



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN INGENIERÍA
INGENIERÍA AMBIENTAL – RESIDUOS SÓLIDOS**

**PRODUCCIÓN DE HIDRÓGENO Y METANO MEDIANTE CODIGESTIÓN DE RESIDUOS
ALIMENTICIOS Y LODOS DE PURGA**

T E S I S

Que para optar por el grado de:

MAESTRO EN INGENIERÍA

PRESENTA:

MARÍA JOSÉ BERROCAL BRAVO

TUTOR PRINCIPAL:

DR. IVÁN MORENO ANDRADE, INSTITUTO DE INGENIERÍA

Ciudad Universitaria, CD. MX. noviembre 2017



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN INGENIERÍA
INGENIERÍA AMBIENTAL – RESIDUOS SÓLIDOS**

**PRODUCCIÓN DE HIDRÓGENO Y METANO MEDIANTE CODIGESTIÓN DE RESIDUOS
ALIMENTICIOS Y LODOS DE PURGA**

T E S I S

Que para optar por el grado de:

MAESTRO EN INGENIERÍA

PRESENTA:

María José Berrocal Bravo

TUTOR PRINCIPAL:

Dr. Iván Moreno Andrade, Instituto de Ingeniería

COMITÉ TUTOR:

Dr. Óscar González Barceló, Instituto de Ingeniería
Dr. Alfonso Durán Moreno, Facultad de Química-UNAM

Ciudad Universitaria, CD. MX. noviembre, 2017

Jurado Asignado

Presidente	Dr. González Barceló Oscar
Secretario	M. en C. Gutiérrez Palacios Constantino
1er. Vocal	Dr. Durán Moreno Alfonso
2do. Vocal	Dr. Durán Hinojosa Ulises
3er. Vocal	Dr. Moreno Andrade Iván

Esta tesis fue realizada en el Laboratorio de Investigación en Procesos Avanzados de Tratamiento de Aguas, Unidad Académica Juriquilla, Instituto de Ingeniería, UNAM.

Tutor de tesis:

Dr. Iván Moreno Andrade

Firma

APOYOS RECIBIDOS

Este trabajo fue desarrollado en el Laboratorio de Investigación en Procesos Avanzados de Tratamiento de Aguas de la Unidad Académica Juriquilla del Instituto de Ingeniería de la Universidad Nacional Autónoma de México.



**INSTITUTO
DE INGENIERÍA
UNAM**

LIPATA

LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN
EN PROCESOS AVANZADOS DE
TRATAMIENTO DE AGUAS

Se agradece el apoyo financiero del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por medio del proyecto 240087.

Así mismo se agradece el apoyo del “Fondo de Sustentabilidad Energética SENER – CONACYT”, a través del proyecto 247006 - Clúster de Biocombustibles Gaseosos.

Se agradece el apoyo técnico del M. en B. Jaime Pérez Trevilla y a la M. en C. Gloria Moreno Rodríguez en la parte experimental de esta tesis.

Se agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca otorgada para realizar los estudios de maestría.

AGRADECIMIENTOS

Julio Cortázar dijo: “Las palabras nunca alcanzan, cuando lo que hay que decir desborda el alma”, y tenía toda la razón, el agradecimiento que siento por todo y hacia todos es muy inconmensurable.

Empezaré por agradecerle a la esencia de la vida, la que me mantiene aquí disfrutando de la experiencia de estar vivo y aprender algo nuevo cada día. Agradezco a mi familia hermosa, mi más lindo tesoro, a cada uno de ellos por brindarme tanto pero tanto amor, especialmente a mi mamá que nunca escatima un esfuerzo cuando se trata de dar todo por sus hijos y sobrinos.

Agradezco a mis amigos, mis nuevos amigos que hice durante esta maestría, sin duda ellos fueron un tesoro que encontré sin buscar. Cuando llegué a México no tenía idea de las lindas personas que conocería, nunca deja de asombrarme lo bellos que son. A Lupita gracias por contagiarme de su alegría todos los días y de su espíritu aventurero y libre. A mi mano derecha y amiga Beri, agradezco su ayuda en los trabajos del laboratorio y sus buenos consejos estilo “mamá”. A mi amigo Mathiw quien nunca me abandonó cuando tenía que ir por los desperdicios al restaurante, a mí querido Feli por ser tan bello y especial conmigo. A Geral y Aidé por ser lindas compañeras de maestría y por su ayuda cuando más lo necesité. A las Carolinas del Norte y del Sur por ser tan espléndidamente lindas y dulces, a Luigi Beat por hacerme reír con sus ocurrencias y darme ride cuando más lo necesitaba. A René por su apoyo en cuestiones académicas y recreativas, a Gerardo por enseñarnos datos curiosos todo el tiempo, a Juan por su ayuda invaluable al finalizar esta etapa. A ti Manu, gracias por prestarme tu pantalla y por darme tanto apoyo.

Agradezco igualmente al Dr. Iván por darme la oportunidad de llegar al laboratorio y ofrecerme siempre su ayuda y a la maestra Gloria por compartirme de su conocimiento. Agradezco a toda la familia del LIPATA

.

DEDICATORIA

Este trabajo lo dedico con mi más sincero agradecimiento a mi mamá Yenny Bravo, a quién le debo mi vida y todo lo que soy. También lo dedico a mi sobrina Isabella por ser mi niña linda.

TABLA DE CONTENIDO

Capítulo 1.	Introducción.....	1
Capítulo 2.	Marco teórico y Antecedentes.....	3
2.1.	Digestión anaerobia (DA)	3
2.2	Bioquímica de la fermentación oscura y la producción de H ₂	3
2.3	Factores que afectan la producción de Hidrógeno.....	8
2.3.1.	pH.....	8
2.3.2.	Temperatura.....	9
2.3.3.	Presión parcial de Hidrógeno (PpH ₂).....	10
2.3.4.	Acumulación de metabolitos solubles.....	11
2.3.5.	Iones metálicos.....	11
2.3.6.	Nutrientes.....	12
2.3.7.	Tiempo de Retención Hidráulico.....	13
2.4.	Digestión anaerobia en dos etapas.....	14
2.5.	Digestión Anaerobia y Residuos orgánicos.....	18
2.5.1.	Codigestión de lodos de purga y residuos alimenticios.....	21
2.6.	Antecedentes de la investigación.....	23
2.6.1.	Producción de H ₂ y CH ₄ por codigestión de residuos alimenticios (RA) y lodos de purga (LP) de plantas de tratamiento de aguas residuales....	26
2.6.2.	Trabajos del grupo de investigación en DA de residuos sólidos orgánicos	28
2.7.	Justificación de esta investigación.....	29
Capítulo 3.	Objetivos y metas.....	31
3.1	Objetivo general.....	31
3.2	Objetivos Específicos.....	31
3.3	Metas.....	32
Capítulo 4.	Materiales y Métodos.....	32
4.1.	Obtención del inóculo.....	32
4.2.	Obtención, pretratamiento y caracterización de los sustratos.....	33
4.3.	Primera Parte: potencial biológico de producción de hidrógeno.....	34
4.4	Operación de los bioreactores en dos etapas.....	36
4.4.1.	Reactor anaerobio discontinuo secuencial (ASBR).....	37
4.5.	Segunda parte: producción de hidrógeno y metano.....	39
4.5.1.	Volumen y composición del biogás.....	42
4.5.2.	Sólidos totales y sólidos volátiles totales.....	43
4.5.3.	Demanda Química de Oxígeno (DQO).....	43

4.5.4.	Cuantificación de carbohidratos.....	43
4.5.5.	Cuantificación de proteínas.....	44
4.5.6.	Ácidos grasos volátiles (AGV), solventes y lactato.....	44
Capítulo 5.	Resultados y Análisis.....	45
5.1.	Obtención y caracterización del inóculo.....	45
5.2.	Obtención y caracterización de los residuos.....	45
5.3.	Pruebas de potencial biológico de producción de H ₂	49
5.4.	Arranque del reactor productor de Hidrógeno (ASBR-H ₂).....	57
5.5.	Operación del reactor productor de H ₂ (SBR-H ₂) codigestión de la mezcla de residuos.	58
5.5.1.	Efecto del TRH en la composición del biogás.....	59
5.5.2.	Efecto del TRH en la producción volumétrica de hidrógeno y en otros parámetros de desempeño del ASBR-H ₂	63
5.5.3.	Producción de metabolitos secundarios en la fermentación.....	68
5.6.	Operación del reactor productor de metano (ASBR-CH ₄).....	71
Capítulo 6.	Conclusiones y Recomendaciones.....	75
6.1.	Conclusiones.....	75
6.2.	Recomendaciones.....	76
Capítulo 7.	Bibliografía.....	77

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2.1	Principales reacciones durante la fermentación oscura.....	8
Tabla 2.2	Estudios de producción de H ₂ y CH ₄ en procesos de dos etapas.....	24
Tabla 4.1	Condiciones operacionales de la prueba de producción de hidrógeno en botellas serológicas.....	35
Tabla 5.1	Caracterización fisicoquímica del inóculo.....	45
Tabla 5.2	Caracterización fisicoquímica de los residuos empleados en la codigestión.....	47
Tabla 5.3	Componentes traza en los residuos.....	49
Tabla 5.4	Composición inicial de las distintas mezclas de sustratos.....	50
Tabla 5.5	Comparación de distintas pruebas de potencial de producción de H ₂ a partir de la codigestión de residuos alimenticios y lodos de purga.....	55
Tabla 5.6	Remoción de SVT y carbohidratos a distintas mezclas de sustrato.....	55
Tabla 5.7	Concentración y composición de los AGV durante el arranque del reactor productor de H ₂ , usando glucosa como sustrato.....	58
Tabla 5.8	Porcentaje promedio de H ₂ , CO ₂ y CH ₄ en el biogás, para las condiciones evaluadas.....	60
Tabla 5.9	Parámetros cinéticos y producción volumétrica de H ₂ a diferentes TRH.....	65
Tabla 5.10	Hidrólisis, remociones y TRS de los tiempos de retención hidráulicos estudiados.....	66
Tabla 5.11	Principales reacciones químicas involucradas en la fermentación oscura.....	68
Tabla 5.12	Concentración de los metabolitos solubles en el efluente del reactor durante los diferentes TRH	
Tabla 5.13	Caracterización del sustrato para la producción de metano.....	71
Tabla 5.14	Desempeño general del reactor metanogénico.....	73
Tabla 5.15	Comparativo de estudios de sistemas en dos etapas para la producción de hidrógeno y metano.....	74

