestos tóxicos (Parkin and Speece, 1982).

### **1.1.3.6 Tiempo de retención celular**

El tiempo de retención celular, controla la masa microbiana (biomasa) en el reactor y se encarga de brindar un grado adecuado para la estabilización de los residuos. Es una medida de la capacidad de un sistema biológico para asegurar condiciones estándar en el efluente y para mantener una tasa satisfactoria en la biodegradación de contaminantes. Manteniendo un alto tiempo de retención celular, se produce una operación más estable, una mayor tolerancia a los tóxicos y una recuperación más alta después de un evento de toxicidad. La tasa permisible de carga orgánica en el proceso anaerobio está determinada por este parámetro, según Speece (1996) es el parámetro de control para el diseño sencillo de compuestos orgánicos degradables. Para los microorganismos de crecimiento lento, como los metanógenos, se debe tener cuidado para evitar su lavado del reactor con el fin de lograr un tiempo de retención celular más largo (Khanal, 2008).

### **1.1.3.7 Tiempo de retención hidráulico**

El tiempo de retención hidráulico indica el tiempo que el líquido permanece en el reactor en contacto con la biomasa. El tiempo requerido para asegurar el grado de tratamiento brindado depende de la tasa de metabolismo de los microorganismos. Los residuos contienen compuestos simples como azúcares listos para ser degradados, los cuales requieren un bajo tiempo de residencia hidráulico, pero para compuestos complejos como compuestos orgánicos clorados cuya degradación es lenta se necesita un tiempo de retención hidráulico mayor, este parámetro es un factor de decisión en el proceso de diseño de contaminantes orgánicos complejos y de

lenta degradación (Speece, 1996). Un tiempo elevado de retención hidráulica requiere un reactor con un volumen mayor, que lo hace más costoso (Khanal, 2008).

### 1.1.3.8 Carga orgánica volumétrica

Los procesos anaerobios están caracterizados por utilizar altas cargas orgánicas volumétricas, siendo algunos reactores anaerobios de alta tasa como UASB, EGSB, filtros anaerobios y reactores de lecho fluidizado, capaces de tratar aguas residuales en un intervalo de 10 a 40  $kgDBO/m^3 \cdot d$ . Un alto valor de carga orgánica volumétrica indica una cantidad mayor de residuos que pueden tratarse por unidad de volumen, este parámetro es uno de los factores más importantes en el diseño y dimensionamiento de un reactor anaerobio y está dado por la siguiente expresión:

$$CO_v = \frac{QS_o}{V}$$

En donde  $CO_v$  es la carga orgánica volumétrica en  $kgDQO/m^3d$ ,  $Q$  es el gasto en  $m^3/d$ ,  $S_o$  es la concentración de sustrato en  $mg/L$  y  $V$  es el volumen del reactor en  $m^3$ . Para un proceso biológico el valor de la carga orgánica volumétrica del reactor depende de diversos factores, como la cinética de degradación del contaminante, el nivel de biomasa en el bioreactor y el tipo de bioreactor (Khanal, 2008).

### 1.1.4 Microbiología

La transformación de compuestos orgánicos complejos en  $CH_4$  y  $CO_2$  es posible debido a la cooperación de cuatro diferentes grupos de microorganismos presentados en la tabla 1.1. Estos microorganismos son clasificados como bacteria de fermentación primaria, bacteria de fermentación secundaria (bacteria acetogénica y sintrófica) y dos tipos de metanógenas pertenecientes al dominio Archaea. Estos microorganismos se encuentran en ambientes naturales y llenan varios roles durante el proceso de degradación anaerobia de residuos (Conrad, 1999).

En total son cuatro los grupos de microorganismos que se han identificado que intervienen en el proceso, los cuales son: bacterias fermentativas o acidogénicas, bacterias acetogénicas productoras de hidrógeno, bacterias homoacetogénicas y arqueas acetoclásticas e hidrogenotróficas (Khanal, 2008).

**Tabla 1.1 Cooperación microbiana en la degradación de materia orgánica (Zieminski and Fraç, 2012).**

Microorganismos	Donador de electrones	Receptor de electrones	Producto	Tipo de reacción
<b>Fermentativos</b>	Carbono orgánico	Carbono orgánico	$CO_2$	Fermentación
<b>Sintróficos</b>	Carbono orgánico	Carbono orgánico	$H_2$	Acidogénesis
<b>Acetogénicos</b>	Carbono orgánico $H_2$	$CO_2$	$CH_3COOH$	Acetogénesis
<b>Metanogénicos</b>	Carbono orgánico $H_2$	$CO_2$	$CH_4$	Metanogénesis

#### 1.1.4.1 Bacterias fermentativas o acidogénicas

Este grupo de bacterias es responsable de la primera etapa de la digestión anaerobia, la hidrólisis y la acidogénesis. Las especies anaerobias pertenecientes a la familia Streptococcaceae y Enterobacteriaceae y el género de *Bacteroides*, *Clostridium*, *Butyrivibrio*, *Eubacterium*, *Bifidobacterium* y *Lactobacillus* son los más comunes involucrados en este proceso, *Bacillaceae*, *Lactobacillaceae* y *Enterobacteriaceae* están presentes en los lodos de digestión, siendo los primeros los más predominantes (Novaes, 1986).

Los productos hidrolizados de las proteínas, como los péptidos y aminoácidos, son fermentados en ácidos grasos volátiles,  $CO_2$ ,  $H_2$ ,  $NH_4^+$  y  $S_2^-$  por bacterias fermentativas como *Clostridium*. Los diferentes tipos de sustratos y condiciones ambientales determinan los productos finales del metabolismo. Es especialmente importante regular la presencia de  $H_2$ . Solo en presiones parcialmente bajas de  $H_2$ , la formación de acetato,  $CO_2$  y  $H_2$  (los sustratos más importantes para las metanógenas) son termodinámicamente favorables. Si la presión parcial de  $H_2$  es mayor, la formación de propionato y otros ácidos orgánicos ocurre (Novaes, 1986).

#### 1.1.4.2 Bacterias acetogénicas productoras de hidrógeno

Este grupo de bacterias metaboliza ácidos orgánicos como propionato, butirato, etanol y algunos compuestos aromáticos en acetato,  $CO_2$  y  $H_2$ . La oxidación anaerobia de estos compuestos no es favorable termodinámicamente en un cultivo puro de bacterias productoras de hidrógeno; sin embargo en una cultivo de bacterias acetogénicas productoras de hidrógeno y arqueas metanogénicas consumidoras de hidrógeno, existe una relación simbiótica en la cual la segunda limpia rápidamente el hidrógeno manteniendo los niveles de presión parcial de este muy bajos, lo cual provee condiciones termodinámicamente favorables para la primera y permite descomponer los compuestos orgánicos previamente mencionados en acetato,  $CO_2$  y  $H_2$  (Khanal, 2008).

#### 1.1.4.3 Bacterias homoacetogénicas

Los microorganismos de esta fase son de vital importancia ya que el producto final acetato es un importante precursor de la generación de metano. Las bacterias responsables de este proceso son tanto autótrofos como heterótrofos, los autótrofos homoacetanógenos utilizan una mezcla de hidrógeno y dióxido de carbono, con  $CO_2$  fungiendo como la fuente de carbono para la síntesis celular. Algunos homoacetanógenos usan monóxido de carbono como fuente de carbono. En el caso de los heterótrofos homoacetanógenos por otro lado, usan sustratos orgánicos como formiato y metanol como fuente de carbono mientras que producen acetato como producto final (Khanal, 2008).

*Clostridium aceticum* y *Acetobacterium woodi* son dos bacterias homoacetogénicas mesófilas aisladas en lodos de aguas residuales (Novaes, 1986). Las bacterias homoacetogénicas tienen una alta eficiencia termodinámica, como resultado no hay acumulación de  $CO_2$  y  $H_2$  durante el crecimiento de compuestos multicarbonados (Zeikus, 1981).

#### 1.1.4.4 Arqueas acetoclásticas e hidrogenotróficas

Los metanógenos que antes eran clasificados como bacterias, son ahora clasificados como Archaea, y este grupo particular de microbios se distinguen de una bacteria por la presencia de lípidos en la membrana, la ausencia de características celulares básicas como el peptidoglicano y su ARN ribosomal distintivo. Los metanógenos son anaerobios obligados y son considerados como especies limitantes de un tratamiento anaerobio. Se les encuentra en ambientes anaerobios

de ríos y en materia orgánica de pantanos, estanques y sedimentos lacustres y marítimos (Khanal, 2008).

Se clasifican generalmente en hidrogenotróficos y acetotróficos, las dos variedades más importantes del género son *Methanosarcina* y *Methanosaeta*, la primera forma colonias en grandes paquetes de unidades celulares cocoides (esféricos) y usan una serie de sustratos metanogénicos como metanol, metilaminas y en algunas ocasiones  $CO_2$  y  $H_2$ , esta tiene un tiempo de duplicación típica de 1-2 días en acetato, por el otro lado *Methanosaeta* se caracteriza por ser un bacilo (bastón) y es conocida por crecer solo en acetato teniendo un tiempo de duplicación típica de 4 a 9 días (Zinder, 1988).

## CAPÍTULO II

### 2.1 Fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos

Se ha identificado a los residuos sólidos urbanos como un material heterogéneo en el que la composición varía ampliamente. La composición de los residuos sólidos urbanos está afectada por varios factores, incluyendo diferencias regionales, clima, la medida o grado de reciclaje, la frecuencia de recolección, la temporada, las prácticas culturales de la comunidad, así como cambios en la tecnología (Tchobanoglous, 1977).

La calidad de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos está influenciada no solo por el sistema de clasificación si no por varios métodos utilizados para la cuantificación de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos. De acuerdo a Mata-Álvarez et al (1990) en los residuos sólidos urbanos separados mecánicamente, grandes cantidades de sólidos suspendidos no biodegradables e inevitables piezas pequeñas de plástico, madera, papel, etc. están presentes durante el proceso. Estos sólidos no biodegradables no se encuentran en los métodos de separación por fuente, en separación manual o en recolección separada de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos (Nallathambi, 1997).

Rivard et al. (1990) reportaron que la mayoría de las tecnologías que procesaban residuos sólidos urbanos terminaban en la separación y remoción de la comida y la fracción de desechos de jardín para producir combustible derivado de residuos. Esto se vio reflejado en la reducción del valor de los nutrientes de los residuos sólidos urbanos procesados como materia prima para la digestión anaerobia.

Los residuos sólidos urbanos con una producción diaria en Europa de alrededor de 400,000 toneladas, representan uno de los más importantes residuos sólidos orgánicos generados por nuestra sociedad, al mismo tiempo, la separación de residuos sólidos urbanos se ha incrementado. Los tratamientos biológicos se presentan como una clara alternativa para la fracción que viene de esta colecta. Estas tecnologías de tratamiento pueden maximizarse reciclando y recuperando componentes residuales. Entre los tratamientos biológicos, la digestión anaerobia presenta frecuentemente la mejor relación costo-beneficio, debido a la alta recuperación de energía vinculada al proceso y a su limitado impacto ambiental, considerando especialmente los gases de efecto invernadero (Mata-Álvarez, 2003).

La separación de residuos municipales en una fracción reciclable, una parte de residuos residuales y la otra de la fracción orgánica de residuos sólidos urbanos (FORSU) es una práctica común en ciudades de Alemania para las diferentes estrategias de gestión de residuos. En 2006 alrededor de 8.45 millones de toneladas de FORSU fueron recolectadas, de las cuales 4.15 millones pertenecían a residuos domésticos orgánicos y 4.3 millones a residuos sólidos compostables de jardines y parques (Statistisches Bundesamt, 2008a).

En la ciudad de México, los residuos sólidos urbanos se han incrementado considerablemente, alcanzado los 37.6 millones de toneladas en 2008, de las cuales el 52.4% representa la fracción orgánica, es decir alrededor de 19 millones de toneladas. El otro tipo de residuos corresponde a los potencialmente reciclables como papel y cartón (13.8%), vidrio (5.9%), plásticos (10.9%), metales (3.8%) y textiles (1.4%) (INEGI, 2008).

La digestión anaerobia en reactores controlados y compactos es una alternativa de tratamiento para la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos, debido a que disminuye el riesgo de focos generadores de infección. La degradación de la fracción orgánica de residuos sólidos urbanos (FORSU) tiene como productos: biogás (metano y dióxido de carbono) que es usado como energía (Pavlostathis and Gómez, 1991) y lixiviados con una alta carga de ácidos grasos volátiles (Castillo and Cristancho, 2003).

La degradación aerobia de compuestos de la fracción líquida de la FORSU a  $CO_2$  y agua normalmente requiere menos tiempo; sin embargo requiere un sistema de aireación que consume mucha energía. Malos olores y gases de efecto invernadero pueden ser emitidos si el sistema no está cubierto para el tratamiento de gases de escape. La degradación anaerobia a  $CO_2$  y metano no es tan rápida y deben estar con control de temperatura, pero los reactores son cerrados, requieren menos espacio. Un excedente de energía se encuentra disponible del biogás (Hartman and Ahring, 2006). Por consiguiente, una alta concentración de material orgánico en la digestión anaerobia de la FORSU es una opción adecuada de tratamiento.

## **2.1.1 Caracterización de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos**

Según Pognani et al. (2009) en las últimas décadas se ha generalizado el uso de la digestión anaerobia para el tratamiento de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos, la tendencia más reciente se dirige hacia el acoplamiento de los procesos aerobios y anaerobios para obtener una ganancia de energía neta por medio de metano y la producción de fertilizante de los residuos. La fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos es heterogénea basada en la composición, fuente y estructura, por lo que su contenido específico en diferentes países es extremadamente impredecible (Abdullah et al., 2008).

Gioannis et al., (2007) aseguran que la fracción orgánica de residuos sólidos urbanos puede ser modelada como un compuesto de 10% de carne, 65% de frutas y vegetales, 10% de pan y 15% de pastas y arroz. Como la composición cambia, la presencia de carbohidratos, proteínas, lípidos y lignina en los residuos varía, afectando así el proceso anaerobio de todo el sustrato.

A pesar de que la importancia de la caracterización de los residuos orgánicos está clara, no se registra regularmente, ni las metodologías empleadas en diferentes países son unificadas, debido a los diferentes factores que afectan las características de la FORSU, entre ellos, el estilo de vida y la situación económica, tales como los ingresos de la población disponible y el comportamiento del consumidor, así como las estrategias de gestión de residuos (Belgiorno et al., 2011). El sistema de recolección representa el primer paso de tratamiento; elecciones diferentes sobre la manera de separar los residuos sólidos urbanos para su respectiva disposición pueden afectar significativamente su composición y características. En algunos países, los residuos de jardín son parte de los residuos biodegradables, en otros casos la porción lignocelulósica de la fracción orgánica de residuos sólidos urbanos es mayor que aquella recolectada principalmente de domicilios y comercios, el sistema de recolección afecta la cantidad de residuos a disponer en un tratamiento (Cecchi et al., 2003).

### **2.1.1.1 Separación mecánica de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos**

La selección mecánica de los residuos sin clasificar, la recolección separada y la fuente de selección representan actualmente los tres principales caminos para la obtención de la FORSU, cada una proporciona diferentes tipos de FORSU que conducen a diferentes rendimientos y comportamientos del subsecuente proceso de tratamiento, existen varias maneras de presentar una descripción analítica de las características que componen los sustratos de la FORSU, que se clasifican como físico, químico y biológico (Cecchi et al., 2003).

La separación mecánica de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos que proviene de los residuos sin clasificar, es probablemente la primera categoría de la fracción orgánica recuperada y utilizada para procesos biológicos. Este enfoque de recuperación se ha aplicado ampliamente durante los últimos 20 años, con el doble propósito de obtener una fracción orgánica de buena calidad y material altamente calorífico para ser utilizado como combustible derivado de residuos, según CITEC (2000) las plantas de clasificación para la producción de estos materiales se clasifican en tres grupos principales:

- Planta tipo simplificada: Consisten en una desfibradora primaria, un tambor de lavado y un cinturón magnético, a partir del cual se obtienen tres corrientes: los sólidos sobre tamiz (papel, plásticos y pequeñas cantidades de materia putrefacta) para ser incinerados, la fracción orgánica que es enviada a tratamiento biológico y la fracción metálica para reciclaje.
- Planta tipo medio compleja: Diseñada con una secuencia operacional más compleja, al menos un paso de reducción de tamaño, separación de metales y más de una operación de cribado. Este tipo de plantas permite materiales de tamaños más grandes para ser capturados y enviados a incineración o rellenos sanitarios, la FORSU proviene de las operaciones de cribado para ser enviada a tratamiento biológico y la fracción metálica a reciclaje.
- Planta de tipo compleja: Plantas diseñadas con una línea de separación más completa, reducción de tamaño, separación de metales, cribado, desfibradora de materia seca y formación de pellet para combustible derivado de residuos. Los productos son de mejor calidad y la FORSU obtenida es más adecuada para procesos biológicos.

Las características de la separación mecánica de la fracción orgánica de residuos sólidos urbanos están relacionadas al tipo de planta de separación y a la calidad de los materiales que ingresan. En la tabla 2.3 se pueden ver los principales sustratos en términos de composición y parámetros físico-químicos de una planta del tipo compleja caracterizada por un alto contenido de sólidos secos. Lo anterior debido a la fracción inerte de los residuos no separables, que es separable de manera incompleta con este enfoque de clasificación. El aspecto anterior es más evidente si el contenido total de sólidos volátiles (TVS) es considerado; de hecho, se logra un valor promedio de menos de 50%. Mientras que para la tabla 2.4 y la figura 2.3 se muestran el porcentaje de cada fracción en términos de sólidos totales y volátiles (Cecchi et al., 1991).

**Tabla 2.3. Características físico-químicas de la separación mecánica de la FORSU en plantas complejas (Cecchi et al., 1991).**

	<i>Promedio</i>	<i>Máximo</i>	<i>Mínimo</i>	<i>Pruebas</i>	<i>D.E.</i>
<b>TS, g/kg</b>	763.00	952.00	513.10	210	81.30
<b>TVS, %TS</b>	43.90	57.40	29.10	210	5.40
<b>TCOD, TS</b>	59.60	90.40	23.30	41	17.40
<b>TOC, %TS</b>	19.30	34.40	7.50	187	5.30
<b>IC, %TS</b>	1.30	2.70	0.30	187	0.50
<b>TKN, %TS</b>	2.20	3.40	1.20	59	0.50
<b>P, %TS</b>	0.11	0.22	0.05	59	0.03

TS, sólidos totales; TVS, sólidos volátiles totales; TCOD, demanda química de oxígeno total; TOC, carbono orgánico total; IC, carbono inorgánico; TKN, nitrógeno Kjeldahl total; P, fósforo total.

**Tabla 2.4. Composición y características de la separación mecánica de FORSU en plantas complejas, en términos del porcentaje de sólidos totales y sólidos totales volátiles de cada fracción típica (Cecchi et al., 1991).**

	<i>%TS</i>	<i>%TVS</i>
<b>Materia putrescible</b>	59.00	78.00
<b>Papel</b>	4.60	7.10
<b>Madera</b>	1.10	2.20
<b>Plástico</b>	1.80	3.40
<b>Materia inerte</b>	33.50	9.30
<b>Total</b>	100.00	100.00

Cinco fracciones fueron consideradas, materia putrescible, papel, madera, plástico y materia inerte. El alto contenido de materia inerte está altamente confirmado por esta información, más del 40% del sustrato no es utilizable para alimentar el proceso anaerobio, además este material se presentará en los lodos del efluente del digestor, haciendo una recuperación agrónoma más difícil, dado que el 80% del sustrato proviene de la fracción putrescible de los sólidos volátiles totales, se sobreentiende que las otras fracciones solo participan en parte del proceso biológico (Cecchi, 1991).

De acuerdo a Cecchi, (1991) en una planta de tipo compleja media se obtuvo la FORSU como producto secundario, se trabajó la separación bajo dos condiciones operacionales diferentes con dos tipos de cribas (una con agujeros estrechos y la otra con agujeros amplios), la tabla 2.5

muestra los resultados obtenidos con respecto a la distribución de sólidos totales y sólidos volátiles totales, en donde se puede observar que las características del sustrato son muy parecidas a aquellas obtenidas en una planta de tipo compleja, en la tabla 2.6 se observa la composición de la fracción obtenida con la criba de agujeros estrechos y la tabla 2.7, la composición con la criba de agujeros amplios.

**Tabla 2.5. Características físico-químicas de la separación mecánica de la FORSU en planta de tipo medio compleja (Cecchi et al., 1991).**

	<i>TS, kg/kg</i>	<i>TVS, kg/kg</i>	<i>TVS/TS, %</i>	<i>TCOD, kgO2/kg</i>	<i>TKN, %TS</i>	<i>P, %TS</i>
<b>Criba estrecha</b>	0.54	0.27	47.00	0.60	1.10	0.10
<b>Criba amplia</b>	0.50	0.33	68.00	1.00	0.70	0.40

**Tabla 2.6. Composición de los residuos obtenidos con la criba de agujeros estrechos en planta de tipo medio compleja (Cecchi et al., 1991).**

<b>Fracción</b>	<i>TS, kg/kg</i>	<i>TVS, kg/kg</i>	<i>TVS/TS, %</i>	<i>Peso Húmedo, %</i>	<i>TS, %</i>	<i>TVS, %</i>
<b>Celulosa</b>	0.50	0.30	67.00	19.00	17.00	27.00
<b>Orgánico</b>	0.40	0.30	62.00	57.00	43.00	58.00
<b>Plástico</b>	0.90	0.50	56.00	9.00	13.00	11.00
<b>Inerte</b>	0.90	0.70	7.00	15.00	26.60	4.00

**Tabla 2.7. Composición de los residuos obtenidos con la criba de agujeros amplios en planta de tipo medio compleja (Cecchi et al., 1991).**

<b>Fracción</b>	<i>TS, kg/kg</i>	<i>TVS, kg/kg</i>	<i>TVS/TS, %</i>	<i>Peso Húmedo, %</i>	<i>TS, %</i>	<i>TVS, %</i>
<b>Celulosa</b>	0.60	0.50	82.00	47.00	48.00	55.00
<b>Orgánico</b>	0.40	0.30	72.00	35.00	24.00	25.00
<b>Plástico</b>	0.80	0.70	88.00	10.00	15.00	19.00
<b>Inerte</b>	0.90	0.03	3.00	7.40	13.00	1.00

Cecchi, (1991) indica claramente el efecto típico derivado de la utilización de una estrategia de selección mecánica a partir de un residuo sin clasificar. En ambos casos, independientemente de la criba utilizada, la fracción inerte se presenta en grandes cantidades.