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura. 2.1	Esquema de reacción propuesto de la digestión anaerobia.....	4
Figura. 2.2	Vías de fermentación lineal y ramificada.....	5
Figura. 2.3	Ruta metabólica de producción de hidrógeno a partir de glucosa.....	6
Figura. 2.4	Digestión anaerobia en dos etapas.....	15
Figura. 2.5	Generación de residuos sólidos urbanos al año por estados de México	20
Figura. 4.1	Partes en las que se desarrolló el trabajo experimental.....	32
Figura. 4.2	Preparación de las distintas mezclas de residuos alimenticios (RA) y lodos de purga (LP).....	35
Figura. 4.3	Etapas de operación de un ASBR.....	37
Figura. 4.4	Sistema anaerobio de dos etapas.....	40
Figura. 4.5	Sistema real montado en el laboratorio. a) Reactor productor de H ₂ . b) Reactor productor de CH ₄	42
Figura. 5.1	Lodo granular anaerobio antes y después del tratamiento térmico.....	45
Figura. 5.2	Caracterización física de los residuos alimenticios.....	46
Figura. 5.3	a) Lodos de Purga b) Residuos alimenticios procesados	
Figura. 5.4	Producción acumulada de H ₂ con varias proporciones de mezcla.....	51
Figura. 5.5	Parámetros cinéticos y rendimiento de producción de H ₂ para cada una de las mezclas.....	53
Figura. 5.6	Ácidos grasos volátiles generados en la prueba de potencial de producción de H ₂ en cada de las mezclas.....	56
Figura. 5.7	Producción acumulada de H ₂ en el arranque del reactor usando glucosa como sustrato.....	58
Figura. 5.8	Composición de H ₂ , CH ₄ y CO ₂ en el biogás generado en los ciclos de operación del reactor.....	59
Figura. 5.9	Relación de cada TRH probado con el TRS.....	60
Figura. 5.10	Producción en mililitros de H ₂ y CH ₄ durante los ciclos de operación.....	63
Figura. 5.11	Cinéticas de producción de H ₂	64
Figura. 5.12	Comportamiento de la tasa de producción volumétrica de hidrógeno (TPVH) y el coeficiente de rendimiento (YH ₂) dependiendo del THR.....	66
Figura. 5.13	Producción de los principales metabolitos solubles durante la fermentación.....	69
Figura. 5.14	Composición del biogás generado en cada ciclo de operación o reacción.....	72
Figura. 5.15	Producción acumulada de metano y ajuste de Gompertz.....	73

ABREVIATURAS

AGV	Ácidos Grasos Volátiles
ASBR	Anaerobic Sequencing Bach Reactor
DA	Digestión Anaerobia
DQO	Demanda Química de Oxígeno
FAD	Flavín Adenín Dinucleótido
LP	Lodos de Purga
NAD(P) ⁺	Dinucleótido de Nicotinamida y Adenina
PTAR	Planta de Tratamiento de Aguas Residuales
RA	Residuos Alimenticios
SF	Sólidos Fijos
ST	Sólidos Totales
SVT	Sólidos Volátiles Totales
TRH	Tiempo de Retención Hidráulica
TRS	Tiempo de Retención de Sólidos
TPVH ₂	Tasa de Producción Volumétrica de Hidrógeno
TPEH ₂	Tasa de Producción Específica de Hidrógeno
Y _{H₂}	Rendimiento de Producción de Hidrógeno

Capítulo 1. Introducción

El crecimiento exponencial de la población y el estilo de vida actual han provocado un aumento considerable en el consumo de energía y cerca del 90% de esta demanda energética es suplida por el consumo de combustibles fósiles como el petróleo, gas natural y carbón (Das y Veziroglu, 2001). Debido a que este tipo de combustibles no son renovables, y los yacimientos de donde se extraen se agotan con rapidez (Luo et al., 2015), la economía mundial sufre con la especulación de los precios de los combustibles por parte de los países que poseen las mayores reservas.

Además de los inconvenientes económicos que surgen por la escasez de los combustibles fósiles, la explotación, transporte y consumo de los mismos, provoca severos daños ambientales: destrucción de fauna y flora, contaminación del aire, efecto invernadero, calentamiento global, etc. (Brennan y Owende, 2010; Escamilla et al., 2011). Por estas razones y teniendo en cuenta predicciones a mediano y largo plazo, se ha visto la necesidad de utilizar fuentes alternativas de energía, para aliviar la presión que se ha puesto sobre los combustibles fósiles, sin olvidar que estas nuevas fuentes sean amigables con el ambiente y de bajo costo.

Una de las opciones más conocidas es la producción de biocombustibles, que tienen el potencial de reemplazar parte de la demanda actual de combustibles fósiles, especialmente en el sector del transporte, debido a su fácil disponibilidad y beneficios ambientales (Bakonyi et al., 2014; Lin et al., 2012). Sin embargo, han sido varios los problemas asociados al suministro de energía basado en biocombustibles, en lo concerniente al uso de la tierra, consumo de agua y pesticidas y si el balance de dióxido de carbono (CO_2) es positivo o negativo, es decir, si durante la producción de este biocombustible la generación de CO_2 se compensa con el consumo del mismo por parte de la planta durante su crecimiento. Específicamente, existe un amplio cuestionamiento en cuanto a la producción de combustibles de primera generación, los cuales se producen directamente de cosechas que pueden destinarse a la alimentación humana o ganado, y por lo tanto su producción es muy polémica teniendo en cuenta los millones de personas en el mundo que mueren por hambre.

(Lin, et al. 2012). Por esta razón, se ha volcado el interés hacia la generación de biocombustibles de segunda generación, los cuales se obtienen a partir de cosechas que no se destinan para alimentación en primera instancia o residuos de la agricultura o la industria alimentaria (Hill et al., 2006).

Una buena opción, es la producción de biocombustibles gaseosos como el hidrógeno y metano mediante la descomposición de la materia orgánica que resulta como residuo de las actividades del hombre. La tecnología de la producción de metano partir de desechos orgánicos, ha sido ampliamente estudiada y aplicada a gran escala para la producción de energía. Hoy día, en sistemas de cogeneración, se ha prestado una mayor atención a la obtención de hidrógeno (H_2) puesto que posee muchas características que lo hacen un combustible mucho potencial.

El H_2 posee el mayor contenido energético por unidad de peso, 122-142 kJ/g, que es al alrededor de tres veces más alto, comparado con otros combustibles fósiles como la gasolina (46.4 kJ/g) (Vezirolu y Barbir, 1992; Argun y Kargi, 2011). Además, es un combustible limpio que no genera emisiones de gases de efecto invernadero; y puede ser producido al igual que el metano, mediante procesos biológicos anaerobios usando residuos orgánicos producidos por el hombre, como los desechos agrícolas y alimenticios (S. Han, 2004), aguas residuales municipales e industriales (Buitrón y Carvajal, 2009), entre otros.

Tomando en cuenta la problemática que presentan los residuos orgánicos en cuanto a su disposición final (producción de malos olores, acidificación de suelos, vector de enfermedades) y la búsqueda de alternativas para la generación de energía, la producción de biocombustibles gaseosos (hidrógeno y metano) a partir de residuos sólidos orgánicos, es una estrategia que genera un producto de alto valor agregado mientras se realiza el tratamiento biológico anaerobio de los desechos orgánicos para reducir su impacto negativo en ambiente. En el presente trabajo, se estudió la producción de hidrógeno y metano mediante la codigestión de dos tipos de residuos orgánicos: residuos alimenticios y lodos de purga de plantas de tratamiento de aguas residuales municipales. Se realizaron pruebas por lote para establecer la mezcla más favorable de estos dos residuos para la producción de hidrógeno y

se evaluó la producción de hidrógeno y metano en reactores discontinuos secuenciales a escala laboratorio.

Capítulo 2. Marco teórico y Antecedentes

2.1. Digestión anaerobia (DA)

La digestión anaerobia (DA), es un proceso bioquímico realizado por diferentes grupos de microorganismos, que metabolizan la materia orgánica en condiciones anaerobias, para convertirla en una mezcla gaseosa, compuesta principalmente por metano y dióxido de carbono (biogás). Es una tecnología ampliamente utilizada para reducir el volumen de residuos orgánicos como los lodos de purga de plantas de tratamiento de aguas residuales, la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos, estiércol, biomasa lignocelulósica, entre otros, y de este modo producir energía en forma de biogás (Weiland, 2010).

Este proceso es el resultado del trabajo en conjunto de diferentes especies de microorganismos, por lo que la DA puede dividirse en cuatro fases o etapas principales. La primera de ellas es la **hidrólisis**, en la que bacterias hidrolíticas convierten el material orgánico no soluble en compuestos orgánicos solubles; la segunda es la **acidogénesis** (fermentación oscura), aquí las bacterias fermentativas transforman los compuestos solubles orgánicos en ácidos grasos volátiles (AGV), H_2 y CO_2 ; la tercera etapa es la **acetogénesis** o conversión de los ácidos grasos volátiles en acetato e hidrógeno. Por último, para una mayor degradación de la materia orgánica se encuentra la etapa de **metanogénesis**, en la que se produce metano por vía acetoclástica (consumo de acetato) o por vía hidrogenofílica (consumo de hidrógeno), por acción de distintos tipos de arqueas (Escamilla et al., 2011), este proceso se ve resumido en la Figura 2.1.

2.2. Bioquímica de la fermentación oscura y la producción de H_2

En el proceso de DA, el hidrógeno se genera durante las etapas de acidogénesis y acetogénesis, a lo que se denomina **fermentación oscura** (Das y Veziroglu, 2001). Los principales productos de este proceso son los ácidos grasos volátiles, solventes e H_2 . De modo general, la generación de estos productos y el crecimiento microbiano se lleva a cabo mediante el uso de aceptores de electrones creados por la misma célula a partir de los

sustratos. El ATP (adenosín trifosfato) se produce principalmente por fosforilación a nivel sustrato, con la oxidación de un donador de electrones acoplado a la reducción de un transportador de electrones como NAD(P)⁺ (Dinucleótido de nicotinamida y adenina) o FAD (Flavín Adenín Dinucleótido). En este ciclo oxido-reductor, los portadores de electrones son re-oxidados reduciendo un metabolito intermediario (aceptor de electrones) (Kraemer y Bagley, 2007).

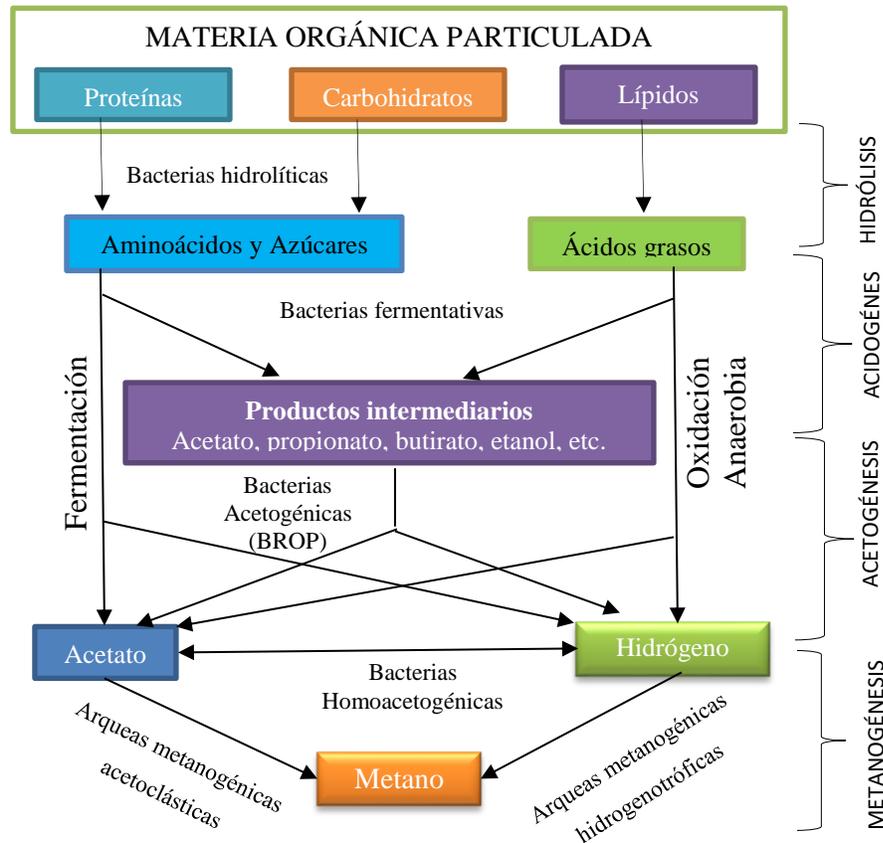


Figura 2.1. Esquema de reacción propuesto de la digestión anaerobia. (BROP: bacterias reductoras obligas de protones). (Adaptado de Gujer y Zehnder, 1983)

Durante este proceso, la producción de H₂ se ve favorecida, ya que es un mecanismo necesario para disponer el exceso de electrones durante fermentación, para que de este modo continúe el proceso metabólico. En algunas fermentaciones, la relación producto formado/sustrato consumido, es constante como la del etanol, en cambio, puede ser variable en otras, como las fermentaciones de acetato/butirato. Este último tipo, se refiere a las vías

de fermentación ramificada o mixta, en las que se produce más ATP y más productos oxidados que las vías lineales (Figura 2.2). Y precisamente, para producir más productos oxidados, una parte de los portadores de electrones como NAD(P)H, deben ser oxidados mediante la reducción de H^+ a H_2 . La formación de estos productos en las vías de fermentación ramificadas es gobernada por condiciones ambientales, especialmente la presión parcial de H_2 (Kim y Gadd, 2008).

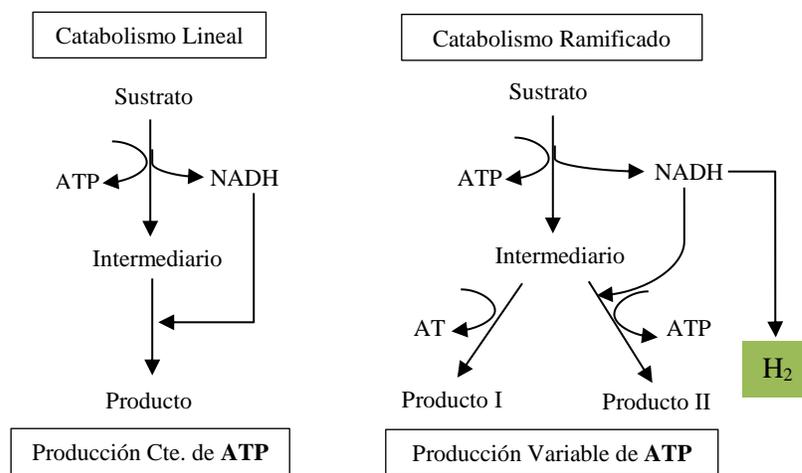


Figura 2.2 Vías de fermentación lineal y ramificada (Kim y Gadd, 2008)

En la fermentación oscura un amplio grupo de bacterias anaerobias/facultativas pueden llevar a cabo la fermentación de carbohidratos para producir H_2 , CO_2 y otros compuestos orgánicos simples como ácidos grasos volátiles y alcoholes (Figura 2.3). La producción de hidrógeno comienza con la glucólisis, la formación de piruvato a partir de hexosas, luego de ello, el piruvato entra en las rutas acidogénicas que se acoplan con la producción de hidrógeno (Balachandar, Khanna y Das, 2013).

De forma más específica, los electrones que son usados para la generación de H_2 , provienen de dos etapas principales: (1) la oxidación del sustrato a piruvato y (2) la conversión de piruvato a ácidos grasos volátiles y alcoholes (Kraemer y Bagley, 2007). En la primera etapa, la oxidación del sustrato a piruvato genera NADH (dinucleótido de nicotinamida y adenina en su forma reducida), el cual debe ser oxidado nuevamente donando electrones que son aprovechados por la enzima NADH-ferredoxin oxidoreductasa (NFOR) para producir

Ferredoxin reducido y este último con ayuda de la enzima hidrogenasa finalmente produce hidrógeno; todo esto como parte de los ciclos de óxido-reducción ya mencionados.

En la segunda etapa se produce H₂, cuando el piruvato es convertido a acetyl-CoA y formato mediante la piruvato formato liasa (PFL) o a acetyl-CoA y ferredoxin reducido mediante la piruvato-ferredoxin oxidoreductasa (PFOR), dependiendo del organismo productor de H₂ (Antonopoulou, et.al, 2011).

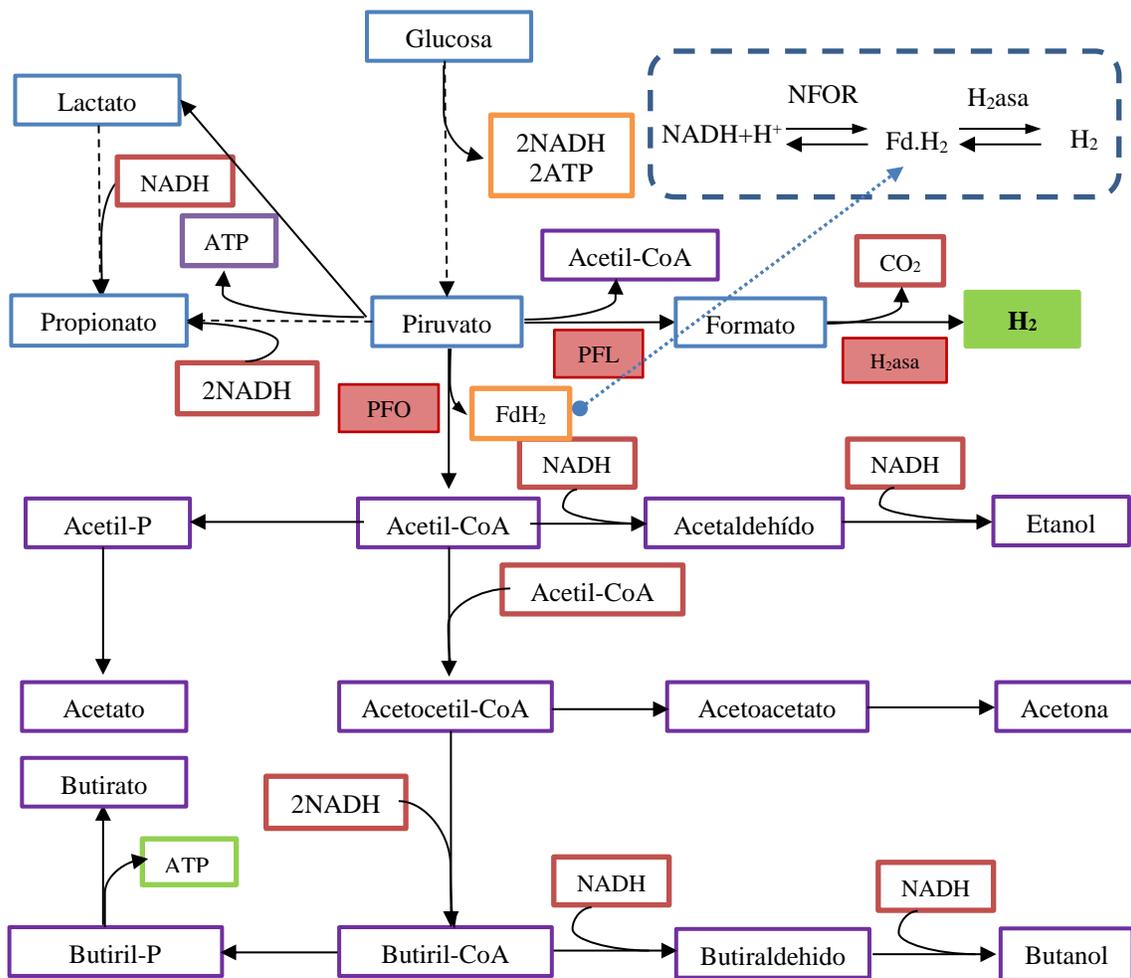


Figura 2.3. Ruta metabólica de producción de hidrógeno a partir de glucosa llevada a cabo por microorganismos fermentativos bajo condiciones anaerobias. Las líneas punteadas indican múltiples pasos enzimáticos. **PFOR**: Piruvato ferredoxin oxidoreductasa; **NFOR**: NADH-ferredoxin oxidoreductasa. **PFL**: Piruvato formato liasa. **H₂asa**: diferentes tipos de hidrogenasa (Schlegel, 1997)

Mediante la ruta piruvato formato liasa (PFL), algunos microorganismos hacen uso del complejo formato-hidrógeno liasa que contiene una clase especial de [NiFe]-hidrogenasa, para convertir el formato a hidrógeno y CO₂ (Antonopoulou et al., 2011). Con la ruta piruvato ferredoxin oxidoreductasa (PFOR) se produce ferredoxin reducido, el ferredoxin producido en esta etapa y en la primera mediante el NADH-ferredoxin oxidoreductasa (NFOR), es entonces oxidado mediante la [Fe-Fe]-hidrogenasa¹ para producir hidrógeno. Otros dos tipos de hidrogenasa pueden producir hidrógeno directamente del NADH (Hallenbeck, 2013) o usan el NADH y el ferredoxin reducido simultáneamente para producir hidrógeno (Kraemer y Bagley, 2007), véase la siguiente reacción química:



Normalmente los microorganismos llevan a cabo fermentación ácido-mixta donde los electrones fluyen hacia múltiples compuestos orgánicos, la proporción de los mismos depende de los microorganismos, el tipo de sustrato, presión parcial de H₂ y las condiciones aplicadas durante la operación del proceso (Lee, Salern y Rittmann, 2008). Por ejemplo, mediante el control del pH, los productos de la fermentación pueden variar entre butirato, propionato y acetato/etanol (Ren, Wang, & Huang, 1997). A continuación se muestran algunas de las reacciones típicas durante la etapa de fermentación oscura.

La ruta de producción de ácido acético genera la mayor cantidad de H₂ (4 moles de H₂ a partir de 1 mol of glucosa, 33% del rendimiento teórico 12 H₂). Esto se debe a que el acetato es generado sin un consumo adicional de NADH. Cuatro moles de H₂ por mol de glucosa es el máximo rendimiento que se puede obtener de la fermentación oscura a partir de glucosa, lo que es llamado como el límite de Thauer. Debido a que los microorganismos llevan a cabo la fermentación mixta de otros productos y también parte de los electrones se utiliza para el crecimiento celular, el rendimiento del hidrógeno siempre es menor que dicho límite (Thauer, et al., 1977).