### 2.1.1.2 Recolección separada y de origen de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos

La fracción orgánica de residuos sólidos urbanos de la recolección separada puede ser dividida en dos categorías, la fracción orgánica separada recolectada de mercados, restaurantes, etc. y la fracción orgánica proveniente de la separación de fuentes domésticas. Estos dos tipos de sustrato pueden ser unidos y descritos de manera simultánea, solo destacando algunas características de diferencias. La primera está normalmente caracterizada por un alto grado de separación, mientras que la segunda no. Los datos reportados en la tabla 2.8 pertenecen a un resumen de la literatura de las caracterizaciones realizadas de estas fracciones, como se puede observar un rango típico de sólidos totales en estos sustratos es de entre 15-25%, mientras que los sólidos volátiles totales están entre el 70-90% con respecto a los sólidos totales, la cantidad de nutrientes es entre 2.5-3.5% de sólidos totales para nitrógeno y de 0.5-1.0% de sólidos totales para fósforo, bastante similar a lo obtenido por separación mecánica (Cecchi et al., 1997).

**Tabla 2.8. Características de la recolección separada y de origen de la fracción orgánica de residuos sólidos urbanos (Cecchi et al., 1997).**

<b>Referencia</b>	<b>TS, %</b>	<b>TVS, %TS</b>	<b>N, %TS</b>	<b>P, %TS</b>
<b>De Baere, 2000</b>	31.00	70.00	-	-
<b>Kubler et al., 1999</b>	29.00	63.00	2.20-3.40	0.40-0.60
<b>CITEC, 2000</b>	17.00-25.00	70.00-90.00	-	-
<b>CITEC, 2000</b>	7.00-15.00	80.00-90.00	1.50-3.00	1.00-3.00

La tabla 2.9 reporta los datos relativos a la recolección separada de la fracción orgánica de residuos sólidos urbanos recolectadas de cantinas. Este sustrato es particularmente rico en residuos secos de comida, como pan, que incrementa el contenido de materia seca contenido en el residuo (Cecchi et al., 1997).

**Tabla 2.9. Características de la recolección separada de la FORSU recolectada en cantinas (Cecchi et al., 1997).**

<b>Parámetro</b>	<b>Alcance</b>	<b>Valor típico</b>
<b>TS, %</b>	21.40-27.40	25.60
<b>TVS, %TS</b>	91.30-99.70	96.50
<b>TKN, %TS</b>	2.60-3.70	3.20
<b>P, %TS</b>	0.13-0.28	0.20

Al contrario, la fracción orgánica de mercados de frutas y vegetales, es muy rica en contenido de agua; lo cual es la razón de porque el promedio de materia seca frecuentemente no llega al 10% como se presenta en la tabla 2.10 (Cecchi et al., 1997).

**Tabla 2.10. Características promedio de la recolección separada de la FORSU de mercados de frutas y vegetales (Cecchi et al., 1997).**

	<b>Promedio</b>	<b>Máximo</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Pruebas</b>
<b>TS, g/Kg</b>	81.80	132.7	54.40	96
<b>TVS, %TS</b>	81.90	92.00	78.20	96
<b>TKN, %TS</b>	2.10	3.30	1.40	23
<b>P, %TS</b>	2.80	3.30	1.50-3.00	23

Es evidente que el contenido de materia seca en la FORSU proveniente de diferentes fuentes de recolección puede ser variable, en relación al contenido de residuos vegetales y de cocina, particularmente el contenido de sólidos totales puede ser alterado significativamente con la presencia de residuos de jardín. Intentando presentar un panorama general sobre la información presentada en términos de parámetros físico-químicos, se puede decir que la FORSU de fuente separada muestra un contenido de materia seca del 10% (típicamente por residuos de frutas y vegetales) hasta 20-25% por residuos de cocina mezclados con residuos de jardín, el porcentaje de sólidos volátiles puede ser considerado en el alcance de 85-90% para ambos residuos, mientras que el contenido de nitrógeno es de alrededor de 2-3% de sólidos totales y el fósforo va del 2-3% de sólidos totales (Cecchi et al., 2003).

## 2.1.2 Procesos para la digestión anaerobia

Los reactores se pueden clasificar de acuerdo con la forma de alimentarlos (continuos y en lote), el tipo de flujo (completamente mezclados y flujo pistón) y por su forma (horizontales o verticales, rectangulares o cilíndricos) (Nayono, 2009).

La digestión anaerobia de la fracción orgánica de residuos sólidos urbanos, está creciendo en importancia en la gestión de residuos sólidos (De Baere and Verstraete, 1984). Muchos reactores han sido desarrollados, basados en una digestión por lotes o continua. La digestión continua de la FORSU necesita un mayor grado de tecnología (Ten Brummeler et al., 1986). Las altas inversiones y los costos de mantenimiento son los mayores inconvenientes cuando se considera implementar estos sistemas.

Dos tipos de reactores continuos han sido lanzados con éxito, uno es el proceso VALORGA y otro es el proceso DRANCO, ambos reportan periodos de digestión de entre dos y tres semanas en temperaturas mesofílicas (Membrez and Nicolet, 1985).

Tanto VALORGA como DRANCO, pertenecen a lo que es llamado como tecnología seca debido al alto contenido de sólidos en el sustrato que alimenta los digestores (alrededor del 35% de sólidos totales). Lo opuesto a la tecnología seca, es la húmeda y es aquella en la que el sustrato que alimenta a los digestores contiene una cantidad de sólidos totales menor al 15%, también existen tecnologías semi-húmedas, las cuales están ubicadas en medio de estas. La tabla 2.11 muestra algunas de las tecnologías disponibles en el mercado, clasificadas como tecnologías de sistemas secos y húmedos, representando aquellas con una amplia capacidad instalada (Mata-Álvarez, 2003).

**Tabla 2.11. Tecnologías de digestión anaerobia (Mata-Álvarez, 2003).**

	<i>Tecnología</i>	<i>Propietario</i>
<b>Tecnología Seca</b>	<i>BRV</i>	<i>LINDE</i>
	<i>DRANCO</i>	<i>OWS</i>
	<i>KOMPOGAS</i>	<i>KOMPOGAS</i>
	<i>VALORGA</i>	<i>BABCOCK BORSIG POWER</i>
<b>Tecnología Húmeda</b>	<i>BIOSTAB</i>	<i>ROS ROCA</i>
	<i>BTA</i>	<i>BTA</i>
	<i>KCA</i>	<i>LINDE</i>
	<i>WAASA</i>	<i>ALCYON</i>

La digestión seca por lotes de la FORSU es en esencia un método más simple que la digestión continua. Los menores costos por tonelada de residuos tratados en un reactor por lotes es consecuencia de una tecnología aplicada más sencilla, como BIOCEL que es un reactor de digestión anaerobia por lotes (Ten Brummeler et al., 1986), cuya primera fase para la digestión anaerobia seca, está caracterizada por periodos no balanceados en la acidogénesis y metanogénesis (Ten Brummeler and Koster, 1989) que resulta en la inhibición de la formación de metano debido a los valores bajos de pH y a la alta concentración ácida.

### **2.1.2.1 Procesos de digestión seca y húmeda**

Entre los diferentes tipos de clasificación de tecnologías existentes, una de las más importantes es la clasificación por el contenido de sólidos existentes en el reactor, esto es debido principalmente a los parámetros operacionales y los equipos utilizados, según la CEPA (2008) los sistemas de digestión húmeda tienen un contenido de sólidos totales no mayor al 15%, mientras que para los sistemas de digestión seca el valor está por encima del 15%. Así mismo la baja tasa de difusión en los sistemas de digestión seca es una desventaja para el proceso que puede ser tomada como ventaja ya que es menos susceptible a inhibición por la presencia de compuestos tóxicos en la FORSU (CEPA, 2008).

Según De Baere (2006), el 56% de la capacidad instalada opera bajo condiciones húmedas. La digestión seca tiene menores requerimientos de energía para calentar el reactor y para la operación de la planta en comparación con la digestión húmeda, la cual puede llegar a consumir hasta un 40% de la energía generada para mantenerse en condiciones termofílicas. Según Kraemer y Gamble (2014) entre un 10% y un 20% de la energía producida como biogás es consumida para calentar el reactor y otra cantidad similar en la operación de la planta.

Debido a los procesos desarrollados por diversas empresas como (DRANCO, VALORGA y KOMPOGAS), se ha incrementado la capacidad instalada que opera bajo digestión seca; en estos sistemas no se presentan problemas por la presencia de sólidos como piedras o arenas, con lo que no es necesaria una separación exigente y debido a que no se agrega agua, los reactores son más pequeños, lo cual implica una menor inversión inicial y un menor costo de operación para mantener su temperatura (Mata-Álvarez, 2003).

### 2.1.2.2 Procesos de una y de dos etapas

Los sistemas de una etapa desarrollan todo el proceso de la digestión anaerobia en un solo reactor, mientras que en los de dos etapas, se divide la digestión en dos reactores, siendo el primero utilizado para llevar a cabo las reacciones de hidrólisis y de fermentación, teniendo como resultado ácidos grasos volátiles, metanol,  $CO_2$  y  $H_2$  (Shah et al., 2014) y en el segundo reactor se lleva a cabo la acción de los microorganismos metanogénicos involucrados en la producción de  $CH_4$  y  $CO_2$  a partir de acetato, hidrógeno y dióxido de carbono (Mata-Álvarez, 2003).

La separación de fases entre los dos grupos de microorganismos que intervienen en la digestión anaerobia permite mejorar el rendimiento del proceso total, esto es debido a la adaptación de cada ecosistema a su propio sustrato y por lo tanto a la optimización de los procesos en ambos reactores (Bouallagui et al., 2004); sin embargo estos sistemas son los más complicados y caros de las posibles configuraciones existentes, por lo cual la capacidad instalada ha ido disminuyendo (Mata-Álvarez, 2003).

## CAPÍTULO III

### 3.1 Digestato como producto de la digestión anaerobia

El digestato queda definido como el material producido por el proceso de digestión anaerobia de elementos biodegradables y está constituido como una mezcla de biomasa microbiana (producida por el proceso de digestión) y material sin digerir. El digestato contiene todo el nitrógeno, fósforo y potasio residual de la materia prima original y como consecuencia de esto tiene propiedades como fertilizante orgánico (Chambers, 2011).

En el tratamiento de los residuos orgánicos mediante digestión anaerobia, no solo se obtiene la producción de biogás, también se obtienen otros subproductos como los digestatos, en su forma líquida y sólida. A la combinación de estos subproductos de la digestión anaerobia en su forma líquida y sólida se le conoce como digestato y se ha encontrado que este producto contiene una cantidad considerable de nutrientes y material orgánico. El digestato tiene el potencial de formar metano, emisiones de  $NH_3$  y  $N_2O$  y puede contener compuestos orgánicos y materiales peligrosos como metales pesados (Zeshan, 2012).

El digestato es el resultado de una primera etapa de tratamiento biológico y si se estabiliza completamente puede presentar una biodegradabilidad residual y contener elementos orgánicos complejos, tales como compuestos lignocelulósicos, que no se degradan durante la digestión. Cuando es posible los digestatos líquidos a menudo son manejados a través de la aplicación directa en tierras agrícolas. En otros casos, la digestión anaerobia puede ser seguida por una fase de separación sólido / líquido para producir diferentes subproductos con diferentes usos. La fase líquida puede ser valorizada después de un tratamiento biológico y se utiliza como fertilizante líquido o puede someterse a una separación de amoníaco a fin de retirar y utilizar específicamente los nutrientes contenidos. La fracción sólida se puede utilizar como mejorador orgánico (Teglia et al., 2011).

En Europa, la producción total de digestato en 2010 fue de 56 toneladas al año de los que se utilizó del 80-97% en la agricultura (Saveyn y Eder, 2014). Las mayores plantas de biogás construyéndose en la actualidad son de un tamaño superior a 20 MW, donde más de 400,000 ton / año de digestato se acumulan. Por estas razones existe un creciente interés en las opciones de proceso adecuadas para el digestato. Los objetivos principales del procesamiento del digestato son: la reducción del volumen para mejorar la manejabilidad y reducir los costos de transporte y

la recuperación de los nutrientes en forma concentrada. Generalmente, los conceptos de tratamiento aplicados se pueden clasificar en dos enfoques diferentes (Fuchs y Drosig, 2013):

- Tratamiento parcial: El proceso de tratamiento parcial tiene como objetivo una reducción de la cantidad o la separación en fracciones individuales que se pueden manejar o almacenar más fácilmente.
- Purificación completa: Este enfoque tiene la intención de separar y concentrar los ingredientes valiosos, mientras que la fracción líquida restante se purifica, lo que permite su reutilización o vertido directo en un medio acuático.

Sin embargo, para el manejo adecuado del digestato, se necesitan técnicas de procesamiento y difusión para evitar los posibles efectos de acidificación y eutrofización debido al aumento de la lixiviación de nutrientes (Abdullah et al, 2008), que depende de las condiciones locales meteorológicas y de la calidad del suelo, así como las características del digestato (Evangelisti et al., 2014).

La gestión del digestato es necesario debido a varias razones, la primera es mantener condiciones sin contaminantes durante y después del proceso de la digestión anaerobia, ya sea debido a las fugas de nitrato a vasos de agua o debido a grandes pérdidas de gas amonio y óxido nitroso, además del potencial de formación de metano. En segundo lugar, debido al alto contenido de agua que lo hace costoso de transportar y la tercera porque es fuente de materia orgánica y de nutrientes, que puede ser aprovechada como fertilizante o como mejorador de suelo. El tratamiento para gestionar el digestato, puede ser a la parte líquida (aeración, remoción de nitrógeno, precipitación de metales pesados) o a la separación de la parte líquida de la sólida (deshidratación, separación de fibras y remoción de arenas) (Zeshan, 2012).

### **3.1.1 Caracterización del digestato**

El digestato es la suspensión sólido-líquida que se produce de la digestión anaerobia de residuos de comida, de la fracción orgánica de residuos sólidos urbanos, estiércol y agua residual, la proporción de la parte líquida y sólida depende del tipo y de la naturaleza de la materia prima utilizada para la digestión, así como al tipo de proceso de digestión (seca/húmeda). La parte líquida contiene un alto porcentaje de nitrógeno, mientras que la parte sólida tiene un alto contenido de fosforo (Zeshan, 2012).

Las características del digestato son conocidas por ser afectadas por las características de la materia prima o de alimentación siendo los sustratos predominantes materias primas renovables, residuos biogénicos (residuos de alimentos, residuos orgánicos municipales, etc.) y subproductos agrícolas/ganaderos (Tambone et al., 2010), así como por el proceso de digestión anaeróbica; el tipo de reactor y los parámetros del proceso (Zirkler et al., 2014). Además, la composición de material de alimentación también puede variar dependiendo de las regulaciones de recogida de residuos (Saveyn y Eder, 2014) y el tratamiento previo de la digestión anaerobia, que puede afectar significativamente a la composición del digestato (Tampio et al., 2014).

Algunos parámetros utilizados para caracterizar el digestato son el contenido de humedad, la concentración de sólidos totales y sólidos totales volátiles, pH, nitrógeno total, etc. Las características físicas del digestato son descritas como densidad aparente, estructura de la celulosa o presencia de plásticos, metales, vidrio, cerámica, etc. Los parámetros biológicos son la presencia de elementos patógenos, así como la estabilidad biológica del digestato. En la tabla 3.1 se muestran los efectos de la digestión anaerobia en la FORSU y su digestato respectivo (Zeshan, 2012).

**Tabla 3.1. Efectos de la digestión anaerobia en los residuos (Zeshan, 2012).**

<b>Parámetro</b>	<b>Sustrato</b>	<b>Antes Dig.</b>	<b>Después Dig.</b>	<b>Porcentaje</b>	<b>Referencia</b>
<b>pH</b>	<i>FORSU</i>	3.50	7.50	114	<i>Gómez et al., 2007</i>
<b>TS</b>	<i>FORSU</i>	92.00	78.20	96	<i>Rao and Singh, 2004</i>
<b>TSV</b>	<i>FORSU</i>	3.30	1.40	23	<i>Rao and Singh, 2004</i>
<b>TN</b>	<i>FORSU</i>	3.30	1.50-3.00	23	<i>Rao and Singh, 2004</i>

La tabla 3.2 muestra ejemplos de contenido de materia orgánica de diferentes digestatos caracterizados en la literatura. El contenido materia orgánica de los digestatos varía ampliamente de casi 40 a más de 85 (% de materia seca) de acuerdo con la naturaleza de los residuos de entrada el contenido de materia seca depende altamente del proceso de digestión aplicada o del posible post-tratamiento sufrido por los residuos de fermentación.

**Tabla 3.2. Contenido de materia orgánica en digestatos (Teglia et al., 2011).**

<b>Naturaleza de los desechos de entrada</b>	<b>VS (%DM)</b>	<b>Referencia</b>
<b>Estiércol de lecherías + residuos biológicos</b>	69-76	<i>Paavola and Rintala (2008)</i>
<b>FORSU + purines de cerdo</b>	68-71	<i>Tambone et al., (2010)</i>
<b>Lodos primarios</b>	55	<i>Gómez et al., (2005)</i>
<b>Lodos de la industria farmacéutica</b>	70	<i>Gómez et al., (2007)</i>
<b>Residuos de comida + residuos de jardinería</b>	39-43	<i>Drennan and Distefano (2010)</i>
<b>Biomasa lignocelulósica + purines de vaca + residuos de la industria agrícola + FORSU</b>	75	<i>Tambone et al., (2009)</i>

En un estudio realizado por Tampio et al. (2015) se evaluaron las características agronómicas de cuatro digestatos, de los cuales tres procedían de digestores alimentados con residuos domésticos de comida (RC) de una fuente segregada y uno de un digestor alimentado con la fracción orgánica de residuos sólidos urbanos (FORSU). En esta experimentación los primeros dos reactores fueron alimentados con residuos de comida recogidos de Ludlow, Reino Unido, el tercer reactor fue de igual forma alimentado con residuos de comida, en tanto que los residuos como su digestato se obtuvieron a partir de un digestor anaerobio sub-comercial a gran escala de Greenfinch, Reino Unido. Para el cuarto reactor, tanto la materia prima como el digestato de la FORSU, se obtuvieron a partir de una planta de digestión anaerobia en Lisboa, Portugal, cabe mencionar que la recolección de la misma se realizó mediante fuente segregada de FORSU de la zona de Lisboa. Tanto los residuos de comida como la fracción orgánica de residuos sólidos urbanos fueron macerados. Todos los reactores trabajaron en condiciones mesofílicas salvo el cuarto con condiciones termofílicas. En la tabla 3.3 se observan las mediciones más representativas realizadas a cada una de las características tanto en la alimentación o materia prima como a su respectivo digestato.

**Tabla 3.3 Características de RC, FORSU y digestato (Tampio et al. 2015).**

Muestra	Materia Prima				Digestato			
	RC1	RC2	RC3	FORSU	RC1	RC2	RC3	FORSU
pH	5.5	5.4	5.0	4.7	8.0	7.6	8.3	8.3
TS (g/kg mf)	247.0	226.4	255.1	287	68.1	78.8	19.9	32.2
VS (g/kg mf)	229.9	209	232.8	264.3	50.2	63.7	12.3	18.9
VS/TS (%)	93.1	92.3	91.3	92.1	73.6	80.9	61.7	58.7
SDQO (g/kg mf)	114.6	104.2	132.9	69.9	15.4	18.5	11.2	7.3
DQO (g/kg mf)	364.4	361.2	444	412.5	77.1	100.3	21.8	30.6
VFA <sub>tot</sub> (g/kg mf)	3.1	2.2	4.9	5.5	3.3	1.1	4.1	0.3
VFA <sub>tot</sub> (gDQO/kg mf)	3.5	2.3	5.4	5.9	4.3	1.5	5.0	0.4
<b>Nutrientes</b>								
C <sub>tot</sub> (g/kg mf)	NA	NA	NA	NA	26.9	25.9	6.8	10.3
C/N	NA	NA	NA	NA	3.1	3.3	1.5	2.3
TKN (g/kg mf)	7.8	7.3	8.2	5.7	8.7	7.8	4.7	4.5
NH <sub>4</sub> -N (g/kg mf)	0.5	0.4	0.6	0.3	4.5	1.7	3.9	3.2
NH <sub>4</sub> -N/TKN (%)	6.7	5.0	7.2	5.4	52.0	21.3	82.1	71.1
<b>Nutrientes solubles</b>								
N <sub>tot</sub> (g/kg mf)	NA	NA	NA	NA	6.0	3.0	4.4	4.0
NH <sub>4</sub> -N (g/kg mf)	NA	NA	NA	NA	4.4	1.9	3.3	2.8
NO <sub>3</sub> -N (g/kg mf)	NA	NA	NA	NA	0.013	0.011	0.011	0.007
PO <sub>4</sub> -P (g/kg mf)	NA	NA	NA	NA	0.27	0.14	0.06	0.13
P <sub>tot</sub> (g/kg mf)	NA	NA	NA	NA	0.33	0.19	0.11	0.15
K <sub>tot</sub> (g/kg mf)	NA	NA	NA	NA	3.2	2.5	1.9	1.9

Se puede apreciar como los materiales de alimentación tanto de los residuos de comida como de la fracción orgánica de residuos sólidos urbanos tenían TS bastante similares (230-290 g/kg) y VS (210-260 g/kg). Los resultados apoyan el hecho de que la concentración de digestato en TS depende de la configuración del reactor (por ejemplo, proceso húmedo o seco) y los parámetros del proceso (carga orgánica, tiempo de retención de sólidos) (Teglia et al., 2011) a pesar de las características uniformes de los materiales de alimentación. También es probable que la composición orgánica real de los materiales de alimentación del digestato era diferente, que no se refleja en las concentraciones de TS y VS.

### 3.1.2 Potencial de metano en el digestato de la digestión anaerobia

El fomento de energías renovables y el reconocimiento de la producción de metano a través de la digestión anaerobia como una forma efectiva de reducir los gases de efecto invernadero (Holm Nielsen et al., 2009) de acuerdo con el protocolo de Kyoto (UNFCCC, 1997) han dado lugar a un fuerte apoyo de las plantas de biogás en muchos países europeos (Weiland 2006). Mientras tanto el tratamiento adecuado y el procesamiento del digestato (residuo de las plantas de biogás) se ha convertido en una preocupación creciente (Moller et al 2007).

La composición del digestato, depende en gran medida del tipo de materia prima, así como las condiciones de funcionamiento de las plantas. Por ejemplo, el volumen de  $CH_4$  producido a partir de la digestión resultante de la co-digestión de estiércol animal y un cultivo lignocelulósico a una carga orgánica de  $2.25 \text{ kg SV/m}^3\text{d}$ , fue significativamente mayor en comparación con el volumen de  $CH_4$  producido a partir de la digestión de una planta de biogás que funciona con una carga orgánica de  $0.85 \text{ kg SV/m}^3\text{d}$  (Menardo et al., 2010). Si el  $CH_4$  producido durante el almacenamiento del digestato no se recupera adecuadamente, el  $CH_4$  liberado puede empeorar las emisiones de gases de efecto invernadero debido a que el  $CH_4$  tiene un potencial de calentamiento global 20 veces mayor que el  $CO_2$ .

En general, el almacenamiento del digestato se realiza en tanques descubiertos a partir de los cuales varios gases, como el  $CO_2$ ,  $NH_3$ ,  $N_2O$  y  $CH_4$ , se disipan en la atmósfera (Hobson y Wheatley, 1992). Por estas razones, algunos países europeos han exigido que el digestato se almacene en tanques cerrados (Palm, 2008).

Los tanques de almacenamiento cubiertos ofrecen una oportunidad para reducir las emisiones de gases a la atmósfera y para capturar el metano residual del digestato (Kaparaju y Rintala, 2003). Rendimientos de hasta un 15% adicional de metano residual se han medido via post metanización del digestato (Weiland, 2003). Sin embargo, esta práctica no es relevante para todas las plantas de digestión anaerobia e incluso podría ser inútil para aquellos en los que el digestato se ha agotado o tiene un potencial muy bajo o insignificante rendimiento de metano.

El rendimiento de metano del digestato, durante el almacenamiento depende principalmente de su contenido de materia orgánica y la calidad, así como de la temperatura interna del tanque. La temperatura ambiente y la del digestato por entrar en el post-fermentador son las temperaturas que más influencia tienen en el tanque (Hansen et al., 2006), tanto es así que, en los meses de

invierno, la tasa de producción de metano a partir del digestato esperada es menor que en los meses de verano (Hansen et al., 2006).

El contenido de materia orgánica y la calidad del digestato dependen principalmente de las condiciones de funcionamiento de la planta digestión anaerobia. Si la planta tiene una carga orgánica alta (OLR) y un tiempo de retención hidráulico corto (HRT), entonces el digestato contendrá todavía una cantidad considerable de materia orgánica sin digerir, lista para ser digerida gradualmente durante el almacenamiento. En estas condiciones, y si se almacena en un tanque descubierto, una cantidad considerable de metano del digestato producido no sólo se perdería en la atmósfera (Lehtomäki et al., 2008), también produciría efectos ambientales negativos. Por el contrario, si la planta tiene una carga orgánica baja y un tiempo muy largo de residencia hidráulica, entonces se espera que la tasa de producción de metano a partir del digestato sea insignificante.

Menardo et al (2010) realizaron pruebas para cuantificar la tasa de producción de metano a partir del digestato de la digestión anaerobia, bajo el efecto de la carga orgánica, el tiempo de retención hidráulico y la alimentación de la planta, las muestras de digestato se obtuvieron de cuatro plantas de biogás CSTR (A-D) que operan en la región de Piamonte en el noroeste de Italia, los principales parámetros de operación de las plantas de los que se obtuvieron los digestatos al momento del muestreo se presentan en la tabla 3.4.

**Tabla 3.4 Parámetros de operación de plantas durante el muestreo (Menardo et al., 2010).**

Planta	Alimentación	Volumen del digestor (m <sup>3</sup> )	Potencia eléctrica (kW)	Temperatura operación (°C)	OLR (kgVS/m <sup>3</sup> d)	HRT (días)
A	<i>Estiércol animal (70%)</i>	12,000	1,000	41	2.25	105
	<i>Biomasa lignocelulósica (20%)</i>					
	<i>Subproductos de la industria alimentaria (10%)</i>					
B	<i>Estiércol animal (55%)</i>	12,000	1,000	41	1.30	100
	<i>Biomasa lignocelulósica (45%)</i>					
C	<i>Estiércol animal (37%)</i>	8,600	1,250	41	0.96	100
	<i>Biomasa lignocelulósica (47%)</i>					
	<i>Subproductos de la industria alimentaria (16%)</i>					
D	<i>Purines de cerdo (87%)</i>	4,990	500	41	0.85	51
	<i>Biomasa lignocelulósica (17%)</i>					

Todas las muestras se recogieron en la salida del post-fermentador y antes de su entrada en el tanque de almacenamiento. Las muestras se almacenaron en contenedores herméticos de gas para su transporte al laboratorio y se utilizaron para ensayos por lotes cinco horas después de su recolección, las pruebas por lotes se realizaron en reactores anaerobios de 2 L. Al inicio de las pruebas, cada reactor se llenó con 0.9 L de digestato y fue sellado con grifos de vidrio conectados a bolsas de gas Tedlar. Las muestras se incubaron a 40 °C ( $\pm 1$  °C) en una habitación de temperatura controlada durante 70 días. Todos los reactores se agitaron manualmente dos veces al día. Los principales parámetros físicos y químicos del digestato antes y después de la prueba se muestran en la tabla 3.5 (Menardo et al. 2010).

**Tabla 3.5 Parámetros del digestato antes y después de la prueba (Menardo et al., 2010).**

Parámetro	Unidades	Digestato antes de la prueba				Digestato después de la prueba			
		Muestra A	Muestra B	Muestra C	Muestra D	Muestra A	Muestra B	Muestra C	Muestra D
<b>pH</b>		7.9	7.8	8.0	8.1	8.0	7.9	8.2	8.2
<b>Agua</b>	% en mf	90.4	94.6	96.3	98.3	91.8	95.1	96.5	98.4
<b>TS</b>	% en mf	9.6	5.4	3.7	1.7	8.2	4.9	3.5	1.6
<b>VS</b>	% en TS	77.0	74.1	67.4	62.1	67.5	69.2	64.0	62.1
<b>TKN</b>	% en TS	4.4	5.9	14.0	11.2	5.8	7.0	13.1	11.4
<b>N-NH4</b>	% en TS	2.0	3.0	8.1	8.7	2.6	3.5	9.1	8.9
<b>N-NH4/TKN</b>	%	46.2	51.6	57.6	77.9	45.4	49.5	70.0	77.9

La proporción de metano del biogás producido por las muestras digestato en los ensayos por lotes fueron siempre inferiores a 50% y muy diferente entre las muestras. Composiciones de metano del 14% y 13% se determinaron a partir del biogás producido por las muestras C y D, respectivamente, mientras que 46% y 41% de las concentraciones de metano se registraron a partir de muestras A y B, respectivamente. Esto se observa en la tabla 3.6.

**Tabla 3.6 Rendimiento de biogás y metano al finalizar la prueba (Menardo et al., 2010).**

Muestra	Volumen de biogás		Volumen de metano		Metano		Tasa específica de biogás		Tasa específica de metano	
	NL	SD	NL	SD	%	SD	NL/kgSV	SD	NL/kgSV	SD
<b>A</b>	4.54	0.24	2.09	0.10	46	0.10	81.67	4.35	37.63	1.79
<b>B</b>	1.71	0.23	0.69	0.15	41	0.15	47.06	6.23	19.07	4.05
<b>C</b>	0.57	0.04	0.08	0.03	14	0.03	25.12	1.63	3.53	1.11
<b>D</b>	0.15	0.08	0.02	0.02	13	0.03	20.75	5.81	2.88	1.15

Zheng et al. (2009) informaron que, así como los VS de la materia prima aumentan, también lo hace la materia orgánica disponible para los microorganismos para producir metano, lo que genera un rendimiento de biogás superior. Sin embargo, el rendimiento potencial de biogás no se basa únicamente en el contenido de VS, sino también en la degradabilidad de los sólidos en un ambiente anaerobio (Schievano et al, 2008). Siendo estos dos parámetros de VS dependientes de la OLR (Lindorfer et al., 2007) y del HRT (Kaparaju y Rintala, 2009).

El digestato puede producir una cantidad atractiva de biogás, que depende principalmente de su contenido de materia orgánica digerida residual. Tanto la cantidad y la calidad de la materia orgánica en digestato se ven afectados por los parámetros técnicos y operativos (OLR y HRT) de la planta de digestión anaerobia originarios. En una planta de digestión anaerobia con una alta OLR y un bajo HRT, el biogás producido del digestato colectado durante su almacenamiento podría ser económicamente atractivo (Menardo et al., 2010).

Maclellan et al. (2013) consideran el concepto de acoplamiento de la producción de biogás con el de biorrefinería para optimizar la producción de biocombustibles a partir de biomasa lignocelulósica. Los autores aplicaron codigestión anaerobia de estiércol de cerdo y el rastrojo de maíz en diferentes proporciones de rastrojo/estiércol. El digestato obtenido del bioreactor se trató previamente con NaOH al 2% a 130 °C por 2 h y fue enzimáticamente hidrolizado para producir azúcares simples para la producción de bioetanol. Los autores encontraron que una proporción de forraje-estiércol de 40:60 ( peso en bruto) exhibió el balance de energía más alto, y podía producir 152 g  $CH_4$  y 50 g de etanol por kg de alimentación mixta seca. Rabelo et al. (2011) informaron de un proceso integrado para la producción de bioetanol y biogás a partir del bagazo de caña de azúcar en Brasil. Los autores también reportaron que 63 a 65% de la energía potencial en el bagazo se recuperó en forma de  $CH_4$  y etanol, que es aproximadamente 50% mayor que la energía utilizable capturado cuando el bagazo se utiliza sólo para la producción de bioetanol.

## CAPÍTULO IV

### 4.1 Compuestos recalcitrantes, biomasa lignocelulósica

La digestión anaerobia es una de las tecnologías de bioconversión más prometedoras para la producción de bioenergía renovable, sin embargo, la producción de  $CH_4$  por sí sola puede no justificar la inversión de capital y los costos operativos asociados con la construcción de una instalación de biogás comercial. Sin embargo, se puede integrar en una biorrefinería como un pretratamiento biológico eficaz que facilita la posterior ruptura de la biomasa lignocelulósica en sus azúcares constituyentes (glucosa, xilosa, arabinosa y manosa) o ácidos grasos de cadena corta (ácido acético, propiónico y butírico). Los componentes solubilizados se pueden utilizar como precursores en la producción de diversos productos que van desde la bioenergía / biocombustible ( $CH_4, H_2$ , etanol y butanol) (Kaparaju et al., 2009) a ácidos orgánicos (ácido succínico) y biopolímeros (bioplástico) (Cherubini and Strømman, 2011).

Existe una oportunidad significativa para evitar impactos ambientales negativos causados por las instalaciones de digestión anaerobia comerciales (es decir, gases de efecto invernadero y las emisiones de fitotoxicidad) y al mismo tiempo mejorar la utilización de la biomasa lignocelulósica. Específicamente, la co-digestión controlada de lignocelulosa con estiércol animal (u otros residuos orgánicos ricos en nitrógeno) se puede utilizar para proporcionar un pretratamiento biológico a biomasa lignocelulósica y eliminar la fracción de hemicelulosa de la estructura de la biomasa. El consorcio de microorganismos presentes durante la digestión anaerobia puede convertir los componentes de azúcares de la hemicelulosa en  $CH_4$ , mientras se proporciona una exposición efectiva de fibras de lignina y celulosa en el digestato. El tiempo de residencia de los sustratos debe ser más corto que la digestión anaerobia convencional a fin de evitar la digestión de la celulosa. En los procesos de acabado posteriores, las enzimas comerciales (es decir, celulasas) se pueden añadir para sacarificar celulosa en glucosa soluble (Sawatdeenarunat et al., 2014).

El monosacárido libre entonces puede servir como precursor para biocombustibles, como el bioetanol y biobutanol, o una serie de productos bioquímicos. Una clara e importante ventaja del uso del digestato de la digestión anaerobia como sustrato para la producción de bioproductos es la reducción de tamaño inherente de la biomasa después del proceso de digestión anaerobia. El tamaño de partícula menor de lignocelulosa después de la digestión anaerobia podría reducir los costos de molienda y al mismo tiempo mejorar la sacarificación y fermentación (Yue et al., 2011).

La celulosa y la hemicelulosa son polisacáridos de cadenas largas que se reducen a elementos de cadenas más cortas mediante la acción específica de enzimas presentes en algunas bacterias, a diferencia de la lignocelulosa la cual presenta una estructura muy compacta y se le considera prácticamente inerte en el sentido biológico (Chambers, 2011).

La interacción de la celulosa, hemicelulosa y lignina que componen la biomasa lignocelulósica, crean una estructura muy resistente y recalcitrante. En consecuencia, la hidrólisis de los polímeros recalcitrantes como la lignocelulosa a menudo se convierte en el paso limitante de la digestión anaerobia tradicional. La digestión anaerobia es la forma natural de pretratamiento biológico de sustratos orgánicos llevadas a cabo por robustas comunidades de cultivos microbianos mezclados bajo la ausencia de oxígeno (Khanal, 2008).

El consorcio de microorganismos trabaja sinérgicamente para descomponer las estructuras de biomasa recalcitrantes (como lignocelulosa) en sus respectivos componentes fundamentales. En las estrategias convencionales de bioprocesamiento, toda la materia prima lignocelulósica se muele y se introduce en un bioreactor anaeróbico para convertir los carbohidratos complejos y materia orgánica en biogás rico en energía (Weiland, 2010).

Durante la digestión de desechos sólidos, solo el 50% de los compuestos orgánicos se someten a la biodegradación, la parte restante de los compuestos permanece en su estado primario debido a la falta de enzimas que participen en su degradación (Shah et al., 2014).

La producción de biocombustibles a partir de biomasa lignocelulósica abundante es una alternativa potencial a los combustibles fósiles. Sin embargo, un obstáculo importante para hacer rentable la producción de biocombustible celulósico es la hidrólisis ineficaz actual de enlaces glucosídicos de la celulosa en azúcares fermentables por las enzimas celulasa (Himmel et al., 2007).

La hidrólisis de celulosa por celulasas es típicamente precedida por un pretratamiento termoquímico de la biomasa para aumentar la accesibilidad del sustrato de celulosa a la enzima. El pretratamiento con ácido diluido elimina casi todos los componentes de la biomasa, además de la propia celulosa y lignina (Gao et al., 2014), un poliaromático amorfo y un poliaromático hidrófobo de las plantas (Ragauskas et al., 2014). Sin embargo, incluso después del pretratamiento, la hidrólisis de la celulosa enzimática sigue siendo incompleta (Rahikainen et al., 2011). La superación de esta ineficiencia presenta uno de los retos más importantes en biotecnología (Himmel et al., 2007).

Existe evidencia considerable que señala a la lignina como una de las principales causas en la disminución de la reducción en la eficiencia de celulasa en la biomasa pretratada (Jorgensen et al., 2007), aunque su mecanismo de acción no se ha aclarado definitivamente. Se han propuesto varios procesos inhibitorios relacionados con la lignina, incluyendo la asociación de celulosa con la lignina, bloqueando el acceso enzimático a la celulosa (Donohoe et al., 2008), y la improductiva unión de las enzimas a la lignina (Eriksson et al., 2002). Esta improductiva unión ha probado ser poco específica ya que se produce a través de procesos hidrofóbicos (Eriksson et al., 2002) o interacciones electrostáticas (Nakagame et al., 2011), aunque no se ha observado ninguna prueba directa para esa hipótesis. El módulo de unión a celulosa (CBM) de celulasas participa en la unión de lignina, debido a que las enzimas que contienen un CBM tienen una mayor afinidad por la lignina que aquellas sin uno (Palonen et al., 2004).

Por lo tanto, la lignina inhibe directa y competitivamente el mecanismo de reconocimiento de la celulasa de acuerdo con un mecanismo de inhibición competitiva previamente postulado por un trabajo de mutagénesis y ensayos bioquímicos (Rahikainen et al., 2011). Estos detalles atomizados de la interacción de una celulasa dentro de un ambiente lleno de biomasa, que incluyen tanto las interacciones del sustrato y la inhibición de la lignina, explican porque la lignina es una barrera tan efectiva a la hidrólisis enzimática eficiente de la biomasa postratada.

Un estudio realizado por Yue et al. (2010) sugiere que ciertos microorganismos presentes en el estiércol de la digestión anaerobia prefieren constituyentes de biomasa específicos sobre otros. En particular, los autores encontraron que la hemicelulosa, un polisacárido heterogéneo, se descompone y se metaboliza antes que otros componentes estructurales. Ajustando cuidadosamente el tiempo de retención de sólidos (SRT), entre otras varias condiciones de operación, el proceso de digestión anaerobia tiene la capacidad de promover exclusivamente la producción de metano ( $CH_4$ ) de hemicelulosa, mientras que va dejando atrás la celulosa y la lignina en el residuo sólido fibroso.

La biodegradación de hemicelulosa desestabiliza eficazmente la estructura de la biomasa recalcitrante, lo que permite la solubilización (es decir la sacarificación) de la celulosa por las enzimas comerciales en los procesos posteriores (Maclellan et al, 2013). La glucosa, derivada de la hidrólisis de la celulosa, sirve como sustrato para la producción de biocombustibles que pueden mezclarse con otros como derivados del petróleo y ser utilizados en la infraestructura existente a través de la plataforma carboxilato (Agler et al., 2011) o como un precursor para productos de alto valor, tales como bioplástico, ácido succínico, proteínas de hongos, etc. (Cherubini y Strømman, 2011).

El tratamiento previo es un proceso en el que los hidratos de carbono, en particular de celulosa, se preparan para un ataque enzimático o microbiano. Este proceso se utiliza principalmente para mejorar la producción de etanol y biogás; sin embargo, también se utiliza para mejorar el rendimiento de producción de todos los productos bioquímicos de las lignocelulosas, así como para la mejora de la alimentación animal, propiedades de la fibra, y la composición (Karimí y Pandey, 2014). Este tratamiento previo puede ser un proceso físico tal como molienda; un tratamiento químico, por ejemplo, ácidos o disolventes alcalinos de celulosa; pretratamiento biológico, como por ejemplo los hongos de la pudrición blanca o enzimas que degradan la lignina; o una combinación de estos procesos (Karimi y Chisti, 2015).

#### 4.1.1 Composición de la biomasa lignocelulósica

La biomasa lignocelulósica es un recurso disponible en abundancia, con un rendimiento anual (global) de más de 200 mil millones de toneladas métricas secas por año (Kumar et al., 2008). Por ejemplo, EE.UU. produce aproximadamente 1.37 millones de toneladas secas de tal biomasa por año para la producción de biocombustibles (Limayem y Ricke, 2012). Ejemplos comunes de estos recursos renovables incluyen a los residuos agrícolas y forestales y a los cultivos energéticos (Cherubini, 2010). La estructura básica de lignocelulosa se compone principalmente de celulosa (35 a 50%), hemicelulosa (20-35%), y lignina (10-25%) (Liu et al., 2008), junto con cantidades menores de otros compuestos orgánicos e inorgánicos como las proteínas, los lípidos y otras sustancias extractivas (Frigon y Guiot, 2010).

La tabla 4.1 resume la composición típica de algunas materias primas lignocelulósicas de uso común. Es prudente mencionar que las cantidades de estos componentes no sólo varían entre las especies, sino que también pueden variar debido a las condiciones de crecimiento y maduración. La celulosa es el principal constituyente de prácticamente todas las paredes celulares de las plantas, con lo que este compuesto es uno de los polímeros renovables más abundantes en el planeta. A nivel molecular, la celulosa ( $C_6H_{10}O_5$ ) es un homopolisacárido lineal (no ramificado) que consta de 10,000-15,000 unidades de D-glucosa unidas por enlaces covalentes  $\beta$  (1-4). La configuración  $\beta$  de los residuos de glucosa crea una estructura con propiedades físicas que son muy diferentes del almidón; otro homopolisacárido de la glucosa con lazos orientados  $\alpha$ . Los vínculos  $\beta$  (1-4) de celulosa también hacen que el polisacárido sea casi indigerible para la mayoría de los animales (excepto los rumiantes), ya que las enzimas especiales, conocidas como celulasas, son necesarias para hidrolizar los enlaces covalentes. La hemicelulosa, en cambio, es un heteropolisacárido altamente ramificado que consiste en una

amplia variedad de azúcares (C-5 y C-6). Los grupos laterales que se extienden fuera de la cadena principal del polímero semicelulósico se oponen a la formación de estructuras cristalinas reforzadas por enlaces de hidrógeno, a diferencia de la celulosa (Sawatdeenarunat et al., 2014).

**Tabla 4.1 Composición de biomasa lignocelulósica (Sawatdeenarunat et al., 2014).**

Biomasa	Celulosa (%)	Hemicelulosa (%)	Lignina (%)	C/N	Referencias
Rastrojo de maíz	37.5	22.4	17.6	63	<i>Li et al. (2014)</i>
Paja de trigo	38.2	21.2	23.4	60	<i>Brown et al. (2012)</i>
Pasto varilla	31.0-45.0	20.0-31.0	12.0-18.0	90	<i>Brown et al. (2012)</i>
Bagazo	38.2	27.1	20.2	118	<i>Brown et al. (2003)</i>
Caña de azúcar	25.0	17.0	12.0	NA	<i>Karthikeyan and Visvanathan (2012)</i>
Paja de arroz	32.0	24.0	13.0	47	<i>Ye et al. (2013)</i>
Eucalipto	38.0-45.0	12.0-13.0	25.0-37.0	NA	<i>Karthikeyan and Visvanathan (2012)</i>

Los azúcares individuales de hemicelulosa pueden diferir considerablemente dependiendo de las especies de plantas; sin embargo, en general, la sacarificación de la hemicelulosa produce típicamente una mezcla de glucosa, galactosa, manosa, arabinosa, xilosa y manosa. El último componente principal de la lignocelulosa, es la lignina, un polímero basado en fenilpropano con poco valor para la producción de bioenergía, a pesar de ser el segundo polímero más abundante en la tierra. La lignina es una parte esencial de la estructura de la biomasa, ya que proporciona soporte mecánico y la impermeabilidad al agua de las paredes celulares secundarias de las plantas, pero la lignina también sirve como una barrera tanto física y bioquímica que impide la mayoría de los procesos de conversión de biomasa a bioenergía (Sawatdeenarunat et al., 2014).