¹ [Fe-Fe]-hidrogenasa: Son hidrogenasas que contienen un centro conformado por dos átomos de hierro.

También cabe destacar, que durante la fermentación de ácido láctico, etanol y ácido propiónico no se produce hidrógeno. Por otra parte, algunas bacterias anaerobias facultativas como las bacterias entéricas, llevan a cabo respiración anaerobia en vez de fermentación usando nitrato y fumarato como aceptor final de electrones, perturbando la producción de H₂. De este modo, en los estudios en los que se lleva a cabo la producción de H₂, se deberá evitar este tipo de aceptores de electrones (Balachandar et al., 2013). En la Tabla 2.1 se resumen las principales reacciones durante la fermentación oscura, tanto las conducen a la producción de H₂, así como las que lo consumen o simplemente no lo generan.

Tabla 2.1 Principales reacciones durante la fermentación oscura.

<i>Vía Metabólica</i>	<i>Sustrato</i>	<i>Reacción</i>	<i>Productos finales</i>
<i>Producción-H₂</i>	Glucosa	$C_6H_{12}O_6 + 2H_2O \rightarrow 2CH_3COOH + 2CO_2 + 4H_2$	Acético, H₂
<i>Producción-H₂</i>	Glucosa	$C_6H_{12}O_6 \rightarrow CH_3CH_2CH_2COOH + CO_2 + CO_2 + 2H_2$	Butírico, H₂
<i>Producción-H₂</i>	Propiónico	$CH_3CH_2COOH + 2H_2O \rightarrow CH_3COOH + CO_2 + H_2$	Acético, H₂
<i>Consumo-H₂</i>	H ₂ – CO ₂	$2CO_2 + 4H_2 \rightarrow CH_3COOH + 2H_2O$	Acético
<i>Consumo-H₂</i>	Glucosa	$C_6H_{12}O_6 + H_2 \rightarrow 2CH_3CH_2COOH + 2H_2O$	Propiónico
<i>Otra</i>	Propiónico Etanol	$CH_3CH_2COOH + CH_3CH_2OH \rightarrow CH_3CH_2CH_2CH_2COOH + H_2O$	Valérico
<i>Otra</i>	Butírico Etanol	$CH_3CH_2OH + CH_3CH_2CH_2CH_2COOH \rightarrow CH_3CH_2CH_2CH_2CH_2COOH + H_2O$	Caprónico
<i>Otra</i>	Glucosa	$C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2CH_3CH_2OH + 2CO_2$	Etanol
<i>Otra</i>	Glucosa	$C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2CH_3CHOHCOOH + 2CO_2$	Láctico

2.3. Factores que afectan la producción de Hidrógeno

2.3.1. pH

El pH es uno de los factores ambientales que más afectan las rutas metabólicas y por ende el rendimiento de producción de H₂. Todas las enzimas que actúan durante la fermentación, están activas solamente en un rango específico de pH y tienen su máxima actividad a un pH óptimo (Craven y Russell, 1988; Lay, et al., 1997); en consecuencia el pH afecta la actividad de la enzima clave para la producción de H₂, la hidrogenasa (Dabrock, et al, 1992). En un proceso típico de fermentación, el hidrógeno es producido durante la fase de crecimiento exponencial del microorganismo. Cuando la población alcanza la fase estacionaria, las reacciones cambian de una fase acidogénica de producción de H₂ a una fase solventogénica

de producción de alcoholes en las que no se genera hidrógeno. Este cambio ocurre, cuando el pH cae por debajo de 4.5 debido a la acumulación de AGV e hidrógeno durante la fase exponencial. Además, otros autores han encontrado que el cambio ocurre también a un pH por encima de 5.7, debido a la activación y desactivación de enzimas que son necesarias para la producción de alcoholes (Khanal, et al., 2004). En general, varios estudios señalan que el pH óptimo para la producción de H₂ está en un rango de 5.0 – 6.5 donde un cambio de 0.5 unidades del pH óptimo, supone un 20% de disminución en la eficiencias de producción de H₂ (Valdez-Vazquez y Poggi-Varaldo, 2009). Adicionalmente, en operaciones donde se utiliza un consorcio mixto o lodo como inóculo, la regulación del pH se convierte en un mecanismo muy importante para inhibir la actividad de microorganismos metanogénicos que consumen el hidrógeno (Chen, et al., 2002; Liu y Fang, 2003). Esto debido a que en su mayoría, los microorganismos metanogénicos que consumen hidrógeno crecen en un rango de pH relativamente estrecho (6-8) (Garcia, et al., 2000).

2.3.2. *Temperatura*

La fermentación oscura se puede llevar a cabo bajo diferentes regímenes de temperatura: mesofílico (25–40°C), termofílico (40–65°C), termofílico extremo (65–80°C), hipertermofílico (>80°C). Se ha demostrado que existe una relación proporcional entre la producción de H₂ y la temperatura, puesto que este factor modifica la máxima tasa específica de crecimiento de los microorganismos (Balachandar et al., 2013). Sin embargo, altas temperaturas pueden llevar a la inactivación de algunas enzimas responsables de la producción de H₂.

Se han llevado a cabo estudios, en los que se han obtenido los parámetros de la ecuación de Arrhenius, así como la temperatura óptima de reacción en sistemas de producción biológica de hidrógeno. Lin et al. (2004) estudiaron el potencial de producción de hidrógeno de un cultivo mixto variando la temperatura en un rango de (15-35°C), encontrando que el rendimiento y la velocidad de producción de H₂ incrementan proporcional a la temperatura, siendo mayores a 35°C, 1.70 mol H₂/mol glucosa y 574 mmol/L/d, respectivamente. De forma similar, Lin, et al., (2008) operaron un quimiostato para determinar la temperatura más

conveniente para la producción de H_2 usando un consorcio microbiano mixto. Los estudios fueron llevados a cabo en un rango de 30-55°C.

Estos estudios han permitido demostrar, que la producción de hidrógeno a diferentes temperaturas, estuvo correlacionada con un cambio en las rutas metabólicas y cambios en las comunidades microbianas, por esta razón es de vital importancia establecer la temperatura óptima de operación para cada sistema de producción de hidrógeno.

2.3.3. Presión parcial de Hidrógeno (PpH_2)

Las rutas metabólicas de producción de hidrógeno son muy sensibles a la presión parcial del mismo. Una alta concentración de H_2 en la fase líquida, lo que equivale a una alta PpH_2 de acuerdo a la ley de Henry, resulta en la inhibición de la producción de biohidrógeno (Bundhoo y Mohee, 2016). Como ya se había mencionado, el hidrógeno es producido en la fermentación oscura principalmente a través de la reducción de protones mediante Ferredoxín reducido o NADH. Sin embargo, cuando la PpH_2 es alta, la reducción de protones a H_2 es termodinámicamente desfavorable (Kim y Gadd, 2008). En lugar de ello, debido al principio de Le Chatelier, se favorece la reducción de Ferredoxín oxidado, lo que resulta en la oxidación de H_2 a protones y por ende en la disminución de la producción de H_2 (Bundhoo y Mohee, 2016). Además, se ha reportado, que una PpH_2 alta puede inhibir la conversión de ácidos grasos de cadena larga a acetato e hidrógeno (Dong, et al., 2009), y que rutas metabólicas pueden también cambiar hacia la formación de productos más reducidos, como el lactato, etanol, acetona y butanol, a expensas del H_2 (Van Niel, et al., 2003; Levin, et al., 2004).

En consecuencia, es muy importante remover el exceso de hidrógeno del sistema para mantener la producción de hidrógeno; por esta razón, se han empleado varias estrategias para disminuir la presión parcial durante la fermentación oscura para incrementar la producción de H_2 , entre ellas se incluye la liberación continua de gas (Esquivel-Elizondo et al., 2014), usar un espacio de cabeza más grande (Oh et al., 2009), arrastre por vacío (Foglia, et al., 2011), arrastre con gas inerte como el N_2 , o el CO_2 (Kim, et al., 2006; Bru et al., 2012), entre otros.

2.3.4. Acumulación de metabolitos solubles

Durante la fermentación oscura, específicamente en la etapa de acidogénesis, la acumulación de metabolitos solubles afecta el rendimiento de H₂. Los principales metabolitos producidos son el ácido acético, butírico, propiónico y etanol y a medida que incrementa su concentración en el medio, causan inconvenientes que disminuyen la producción de hidrógeno (Bundhoo y Mohee, 2016). Los ácidos producidos, pueden estar en su forma disociada o no, ambas formas tienen efectos inhibitorios para la producción de H₂. Los ácidos disociados incrementan la fuerza iónica del medio, lo que puede causar la lisis de las bacterias productoras de H₂ y para evitar este hecho, las células cambian de las rutas metabólicas de producción de ácidos hacia la producción de solventes (solventogénesis), lo que reduce la producción de H₂ (Balachandar et al., 2013). Por su parte los ácidos en su forma no disociada, pueden penetrar la pared celular y luego se disocian debido al pH intracelular más elevado, lo que genera un aumento en la concentración de protones. Con el fin de restaurar el balance fisiológico en la célula, se hace un gasto energético adicional, lo que compromete el crecimiento bacteriano y por ende la producción de H₂ (Tang, et al., 2012; Wang, et al., 2008).

2.3.5. Iones metálicos

Los iones metálicos son un requerimiento muy importante en el proceso de la fermentación oscura ya que asisten el metabolismo, el crecimiento celular, el funcionamiento y activación de enzimas y coenzimas y por ende la producción de hidrógeno (Balachandar et al., 2013). Sin embargo, existe un umbral de concentración en el que los iones metálicos son beneficiosos para la célula, más allá de este umbral se presentan distintos procesos de inhibición que pueden afectar la producción de H₂. A continuación se presentarán algunos de los beneficios de los iones más destacados.

Magnesio: es un ion presente en la pared y membrana celular y es necesario para la generación de proteínas celulares a la vez que sirve como activador y cofactor de muchas

enzimas, por lo que se ha reportado que una concentración mínima de Mg^{2+} mejora el desempeño de producción de H_2 durante la fermentación oscura (Alshiya et al., 2008).

Sodio: se ha reportado que el Na^+ es un micronutriente necesario para el crecimiento bacteriano (Hao, et al., 2006).

Calcio: se conoce que promueve el crecimiento bacteriano y favorece la resistencia mecánica del lodo granular mientras se promueve la retención celular (Yuan, et al., 2010).

Hierro: es el metal pesado más investigado en este ámbito ya que es necesario en forma de ferredoxinas para la asistencia en la transferencia de electrones para la oxidación de piruvato a acetil- CoA, un paso previo a la producción de H_2 (Bao, et al., 2013). Además, el hierro es importante para el crecimiento bacteriano, para la biosíntesis de enzimas y la formación de hidrogenasas que son las responsables de la producción de H_2 a partir de la reducción de protones en el proceso de la fermentación oscura (Hallenbeck, 2013). Consecuentemente, es fundamental la presencia de una mínima cantidad de hierro para un efectivo proceso de fermentación oscura.