#### 4.1.2 Potencial de metano de la biomasa lignocelulósica

La digestión anaerobia de la biomasa lignocelulósica produce gas  $CH_4$  rico en energía. El rendimiento de  $CH_4$  por unidad de superficie a menudo se utiliza para determinar la productividad de la energía de una carga de alimentación en particular, y puede variar significativamente entre las especies, así como con la madurez, la ubicación geográfica, y las entradas (agua, fertilizantes, etc.) dentro de la misma especie (Yang et al., 2013). La prueba potencial bioquímico de metano (BMP, por sus siglas en inglés) es ampliamente utilizada para examinar la digestibilidad anaerobia de sustratos orgánicos. Las características de los cultivos energéticos seleccionados con respecto a BMP se resumen en la tabla 4.2 (Sawatdeenarunat et al., 2014).

**Tabla 4.2 Potencial de metano de la biomasa lignocelulósica (Weiland 2010).**

<b>Biomasa</b>	<b>Rendimiento de biomasa</b> <i>(tonelada métrica de peso húmedo / hectárea)</i>	<b>Potencial de metano</b> <i>(Nm<sup>3</sup> CH<sub>4</sub> / tonelada métrica VS)</i>
<b>Remolacha azucarera</b>	40-70	387-408
<b>Remolacha forrajera</b>	80-120	398-424
<b>Maíz</b>	40-60	291-338
<b>Trigo</b>	30-50	351-378
<b>Sorgo</b>	40-80	286-319
<b>Pasto</b>	22-31	286-324
<b>Girasol</b>	31-42	231-297
<b>Grano de trigo</b>	6-10	371-398

La viabilidad económica de la digestión anaerobia es el principal conflicto sobre el potencial de  $CH_4$  del sustrato. Una mayor producción de  $CH_4$  a partir de una materia prima dada, corresponde directamente con el tiempo de amortización de las inversiones para instalaciones comerciales de digestión anaerobia. La composición de la materia prima es un factor importante que afecta tanto el rendimiento  $CH_4$ , como la estabilidad del digestor; que a su vez se rige por las especies de plantas, localización geográfica, y la madurez de la biomasa como se ha discutido anteriormente (Amon et al., 2007b).

Triolo et al. (2012) informaron que el contenido de lignina mayor que 100 g / kg VS era un punto crítico para la digestión anaerobia, lo que resulta en un potencial de  $CH_4$  bajo. En comparación con otras características de la biomasa, se reporta que el contenido de lignina es el factor más importante que afecta a la producción de  $CH_4$  (Gunaseelan, 2007); más que la cristalización de la celulosa (Monlau et al., 2012b). Triolo et al. (2011) concluyeron que la fracción de lignina por sí sola podría ser utilizada para predecir BMP.

#### **4.1.3 Procesos de pretratamiento de la biomasa lignocelulósica**

La separación de los tres componentes principales de la biomasa lignocelulósica está severamente limitada por muchos factores, tales como el contenido de lignina, la cristalinidad de la celulosa, el contenido de agua y el área superficial disponible, que también influyen en la futura explotación de los materiales pretratados, para la conversión a etanol o para la síntesis de productos de químicos (Raspolli y Antonetti, 2011).

El fraccionamiento de la biomasa implica muchos enfoques diferentes; sin embargo un pretratamiento eficaz debe cumplir con los siguientes requisitos (Alvira ., et al. 2010):

- a) Superar la recalcitrancia de la biomasa lignocelulósica, deconstruyendo las tres dimensiones de la estructura lignocelulósica, y rompiendo la semicristalinidad de la celulosa y la hemicelulosa.
- b) Ofrecer altos rendimientos de azúcares o productos químicos y/o dar alta digestibilidad al sólido pretratado.
- c) Evitar la degradación de carbohidratos y, en particular, preservar la utilidad de la fracción pentosano (hemicelulosa).
- d) Evitar la formación de subproductos tóxicos inhibidores.
- e) Permitir la recuperación de lignina y la producción de coproductos valiosos.
- f) Ser rentable, involucrando reactores de tamaño razonable, una generación pequeña de residuos y costos de energía bajos.

El propósito de los pretratamientos es el incremento del área de la superficie de contacto y el tamaño de poro de la celulosa, además de disminuir su cristalización y grado de polimerización. Se han desarrollado varios tipos de procesos físicos, tales como molienda, trituración, extrusión, y la irradiación (rayos gamma, haces de electrones, los ultrasonidos, y las microondas). Estos métodos a menudo no son muy satisfactorios si se utilizan individualmente, y en muchas ocasiones se emplean en combinación con productos químicos con el fin de mejorar la eficiencia del proceso. El requisito de potencia de estos pretratamientos mecánicos es relativamente alto y depende del tipo de biomasa y el tamaño de partícula final: más allá de un cierto tamaño de partícula, estos tratamientos previos se convierten en económicamente inviables (Hendriks, 2009).

#### **4.1.3.1 Organosolvatación**

El pretratamiento con organosolvatación (organosolv) es un enfoque muy prometedor para la solubilización de la lignina en un medio orgánico, proporcionando así una celulosa residual adecuada para la hidrólisis enzimática. Después de la precipitación, la lignina recuperada (lignina organosolv) es una lignina libre de azufre, con alta pureza y bajo peso molecular, que puede ser usada para muchos propósitos. Los disolventes utilizados con más frecuencia en los procesos de organosolv son acetona, metanol, etanol, fenoles, etilenglicol y alcohol tetrahidrofurfurílico. Por razones económicas el etanol acuoso es generalmente el disolvente preferido, ya que tiene bajo punto de ebullición, toxicidad y costo, pero el proceso de tratamiento

previo se lleva a cabo siempre bajo alta presión con el aumento del costo del equipo (Zhao, et al., 2009).

La ventaja de emplear alcohol barato con un bajo punto de ebullición (principalmente metanol y etanol) es la facilidad de recuperarlos por destilación simple con requisitos de baja energía. La biomasa se trata adicionando un catalizador ácido a baja temperatura (por debajo de 180°C) o sin catalizador (autocatálisis) a temperaturas más altas (185-210°C) (Zhao, et al., 2009).

Los principales productos de este pretratamiento son los siguientes (Raspolti y Antonetti, 2011):

- Las fibras celulósicas, que contienen el componente de celulosa original y cantidades variables de hemicelulosa y lignina residual.
- Lignina sólida, obtenida después de la eliminación del disolvente volátil a partir del licor negro mediante destilación. Puede contener extractos lipofílicos de la materia prima lignocelulósica inicial.
- Una solución acuosa de los azúcares de la hemicelulosa, que se compone principalmente de xilosa en el caso de maderas duras o residuos agrícolas. Esta solución es el filtrado del licor evaporado del disolvente anterior en el cual se precipitó la fracción de lignina.

En el pretratamiento con organosolv la proporción de líquido a sólido utilizado, debe ser optimizado por lo que es necesario considerar lo siguiente (Raspolti y Antonetti, 2011):

- Una baja relación líquido a sólido reduce las cantidades de agua y disolvente en el sistema, con una reducción de los costos de capital (se requieren tanques y bombas más pequeñas para las mismas cantidades de materia prima).
- Los costos de operación (especialmente la energía para el bombeo y recuperación de disolvente) también se reducen cuando se selecciona una baja relación.

Sin embargo, los equipos de separación, especialmente los filtros y centrifugas, deben trabajar de manera más eficiente ya que la entrada y salida de las concentraciones de sólidos son mucho más altas, ya que a una relación muy baja (por debajo de 4: 1) se puede presentar una nueva precipitación de la lignina disuelta en la fibra de celulosa, lo que limita su hidrólisis enzimática sucesiva (Zhao, et al., 2009).

De acuerdo a Raspolti y Antonetti (2011), la principal ventaja del pretratamiento a la biomasa lignocelulósica que presenta el proceso de organosolvatación es la solubilización de la hemicelulosa y la lignina, mientras que la principal desventaja recae en el costo generado por los

solventes empleados. En la tabla 4.3 se menciona la efectividad que presenta a diferentes características de la estructura lignocelulósica el pretratamiento de organosolvatación.

**Tabla 4.3. Influencia del pretratamiento de organosolvatación en la estructura lignocelulósica (Raspolti y Antonetti, 2011).**

<b>Características</b>	<b>Organosolvatación</b>
Incremento de la superficie de contacto	<i>H</i>
Descristalización de la celulosa	<i>Nd</i>
Solubilización de la hemicelulosa	<i>H</i>
Solubilización de la lignina	<i>H</i>
Generación de inhibidores	-
Alteración de la estructura de la lignina	<i>H</i>

H: efecto alto; L: efecto menor; Nd: no determinado

## CAPÍTULO V

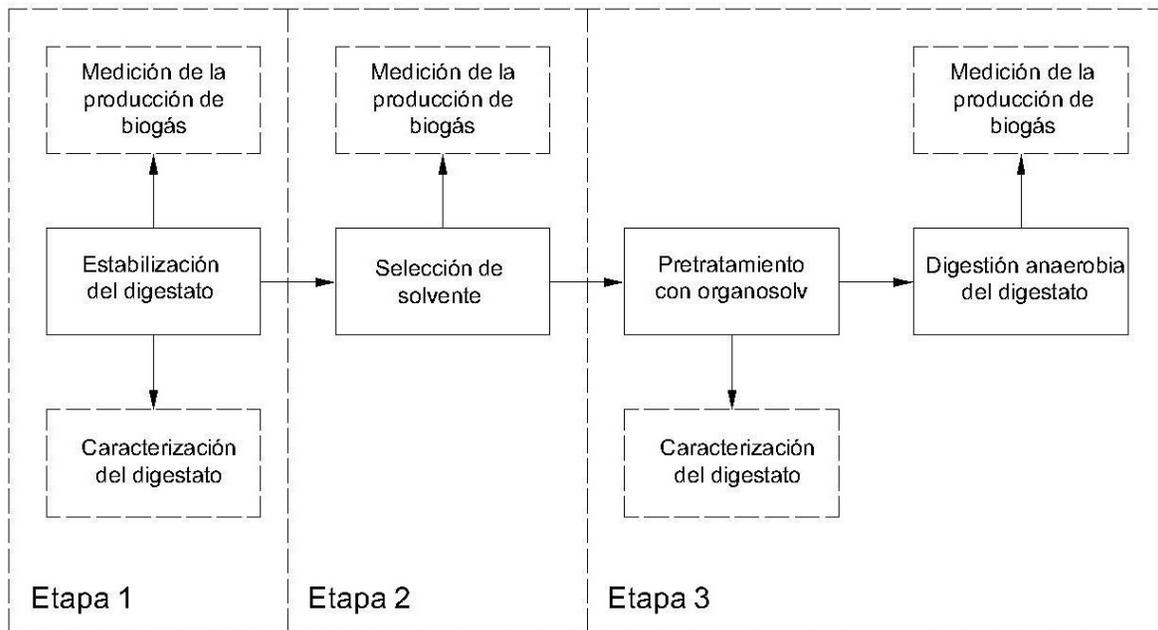
### MATERIALES Y METODOLOGÍA

#### 5.1 Metodología

Gran parte de la materia orgánica presente en el digestato es recalcitrante y no soluble, compuesta principalmente por biomasa lignocelulósica, siendo su hidrólisis durante la digestión anaerobia una etapa que controla la producción de metano. Se realizó un proceso de organosolvatación al digestato con la finalidad de solubilizar la materia orgánica recalcitrante. La metodología propuesta buscó incrementar de forma significativa la producción de metano del digestato cuando se somete a una nueva digestión bajo un pretratamiento con solventes.

La metodología se desarrolló en tres etapas principales, en las cuales se realizó la caracterización del sustrato utilizado y la medición de la producción de biogás respectivamente, como se muestra en la figura 5.1. La etapa uno consistió en la elaboración y estabilización de un digestato para el desarrollo de la experimentación, su homogenización, caracterización y producción respectiva de biogás. La etapa dos abarcó la selección de solvente a utilizar para el pretratamiento de la biomasa lignocelulósica; y por último en la etapa tres se llevó a cabo el proceso de organosolvatación al digestato con el solvente seleccionado, para ser introducido a una nueva digestión anaerobia, en la que se registró el biogás producido y se realizó una caracterización posterior al tratamiento, para llevar un registro experimental de los cambios producidos en el digestato. La información correspondiente a caracterización y producción de biogás de la FORSU utilizada en la conformación del digestato fue tomada de estudios realizados previamente por el grupo de investigación.

Se consideró la digestión del digestato bajo condiciones de operación húmeda, debido al contenido de sólidos totales menores al 15%. Se establecieron condiciones mesófilicas de temperatura ya que según De Baere et al. (2010) es aquella que presenta la mejor estabilidad y facilidad de manejo para este tipo proceso, además se optó por la tecnología de organosolvatación para brindar el pretratamiento a la biomasa lignocelulósica del digestato y aumentar la eficiencia en la producción de metano residual, debido a la facilidad que presenta para la solubilización de la lignina y la hemicelulosa (Raspolti y Antonetti, 2011), mientras que los solventes seleccionados para realizar las pruebas fueron seleccionados debido a su bajo punto de ebullición, bajo coste y toxicidad (Zhao, et al., 2009).



**Figura 5.1 Diagrama de la metodología**

### 5.1.1 Obtención de la FORSU

La FORSU que se utilizó durante el desarrollo de las pruebas que conforman esta experimentación es una muestra representativa de los residuos que se generan en la Ciudad de México, específicamente aquellos que llegan a la estación de transferencia de la delegación Coyoacán. La muestra fue recolectada por el equipo de investigación, cumpliendo las especificaciones y metodología que se establecen en la norma mexicana NMX-AA-015-1985 sobre el muestreo mediante el método de cuarteo, la norma mexicana NMX-AA-061-1985 sobre la generación per cápita en la que se establece la selección de los camiones para realizar el muestreo y la norma mexicana NMX-AA-019-1985 sobre el peso volumétrico *in situ*. Las muestras fueron preservadas mediante congelación en las instalaciones del laboratorio de Ingeniería Ambiental en el Instituto de Ingeniería de la UNAM.

### 5.1.2 Caracterización de la FORSU y el digestato

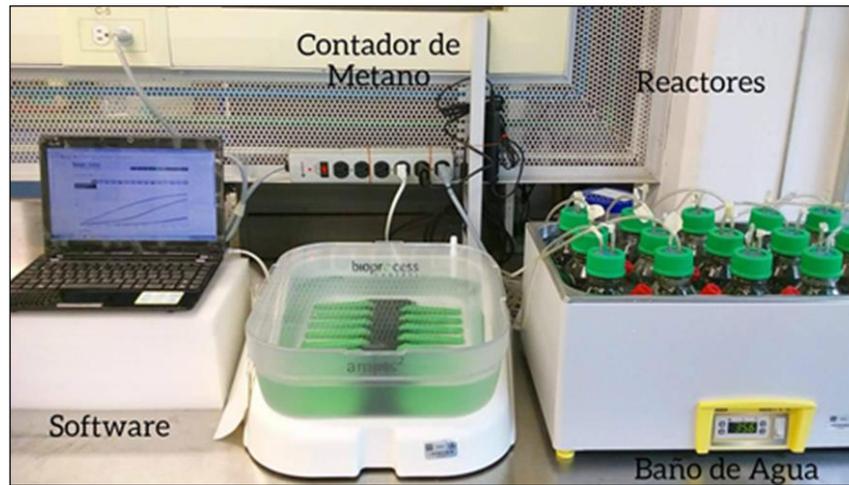
Las características heterogéneas de la FORSU, fundamentan la necesidad de homogeneizar la muestra para obtener lecturas de resultados representativos, lo anterior para analizar los parámetros de referencia con respecto a otros autores y estudios, por lo que una vez descongelada la muestra se procedió a disminuir el tamaño de partícula con una licuadora tipo industrial de la marca Internacional, para después hacer pasar la muestra por un molino de discos marca Molinos del Rey con un motor de medio caballo de potencia, lo anterior garantiza una muestra homogénea y de calidad para la medición y realización de las pruebas con un tamaño de partícula a la salida del molino de 0.1 – 0.2 mm. Las determinaciones que se realizaron para la caracterización de la FORSU dentro del grupo de investigación fueron puntuales y quedaron delimitadas a: demanda química de oxígeno (DQO), sólidos totales (ST), sólidos fijos (SF), sólidos volátiles (SV), humedad, nitrógeno Kjeldahl, fósforo total, carbohidratos, proteínas, grasas, así como los elementos lignocelulósicos (celulosa, hemicelulosa y lignina). En el caso del digestato las pruebas que se realizaron son las mismas que para FORSU, con la intención de comparar los valores antes y después de la digestión de la misma. Debido a la naturaleza homogénea del digestato no fue necesario reducir el tamaño de partícula para su caracterización y se conservaron los parámetros analizados para la FORSU.

Las caracterizaciones realizadas durante esta experimentación se delimitaron exclusivamente a la etapa uno y etapa tres, en la primera para llevar un control de la estabilización del digestato y posteriormente una vez estabilizado conocer las características del mismo antes de someterlo al pretratamiento y en la tercera para conocer las características del digestato posteriores al pretratamiento.

### 5.1.3 Descripción del equipo de trabajo

El equipo que se utilizó para el proceso de la digestión anaerobia del digestato es el sistema AMPTS por sus siglas en inglés *Automatic Methane Potential Test System*, de la marca Bioprocess Control, el cual consiste en un recipiente en el que se proporciona un baño de agua para el control de la temperatura de los reactores (Figura 5.2) con una capacidad para pruebas de 15 frascos de reacción de 500 mL, estos frascos cuentan con puertos de alimentación y muestreo. Estos cuentan con agitación mecánica que puede ser continua o intermitente en un rango de 110 a 140 rpm. Los frascos son cerrados haciendo uso de tapones de plástico que cuentan con una salida que se encarga de conducir el biogás a un frasco lavador de dióxido de

carbono (solución de hidróxido de sodio) en caso de que se desee cuantificar el metano producido durante la digestión o directamente al contador para la cuantificación de biogás.



**Figura 5.2 Sistema automático de pruebas de potencial de metano.**

El equipo cuenta con un módulo inundado con agua y provisto de celdas cuyo volumen puede ser calibrado de acuerdo a las condiciones de operación, estas celdas sirven para retener determinada cantidad de biogás (de acuerdo al proceso realizado) producido a partir de la digestión anaerobia realizada en los reactores provistos para este proceso. Para los propósitos de esta experimentación el biogás producido se hará pasar por el contador para cuantificar la producción de metano del proceso. El contador es un recipiente de agua con celdas calibradas a un volumen dado que cuenta con sensores de temperatura y presión y está diseñado para enviar una señal al software del equipo para cuantificar la producción acumulativa de biogás.

La lectura de la composición del biogás se realizó en un cromatógrafo de gases modelo SRI 8610c con detector de conductividad térmica, con columna de acero inoxidable empacada con sílica gel (8600-PK1A), helio como gas de arrastre con flujo de 27 ml/min. Inyectando 0.5 ml de biogás a las siguientes condiciones 1 min a 50°C, incremento 50°C/min hasta 100°C y manteniendo por 1 min. La temperatura del detector fue de 150°C.

#### **5.1.4 Inóculo y nutrientes**

Las pruebas de potencial bioquímico de metano (PBM) y digestión anaerobia requieren de un inóculo anaerobio, de una solución traza de micronutrientes y de una solución amortiguadora para generar las condiciones adecuadas del proceso. El inóculo utilizado fue un digestato estabilizado a partir de la integración de los lodos de digestión anaerobia de FORSU de investigaciones

generadas dentro del grupo de trabajo, así como de una parte de lodo granular de un reactor UASB para el tratamiento de agua residual de la cervecera Grupo Modelo, que opera a 35°C. Las proporciones utilizadas en peso para la generación del digestato estabilizado, fueron dos terceras partes de lodos de digestión de FORSU y una tercera parte de lodo granular, mismas que fueron mezcladas por métodos mecánicos para asegurar homogenización de las mismas, a todas las partes se les realizó una caracterización general en cuanto al contenido de ST y SV, al mismo tiempo que se realizaron pruebas de PBM para determinar su capacidad de generación de biogás y garantizar su capacidad como inóculo. La solución de micronutrientes es utilizada para regular los procesos metabólicos y bioquímicos de los microorganismos participantes en la digestión anaerobia y fue preparada utilizando los compuestos y concentraciones en mg/L proporcionados a continuación:  $\text{FeCl}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , 2000;  $\text{MnCl} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , 2000;  $\text{ZnCl}_2$ , 500;  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , 30;  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 50;  $\text{H}_3\text{BO}_3$ , 50;  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , 90;  $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , 50; EDTA, 1000; HCl, 1.

### **5.1.5 Estabilización del digestato**

El digestato utilizado para el desarrollo de la experimentación, se produjo a partir de la mezcla de lodos producto de digestiones anaerobias de FORSU y lodo granular de un reactor anaerobio, estas partes fueron almacenadas desde su producción y llegada a temperaturas de 5°C en cámara fría hasta el arranque de la primera etapa, cuando fueron caracterizadas en contenido de humedad y las respectivas pruebas gravimétricas que derivan de esta, como ST, SV y SF, así como pruebas de PBM que garantizaran tanto la generación de biogás como su capacidad como inóculo.

Durante esta etapa el digestato fue alimentado una ocasión con FORSU, en una relación 1:1 de SV, previamente molida y triturada en licuadora y molino de discos respectivamente. La FORSU fue recolectada en la estación de transferencia de Coyoacán, CDMX y se preservó en congelación hasta su utilización, esto para incrementar el volumen del digestato y garantizar su disponibilidad. Este último fue almacenado en una barrica de plástico cuya capacidad de 30 litros facilitó su manejo (figura 5.3). El digestato mezclado y alimentado se mantuvo a 35°C durante el resto de la experimentación en cámara caliente.



**Figura 5.3 Estabilización del digestato.**

El proceso de estabilización consistió en el monitoreo de pH, AGV y de los parámetros de alcalinidad para evitar la acidificación del medio, como el índice alfa, que es la relación entre la alcalinidad bicarbonática y la alcalinidad total, el índice tampón que corresponde a la alcalinidad debida a los AGV y la alcalinidad bicarbonática ; y el índice AI/AP que es la relación entre la alcalinidad debida a los AGV y la alcalinidad bicarbonática.