Níquel: en la fermentación oscura, el hidrógeno puede ser producido a partir de formiato a través de la vía piruvato formiato liasa (PFL) como ya se había mencionado, esta ruta requiere de la acción de Ni-Fe hidrogenasa (Hallenbeck, 2013). Ya que el níquel forma parte de este tipo de hidrogenasa, es necesaria una pequeña cantidad de iones de níquel durante el proceso fermentativo.

2.3.6. Nutrientes

La adición de nutrientes como el nitrógeno y fósforo es esencial para maximizar la producción de hidrógeno cuando se usan carbohidratos como fuente de carbono. El nitrógeno es un componente esencial de los aminoácidos y se requiere para el crecimiento óptimo de los microorganismos. Algunos estudios han mostrado, con respecto a la producción de hidrógeno, que el nitrógeno orgánico parece ser más adecuado en comparación con el nitrógeno inorgánico. Se obtuvo un rendimiento máximo de $2.4 \text{ molH}_2/\text{mol}$ de glucosa a

partir de almidón cuando se agregó 0.1% (p/v) de polipeptona; en cambio, no hubo mejoría en la producción obtenida cuando se usó urea u otras sales inorgánicas como fuente de nitrógeno (Yokoi et al., 2001). Dado que la adición de nitrógeno aumenta los costos de producción global de la producción de hidrógeno, las investigaciones se han enfocado en encontrar alternativas menos costosas que suplan las necesidades de nitrógeno durante el proceso. De esta forma se ha planteado la mezcla de distintos sustratos, uno rico en nitrógeno y otro como fuente de carbono, de tal modo que se obtenga una relación C/N óptima para la fermentación (Lin y Chag, 2004).

2.3.7. Tiempo de Retención Hidráulico.

El tiempo de fermentación se considera un factor importante en la selección de la población microbiana cuya velocidad de crecimiento le permite establecerse en el reactor pese a la dilución creada por el flujo volumétrico continuo. En el caso de la producción de hidrógeno, es un factor muy importante ya que permite seleccionar a aquellos microorganismos productores de H₂ y evita el crecimiento de aquellos que lo consumen. La velocidad específica de crecimiento de los microorganismos productores de metano o consumidores de hidrógeno es hasta 10 veces más (alrededor de 0.0167- 0.02 h⁻¹) en comparación con aquellos que producen hidrógeno (0.172 h⁻¹) (Lo et al., 2009). Este hecho, es muy importante cuando se utiliza, por ejemplo, lodo granular anaerobio como inóculo para la producción de H₂, ya que el tiempo de retención hidráulico permite eliminar o lavar aquellos microorganismos de lento crecimiento, como los metanogénicos y así evitar que decaiga la producción de hidrógeno en el reactor.

El tiempo de retención de sólidos (TRS) por su parte, es otro parámetro de diseño importante en el proceso biológico. El TRS determina la eficiencia de consumo de sustrato, la población microbiana y las vías metabólicas. En la fermentación de H₂, generalmente se asume que altos TRS promueven el crecimiento de microorganismos consumidores de hidrógeno, incluyendo metanogénicos y otros microorganismos que compiten por el mismo sustrato pero no producen hidrógeno. Por otra, TRS bajos pueden reducir la eficiencia de consumo de sustrato, la retención de biomasa activa y por ende la eficiencia del proceso global. En el caso de sustratos complejos como los residuos sólidos orgánicos, se requiere un TRS más alto

debido a los componentes orgánicos que son más lentos de degradar. Sin embargo, poco se sabe acerca de los efectos del tiempo de retención hidráulico en la producción de H_2 a partir de residuos sólidos orgánicos, cuando el TRS es independiente, ya que la mayoría de los estudios se han llevado a cabo en reactores en continuo (Mariakakis, et al., 2011).

El TRH está relacionado con la cantidad de materia orgánica que puede procesarse por unidad de tiempo y determina la economía del proceso. Para un volumen dado de residuo, un TRH más bajo representa un reactor más pequeño y por ende una disminución en los costos. Por esta razón el tiempo de retención de sólidos adecuado debe darse con tiempos de retención hidráulicos bajos, ya que esto representaría una mejora en la productividad y en la factibilidad técnica del proceso.

2.4. Digestión anaerobia en dos etapas

Un proceso típico en dos etapas se refiere al desarrollo de dos tipos de biomasa microbiana en reactores diferentes con actividades y funciones distintas. La hidrólisis y la acidogénesis de la materia orgánica para la producción de hidrógeno y AGV, entre otros intermediarios, se promueve en la primera etapa la cual es llamada “etapa acidogénica”. Por su parte, la segunda etapa o “etapa metanogénica”, degrada la fase líquida que proviene de la primera etapa y se completa el proceso de la digestión anaerobia. En esta última, los ácidos grasos volátiles y otros intermediarios se convierten a metano y dióxido de carbono (Xu, et al., 2017).

La separación del proceso de la digestión anaerobia se basa en el hecho de que las primeras fases de este proceso, como la hidrólisis y acidogénesis, ocurren bajo condiciones operacionales o ambientales óptimas diferentes a las fases subsecuentes de producción de metano. La Figura 2.4 ilustra un proceso de dos etapas convencional para la producción de hidrógeno y metano en la digestión anaerobia de la materia orgánica.

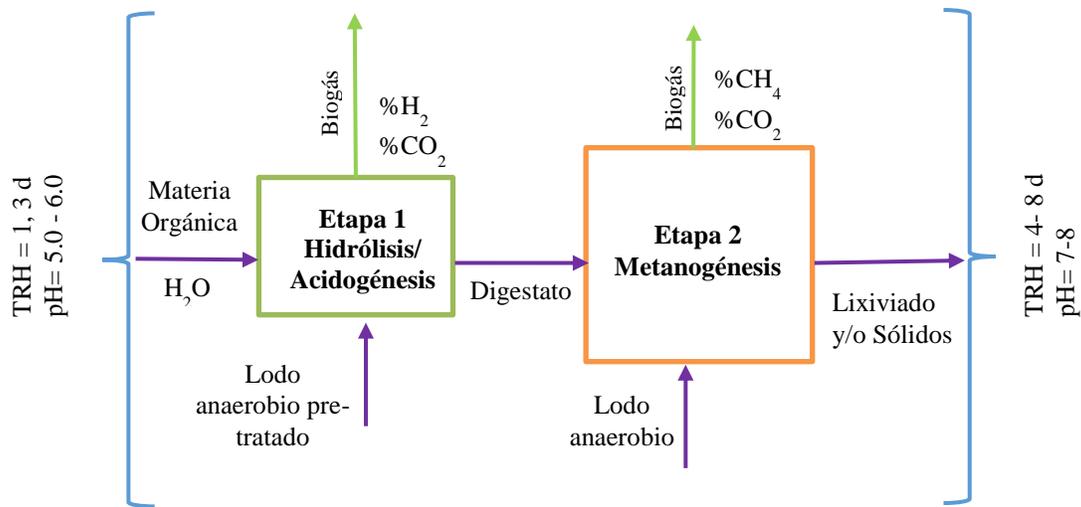


Figura 2.4. Digestión anaerobia en dos etapas

La digestión anaerobia, involucra la cooperación de distintas especies para lograr un proceso estable y autorregulado. Como ya se había mencionado, el hidrógeno es un intermediario importante que permite la disposición de electrones para dar continuidad a las rutas metabólicas para la producción de energía. Sin embargo, un exceso en la concentración de hidrógeno en el medio, inhibe las reacciones bioquímicas, por lo que necesita ser consumido. Para ello, existen especies de microorganismos capaces de consumirlo, como las bacterias homoacetogénicas que reducen el CO₂ con H₂ para producir acetato (Ye, et al., 2014), o las arqueas metanogénicas hidrogenotróficas que consumen el H₂ para producir metano (Antonopoulou et al., 2011). Además, si la materia orgánica que se degrada, contiene sulfatos y nitratos, entran en acción bacterias sulfato o nitrato reductoras, capaces de usar el H₂ como donador de electrones para generar sulfitos y amonio respectivamente (Valdez-Vazquez & Poggi-Varaldo, 2009). Todo este consumo de H₂ permite que las reacciones bioquímicas llevadas a cabo por las bacterias productoras de hidrógeno sean exergónicas, haciendo posible la DA. Esta asociación entre microorganismos productores y consumidores de H₂ es llamada sintrófia (Valdez-Vazquez y Poggi-Varaldo, 2009).

Contrario al proceso natural, el propósito de un sistema de dos etapas, es propiciar la acumulación de H₂ en el biogás para ser usado como combustible. Por lo que la producción de hidrógeno se basa principalmente en la inhibición de los microorganismos consumidores.

Para lograr este objetivo, en la primera etapa, se favorece la acumulación de H₂ usando métodos de inhibición para microorganismos consumidores de hidrógeno, en especial las arqueas metanogénicas, mediante el control biocinético.

El control biocinético, consiste en la manipulación de variables de operación del reactor acidogénico (primera etapa) y pretratamientos del inóculo, con el fin de inhibir la presencia de microorganismos consumidores de hidrógeno. De igual forma, en el reactor metanogénico (segunda etapa) se manejan variables de operación que faciliten el crecimiento de microorganismos productores de metano.

En el control biocinético el pH ocupa un lugar importante, puesto que permite seleccionar el tipo de microorganismos que prevalecen durante la operación del reactor. Los microorganismos metanogénicos se reproducen de forma favorable a un pH entre 6 y 8, por lo que en reactores acidogénicos para la producción de hidrógeno, se mantiene el pH entre 5-6 para inhibir los organismos consumidores y seleccionar aquellos que son productores y cuyo pH óptimo de crecimiento se encuentra en este rango más ácido. Por su parte el TRH, como se había mencionado anteriormente, es un parámetro operacional importante que permite la selección de la comunidad microbiana cuya velocidad de crecimiento es capaz de soportar la dilución causada por el continuo flujo volumétrico, de este modo, las poblaciones microbianas que tienen velocidades de crecimiento más grandes que la dilución, permanecen en el reactor ($\mu_{\text{máx}} > D$). Altas tasas de dilución (TRH cortos) pueden causar el lavado de microorganismos metanogénicos ya que poseen tasas de crecimiento mucho más lentas que los organismos productores de hidrógeno.

Existen métodos para obtener un inóculo productor de hidrógeno, uno de ellos es el pretratamiento térmico, que consiste en exponer el inóculo anaerobio a altas temperaturas ($100 \pm 10^\circ\text{C}$) durante un tiempo predeterminado, que puede ser desde unos pocos minutos hasta 24 horas, dependiendo del inóculo utilizado. El pretratamiento o choque térmico, busca seleccionar las especies de bacterias acidogénicas, que son capaces de formar esporas (por ejemplo las especies *Bacillus* y *Clostridium*) cuando las condiciones ambientales se vuelven hostiles, ya sea debido a un choque térmico o cambios en los nutrientes, la presencia de

químicos tóxicos o la exposición a un pH extremo. Las esporas que se forman por el choque térmico, están latentes y resisten las condiciones adversas. Las arqueas metanogénicas no poseen la capacidad de esporular, por lo que mueren. El choque térmico, por ende, ha sido utilizado por muchos autores para tratar lodo anaerobio y obtener un inóculo donde prevalecen las bacterias acidogénicas las cuales poseen la capacidad de esporular para sobrevivir esta condición extrema y eventualmente producir H_2 bajo condiciones ambientales favorables.

Los sistemas de dos etapas surgieron con el fin de optimizar el sistema de producción de biogás, es decir, obtener un biogás con mayor concentración de hidrógeno y por ende mayor contenido energético. Algunas de las ventajas que poseen estos sistemas se describen a continuación:

- Aumenta la eficiencia energética del proceso, ya que al producir H_2 en una primera etapa, el biogás generado al final del proceso, tendrá un mayor poder calorífico (Kvesitadze et al., 2011).
- Se beneficia la solubilización de la materia orgánica y la producción de AGV que son precursores de la generación de metano, así que de este modo, también se produce más metano que en un proceso de una sola etapa (Ueno et al., 2007).
- Al separar las etapas de la digestión anaerobia se tiene un mayor control de las condiciones ambientales favorables para cada fase, por lo que se obtiene una mayor estabilidad en el proceso (Liu et al., 2006).
- En sistemas de dos etapas se alcanza una mayor remoción de sólidos volátiles o de DQO comparado con un sistema de una sola etapa, lo que significa que mejora el proceso en cuanto al tratamiento y estabilización del residuo (Massanet et al., 2015).
- Reduce el tiempo de retención hidráulica de la etapa metanogénica que usualmente es largo (Ueno et al., 2007).

Por otro lado, los sistemas multi-etapa usualmente son complejos y requieren una versión económica mayor, además de que se obtienen menores rendimientos de biogás cuando la metanogénesis es húmeda (Durán et al., 2014)

2.5. Digestión Anaerobia y Residuos orgánicos

La Digestión Anaerobia es una estrategia muy utilizada para la estabilización de residuos orgánicos y la producción de biogás, precisamente porque se recupera energía del proceso. Esta estrategia, ha sido aplicada a una amplia variedad de residuos, desde aquellos con bajo contenido orgánico como lodos de plantas de tratamiento de aguas residuales, hasta desperdicios con alta carga orgánica como la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos.

Los residuos orgánicos con potencial para la producción de biogás pueden ser clasificados de la siguiente forma:

- **Residuos agrícolas:** estiércol, residuos agrícolas, cultivos energéticos², etc.
- **Residuos industriales:** aguas residuales, lodos, sub-productos, residuos de mataderos, biosólidos, etc.
- **Residuos municipales:** lodos de purga de plantas de tratamiento de aguas residuales municipales, fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos, entre otros.

Estos residuos pueden ser estabilizados a través de la digestión, lo que permite reducir su volumen, remover el material orgánico y otros contaminantes, y por supuesto generar energía en forma de biogás.

Los residuos que se utilizaron en esta investigación fueron residuos de comida provenientes de un restaurante y lodos de purga de una planta de tratamiento de aguas municipales; fueron

² Los cultivos energéticos son unos cultivos de plantas de crecimiento rápido destinadas únicamente a la obtención de energía o como materia prima para la obtención de otras sustancias combustibles.

escogidos atendiendo a la problemática ambiental que representan y sus características particulares de potencial de producción de biogás mediante el proceso de Digestión Anaerobia.

Los desperdicios de comida o residuos alimenticios, son todos aquellos alimentos, procesados o no, que no se consumen y se descartan como desecho. Investigaciones han demostrado que cerca de 1.3 billones de toneladas de alimentos se desperdician al año a nivel mundial, lo que es aproximadamente un tercio del total de los alimentos producidos para el consumo de la población global (Gustavsson y Cederberg, 2011). Las pérdidas por el desperdicio de comida no sólo son financieras sino que también tienen un alto costo ambiental, ya que la producción de comida consume recursos valiosos, como agua, fertilizantes, pesticidas, semillas, energía y mano de obra. La verdadera magnitud económica, ambiental y social del desperdicio de comida es de más de 2.6 trillones de dólares al año (FAO, 2013).

Aunque la mejor estrategia para atacar esta problemática, es la reducción del desperdicio de comida, más del 95% de los desperdicios de alimentos terminan en vertederos y representan un alto porcentaje de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos. Según un reporte realizado por la Organización de Comida y Agricultura de las Naciones Unidas, los alimentos desechados, durante su producción, consumen un volumen de agua equivalente al flujo anual del río Volga de Rusia ($5.8 \times 10^9 \text{ m}^3/\text{año}$) y son responsables de emitir 3.3 billones de toneladas de dióxido de carbono por año, haciendo que los desperdicios de alimentos, sean el tercer emisor de gases de efecto invernadero, después de China y los Estados Unidos de América.

En México por ejemplo, se generan residuos sólidos urbanos (RSU) dependiendo del número de habitantes de la población, cifras que van desde 150 mil toneladas hasta más de 6 millones de toneladas al año en estados como Jalisco, estado de México, y Veracruz, entre otros (Figura 2.5), y son cifras que seguirán creciendo aceleradamente proporcional al aumento poblacional y al desarrollo industrial de estas regiones (SEMARNAT, 2012).

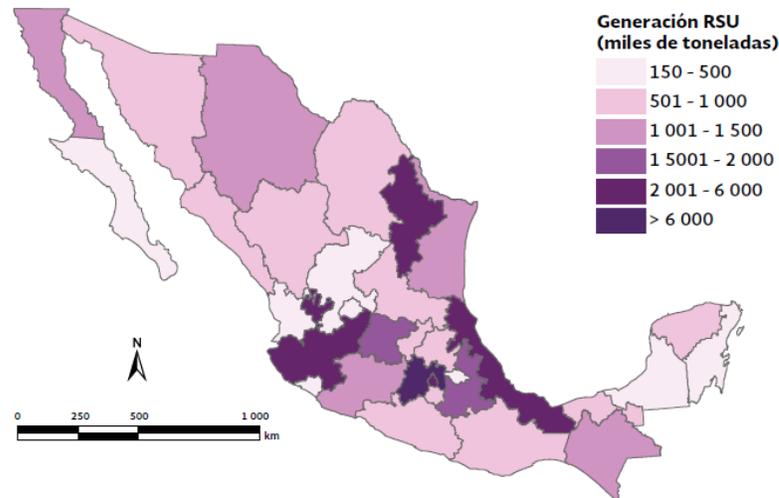


Figura 2.5. *Generación de residuos sólidos urbanos al año por estados de México*
Fuente: Dirección General de Equipamiento e Infraestructura en Zonas Urbano-Marginadas, Sedesol. México. 2012.

En su mayoría, los sitios de disposición final con los que cuenta el país no disponen de instalaciones adecuadas, además de no cumplir con los requisitos que exige la Norma Oficial Mexicana NOM-083-SEMARNAR-2003 referente a los lineamientos para la disposición final adecuada de estos residuos (Jiménez, 2001). Los residuos alimenticios, representan entre el 25-60% de los residuos sólidos urbanos que al estar expuestos sin control adecuado, como es el caso de los tiraderos a cielo abierto, provocan diferentes impactos ambientales como la emisión de gases de efecto invernadero, generación de lixiviados que contaminan los mantos acuíferos, atracción de fauna nociva portadora de vectores causantes de enfermedades que afectan la población, entre otros (Jiménez, 2001).

Todo lo anterior, obliga a buscar alternativas eficientes para el manejo de los desperdicios de alimentos, de modo que se recupere parte de la energía que fue utilizada durante su producción y a la vez se eviten otros problemas ambientales como la emisión de gases de efecto invernadero, así como la acidificación de suelos por los lixiviados generados durante su descomposición. Una alternativa que cumple estos requisitos es la generación de biogás mediante un proceso de digestión anaerobia. Los residuos alimenticios, son ricos en un amplio espectro de componentes orgánicos, incluyendo 35-69% de carbohidratos, 3.9-21.9% de proteínas, grasas y aceites y ácidos orgánicos (Kiran, et., 2016). Debido a su composición,

los desperdicios de alimentos tienen un alto potencial para ser utilizados en la generación de biogás, de manera que se da un valor agregado a la estabilización de estos residuos produciendo energía.

Por otra parte, las actividades del hombre también resultan en la producción de grandes volúmenes de agua residual municipal cada año a lo largo de todo el mundo. La mayoría de esta agua es tratada mediante procesos físicos, químicos y biológicos con el fin de remover la mayor cantidad de sólidos orgánicos suspendidos y solubles, patógenos y otros contaminantes; permitiendo la descarga del agua tratada en un cuerpo de agua natural, en el sistema de drenaje o su reúso. Durante las distintas etapas del tratamiento del agua residual, los sólidos son separados del agua, generando una corriente de semisólidos de desecho, llamado lodo de purga. Normalmente, los lodos de purga de sistemas de lodos activados contienen de 1-5% de sólidos y el 60% de los mismos es materia orgánica no tóxica, así como nitrógeno y fósforo, contaminantes orgánicos e inorgánicos tóxicos, patógenos y otros vectores microbianos, entre otros. Debido a la composición de estos lodos, no pueden ser desechados en tiraderos o en extensiones de tierra para cultivos, puesto que al descomponerse generan malos olores, acidifican el suelo y generan problemas fitosanitarios por la presencia de agentes patógenos (Tezel et al., 2011). Debido a esto, las plantas de tratamiento de aguas residuales de lodos activados contemplan dentro de su proceso un sistema de estabilización de los lodos de purga. Una vez inertes los lodos o biosólidos se deshidratan y pueden ser usados como mejoradores de suelos.

En el caso de México, la Secretaría de medio ambiente y recursos naturales estima que se tratan alrededor del 25% de las aguas residuales municipales producidas, generando en promedio 3,201 toneladas de lodos por día (SEMARNAT-INE, 2006). Se espera que la cantidad de lodos de purga generada incremente como consecuencia de la instalación de cada vez más plantas de tratamiento de agua residual en el país. Al igual que los desperdicios de alimentos, los lodos de purga tienen el potencial de ser utilizados para la generación de biogás mediante la digestión anaerobia, proceso con el cual se evita la descarga incontrolada de lodos en vertederos.