#### **5.1.6 Selección de solvente**

Se utilizaron cuatro solventes para determinar cuál presentaba el rendimiento más alto en la producción de biogás, el criterio para la selección de solventes surgió a partir de Wikandari et al. (2014), estudio en el que se utiliza la organosolvatación para extraer compuestos orgánicos de materiales naturales y que en el mismo establece a hexano, éter etílico, diclorometano y acetato de etilo, como solventes adecuados para el desarrollo experimental, enfocándose en la producción de biogás. A diferencia del estudio presentado se buscó trasladar ese proceso utilizado en cáscaras de naranja a la biomasa lignocelulósica presente en el digestato. Los solventes seleccionados cumplían con las características de contar con un bajo punto de ebullición (por debajo de 80°C) y toxicidad, de acuerdo a sus hojas técnicas.

Para la prueba de selección, de acuerdo a Wikandari et al. (2014), se utilizó una relación en peso de digestato y solvente de 1:4, respectivamente, para cuatro valores en gramos de sólidos volátiles del digestato (0.5, 1, 1.5 y 2) por duplicado en matraces de 500 mL (tabla 5.1). Cada uno de los matraces se agitó por diez minutos en un agitador magnético a temperatura ambiente (20°C), para tener contacto con la mayor cantidad de materia orgánica solubilizable, al finalizar la

agitación se sometió a incubación a la misma temperatura por 20 minutos (figura 5.4). Tras lo anterior se retiró la mayor cantidad de solvente posible mediante una succión al vacío calentando a temperaturas no mayores a 80°C y se sometió a tres lavados con agua al digestato producto de este desarrollo, el agua de igual manera fue calentada para eliminar trazas de los solventes utilizados evitando que materia orgánica solubilizada y capaz de biodegradarse se perdiera.

**Tabla 5.1 Cantidades utilizadas para prueba de selección de solvente.**

	SV	g Digestato	g Solvente
Matraz 1	0.5	5.4	21.6
Matraz 2	1	10.8	43.2
Matraz 3	1.5	16.2	64.8
Matraz 4	2	21.6	86.4

Después se colocó el digestato solvatado en reactores de 500mL del equipo AMPTS, que en este caso tomará la función de sustrato y se agregó 8g de SV de digestato sin pretratamiento como inóculo. Se agregó 1 mL de la solución de micronutrientes y se llenó hasta un volumen de reacción de 400mL con la solución tampón de fosfatos, los reactores se cerraron y se ingresaron al proceso de digestión anaerobia, garantizando un medio anaerobio desplazando el volumen de cabeza compuesto con aire, por gas nitrógeno. De esta manera se cuantificó la cantidad de biogás producido por el digestato solvatado para cada uno de los solventes utilizados.



**Figura 5.4 Selección de solvente.**

### 5.1.7 Pretratamiento con organosolv

Una vez elegido el solvente cuyo rendimiento en la producción de biogás fue el más alto, se efectuaron dos niveles de tratamiento por triplicado para cada una de las condiciones elegidas, se seleccionaron la temperatura y el tiempo de contacto de entre los parámetros reportados en la bibliografía (Wikandari et al., 2014) dejando por fuera el tamaño de partícula que en el caso del digestato al ser una mezcla homogénea no presentaba variaciones de consideración.

En el caso de la temperatura se establecieron los niveles de 20 y 40°C pues presentan una baja inversión en el consumo de energía, beneficiando los costos empleados en el proceso y para el tiempo de contacto los niveles fueron de 10 y 60 minutos que al ser tiempos relativamente cortos representan una disminución de los tamaños de reactores que podrían llegar a emplearse. La técnica utilizada para el pretratamiento con organosolv del digestato fue la misma que la utilizada en la selección de solvente, con la implementación del diseño experimental de dos factores con dos niveles de tratamiento cada uno. Se garantizó la temperatura en toda el área donde se encontraba el digestato, sumergiendo los matraces con las pruebas en un baño de agua que se calentaba en parrilla y se colocó un condensador en la boca del matraz para evitar pérdidas de solvente durante la duración de la prueba (figura 5.5). La relación en peso de digestato y solvente se fijó para todas las pruebas en 1:1, respectivamente.



**Figura 5.5 Arreglo para el pretratamiento con organosolv.**

Una vez realizado el tratamiento correspondiente, se eliminó la mayor cantidad de solvente mediante una succión al vacío y se lavó el digestato con agua tres veces de la misma manera que en la selección de solvente (figura 5.6). Después se introdujo el digestato pretratado en reactores de 500 mL para someterlos a una digestión anaerobia cuantificando la producción de biogás.



**Figura 5.6 Digestato posterior al pretratamiento.**

#### **5.1.8 Digestión anaerobia del digestato pretratado**

La digestión anaerobia del digestato pretratado con la técnica de organosolv, se realizó en el equipo AMPTS en donde se utilizaron frascos de reacción de vidrio de 500 mL, las pruebas se realizaron por triplicado. Según Li et al. (2014) el inóculo más adecuado para una digestión anaerobia consiste idealmente del digestato de la digestión del mismo sustrato, por lo que se agregaron 8 gSV en base húmeda de digestato sin pretratar, 1 mL de solución de micronutrientes y 2 gSV de digestato pretratado, siendo completado el volumen de trabajo de 400mL utilizando una solución amortiguadora de fosfatos 0.1 M a pH de 7, la temperatura se operó mediante un baño de agua a 35°C, que de acuerdo a Van Haandel and Lettinga (1994) está dentro del rango de temperaturas mesofílicas en donde se presenta una eficiencia más alta de transformación de materia orgánica y el tiempo de duración de la digestión anaerobia fue fijado en 21 días, de acuerdo a CEPA (2008), donde se considera que los tiempos de reacción para la digestión anaerobia se encuentren entre los 21 y los 30 días (periodo en donde la producción de biogás ya no presenta un rendimiento significativo).

## 5.2 Métodos analíticos

En la tabla 5.1 se muestran las diferentes técnicas que se utilizaron para la caracterización y determinación de los diferentes parámetros durante la experimentación, así como una breve explicación en qué consisten y en donde pueden consultarse para una explicación más detallada. Se muestran entonces las determinaciones que se usaron para la caracterización del digestato.

**Tabla 5.1 Métodos analíticos**

<b>Determinación</b>	<b>Técnica y principio</b>	<b>Método</b>
Humedad	Gravimetría, obtenida por diferencia entre la masa inicial y los sólidos totales.	APHA, 2540-B
Sólidos totales	Gravimetría, sólidos secados a una temperatura de 103 a 105°C.	APHA, 2540-B
Sólidos volátiles y fijos	Gravimetría, sólidos previamente secados a 105°C e incinerados a 550°C.	APHA, 2540-E
Demanda química de oxígeno	Fotometría, digestión ácida a 150°C en reflujo cerrado durante 2 horas, lectura a 600 nm.	APHA, 5220-D
Nitrógeno Kjeldahl	Titulación, digestión ácida con catalizador de selenio, posterior neutralización, destilación y titulación con H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0.02N	APHA, 4500-NH3 C 4500-NH3 E
N-NH <sub>4</sub>	Destilación y titulación con H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0.02N	APHA, 4500-NH3 C 4500-NH3 E
Fósforo total	Digestión ácida, ácido sulfúrico y ácido nítrico. Método colorimétrico del ácido vanadomolibdofosfórico a 470 nm.	APHA, 4500-P B 4 APHA, 4500-P C
Carbohidratos	Fotometría, fenol y sulfato de hidracina a 490 nm por el método colorimétrico de Dubois.	Dubois et al., 1956
Proteínas	Nitrogeno Kjeldahl multiplicado por factor de 6.25.	Cabbai et al., 2013
Grasas	Gravimetría, Extracción con éter y posterior evaporación (Método Soxhlet modificado).	APHA, 5520-D
Fibra cruda	Gravimetría, NDF-Fibra detergente neutra.	AOAC, 2012
Celulosa y lignina	Gravimetría, ADF-Fibra detergente ácida y ácido sulfúrico al 72%	AOAC, 2012

Determinación	Técnica y principio	Método
pH	Medido con potenciómetro Thermo Scientific Orion 2 Star	
Alcalinidad parcial (AP) e intermedia (AI)	Titulación con ácido sulfúrico 0.1 N de pH de la muestra hasta pH de 5.75 para AP y de 5.75 a 4.3 para AI	Perez y Torres, 2008
Índice alfa	Relación de alcalinidades $\alpha = AP / (AP + A)$	Perez y Torres, 2008
Ácidos Grasos Volátiles	Titulación en retroceso de pH 4 a 7 con NaOH 0.1 N de la muestra acidificada a pH 3.3 centrifugada y el sobrenadante puesto en ebullición	DiLallo y Albertson, 1961

### 5.3 Análisis estadístico

Los análisis estadísticos parten de un modelo experimental de dos factores con dos niveles de tratamiento cada uno cuya variable de respuesta será la diferencia del potencial de metano recuperado para cada reactor utilizando un pretratamiento del digestato con el método organosolv, utilizando el software R para un análisis ANOVA, el nivel de significancia utilizado será de 0.05 y se realizará un análisis de Tukey para determinar el efecto de las variables de temperatura y tiempo de retención celular en la digestión anaerobia del digestato, las diferencias significativas entre estas y la interacción entre las variables.

## CAPÍTULO VI

### RESULTADOS

#### 6.1 Resultados

El análisis de resultados obtenidos se presenta a continuación de acuerdo a las etapas descritas en el arreglo que se presentó en la metodología, así como la interpretación y discusión de acuerdo a lo reportado en literatura y a los datos reportados durante el desarrollo de la experimentación.

##### 6.1.1 Obtención de la FORSU

Es importante mencionar el método por el cual se obtuvo la FORSU, ya que es en estricto sentido la materia prima para la realización de este estudio. El muestreo se realizó en la estación de transferencia de Coyoacán, la cual según el inventario de residuos sólidos de la ciudad de México, cuenta con una eficiencia superior al 78% de la recolección separada (GDF, 2014). El muestreo se llevó a cabo de acuerdo a la norma mexicana NMX-AA-015-1985, que establece el método de cuarteo para toma de una muestra representativa y el día seleccionado correspondió a la recolección de residuos orgánicos, de acuerdo a datos obtenidos de la estación, diariamente descargan entre 380 y 450 camiones.

Se consideraron 50 camiones como total de la muestra y se utilizó parte de la carga de 15 camiones seleccionados aleatoriamente para tomar una muestra de entre 80 y 120 kg. Posteriormente por el método de cuarteo se redujo el tamaño de la muestra del tal forma que pudo ser empacada y transportada al Instituto de Ingeniería en Ciudad Universitaria, CDMX, para almacenamiento en un congelador a  $-20^{\circ}\text{C}$ , la densidad de la FORSU fue registrada en  $641.3 \text{ kg/m}^3$  (Campuzano 2015).

Se usaron tres equipos para disminuir el tamaño de partícula de la FORSU para la experimentación, con el objeto de homogenizar: en primer lugar se utilizó una licuadora industrial marca International, posteriormente por una extrusora marca Nixtamatic, para finalizar con un molino de discos de la marca Molinos de Rey con motor de medio caballo de potencia. Se obtuvieron residuos con un tamaño de entre 0.1-0.2 mm finales, los cuales fueron mezclados manualmente, para llevar a cabo una caracterización homogénea, en la tabla 6.2 del capítulo 6.2 se muestra la caracterización realizada a la FORSU por Campuzano (2015).

## 6.2 Estabilización del digestato

En esta etapa se llevó a cabo la mezcla de tres lodos, a los cuales se les conocerá como lodos A, B y C, que provienen de investigaciones realizadas en el grupo de trabajo y que fueron considerados como inóculos adaptados a la digestión de la FORSU, así como de un lodo granular proveniente de un reactor anaerobio para completar el digestato con el cual se desarrolló el resto de la experimentación.

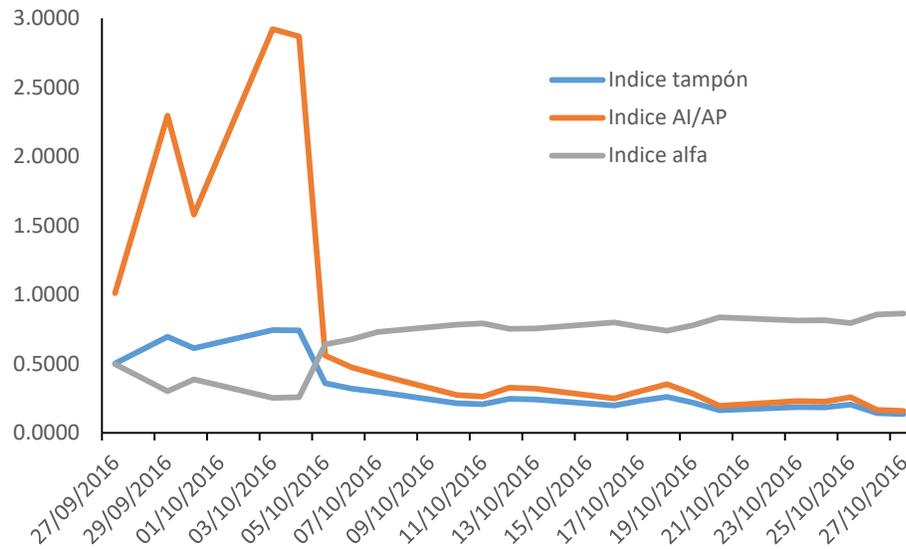
Cada uno de los lodos utilizados fue caracterizado de manera general mediante pruebas gravimétricas (tabla 6.1) para conocer la cantidad de sólidos totales, volátiles y fijos que aportaban a la mezcla. De manera simultánea se sometieron a una digestión anaerobia para corroborar la producción de biogás y el porcentaje que aportaba cada uno de  $CH_4$  y  $CO_2$ , para lo anterior se utilizaron 10 gSV en un reactor de 500 mL con 1 mL de solución de micronutrientes y completado el volumen de trabajo de 400 mL utilizando una solución amortiguadora de fosfatos 0.1 M a pH de 7, la temperatura de operación fue de 35°C. El tiempo que duró esta prueba fue de un par de días ya que el propósito de la prueba fue confirmar la producción de biogás. Los resultados se muestran en la tabla 6.1.

**Tabla 6.1 Caracterización de lodos para producción de digestato.**

	Lodo A		Lodo B		Lodo C	
	Valor	Unidades	Valor	Unidades	Valor	Unidades
<b>Humedad</b>	97.1	%	93.3	%	91.2	%
<b>Sólidos totales</b>	28.8	g/kg	67.2	g/kg	85	g/kg
<b>Sólidos volátiles</b>	18.3	g/kg	54.1	g/kg	55.9	g/kg
<b>Sólidos fijos</b>	10.5	g/kg	13.1	g/kg	29.1	g/kg
<b>SV/ST</b>	63.5	%	80.5	%	65.8	%
<b><math>CH_4</math></b>	10	%	30	%	23	%
<b><math>CO_2</math></b>	40	%	38	%	41	%

Se puede apreciar que los tres digestatos manejan una cantidad de sólidos inferior al 10%, lo cual respalda el hecho de que todos provienen de una digestión húmeda. Las relaciones de SV/ST son muy parecidas para el digestato A y C (entre el 63 y 65%) y aunque las cantidades de biogás registradas son similares, se refleja una menor producción de  $CH_4$  en comparación con el  $CO_2$ , mientras que para el digestato B la relación es superior al 80% y la producción de metano casi se iguala con la del dióxido de carbono, lo anterior confirma su capacidad para ser utilizados como inóculos.

Una vez realizada la mezcla se conformó el digestato, mismo que fue alimentado con FORSU descongelada, triturada y licuada utilizando una relación 1:1 de SV para aumentar la cantidad y disponibilidad del digestato durante la prueba. En este proceso y por un periodo de 30 días, lapso en el cual según CEPA (2008) la producción de biogás ya no presenta un rendimiento significativo, las condiciones de alcalinidad fueron monitoreadas para evitar la acidificación del medio, en la figura 6.1 se muestran los valores obtenidos de este monitoreo.



**Figura 6.1 Monitoreo de parámetros de alcalinidad.**

La figura 6.1 muestra que los valores más elevados del índice tampón y el índice Al/AP (alcalinidad intermedia y parcial) se presentaron al inicio de la etapa arranque que es cuando se alimentó al digestato, indicativo de la inestabilidad en el reactor. Debido a los valores registrados durante los primeros días se decidió agregar 10 g de bicarbonato de sodio por litro el quinto día, en total 200 g. Cabe mencionar que el rango de valores de pH nunca bajo de 7 y se mantuvo en el rango de 8.3 a 8.4 una vez que se logró estabilizar.

Se observa como al final de los 30 días de monitoreo se reportaron valores de 0.1 a 0.35 recomendados en la literatura para el índice tampón y de valores inferiores a 0.35 para el índice Al/AP. A diferencia de los otros indicadores entre más alto sea el índice alfa mejor es la capacidad de amortiguamiento en el sistema, por lo que el reactor logró recuperarse luego de la alimentación y establecerse en valores superiores a 0.7.

Una vez estabilizado el digestato, habiendo pasado 30 días desde su alimentación a 35°C, verificando su capacidad para producir biogás y estableciendo los parámetros de alcalinidad dentro de los valores propuestos por la bibliografía, se procedió a caracterizarlo de acuerdo a los métodos analíticos presentados en el capítulo 5.3. En la tabla 6.2 se muestra una comparación de los valores obtenidos de la caracterización de la FORSU por Campuzano (2015) y los valores obtenidos de la caracterización del digestato estabilizado antes de ser sometido al pretratamiento de organosolvatación.

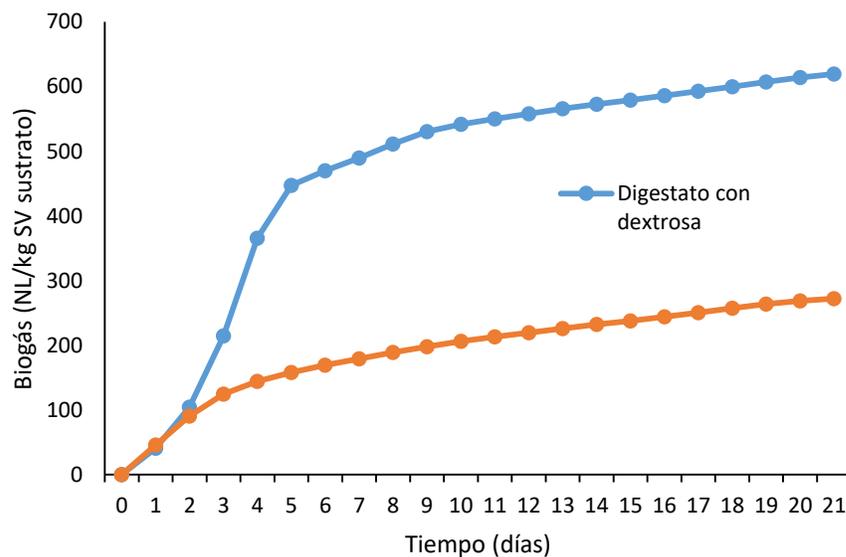
**Tabla 6.2 Comparación entre FORSU y digestato.**

Parámetro	FORSU (Campuzano, 2015)		Digestato	
	Valor	Unidades	Valor	Unidades
Humedad	70 ± 0.4	%	89.01 ± 2.1	%
Sólidos totales	297 ± 4.0	g/kg	130 ± 5	g/kg
Sólidos volátiles	223 ± 4.1	g/kg	72 ± 0.7	g/kg
Sólidos fijos	75 ± 0.5	g/kg	58 ± 0.5	g/kg
DQO	304 ± 11.4	gO2/kg	192 ± 8	gO2/kg
Carbohidratos	118 ± 6.9	g/kg	27 ± 6	mg/kg
Fibras crudas	88 ± 0.4	g/kg	54 ± 0.2	g/kg
Grasas y aceites	39 ± 3.9	g/kg	26 ± 0.5	g/kg
Proteínas	34 ± 0.8	g/kg	59 ± 5	mg/kg
Lignina	30 ± 1.9	g/kg	46 ± 0.05	g/kg
Celulosa	47 ± 1.9	g/kg	4 ± 0.05	g/kg
Hemicelulosa	12 ± 0.2	g/kg	4 ± 0.03	g/kg
Nitrógeno Kjeldahl	5.4 ± 0.1	g/kg	9.0 ± 0.9	mg/kg
Fósforo total	1.8 ± 0.05	g/kg	46 ± 5	mg/kg

Como se puede apreciar alrededor del 13% de SV es lignina, mientras que el 53% son carbohidratos, siendo el 50% de estos, los compuestos lignocelulósicos restantes (celulosa y hemicelulosa), por lo que, por cada kilogramo de FORSU alrededor de 132 gramos pueden ser utilizados por microorganismos para producir biogás, siendo los otros 91 gramos, material de difícil aprovechamiento. En el caso del digestato alrededor del 62% de SV es lignina, mientras que casi un 38% son carbohidratos, de los cuales el 15% corresponde a celulosa y hemicelulosa, de lo cual se observa que por cada kilogramo de digestato, 50 gramos aproximadamente pueden ser aún biodegradados, mientras que los restantes 22 gramos son compuestos recalcitrantes, esto justifica la utilización de un pretratamiento para solubilizar la biomasa lignocelulósica e incrementar la producción de biogás a partir del digestato de la FORSU.

De manera simultánea se corrieron por triplicado un par de digestiones anaerobias del digestato estabilizado, para cuantificar la producción de biogás que presentaba. En ambas digestiones la temperatura establecida fue de 35°C y un tiempo de permanencia de 21 días, para lo que se utilizaron reactores de 500 mL en el equipo AMPTS, además en ambas se adicionó un 1 mL de solución de micronutrientes y se completó el volumen de trabajo de 400 mL utilizando una solución amortiguadora de fosfatos 0.1 M a pH de 7, para conseguir condiciones anaerobias dentro del reactor se inyectó gas nitrógeno para desalojar el aire contenido. En la primera digestión se adicionaron 8 gSV de digestato y 2 gSV de dextrosa como control, mientras que en la segunda fueron 10 gSV de digestato.

En la figura 6.2 se observa como hasta el día dos el comportamiento es similar en ambas digestiones; sin embargo, para el día tres la producción de metano en la digestión 1 que cuenta con 2gSV como dextrosa se eleva, lo anterior debido a que la dextrosa al ser un carbohidrato de fácil degradación es utilizado por los microorganismos para generar biogás, no obstante se observa que a partir del día once la producción de biogás muestra un comportamiento asintótico, justo como el digestato de la digestión 2 desde el arranque, el cual al no contar con un sustrato como la dextrosa se puede pensar que produjo biogás de forma endógena. A partir del registro de biogás producido es posible determinar la producción específica de biogás respecto al digestato y a los sólidos volátiles como se muestra en la tabla 6.3.