2.5.1. Codigestión de lodos de purga y residuos alimenticios

La codigestión de diferentes tipos de residuos es un proceso ampliamente utilizado para mejorar la biodegradabilidad y la producción de biogás debido a los efectos sinérgicos y complementarios que se dan al mezclar los sustratos (Iacovidou et al., 2012). Al realizar la codigestión se pueden balancear los nutrientes necesarios en el proceso, es decir, el contenido de macro y micronutrientes, la relación carbono/nitrógeno (C/N), diluir la concentración de compuestos inhibitorios o perjudiciales si los hay, así como la cantidad de materia orgánica biodegradable (Álvarez et al., 2010). En particular, la codigestión anaerobia de los desechos de alimentos y los lodos de purga, proporciona una serie de beneficios económicos y ambientales, los cuales se describen a continuación:

- Los digestores de lodos de purga, generalmente, poseen problemas de baja producción de biogás y bajos rendimientos, debido a la baja proporción de material orgánico biodegradable de los lodos, por esta razón, al hacer la mezcla con residuos alimenticios, se aumenta la cantidad de materia biodegradable disponible en el reactor, lo que mejora sustancialmente la producción de biogás (Kim, et al, 2011).
- En su mayoría, las plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR) están sobredimensionadas, para atender la variación de flujo del agua residual y el crecimiento demográfico futuro, de igual forma, los digestores utilizados para tratar los lodos (Tchobanoglous, et al., 1991). Teniendo en cuenta esto, se puede dar uso a esta capacidad sobrante, para tratar los residuos alimenticios y evitar que estos terminen en tiraderos a cielo abierto. Para ello, será necesario adecuar el sistema de disposición de residuos municipales, de manera que los residuos orgánicos puedan estar separados de los inorgánicos y puedan ser llevados hacia los reactores ya existentes.
- En condiciones óptimas de operación, las plantas de tratamiento de aguas residuales pueden alcanzar potencialmente hasta un 65% de autosuficiencia energética utilizando plenamente los lodos de purga que produce, para recuperación de energía

(Jenicek, et al., 2012). En la práctica profesional , las PTAR pueden compensar tan solo el 20-30% del consumo de energía (Bodik y Kubaska, 2013), debido a que los lodos de purga por sí solos tienen un bajo contenido energético. Por lo tanto, un enfoque viable para aumentar la producción energética es codigerir los lodos de purga con residuos orgánicos municipales cuyo potencial de producción energética es mayor. Esta opción permite que las PTAR puedan acercarse a su potencial de autosuficiencia energética, a la vez que se reduce el volumen de residuos alimenticios que deben ser dispuestos en un relleno sanitario.

- Los residuos de alimentos representa el 25-60% de los residuos sólidos urbanos (RSU) (Pham, et al., 2015) por lo tanto, al eliminar los residuos de alimentos de los RSU, se puede ahorrar espacio en los vertederos que puede ser usado para el material inerte. Además, los desperdicios de alimentos son el contribuyente más significativo a la producción de gas metano, por lo que es muy importante darle un uso a este tipo de residuo y así minimizar el impacto ambiental de la operación del vertedero, así como su mantenimiento posterior al cierre.
- La codigestión permite la captura completa y la utilización beneficiosa del metano procedente de los desperdicios de alimento. Además, permite la remoción de la demanda química de oxígeno (DQO) y amoníaco ($\text{NH}^3\text{-N}$) en los lixiviados provenientes de un vertedero (Nghiem, et al., 2017).

2.6. Antecedentes de investigación relacionados con la DA de residuos sólidos orgánicos

Teniendo en cuenta la problemática que presentan los residuos orgánicos en cuanto a su disposición final, ha sido necesario implementar estrategias razonables y sustentables para dar un manejo adecuado de los mismos. Una opción que reúne estas características, es la producción de biocombustibles como el hidrógeno y metano a partir de estos residuos, ya que se genera un producto de alto valor agregado mientras que se realiza el tratamiento biológico de desechos para reducir su impacto negativo en el medio ambiente.

Los estudios hasta ahora realizados para la producción de H₂ y CH₄ en dos etapas se han enfocado en la optimización de ciertos parámetros (pH, temperatura, TRH, carga orgánica) que favorezcan las rutas metabólicas de producción de H₂ en la primera etapa. La Tabla 2 muestra un resumen de algunas investigaciones realizadas para sistemas de dos etapas para la producción de H₂ y CH₄ a partir de diferentes sustratos orgánicos. En algunos de estos estudios, se ha evaluado el efecto de la carga orgánica y TRH sobre la producción de biogás y remoción de sólidos volátiles, hallando que existe un óptimo para cada sistema propuesto dependiendo de las características propias del sustrato empleado y del modo de operación de los reactores.

Tabla 2.2 Estudios de producción de H₂ y CH₄ en procesos de dos etapas.

Sustrato	Modo de operación del reactor		Temp. °C		TRH (d)		Índice de producción		Remoción Global	Ref.
	H ₂	CH ₄	H ₂	CH ₄	H ₂	CH ₄	H ₂	CH ₄		
Jugo de caña de azúcar	----	Continuo	---	30		4	--	127 mL/L-d	75.6	[1]
Vinazas tequileras	Lote secuencial	Continuo	35	35	0.75	1		1368 mL/L-d 280.8 mL/L-d	83.0	[2]
Suero de leche	Semi-continuo	Semi-continuo	60	60	3	15		2358.3 mL/L-d 483.3 mL/L-d	88.2	[3]
Residuos orgánicos	Lote secuencial	Continuo	37	37	8*	0.6		3630 mL/L-d 1750 mL/L-d	72.5	[4]
Pasto	Continuo	Continuo	35	35	1	19		76.44 mL/ L-d 266 mL/ L-d	68.0	[5]

[1] (Reungsang, et al., 2016); [2] (Buitron, et al., 2014); [3] (Zhong,et al., 2015) [4] (Han, et al., 2005); [5] (Massanet-Nicolau et al., 2015)*TRS: Tiempo de retención de sólidos.

Para el caso del reactor productor de H₂ se busca el TRH óptimo en el que se convierta la mayor cantidad de sustrato, sin dar cabida al crecimiento de arqueas metanogénicas. En cuanto al reactor productor de metano se trata de hallar la mayor producción de biogás con TRH lo más corto posible, pero sin hacer muy largo el proceso o tener que usar reactores de gran volumen. También se ha investigado el efecto de la temperatura en el sistema propuesto, encontrando que hay una mayor actividad enzimática y producción de biogás para los sistemas termofílicos; sin embargo, han encontrado que estos sistemas presentan mayores problemas de inestabilidad además de consumir mucha más energía.

Liu et al. (2006) llevaron a cabo exitosamente un proceso combinado de dos etapas a escala laboratorio para la producción de H₂ y CH₄ a partir de desechos sólidos domésticos. La producción de H₂ se realizó en la primera etapa en un reactor por lote, utilizando un inóculo pretratado con choque térmico a 100°C durante una hora para inhibir la metanogénesis. Obtuvieron un rendimiento de 43ml H₂/g sólidos volátiles (SV) en la primera etapa de producción y en la segunda 500ml CH₄/g SV. También reportaron que la producción de metano en el proceso de dos etapas fue mayor en un 21% que el proceso de una sola etapa, debido a la mayor producción de ácidos grasos volátiles en el proceso combinado.

Ueno et al., (2007) también diseñaron un proceso de dos etapas, el primer reactor acidogénico se combinó con un subsecuente reactor metanogénico, usando un reactor de lecho empacado que fue operado para favorecer la producción de hidrógeno o la solubilización de los materiales sólidos. Su objetivo era comprobar si la producción de metano se veía favorecida por un proceso previo de generación de H_2 o de solubilización de sólidos. Hallaron que la mejor opción para la producción de metano era acoplar un proceso previo para la producción de H_2 . Bajo este arreglo, obtuvieron una productividad de 442 mmol CH_4 /L-reactor/ día y 199 mmol H_2 /L-reactor/ día, con un 82% de remoción de DQO y una descomposición del 96% de SSV.

Kvesitadze et al., (2012) llevaron a cabo un experimento para desacoplar de la fermentación de hidrógeno y metano a partir de la fracción orgánica de residuos municipales (FORSU) adicionando una solución de NaOH para inhibir los organismos metanogénicos. También realizaron el pretratamiento de la fracción celulósica de los residuos (congelación y molienda) para incrementar el área superficial de la celulosa para el ataque enzimático. Utilizaron cultivos de bacterias celulolíticas y sacarolíticas anaerobias lo que les proveyó una conversión del 97-99% de la celulosa y hemicelulosa a azúcares fermentables para la producción de H_2 . La primera etapa de la fermentación se condujo en dos reactores por lote a un pH inicial de 9.0 y 5.5, respectivamente, bajo condiciones termofílicas (55°C) y la máxima producción acumulada de hidrógeno obtenida fue de 104 L/kg SV para un pH inicial de 9 y 520 L/kg SV de metano en la etapa metanogénica final donde usaron estiércol de ganado como inóculo. Por último realizaron cálculos para comparar la co-generación de calor y energía entre un proceso de dos etapas para producción de H_2 y CH_4 y uno para la producción solamente de CH_4 . Estimaron que la producción de calor y energía fue mayor en un 23 y 26%, respectivamente, en el proceso combinado de dos etapas. De este modo, concluyen que la implementación a gran escala de esta tecnología en plantas de biogás mejora las características ambientales y económicas del proceso global.

Todos estos estudios demuestran que la obtención de hidrógeno y metano en un proceso combinado de dos etapas mediante la inhibición de arqueas metanogénicas, posee una mayor eficiencia energética y de remoción que un sistema convencional de producción de biogás en una sola etapa. Sin embargo, los distintos factores que afectan este proceso, la carga orgánica

(CO) (Lee et al., 2014), la temperatura (Gruhn et al., 2016), el tipo de inóculo (Kawagoshi et al., 2005), el tipo de sustrato, etc., hace que las eficiencias de producción de biogás sean bajas; por tal razón, la investigación para la implementación del proceso de dos etapas continúa siendo un motivo de estudio, con el fin de hallar la mejor combinación de parámetros que maximice la productividad del biogás en la fermentación de la materia orgánica.

2.6.1. Producción de H₂ y CH₄ por codigestión de residuos alimenticios (RA) y lodos de purga (LP) de plantas de tratamiento de aguas residuales

Como se mencionó anteriormente, la inadecuada disposición de residuos alimenticios y los lodos de purga representa un problema ambiental serio y es necesario llevar a cabo su estabilización, sin olvidar que puede recuperarse energía en forma de biogás a partir de ellos. La producción de H₂ y CH₄ mediante la digestión anaerobia de los desperdicios de comida ha sido ampliamente estudiada, alcanzado rendimientos de 50-150 mL H₂/g SV (Kim y Shin, 2008; Kim et al., 2009). Sin embargo, este sustrato por sí mismo no es ideal para la digestión anaerobia ya que al ser ricos en carbohidratos, que al aumentar la carga orgánica, las reacciones de hidrólisis y acidogénesis acidifican rápidamente el sistema (Siddiqui et al., 2011). Debido a esto, es necesario adicionar cierta cantidad de buffer para mantener el pH en un valor óptimo (5.0 – 6.5) aumentando los costos del proceso.