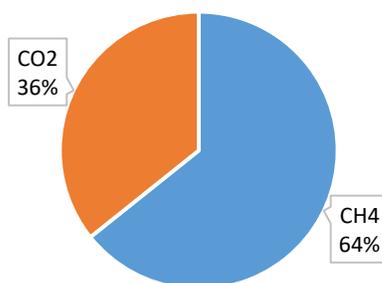
**Figura 6.2 Producción de metano del digestato.**

En comparación con la producción que se obtiene de la FORSU, la producción de metano que se genera en el digestato, de acuerdo a la tabla 6.3 es de alrededor del 32% respecto a los sólidos volátiles para el digestato como blanco y de alrededor del 73% para la digestato con dextrosa. Lo cual demuestra que el digestato continúa produciendo biogás aunque en menor medida, al parecer de forma endógena mientras se presenten las condiciones para la digestión anaerobia, además este comenzará la degradación de materia orgánica en cuanto entre en contacto con más sustrato, como en el caso de la digestión con dextrosa.

**Tabla 6.3 Producción específica de metano.**

FORSU (Campuzano, 2015)		Digestato como blanco		Digestato con dextrosa	
Valor	Unidades	Valor	Unidades	Valor	Unidades
541 ± 14	NL CH <sub>4</sub> /kgSV	175 ± 24	NL CH <sub>4</sub> /kgSV	393 ± 43	NL CH <sub>4</sub> /kgSV
120	NL CH <sub>4</sub> /kg	14 ± 2	NL CH <sub>4</sub> /kg	32 ± 3	NL CH <sub>4</sub> /kg

Para conocer la relación de metano que se producía durante el proceso, se tomaron muestras mediante inyecciones que tomaban 5 ml del gas producido en los reactores, para ser analizadas en el cromatógrafo de gases y conocer la concentración de metano y dióxido de carbono presentes en el medio. De la interpretación de los cromatogramas se corrobora que efectivamente el gas producido de las digestiones realizadas con el digestato es biogás y qué porcentaje corresponde a CH<sub>4</sub> y a CO<sub>2</sub>. En la figura 6.3 se muestra el resumen de los datos recabados a partir de los cromatogramas realizados para cada digestión.



**Figura 6.3 Porcentaje de producción de metano y dióxido de carbono.**

Para el digestato como blanco el porcentaje de producción de metano a partir de la materia orgánica mediante digestión anaerobia fue de  $64.3 \pm 0.8\%$  del total de la muestra, mientras que para el digestato con dextrosa fue de  $63.6 \pm 5.2\%$ . Lo anterior indica que el uso de digestato como inóculo es adecuado para la degradación de materia orgánica y como sustrato presenta las condiciones adecuadas para brindarle un pretratamiento que mejore la producción de biogás a partir de los compuestos recalcitrantes presentes en su composición.

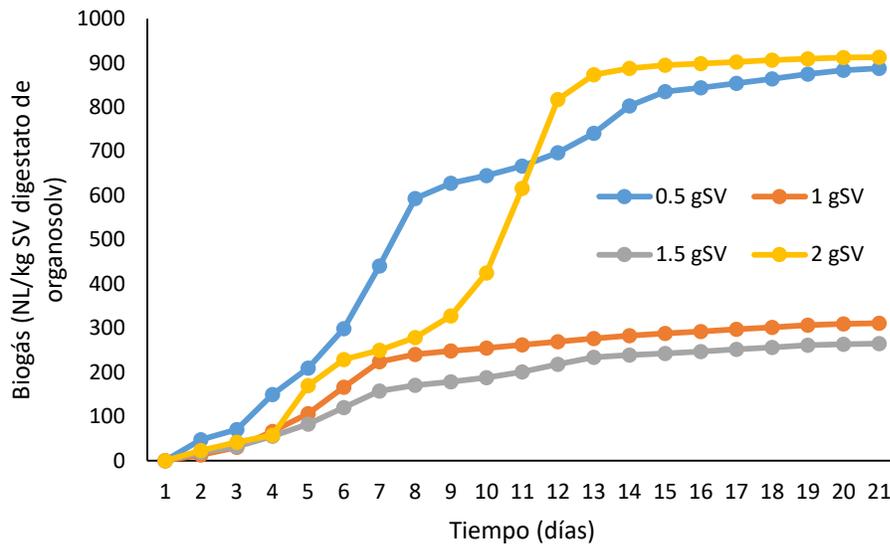
### **6.3 Selección de solvente**

Para esta etapa el digestato utilizado ya había sido estabilizado, se había corroborado su capacidad como inóculo, como generador de biogás y se conocía su composición de acuerdo a los parámetros establecidos. Por lo que se llevó a cabo la selección de los diferentes solventes a utilizar para la prueba de organosolv. De acuerdo a Wikandari et al. (2014) se establece al hexano, éter etílico, diclorometano y acetato de etilo, como solventes adecuados para extraer compuestos orgánicos de materiales orgánicos, enfocándose en la producción de biogás.

Para cada solvente establecido se utilizó una relación en peso de digestato y solvente de 1:4, respectivamente, para cuatro valores en gramos de sólidos volátiles del digestato (0.5, 1, 1.5 y 2) por duplicado, se agitó por diez minutos a temperatura ambiente ( $20^{\circ}\text{C}$ ) y se sometió a incubación a la misma temperatura por 20 minutos, conforme a la metodología explicada en el capítulo 5 de metodología.

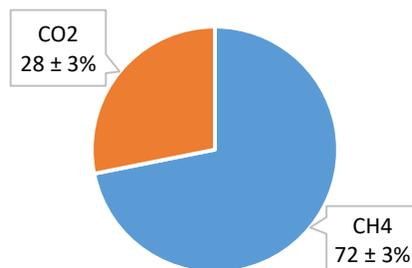
### 6.3.1 Acetato de etilo

El primer solvente utilizado para la experimentación fue el acetato de etilo, en la figura 6.4 se muestran los resultados obtenidos con este solvente para el pretratamiento del digestato.



**Figura 6.4 Producción específica de biogás con acetato de etilo.**

En la figura 6.4 se puede observar como la producción específica de biogás presenta un mejor rendimiento para las cantidades utilizadas de 0.5 gSV y 2 gSV de digestato tratado con acetato de etilo, que corresponde a 888 y 913 LN/kgSV, mientras que para 1 gSV y 1.5 gSV la producción fue de 311.1 y 265 LN/kgSV, respectivamente. Si se considera el porcentaje de metano y dióxido de carbono medido a través de los cromatogramas se tiene que la producción más alta de metano respecto a los SV utilizados, corresponde a 2gSV con 678 LNCH<sub>4</sub>/kgSV. En la figura 6.5 se muestra el promedio de composición de CO<sub>2</sub> y metano en el biogás para pretratamiento con acetato de etilo.

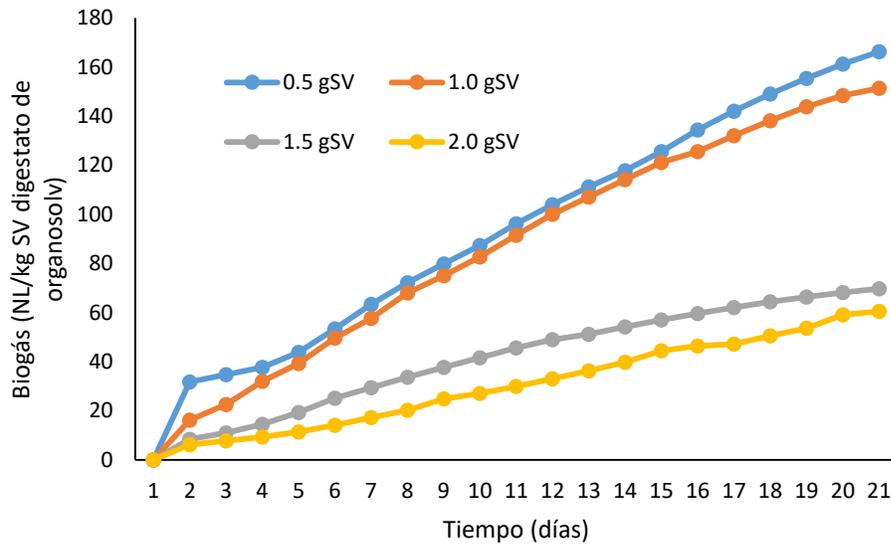


**Figura 6.5 Porcentaje de producción de metano y dióxido de carbono con acetato de etilo.**

De lo anterior se puede decir que la producción más eficiente de metano utilizando acetato de etilo como solvente para el pretratamiento de la biomasa lignocelulósica corresponde a 2gSV registrándose 47 LNCH<sub>4</sub>/kg de digestato tratado con acetato de etilo.

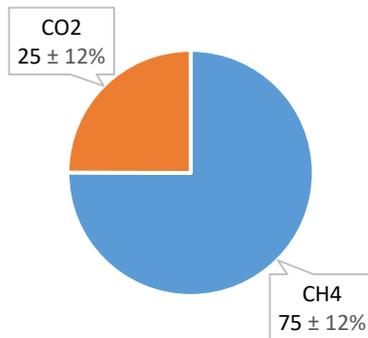
### 6.3.2 Éter etílico

El segundo solvente evaluado para determinar la producción de metano a partir del digestato fue el éter etílico, en la figura 6.6 se muestran los resultados obtenidos producción específica de biogás a partir de las pruebas realizadas.



**Figura 6.6 Producción específica de biogás con éter etílico.**

La figura 6.6 muestra que la producción específica de biogás posee un rendimiento mayor para las cantidades de digestato tratado con éter etílico de 0.5 y 1 gSV, las cuales generan valores, respectivamente, de 166.2 y 151.4 LN/kgSV y para los valores de 1.5 y 2 gSV, datos de 69.8 y 60.6 LN/kgSV. De acuerdo a los valores obtenidos de los cromatogramas realizados durante la duración de las pruebas se determinó que la producción más alta de metano en relación a los SV empleados es de 117 LNCH<sub>4</sub>/kgSV generada por 1 gSV. En la figura 6.7 se muestran los porcentajes promedio de CO<sub>2</sub> y metano en el biogás.

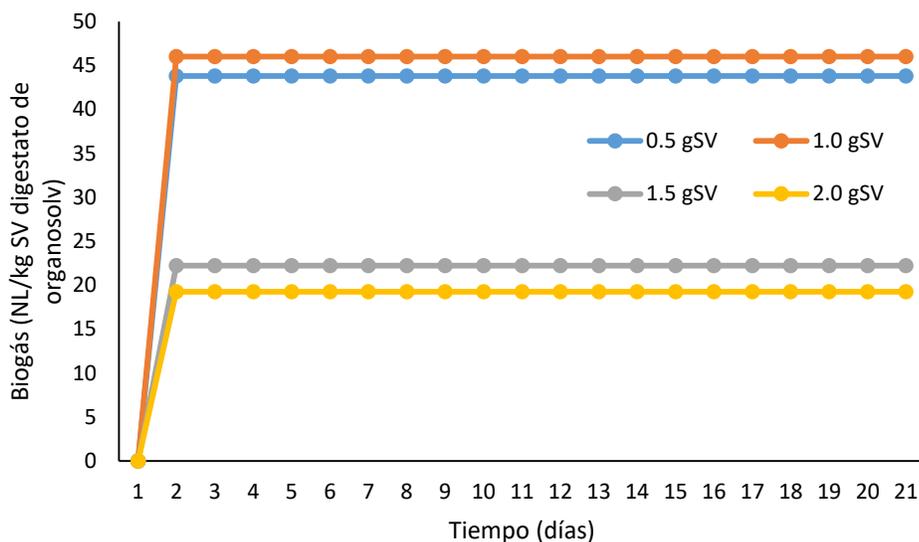


**Figura 6.7 Porcentaje de producción de metano y dióxido de carbono con acetato de etilo**

La producción más eficiente utilizando éter etílico para producción de metano a partir del tratamiento de la materia recalcitrante presente en el digestato, corresponde a 1 gSV con una producción específica de 8 LN/kg de digestato tratado con éter etílico.

### 6.3.3 Diclorometano

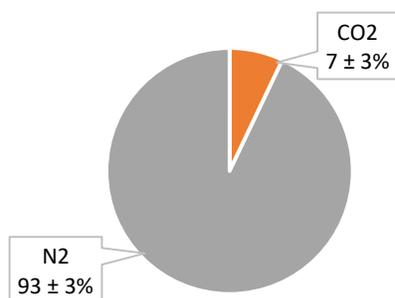
El diclorometano fue el tercer solvente utilizado en esta experimentación para probar su capacidad de solubilizar materia recalcitrante que será aprovechada para aumentar la producción de biogás presente en el digestato, en la figura 6.8 se muestran los resultados obtenidos a partir de este solvente.



**Figura 6.8 Producción específica de biogás con diclorometano.**

La figura 6.8 presenta una curva de producción atípica de los solventes hasta este momento utilizados, generando lo que podría interpretarse como la inhibición del proceso de digestión

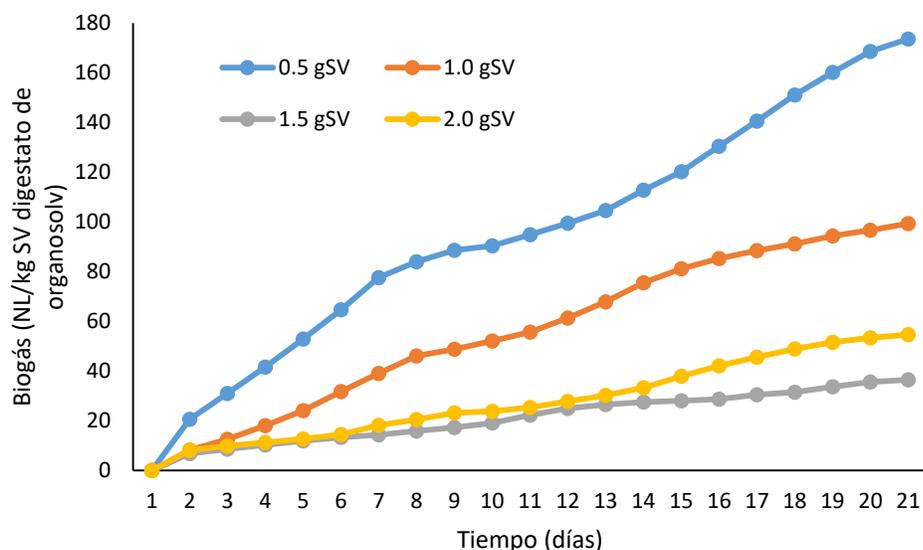
anaerobia, pues la producción de biogás se detuvo por completo para los cuatro casos el segundo día de la prueba; sin embargo, hasta ese momento las cantidades de producción específicas de biogás para 0.5, 1, 1.5 y 2 gSV fueron de 43.8, 46, 22.2 y 19.25 LN/kgSV. Los valores reportados en los cromatogramas realizados muestran que no hubo producción de metano y que solo se produjo en promedio un 7% de CO<sub>2</sub>, insuficiente para desplazar el contenido de nitrógeno utilizado para establecer condiciones anaerobias, ver figura 6.9 donde solo se produjo CO<sub>2</sub> en el biogás.



**Figura 6.9** Porcentaje de producción de metano y dióxido de carbono con diclorometano.

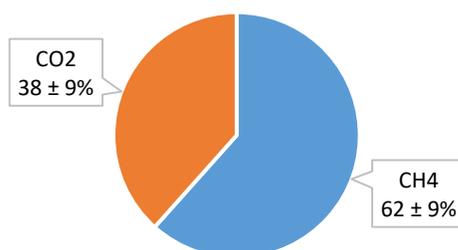
### 6.3.4 Hexano

El último solvente utilizado para evaluar la producción de metano a partir del digestato fue el hexano, en la figura 6.10 se muestran los resultados que se obtuvieron haciendo uso de este solvente para el tratamiento de la biomasa lignocelulósica.



**Figura 6.10** Producción específica de biogás con hexano.

En la figura 6.10 se observa que la producción específica de biogás posee un rendimiento mayor para las cantidades de digestato tratado con hexano de 0.5 y 1 gSV, los cuales generan valores de 173.6 y 99.3 LN/kgSV, respectivamente, y para los valores de 1.5 y 2 gSV datos correspondientes de 36.5 y 54.6 LN/kgSV. De acuerdo a los valores obtenidos de los cromatogramas realizados durante la duración de las pruebas, se determinó que la producción más alta de metano en relación a los SV empleados es de 98.3 LNCH<sub>4</sub>/kgSV generada por 0.5 gSV. Ver figura 6.11 con proporciones de CO<sub>2</sub> y metano, como porcentaje del biogás.

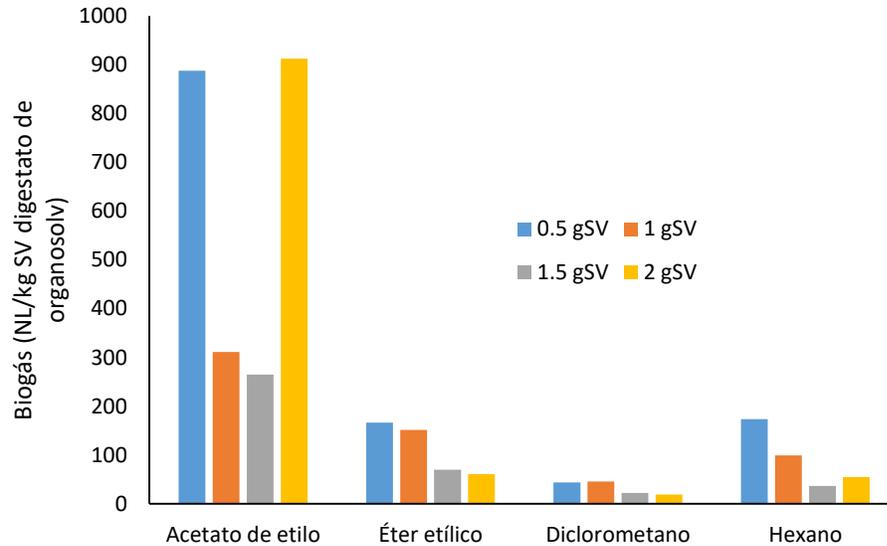


**Figura 6.11 Porcentaje de producción de metano y dióxido de carbono con hexano.**

La producción más eficiente de producción de metano utilizando hexano para el tratamiento de la materia recalcitrante presente en el digestato, corresponde a 0.5 gSV con una producción específica de 7 LN/kg de digestato tratado con éter etílico.

### 6.3.5 Integración de resultados para la selección de solventes

De los resultados generados durante el proceso de selección de solvente que presentara el mejor rendimiento en la producción de metano, se obtuvo la capacidad para determinar cuál es el más eficiente para su utilización en el diseño experimental propuesto, basándose en los datos recabados y en el análisis elaborado a partir de la figura 6.12.



**Figura 6.12 Resumen de resultados obtenidos para la selección de solventes.**

A partir de la figura 6.12 se puede establecer que, para todas las cantidades utilizadas de SV propuestas, el acetato de etilo presentó el rendimiento de producción de biogás más alto, con una producción específica para 2 gSV de 913 LN/kgSV que equivale a 47 LNCH<sub>4</sub>/kg de digestato tratado con acetato de etilo, otro valor representativo fue el de 0.5 gSV aportado de igual forma por el acetato de etilo con 888 LN/kgSV equivalente a 42 LNCH<sub>4</sub>/kg de digestato tratado con acetato de etilo.

Del éter etílico el valor más alto obtenido fue para 0.5 gSV con 166 LN/kgSV equivalentes a 7 LNCH<sub>4</sub>/kg de digestato tratado con éter etílico; sin embargo, para el éter etílico la producción específica más alta de metano la obtuvo 1 gSV con 151 LN/kgSV equivalentes a 8 LNCH<sub>4</sub>/kg de digestato tratado con éter etílico, lo que la convierte en la más eficiente al menos para este solvente.

En el caso del diclorometano la producción de biogás sufrió un proceso de inhibición en todas sus variantes, por lo cual fue descartado del proceso de selección para llevar a cabo la prueba de organosolv con el diseño experimental propuesto. El hexano tuvo su eficiencia más alta con 0.5 gSV que representan 173 LN/kgSV equivalentes a 7 LNCH<sub>4</sub>/kg de digestato tratado con hexano.

Los resultados de esta etapa reflejan por lo tanto que el solvente que presenta un rendimiento superior bajo estos niveles de tratamiento fue el acetato de etilo, por lo que fue el solvente seleccionado para el desarrollo de la tercera etapa de experimentación.

## 6.4 Pretratamiento con organosolv

Una vez iniciado el desarrollo de esta etapa, la selección de solvente ya se había designado, dejando claramente y sin necesidad de llevar a cabo un análisis estadístico a detalle al acetato de etilo como el solvente que más favorecía la producción de biogás a partir del digestato utilizado.

La etapa tres se caracterizó por presentar un diseño experimental que permite determinar a partir de un análisis estadístico detallado la influencia o nivel de significancia que presentan las variables designadas en la generación de los resultados, así como la interacción que presentan y su relación con la variable de respuesta. Se delimitó el estudio a dos tratamientos, el primero temperatura y el segundo tiempo de contacto digestato con solvente. A cada uno se le asignaron dos niveles de tratamiento (tabla 6.3), en el caso de la temperatura quedó en 20°C (T1) y 40°C (T2), mientras que para el caso del tiempo de contacto se estableció en 10 minutos (C1) y 60 minutos (C2).

**Tabla 6.3 Diseño experimental.**

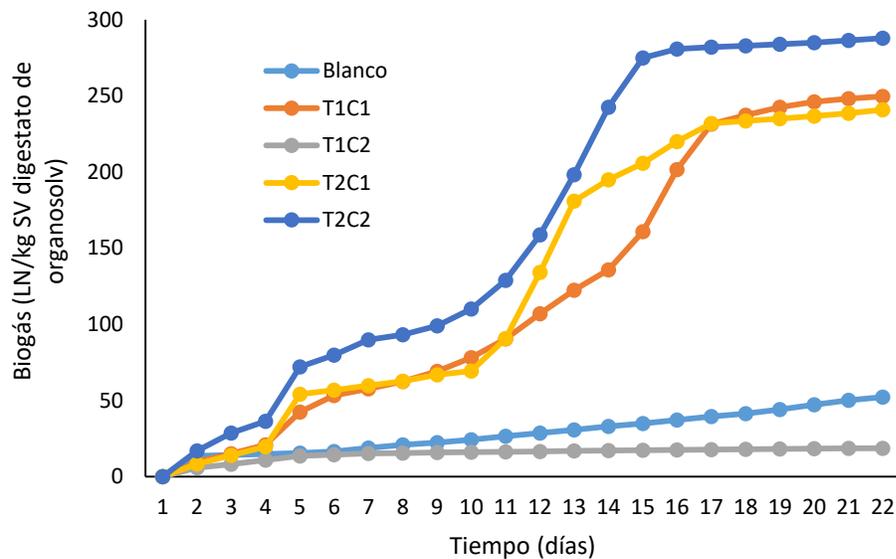
<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Tiempo (minutos)</b>	
20 (T1)	10 (C1)	60 (C2)
40 (T2)	10 (C1)	60 (C2)

Para cada combinación realizada se consideró el tratamiento con 2 gSV de digestato, por ejemplo: se tomaron 2 gSV equivalentes a 21.6 g de digestato previamente estabilizado y se sometieron al proceso con organosolv. Este consistió en agregar una relación en peso 1:1 de digestato con solvente y utilizar una combinación de los factores establecidos como permanecer a 20°C (T1) en contacto por 10 minutos (C1). Posteriormente al igual que en la selección, el solvente es retirado mediante succión al vacío y lavado con agua.

En esta etapa se caracterizó el digestato que de acuerdo al análisis estadístico y a la digestión anaerobia realizada en el siguiente subcapítulo presentó la combinación de tratamientos más favorable para la producción de biogás, se tomó la decisión de presentar los resultados generados de esta caracterización en el subcapítulo siguiente a manera de ser más ilustrativo.

## 6.5 Digestión anaerobia del digestato pretratado

Una vez realizadas cada una de las combinaciones propuestas en el diseño experimental por triplicado, se procedió a utilizar el digestato solvatado y lavado de cada prueba como sustrato para cuantificar la producción de biogás que tenía como potencial. Se preparó un blanco por triplicado que contenía 10 gSV de digestato sin tratamiento de solvatación y se prepararon las demás combinaciones. Para cada caso usaron 8 gSV de digestato sin tratamiento alguno como fuente de biomasa activa, un mL de solución de micronutrientes para todos los casos incluido el blanco y en cada caso particular los sólidos resultantes de los 2 gSV de digestato que se habían solvatado con su respectiva combinación. En todos los casos fueron utilizados reactores de vidrio de 500 ml del equipo AMPTS, completando el volumen de trabajo de 400 mL con una solución amortiguadora de fosfatos 0.1 M a pH de 7. Las condiciones del proceso de digestión fueron 35°C por 21 días, en la figura 6.13 se muestran los resultados obtenidos a partir de este proceso.



**Figura 6.13 Producción de biogás a partir de los tratamientos establecidos.**

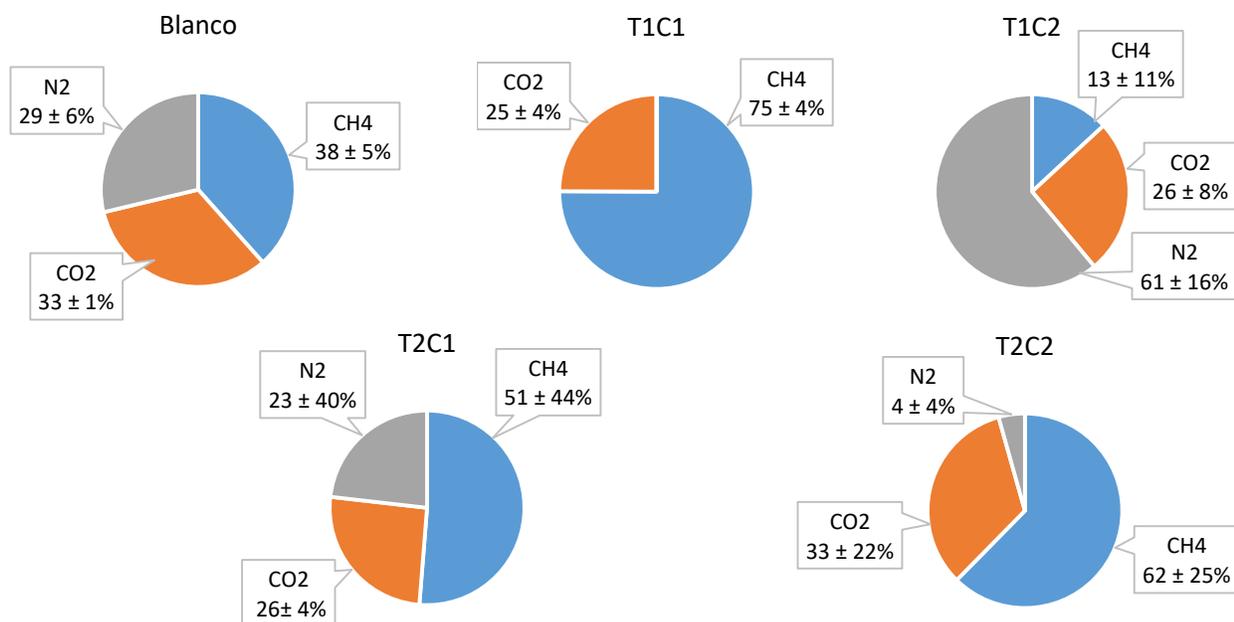
La producción específica de biogás para el blanco fue de 52 LN/kgSV, superando la combinación T1C2 correspondiente a 20°C y 60 minutos de contacto, la cual generó solo 18 LN/kgSV, un 65% menos que el blanco y se presentó como la combinación más desfavorable para la producción de biogás. En orden ascendente la combinación T2C1 con la configuración de 40°C y 10 min de tiempo de contacto presentó una producción de 241 LN/kgSV, 4.5 veces más que lo generado por el blanco y muy cercano a lo reportado para la combinación T1C1 con la configuración de 20°C y 10 minutos de contacto que tuvo una producción de biogás de 250 LN/kgSV con 4.8 veces

más que el blanco. Por último, la combinación T2C2 con 40°C y 60 minutos de contacto, fue la que mayor producción de biogás reportó, con un valor de 288 LN/kgSV equivalente a 5.5 veces lo logrado por el blanco.

Las curvas muestran que la producción de biogás decae drásticamente del día 14 al 16 para permanecer casi nula hasta el final de las pruebas. La combinación obtenida de T1C2 cesa la producción de biogás el día 14, T1C1 lo hace el día 16, mientras que T2C1 presenta un comportamiento diferente al repuntar el día 10 y disminuir drásticamente el día 16.

### 6.5.1 Producción específica de metano

Durante el proceso de la digestión anaerobia fueron tomadas lecturas de la composición del biogás generado por cada combinación de tratamientos y a partir de los cromatogramas se determinó la producción específica de metano (figura 6.14).



**Figura 6.14 Porcentaje de producción de metano y dióxido de carbono con las diferentes combinaciones en los tratamientos establecidos.**

De los porcentajes registrados en los cromatogramas y que se pueden apreciar en la figura 6.14, es posible determinar la producción específica de metano producido para cada una de las posibles combinaciones, se observa que los porcentajes fueron muy diversos para cada tratamiento, presentándose el valor más bajo en la combinación T1C2 que corresponde con la

producción específica más baja de producción de biogás mostrado en la figura 6.13, fuera de ese particular caso tanto el blanco como las otras combinaciones presentan valores típicos en el intervalo de producción de biogás con una producción de metano de entre 40 y 75% y de dióxido de carbono de 20 a 55% según bibliografía. En la tabla 6.4 se detallan las producciones específicas de metano para cada prueba.

**Tabla 6.4 Producción específica de metano para cada tratamiento establecido con organosolv.**

	LN/kgSV	LN/kg digestato	LNCH <sub>4</sub> /kgSV	LNCH <sub>4</sub> /kg digestato
Blanco	52.12	3.65	20.03	1.40
T1C1 (20°C 10min)	249.57	17.49	187.35	13.13
T1C2 (20°C 60min))	18.6	1.30	2.44	0.17
T2C1 (40°C 10min)	240.75	16.87	123.41	8.65
T2C2 (40°C 60min)	287.72	20.17	179.42	12.58

En la tabla 6.4 se observan las diferentes producciones específicas generadas durante la prueba tanto de biogás como de metano, la combinación T2C2 es la que tuvo una producción específica más alta de biogás y metano, midiéndose para este último 179.4 LNCH<sub>4</sub>/kgSV que equivalen a 12.6 LNCH<sub>4</sub>/kg de digestato tratado con acetato de etilo a una temperatura de 40°C y un tiempo de contacto de 60 minutos; sin embargo, la combinación T1C1 a pesar de que presentó una producción ligeramente menor de biogás con 249.6 LN/kgSV obtuvo una producción mayor de metano con 187.4 LNCH<sub>4</sub>/kgSV equivalentes a 13.1 LNCH<sub>4</sub>/kg de digestato tratado con acetato de etilo a una temperatura de 20°C y un tiempo de contacto de 10 minutos.

De acuerdo a Campuzano y González-Martínez (2015) la producción específica de metano para la FORSU de la ciudad de México es de 545 LNCH<sub>4</sub>/kgSV, por lo que para el tratamiento T2C2 representa un 33% más de metano liberado por el tratamiento de organosolvatación.

### 6.5.2 Caracterización del digestato tratado con organosolv

De acuerdo al no rechazo de las hipótesis propuestas en el análisis estadístico desarrollado en el anexo 1, se determinó que la combinación más favorable fue la representada por T2C2 (temperatura 40°C y tiempo de contacto 60 minutos) debido a que presentó la producción más

alta de biogás durante el desarrollo de las pruebas realizadas, por lo que se procedió a caracterizar el digestato producto de este tratamiento. Los resultados obtenidos se presentan en la tabla 6.5.

**Tabla 6.5 Caracterización del digestato antes y después del proceso de organosolv (\* unidades en mg/kg).**

	<b>Digestato antes de tratamiento (g/kg)</b>	<b>Digestato después de tratamiento (g/kg)</b>
Sólidos totales	130 ± 5	130 ± 0.5
Sólidos volátiles	72 ± 0.7	70 ± 0.7
VS/TS (%)	55	54
DQO	192 ± 8	144 ± 15
Grasas	26 ± 0.5	26 ± 0.7
Carbohidratos *	27 ± 6	78 ± 18
Celulosa	4 ± 0.05	3 ± 2
Hemicelulosa	4 ± 0.03	2 ± 1
Lignina	46 ± 0.05	42 ± 2
Fibras crudas	54 ± 0.2	47 ± 1.2
Proteínas *	59 ± 5	31 ± 0.3
Nitrógeno Kjeldahl *	9 ± 0.9	5 ± 0.04
Fósforo total *	46 ± 5	44 ± 3

La tabla 6.5 muestra las características del digestato antes y después del tratamiento de organosolv a partir de la FORSU obtenida en la estación de transferencia de Coyoacán en la ciudad de México. Se observa la disminución en los valores de SV y en la relación de SV/ST después del proceso debido a que la organosolvatación genera una extracción de materiales orgánicos potencialmente solubles. De igual forma el parámetro de DQO disminuyó después del proceso. El contenido de grasas se mantuvo constante, evidenciando la no interacción con el proceso, mientras que el contenido de carbohidratos se incrementó de manera notable demostrando la solubilización de compuestos lignocelulósicos en carbohidratos solubles casi tres veces más debido al tratamiento. Esto queda demostrado en la reducción de hemicelulosa en aproximadamente 50%, mientras que para la celulosa la reducción fue de un 25%. En el caso del nitrógeno las muestras disminuyeron en casi un 50%, mientras que el fósforo no presentó cambios significativos disminuyendo solo un 5%.

## CAPÍTULO VII

### CONCLUSIONES

En el desarrollo de este trabajo se evaluó la producción de biogás, específicamente metano residual del digestato obtenido a partir de la fracción orgánica de residuos sólidos urbanos de la ciudad de México. Esta propuesta experimental incluyó la evaluación de la producción de metano bajo un tratamiento con solventes del digestato de la FORSU. La parte central se enfocó en la propuesta de las condiciones para un pretratamiento al digestato, mediante organosolvatación incrementando la materia orgánica soluble capaz de ser biodegradada por microorganismos para aumentar la producción de metano. Las conclusiones obtenidas durante la experimentación se presentan a continuación.

- El digestato producido a partir de la digestión de la FORSU puede ser utilizado como inóculo y continuar produciendo biogás con valores de alrededor del 35% de lo que produciría con FORSU fresca como sustrato.
- Existe materia orgánica recalcitrante presente en el digestato capaz de ser solubilizada y posteriormente biodegradada por microorganismos haciendo uso de un pretratamiento de solvatación.
- El acetato de etilo fue el solvente de entre aquellos pretratamientos delimitados para esta experimentación que presentó el mejor rendimiento en la producción de biogás y en su concentración de metano.
- La producción medida de metano para la combinación T2C2, con 40°C de temperatura y 60 minutos de tiempo de contacto, fue la que presentó un mejor rendimiento con valores de 187 LNCH<sub>4</sub>/SV, casi un 82% más alto que la producción del control (digestato sin solvatación).
- Estadísticamente los resultados mostraron que no existe una interacción significativa para los parámetros de temperatura y tiempo de contacto, de igual forma ninguno de los valores propuestos para los factores analizados fue significativo.
- La opción más viable económicamente es la combinación T1C1, con 20°C de temperatura y 10 minutos de tiempo de contacto, con una producción de 162 LNCH<sub>4</sub>/SV, un 79% más alto que el control.

## BIBLIOGRAFÍA

- Abdullah, Y.A., Akunna, J.C., White, N.A., Hallet, P.D. and Wheatly, R. 2008. Investigating the effect of anaerobic and aerobic post treatment in quality and stability on organic fraction of municipal solid waste as solid amendment. *Bioresource Technology*. 99, 8631-8636.
- Agler, M.T., Wrenn, B.A., Zinder, S.H., Angenent, L.T. 2011. Waste to bioproducto conversion with undefined mixed cultures: the carboxylate platform. *Trends Biotechnol.* 29, 70–78.
- Amon, T., Amon, B., Kryvoruchko, V., Zollitsch, W., Mayer, K., Gruber, L., 2007b. Biogas production from maize and dairy cattle manure—influence of biomass composition on the methane yield. *Agric. Ecosyst. Environ.* 118, 173–182.
- Archer, D. B., and Harris, J. E. 1986. Methanogenic bacteria and methane production in various habitats. In *Anaerobic Bacteria in Habitats Other Than Man*, edited by E. M. Barnes and G. C. Mead, pp. 185– 223. Blackwell Scientific Publications
- Belgiorno, V., Panza, D., Russo, L., Amodio, V. and Cesaro, A. (011) Alternative options to landfill disposal of mechanically sorted organic fraction from municipal solid waste. *Int. J. Chem. Eng.-Special issue prog. Landfill manage. Landfill emissions reduction.* 318-335.
- Bouallagui, H., Torrijos, M., Godon, J.J., Moletta, R., Ben-Cheikh, R., Touhami, Y., Delgenes, J.P., Hamdi, M. 2004. Microbial monitoring by molecular tools of a two-phase anaerobic bioreactor treating fruit and vegetable wastes. *Biotechnology letters.* 26(10), 857-862.
- Brown, D., Shi, J., Li, Y. 2012. Comparison of solid-state to liquid anaerobic digestion of lignocellulosic feedstocks for biogas production. *Bioresour. Technol.* 124, 379–386.
- Brown, R.C., 2003. *Biorenewable Resources: Engineering New Products from Agriculture*, 1st ed. Iowa State Press, Ames.
- Campuzano, R. 2015. *Lixiviación de residuos sólidos orgánicos urbanos para incrementar la rapidez de producción de biogás*. Tesis de doctorado. Programa de posgrado de maestría y doctorado en ingeniería, UNAM, México.
- Campuzano, R. and González-Martínez, S. 2015. Extraction of soluble substances from organic solid municipal waste to increase methane production. *Bioresource Technology*. **178**; 247-253.
- Castillo, M.E., Cristancho, D. 2003. Estudio de las condiciones de operación para la digestión anaerobia de residuos sólidos urbanos. *Revista colombiana de biotecnología* vol. V no. 2, 11-22.
- Cecchi, F., Mata-Álvarez, J., Marcomini, A., and Pavan, P. 1991. First order and step diffusional kinetic models in simulating the mesophilic anaerobic digestion of complex substrate. *Bioresource Technology* 36, 261-269.

- Cecchi, F., Traverso, P., Pavan, P., Bolzonella, D. and Innocenti, L., 2003. Characteristics of the OFMSW and behavior of the anaerobic digestion process, in: J. Mata-Alvarez (Ed.), *Biomethanization of the organic fraction of municipal solid waste*, IWA Publishing. Padstow, pp 141-179.
- CEPA 2008. *Current anaerobic digestion technologies used for treatment of municipal organic solid waste*. California environmental protection agency.
- Chambers, B. 2011. Digestate utilization on agricultural land. ADAS.
- Cherubini, F., Strømman, A. 2011. Chemicals from lignocellulosic biomass: opportunities, perspectives, and potential of biorefinery systems. *Biofuels Bioprod. Biorefin.* 5, 548–561.
- CITEC 2000. Le line guida per la progettazione, la realizzazione e la gestione degli impianti a tecnologia complessa per lo smaltimento dei rifiuti urbano. A cura di A. Magagnì. Ed. Hyper.
- De Baere, L. 2000. Anaerobic digestion of solid waste: state of the art. *Wat. Sci. Tech.* 41(3), 283-290.
- De Baere, L. 2006. Will anaerobic digestion of solid waste survive in the future? *Water science and technology.* 153 (8), 187-194.
- Donohoe BS, Decker SR, Tucker MP, Himmel ME, Vinzant TB. Visualizing lignin coalescence and migration through maize cell walls following thermochemical pretreatment. *Biotechnol Bioeng.* 2008;101(5):913–25.
- Drennan, M.F., Distefano, T.D. 2010. Characterization of the curing process from high-solids anaerobic digestion. *Bioresour. Technol.* 101(2), 537–544 (2010)
- Eriksson T, Borjesson J, Tjerneld F. 2002. Mechanism of surfactant effect in enzymatic hydrolysis of lignocellulose. *Enzyme Microb Technol.* 31(3):353–64.
- Evangelisti, S., Lettieri, P., Borello, D., Clift, R. 2014. Life cycle assessment of energy from waste via anaerobic digestion: a UK case study. *Waste Management* 34, 226-237.
- Frigon, J.C., Guiot, S.R. 2010. Biomethane production from starch and lignocellulosic crops: a comparative review. *Biofuels Bioprod. Biorefin.* 4, 447–458.
- Fuchs, W. and Drog, B. 2013. Assessment of the state of the art of technologies for the processing of digestate residue from anaerobic digesters. *Water Science & Technology* 67.9.
- Gao X, Kumar R, Singh S, Simmons BA, Balan V, Dale BE, Wyman CE. 2014. Comparison of enzymatic reactivity of corn stover solids prepared by dilute acid, AFEX, and ionic liquid pretreatments. *Biotechnol Biofuels.* 7:71.

- Glenn, A.R. 1976. Production of extra-cellular proteins by bacteria. *Ann. Rev. Microbiol.* 30, 41-62.
- Gomez, X., Cuetos, M.J., Garcia, A.I., Moran, A. 2007. An evaluation of stability by thermogravimetric analysis of digestate obtained from different biowastes. *J. Hazard. Mater.* 149(1), 97–105.
- Gomez, X., Cuetos, M.J., Garcia, A.I., Moran, A. 2005. Evaluation of digestate stability from anaerobic process by thermogravimetric analysis. *Thermochim. Acta* 426(1–2), 179–184.
- Gunaseelan, V.N. 2007. Regression models of ultimate methane yields of fruits and vegetable solid wastes, sorghum and napier grass on chemical composition. *Bioresour. Technol.* 98, 1270–1277.
- Gujer, W., Zehnder, A.J.B. 1983. Conversion processes in anaerobic digestion. *Water Science and Technology.* 15(8-9) 127-167.
- Hansen, T.L., Sommer, S.G., Gabriel, S., Christensen, T.H. 2006. Methane production during storage of anaerobically digested municipal organic waste. *J. Environ. Qual.* 35, 830–836.
- Hartman, H., Ahring, B.K. 2006. Strategies for the anaerobic digestion of the organic fraction of municipal solid waste: an overview. *Water science and technology* 53 (8), 7-22.
- Hendriks, A. T. 2009. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. *Bioresource technology.*
- Himmel ME, Ding SY, Johnson DK, Adney WS, Nimlos MR, Brady JW, Foust TD. 2007. Biomass recalcitrance: engineering plants and enzymes for biofuels production. *Science.* 315 (5813) : 804–7.
- Hobson, P., Wheatley, A. 1992. *Anaerobic Digestion – Modern Theory and Practice.* Elsevier Applied Science. 269.
- Ho Im-Nielsen, J. B., Al Seadi, T. & Oleskowicz-Popiel, P. 2009 The future of anaerobic digestion and biogas utilization. *Bioresource Technology* 100, 5478–5484.
- INEGI, 2008. *Estadística sobre generación de residuos sólidos en México.* [www.inegi.gob.mx](http://www.inegi.gob.mx)
- Jorgensen H, Kristensen JB, Felby C. 2007. Enzymatic conversion of lignocellulose into fermentable sugars: challenges and opportunities. *Biofuels Bioprod Biorefin.* 1(2):119–34.
- Kaparaju, P., Serrano, M., Thomsen, A.B., Kongjan, P., Angelidaki, I. 2009. Bioethanol, biohydrogen and biogas production from wheat straw in a biorefinery concept. *Bioresour. Technol.* 100, 2562–2568.

- Kaparaju, P.L.N., Rintala, J.A. 2003. Effects of temperature on post-methanation of digested dairy cow manure in a farm-scale biogas production system. *Environ. Technol.* 24, 1315–1321.
- Karimi, K., Chisti, Y. 2015. Future of bioethanol. *Biofuel Res. J.* 2, 147.
- Karimi, K., Pandey, A. 2014. Current and future ABE processes. *Biofuel Res. J.* 3, 77.
- Karthikeyan, O.P., Visvanathan, C. 2012. Bio-energy recovery from high-solid organic substrates by dry anaerobic bio-conversion processes: a review. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* 12, 257–284.
- Khanal, S.K. 2008. *Anaerobic biotechnology for bioenergy production: principles and applications*. John Wiley & Sons Inc., Ames, Iowa.
- Kraemer, T. and Gamble, S. 2014. Integrating anaerobic digestion with composting. *Biocycle*. 55 (10), 32-36.
- Kubler, H., Hoppendeidt, K., Horsch, P., Kottmair, A., Nimmrichter, R., Nordsieck, H., Mucke, W. and Swerev, M. 1999. Full scale co-digestion of organic waste. In: *Proc. IIISAD-SW*, Barcelona, Spain, 15-17 June 1999 (ed. Mata-Álvarez) pp. 175-182.
- Kumar, R., Singh, S., Singh, O. 2008. Bioconversion of lignocellulosic biomass: biochemical and molecular perspectives. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 1125, 308–321.
- Lehtomäki, A., Huttunen, S., Lehtinen, T.M., Rintala, J.A. 2008. Anaerobic digestion of grass silage in batch leach bed processes for methane production. *Bioresour. Technol.* 99, 3267–3278.
- Li, Y., Zhang, R., He, Y., Zhang, C., Liu, X., Chen, C., Liu, G. 2014. Anaerobic codigestion of chicken manure and corn stover in batch and continuously stirred tank reactor (CSTR). *Bioresour. Technol.* 156, 342–347.
- Limayem, A., Ricke, S.C. 2012. Lignocellulosic biomass for bioethanol production: current perspectives, potential issues and future prospects. *Prog. Energy Combust. Sci.* 38, 449–467.
- Lindorfer, H., Pérez López, C., Resch, C., Braun, R., Kirchmayr, R. 2007. The impact of increasing energy crop addition on process performance and residual methane potential in anaerobic digestion. *Water Sci. Technol.* 56 (10), 55–63.
- Liu, Z., Saha, B.C., Slininger, P.J., 2008. Lignocellulosic biomass conversion to ethanol by *Saccharomyces*. In: Wall, J., Harwood, C., Demain, A. (Eds.), *Bioenergy*. ASM Press, Washington, D.C.

- Maclellan, J., Chen, R., Kraemer, R., Zhong, Y., Liu, Y., Liao, W. 2013. Anaerobic treatment of lignocellulosic material to co-produce methane and digested fiber for ethanol biorefining. *Bioresour. Technol.* 130, 418–423.
- Mata Alvarez, J. 2003. *Biomethanization of the organic fraction of municipal solid wastes*. IWA publishing. London, England.
- Mata-Alvarez, J., Cecchi, F., Pavan, P. and Llabres, P. 1990. The performance of digesters treating the organic fraction of municipal solid wastes differently sorted. *Biological Wastes*. 1990, 33, 181-199.
- Membrez, Y. and Nicolet, R. (1985). Methanisation en continu d'Ordures ménagères ou autre Déchets á haute teneur en Matière sèches. *Gas-Wasser-Abwasser*, 65, 782-4.
- Menardo, S., Gioelli, P., Balsari, P. 2010. *The methane yield of digestate: Effect of organic loading rate, hydraulic retention time, and plant feeding*.
- Monlau, F., Sambusiti, C., Barakat, A., Guo, X.M., Latrille, E., Trably, E., Steyer, J.P., Carrere, H. 2012. Predictive models of biohydrogen and biomethane production based on the compositional and structural features of lignocellulosic materials. *Environ. Sci. Technol.* 46, 12217–12225.
- Nakagame S, Chandra RP, Kadla JF, Saddler JN. Enhancing the enzymatic hydrolysis of lignocellulosic biomass by increasing the carboxylic acid content of the associated lignin. 2011. *Biotechnol Bioeng.*108(3):538–48.
- Nallathambi, V. 1997. *Anaerobic digestion of biomass for methane production: a review*. Department of zoology, PSG College of arts and science, Coimbatore, India.
- Nayono, S.E. (2009). *Anaerobic digestion of organic solid waste for energy production*. Universidad de Karlsruhe, Karlsruhe, Alemania.
- Novaes, R. F. V. 1986. Microbiology of anaerobic digestion. *Water Sci. Technol.* 18(12):1–14.
- McCarty, P.L. 1964. *Anaerobic waste treatment fundamentals*, public work, 95, 9- 12.
- Paavola, T., Rintala, J.2008. Effects of storage on characteristics and hygienic quality of digestates from four co-digestion concepts of manure and biowaste. *Bioresour. Technol.* 99(15), 7041–7050.
- Palm, O. 2008. *The quality of liquid and solid digestate from biogas plants and its application in agriculture*. ENC/ORBIT e.V. workshop 2008. The future for anaerobic digestion of organic waste in Europe.

- Palonen H, Tjerneld F, Zacchi G, Tenkanen M. 2004. Adsorption of *Trichoderma reesei* CBH I and EG II and their catalytic domains on steam pretreated softwood and isolated lignin. *J Biotechnol.* 107(1):65–72.
- Parkin, G. F., and Speece, R. E. 1982. Attached versus suspended growth anaerobic reactors: Response to toxic substances. *Water Sci. Technol.* 15(8–9):261–289.
- Pavlostathis, S.G., Giraldo-Gomez, E. 1991. Kinetics of anaerobic digestion. *Water science and technology.* 24(8): 35-39.
- Pognani, M., D'Imporzano, G., Scaglia, B. and Adani, F. 2009. Substituting energy crops with organic fraction of municipal solid waste for biogas production at farm level: a full-scale plant study. *Process Biochem.* 44, 817-821.
- Rabelo, S.C., Carrere, H., Maciel Filho, R., Costa, A.C. 2011. Production of bioethanol, methane and heat from sugarcane bagasse in a biorefinery concept. *Bioresour. Technol.* 102, 7887–7895.
- Ragauskas AJ, Beckham GT, Biddy MJ, Chandra R, Chen F, Davis MF, Davison BH, Dixon RA, Gilna P, Keller M, Langan P, Naskar AK, Saddler JN, Tschaplinski TJ, Tuskan GA, Wyman CE. 2014. Lignin valorization: improving lignin processing in the biorefinery. *Science.* 344(6185):709.
- Rahikainen J, Mikander S, Marjamaa K, Tamminen T, Lappas A, Viikari L, Kruus K. 2011. Inhibition of enzymatic hydrolysis by residual lignins from softwood-study of enzyme binding and inactivation on lignin-rich surface. *Biotechnol Bioeng.*108(12):2823–34.
- Raspolli, A. and Antonetti, C. 2011. Biomass pre-treatment: separation of cellulose, hemicellulose and lignin. *Existing technologies and perspectives.* University of Pisa, Pisa, Italy.
- Rivard, C. J., Vinzant, T. B., Adney, W. S., Grohmann, K. and Himmel, M. E. 1990 Anaerobic digestibility of two processed municipal solid waste materials. *Biomass.* 23, 201-214.
- Sanders, W.T.M. 2001. *Anaerobic hydrolysis during digestion of complex substrates.* PhD thesis. Agricultural University, Wageningen.
- Saveyn, H., Eder, P. 2014. *End-of-waste Criteria for Biodegradable Waste Subjected to Biological Treatment (Compost & Digestate): Technical Proposals.* JRC Scientific and Policy Reports. European Commission, Joint Research Centre Institute for Prospective Technological Studies. EUR 26425 EN.
- Sawatdeenarunat, C., Surendra, K.C., Takara, D., Oechsner, H. 2014. Anaerobic digestion of lignocellulosic biomass: challenges and opportunities. *Bioresource technology.*

- Schievano, A., Pognani, M., D'Imporzano, G., Adani, F. 2008. Predicting anaerobic biogasification potential of ingestates and digestates of a full-scale biogas plant using chemical and biological parameters. *Bioresour. Technol.* 99, 8112–8117.
- Shah, F. A., Mahmood, Q., Shah, M. M., Pervez, A., Asad, S. A., 2014. Microbial ecology of anaerobic digesters: the key players of anaerobiosis. *The scientific world journal*, 1-21.
- Speece, R. E. 1996. *Anaerobic Biotechnology for Industrial Wastewater Treatments*. Archae Press, Nashville, TN, USA.
- Statistisches Bundesamt. 2008a. Erhebung über Haushaltsabfälle: Ergebnisbericht 2006. *Statistisches Bundesamt*, Wiesbaden, Germany
- Stronach, S. M., Rudd, T., and Lester, J. N. 1986. *Anaerobic Digestion Processes in Industrial Wastewater Treatment*. Springer-Verlag, Berlin, Germany.
- Stryer, L. 1988. *Biochemistry*, third edition, W.H. Freeman and company, New York.
- Tambone, F., Genevini, P., D'Imporzano, G., Adani, F. 2009. Assessing amendment properties of digestate by studying the organic matter composition and the degree of biological stability during the anaerobic digestion of the organic fraction of MSW. *Bioresour. Technol.* 100(12), 3140–3142.
- Tambone, F., Scaglia, B., D'Imporzano, G., Schievano, A., Orzi, V., Salati, S., Adani, F. 2010. Assessing amendment and fertilizing properties of digestates from anaerobic digestion through a comparative study with digested sludge and compost. *Chemosphere* 81(5), 577–583.
- Tambone, F., Scaglia, B., D'Imporzano, G., Schievano, A., Orzi, V., Slati, S., Adani, F., 2010. Assessing amendment and fertilizing properties of digestates from anaerobic digestion through a comparative study with digested sludge and compost. *Chemosphere* 81, 577-583.
- Tampio, E., Ervasti, S., Paavola, T., Heaven, S., Banks, C., Rintala, J. 2014. Anaerobic digestion of untreated and autoclaved food waste. *Waste Management*. 34, 370-377.
- Tampio, E., Salo, T., Rintala, J. 2015. *Agronomic characteristics of five different urban waste digestates*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.01.001>
- Taricska, J., Long, D., Chen, P., Hung, Y., Zou, S. 2009. *Handbook of environmental engineering, volume 8: biological treatment processes*. Edited by Wang, L., et al. The human press, Totowa, NJ.
- Tchobanoglous, G., Theisen, H. and Eliassen, R. 1977. *Solid Wastes: Engineering Principles and Management Issues*, McGraw Hill, New York.

- Teglia, C., Tremier, A., Martel, J.-L. 2011. Characterization of solid digestates: part 1, review of existing indicators to assess solid digestates agricultural use. *Waste Biomass Valor* 2, 43-58.
- Ten Brummeler, E. and Koster, I. W. 1990. The effect of several pH control chemicals on the dry batch digestion on the organic fraction of municipal solid waste. *Resources, conservation and recycling*.
- Ten Brummeler, E., Koster, I. W. and Zeevalkink, J. A. 1986. Biogas production from the organic fraction of municipal solid waste by anaerobic digestion. In *Materials and energy from refuse*, ed. A. Buekens and M. Tels, KVIV, Antwerpen, Belgium, pp. 6.49-6.55.
- Triolo, J.M., Pedersen, L., Qu, H., Sommer, S.G. 2012. Biochemical methane potential and anaerobic biodegradability of non-herbaceous and herbaceous phytomass in biogas production. *Bioresour. Technol.* 125, 226–232.
- Triolo, J.M., Sommer, S.G., Møller, H.B., Weisbjerg, M.R., Jiang, X.Y. 2011. A new algorithm to characterize biodegradability of biomass during anaerobic digestion: influence of lignin concentration on methane production potential. *Bioresour. Technol.* 102, 9395–9402.
- UNFCCC. 1997. *United Nations Framework Convention on Climate Change*. Kyoto Protocol, Kyoto, Japan.
- Van Haandel, A. C., and Lettinga, G. 1994. *Anaerobic Sewage Treatment: A Practical Guide for Regions with a Hot Climate*. John Wiley & Sons, England.
- Van Lier, J., Mahmoud, N., Zeeman, G. 2008. *Biological wastewater treatment: principles modelling and design*. Published by IWA, London, UK.
- Veeken A., Hamelers, B. 1999. Effect of temperature on the hydrolysis rate of selected biowaste components, *Bioresource Technology*, 69, vol 3. 249 - 255.
- International Panel on Climate Change (IPCC) Guideline. 2006. Waste composition, generation and management data.
- Weiland, P. 2006. Biomass digestion in agriculture: a successful pathway for the energy production and waste treatment in Germany. *Engineering in Life Sciences* 3, 302–309.
- Weiland, P. 2003. Production and energetic use of biogas from energy crops and wastes in Germany. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 109, 263–274
- Weiland, P. 2010. Biogas production: current state and perspectives. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 85, 849–860.

- Wikandari, R., Nguyen, H., Millati, R., Niklasson, C. and Taherzadeh, M. J. (2014). *Improvement of biogas production from orange peel waste by leaching of limonene*. University of Borås, Allégatan, 50190 Borås, Sweden
- Yang, S.T., El-Ensashy, H., Thongchul, N. 2013. *Bioprocessing Technologies in Biorefinery for Sustainable Production of Fuels, Chemicals, and Polymers*. Wiley & Sons, Inc., Somerset, NJ, USA.
- Ye, J., Li, D., Sun, Y., Wang, G., Yuan, Z., Zhen, F., Wang, Y. 2013. Improved biogas production from rice straw by co-digestion with kitchen waste and pig manure. *Waste Management*. 33, 2653–2658.
- Yue, Z., Teater, C., Liu, Y., Maclellan, J., Liao, W. 2010. A sustainable pathway of cellulosic ethanol production integrating anaerobic digestion with biorefining. *Biotechnol. Bioeng.* 105, 1031–1039.
- Yue, Z., Teater, C., MacLellan, J., Liu, Y., Liao, W. 2011. Development of a new bioethanol feedstock – anaerobically digested fiber from confined dairy operations using different digestion configurations. *Biomass Bioenergy* 35, 1946–1953.
- Zeeman, G., Sanders, W.T.M., Wang, K.Y. and Lettinga, G. 1996. Anaerobic treatment of complex wastewater and waste activated sludge application of an upflow anaerobic removal (UASR) reactor for the removal and pre-hydrolysis of suspended COD. *IAWQ-NVA conference for Advanced wastewater treatment*, Amsterdam, 23-25.
- Zeikus, J. G. 1981. Microbial intermediary metabolism. In *Anaerobic Digestion*, edited by Hughes et al., 23–25. *Proceedings of the 2nd International Symposium on Anaerobic Digestion*, Travemunde, Germany.
- Zeshan, K. 2012. *Dry anaerobic digestion of municipal solid waste and digestate management strategies*. Asian institute of technology. Thailand.
- Zhao, X., Cheng, K., Liu, D. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 82 (2009), 815 – 827.
- Zinder, S. H. 1988. Conversion of acetic acid to methane by thermophiles. In *Anaerobic Digestion*, edited by E. R. Hall and P. N. Hobson, pp. 1–12. *Proceedings of the 5th International Symposium on Anaerobic Digestion*, Bologna, Italy.
- Zirkler, D., Peters, A., Kaupenjohann, M. 2014. Elemental composition of biogas residues: Variability and alteration during anaerobic digestion. *Biomass Bioenerg.* 67, 89e98.

## ANEXOS

### A1. Análisis estadístico

El diseño experimental se fijó en un modelo de dos factores con dos niveles de tratamiento cada uno, los factores fueron la temperatura y el tiempo de contacto, mientras que los niveles de tratamiento fueron para la temperatura 20°C y 40°C y para el tiempo de contacto fueron 10 y 60 minutos, por lo que es un experimento factorial 2x2 con un diseño completamente al azar y cuyo modelo matemático queda expresado como:

$$\psi_{ijk} = \mu + \tau_i + \beta_j + \gamma_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

En donde  $\psi_{ijk}$  es la producción de biogás del reactor  $k$ -ésimo con la  $i$ -ésima temperatura y el  $j$ -ésimo tiempo de contacto,  $\mu$  es la media general,  $\tau_i$  es el efecto del nivel  $i$  de la temperatura,  $\beta_j$  es el efecto del nivel  $j$  del tiempo de contacto,  $\gamma_{ij}$  es el efecto de la interacción del nivel  $i$  de temperatura y  $j$  del tiempo de contacto y  $\varepsilon_{ijk}$  es el error experimental del reactor  $k$ -ésimo con la  $i$ -ésima temperatura y el  $j$ -ésimo tiempo de contacto. La tabla A1.1 muestra los valores obtenidos de la experimentación que fueron utilizados para este análisis.

**Tabla A1.1 Arreglo de valores obtenidos para diseño experimental.**

		Temperatura	
		T1	T2
Tiempo de contacto	C1	172.55, 122.8, 453.35	18.55, 539.7, 182.55
	C2	19.75, 26.1, 10.1	107.85, 333.1, 422.2

Las preguntas que busca responder este análisis son: ¿Qué efectos producen el tiempo de contacto y la temperatura en la producción de biogás?; y ¿Existe un tiempo de contacto que produzca uniformemente más producción de biogás sin importar la temperatura y viceversa? Se supone que  $\varepsilon_{ijk} \sim NID(0, \sigma^2)$ . Las hipótesis a probar son:

$$H_{01} = \gamma_{ij} = 0 \forall i, j$$

$$H_{02} = \tau_i = 0 \forall i$$

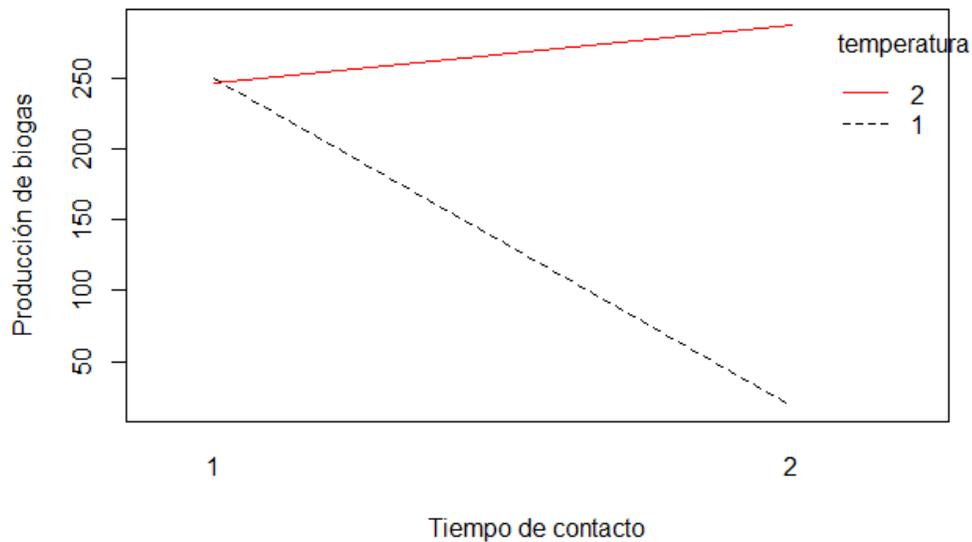
$$H_{03} = \beta_j = 0 \forall j$$

De lo anterior se construyó la tabla A1.2 de Anova con la ayuda del software R para la variable de respuesta de producción de biogás. Se consideró el valor de significancia  $\alpha = 0.05$  por lo que como se aprecia en la tabla no se rechaza la  $H_{01}$ , es decir que no hay interacción entre los factores de temperatura y tiempo de contacto con las condiciones establecidas, de igual forma no se rechaza  $H_{02}$  ni  $H_{03}$ , por lo que ninguno de los factores fue significativo.

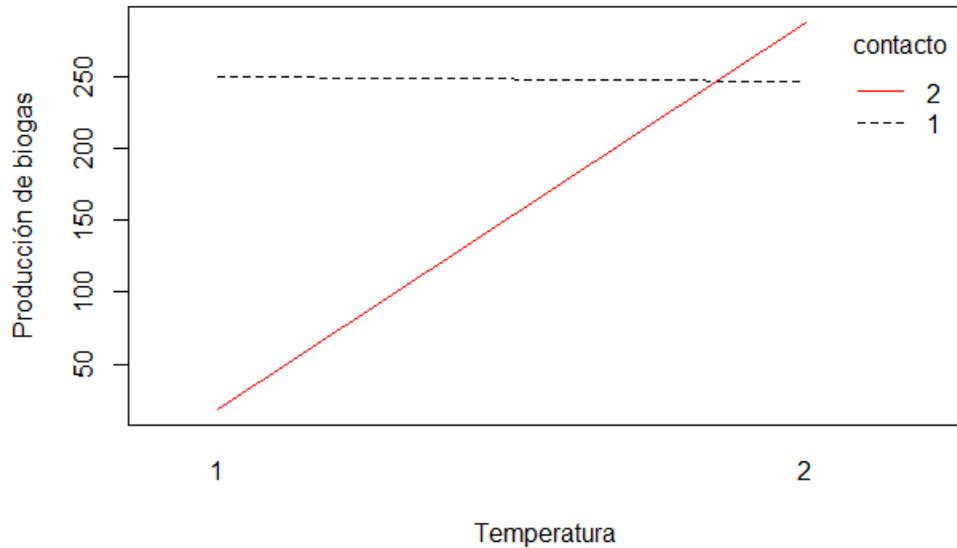
**Tabla A1.2 Tabla de ANOVA para el diseño experimental.**

	Df	SumSq	MeanSq	F Value	Pr (>F)
Temperatura	1	53240	53240	1.6497	0.2349
Tiempo de Contacto	1	27113	27113	0.8402	0.3862
Temperatura :Contacto	1	55366	55366	1.7156	0.2266
Residuals	8	258173	32272		

Se observa como los valores de Pr están muy por encima del valor de significancia establecido de 0.05, por lo que no se puede rechazar ninguna de las hipótesis y por lo tanto ninguno de los factores, así como su interacción es significativo para el desarrollo de las pruebas. Lo anterior se comprueba en las figuras A1.1 y A1.2.



**Figura A1.1 interacción del tiempo de contacto.**



**Figura A1.2 Interacción de la temperatura.**

En la figura A1.1 se observa que para el tiempo de contacto de 10 minutos la producción de biogás en las temperaturas de 20°C y 40°C son iguales e inferiores que para el tiempo de contacto de 60 minutos en donde la temperatura de 40°C representa una mejor producción de biogás con respecto a la temperatura de 20°C, en la figura A1.2 se observa que para la temperatura de 20°C el tiempo de contacto de 10 minutos presenta una producción mayor, mientras que para la temperatura de 40°C el tiempo de contacto de 60 minutos es el que mejor producción de biogás tiene.