Por su parte, los lodos de purga han presentado problemas en cuanto a la recuperación de biogás en las plantas de tratamiento de aguas residuales debido a su limitado contenido en carbohidratos y a su baja biodegradabilidad. Para superar estos inconvenientes, se desarrollan distintas estrategias, como pretratamientos fisicoquímicos para su hidrólisis, la implementación de procesos termofílicos y la codigestión con sustratos ricos en carbohidratos (Tezel et al., 2011).

Kim (2004), demostró la factibilidad de la producción de hidrógeno mediante la codigestión anaerobia de residuos alimenticios (RA) con lodos de purga (LP) de una planta de tratamiento aerobia de aguas residuales, en botellas serológicas bajo distintas concentraciones de sólidos volátiles totales (SVT) (0.5–5.0%) y diferentes relaciones de mezcla RA:LP (0:100–100:0).

El potencial de producción de H₂ incrementó hasta 13-19% para todas las concentraciones de SV estudiadas. Hallaron un máximo potencial de producción de H₂ de 122.9 L/kg carbohidrato-DQO a una relación 87:13 (RA: LP) y SVT del 3.0%.

Zhu et al. (2008) investigaron el potencial de la codigestión de residuos alimenticios (RA), lodo primario y lodo activado para la producción de hidrógeno, para lo cual fueron caracterizados carbohidratos, nitrógeno Kjeldahl, PO₄-P y algunos metales. Estos autores encontraron que la capacidad buffer de los lodos de purga fue mayor que la de los RA. Todas las combinaciones de sustratos fueron estudiadas usando reactores en lote y encontraron que para todos los casos el potencial de producción de hidrógeno fue mejor, comparado con la producción con sustratos individuales. La mejor relación de mezclado para todos los grupos de codigestión fue de 1:1 v/v. El mayor rendimiento de producción fue de 112 mL H₂/g SV. Zhu et al. (2008) atribuyeron la mejora del proceso al aumento de la capacidad buffer de las mezclas de sustratos.

Kim, *et al.* (2011) investigaron el efecto de LP de una planta de tratamiento aerobio aguas residuales a residuos alimenticios (RA) en la fermentación de H₂. Encontraron que la adición de una pequeña cantidad de lodos actuó sinérgicamente mejorando el desempeño de la fermentación, no sólo incrementando la cantidad total de H₂ producido sino acelerando toda la reacción, acortando la fase latente e incrementando la velocidad de producción. Atribuyeron estos resultados a la presencia en el lodo de Fe y Ca en mayor cantidad que en los residuos alimenticios, ya que el hierro es fundamental para la transferencia de electrones y la biosíntesis de enzimas claves en la generación de hidrógeno y el calcio por su parte, favorece el crecimiento bacteriano.

Jung et al. (2013) estudiaron la producción de H₂ y CH₄ en un sistema de dos etapas a partir de residuos alimenticios (RA) y lodos de purga (LP) de una planta de tratamiento de aguas residuales (lodos activados). La etapa de producción de H₂ se realizó en un reactor por lote, la alimentación del reactor fue una mezcla 10:1 (RA: LP). Hallaron que la adición de una pequeña cantidad de lodos mejoró significativamente el desempeño de la fermentación para la producción de hidrógeno. La etapa metanogénica la condujeron en dos reactores diferentes,

un reactor anaerobio secuencial (ASBR) y uno de flujo ascendente (UASB), que fueron alimentados con el efluente de la primera etapa y operados durante 53 días. El sistema ($H_2 + CH_4$ -ASBR) mostró un mejor desempeño en términos de conversión global de biogás (78.6%), mientras que las mayores velocidades de producción ($2.03 L H_2/L_{sistema}/d$ y $1.96 L CH_4/L_{sistema}/d$) fueron alcanzadas con el sistema ($H_2 + CH_4$ -UASB).

Gottardo et al. (2015) realizaron un experimento a escala piloto para verificar la factibilidad de la codigestión de residuos sólidos orgánicos con lodos de una planta de tratamiento de aguas residuales en dos etapas. La prueba experimental fue llevada a cabo con dos reactores continuos de mezcla completa, ambos mantenidos en condiciones termofílicas y con alimentación semicontinua. No utilizaron ningún tipo de químico para controlar el pH en la primera fase. El estudio tardó 50 días en los que no observaron ninguna inestabilidad en el sistema. Confirmaron la posibilidad de obtener hidrógeno de forma estable con una producción específica de $40 L/kg SVT$ y una producción específica de metano en la segunda fase de $320 L/kg SVT$.

2.6.2. Trabajos del grupo de investigación en DA de residuos sólidos orgánicos

El grupo de investigación del Laboratorio de Investigación en Procesos Avanzados para el Tratamiento de Aguas (LIPATA) del Instituto de Ingeniería – Campus Juriquilla, ha venido investigando la producción de hidrógeno (PH_2) a partir de la fermentación de residuos sólidos orgánicos (RSO). Moreno-Andrade y Buitrón (2015), analizaron la influencia del tamaño de partícula en la producción de H_2 en condiciones mesofílicas en un reactor por lotes. Con este estudio demostraron que existe un efecto significativo del tamaño de partícula y la concentración inicial de sólidos totales (ST) en la producción de H_2 . Encontraron que para concentraciones de SV iniciales menores a $30 g SV/L$, la mayor producción de H_2 se obtiene con partículas menores a $2 mm$. Por su parte, Ramos, et al. (2012) estudiaron la influencia que tiene la concentración de los sólidos volátiles SV y el pH inicial en la biodegradación de RSO provenientes de la cafetería del campus Juriquilla de la UNAM, en reactores por lotes y en condiciones mesofílicas. Determinaron que el rendimiento y la tasa de producción de H_2 (TPH_2) están influenciados por el pH inicial y la concentración de sólidos. La más alta TPH_2 ($2.9 mmol H_2/d$) fue obtenida a $90 g ST/L$ y un pH de 5.5.

Moreno-Andrade et al. (2015), determinaron la influencia de distintos TRH: 72, 24, 12 y 6 h en la producción de hidrógeno a partir de los RSO obtenidos de la cafetería de la UNAM, campus Juriquilla, en un biorreactor discontinuo por lotes (SBR); la mayor producción fue de 192.83 L H₂/kg SV a un TRH de 24 horas. Adicionalmente, evaluaron tres distintos pretratamientos sobre un inóculo obtenido de un reactor anaerobio que degrada aguas residuales de la industria cervecera a fin de eliminar las arqueas consumidoras de H₂. Los tratamientos evaluados fueron, choque térmico (103-105°C durante 1 h) e inhibidores químicos, cloroformo y lumazina. Hallaron que la producción de H₂ fue mayor en 61% cuando el inóculo fue tratado mediante choque térmico. Por último, estos autores sugieren la implementación de una segunda etapa metanogénica para mineralizar por completo la materia orgánica utilizada como sustrato en el proceso.

Finalmente, Castillo-Hernández, et al. (2015) realizaron la evaluación de la producción de hidrógeno en un reactor continuo de tanque agitado (CSTR, por sus siglas en inglés), donde se determinó que para los RSO provenientes de un restaurante tipo buffet, la mayor productividad de H₂ se obtuvo aplicando una carga orgánica de 38 g SV/L_{reactor}/d y sobrepasando este valor disminuyó la productividad debido a la acidificación del sistema.

2.7. Justificación de esta investigación

La generación de residuos orgánicos y su descomposición bajo condiciones no controladas representa uno de los mayores impactos ambientales causados por el hombre. La emisión de gases de efecto invernadero, la contaminación del suelo, malos olores etc., por el manejo inadecuado de estos desechos, constituyen un conjunto de problemas que no puede ser ignorado si se planea tener un desarrollo sostenible.

Teniendo en cuenta precisamente la idea de sostenibilidad, la producción de biocombustibles a partir de desechos orgánicos, es una estrategia muy acertada que permite un adecuado tratamiento de los residuos, así como la generación de energía limpia. Por tal razón, la

digestión anaerobia de residuos orgánicos se ha venido implementando, con el fin de darle un uso favorable y evitar que estos desechos terminen en vertederos.

Sin embargo, la generación de biogás a partir de desechos orgánicos, debe ser sostenible desde el punto de vista económico, por lo que en una planta generadora de biogás siempre se busca aumentar la velocidad de producción, rendimiento, entre otros, con el fin de obtener la mayor cantidad de energía y disminuir los costos de diseño y operación. Para lograr este fin, se llevan a cabo investigaciones con el fin de mejorar ciertos parámetros que aumenten la energía producida, entre ellos el tipo de sustrato, el tiempo de reacción, la temperatura de operación, entre otros.

Este trabajo de investigación buscó mejorar la calidad del biogás producido, obteniendo biogás con una mayor concentración de hidrógeno en la primera etapa del proceso fermentativo, así como disminuir el tiempo de reacción en una segunda etapa para la producción de metano. De igual forma, los ensayos estuvieron enfocados en la codigestión de residuos alimenticios y lodos de purga, ya que este proceso en dos etapas para la producción de hidrógeno y metano se encuentra en su fase inicial y la proporción en la que se mezclan los residuos alimenticios y lodos de purga para maximizar la producción de hidrógeno ha sido escasamente estudiada y difiere para cada sistema empleado por la composición variada de los sustratos.

Este trabajo de investigación, se centró en la hipótesis, de que la adición de cierta cantidad de lodos de purga a los residuos alimenticios, ejerce un efecto positivo en la producción de H_2 , por lo tanto es posible establecer la mezcla adecuada para lograr este objetivo y posteriormente evaluar el desempeño de esta mezcla en un sistema de dos etapas operando reactores de tipo discontinuo secuencial.

Capítulo 3. Objetivos y metas

3.1. Objetivo general

Evaluar la producción de hidrógeno y metano a partir de la codigestión de residuos alimenticios y lodos de purga en un proceso de dos etapas a escala laboratorio.

3.2. Objetivos Específicos

- ❖ Identificar una mezcla de residuos alimenticios y lodos de purga en codigestión que facilite la producción de hidrógeno.
- ❖ Determinar la tasa de producción de hidrógeno durante la codigestión, en un reactor discontinuo secuencial acidogénico con varios TRH.
- ❖ Determinar la tasa de producción de metano en un reactor discontinuo secuencial que trata el digestato de la primera etapa del proceso.

3.3. Metas

- ❖ Se obtendrán los resultados de pruebas con al menos cinco proporciones de mezcla, para encontrar la mejor relación residuo alimenticio: lodo de purga que favorezca la producción de hidrógeno.
- ❖ Usar un reactor SBR para la producción de H_2 , con diferentes TRH (24, 16 y 8 h).
- ❖ Acoplar un reactor SBR para producir metano a partir del digestato producido en el reactor productor de hidrógeno.

Capítulo 4. Materiales y Métodos

Este trabajo de investigación se desarrolló en tres partes principales. En la **primera parte** se realizaron pruebas de potencial de producción de H_2 para evaluar la producción de hidrógeno variando la proporción de mezcla de los residuos alimenticios y lodos de purga. Una vez seleccionada la mejor proporción de mezcla, se tomó esta condición para usarla en la **segunda parte**, la cual se centró en el arranque de un reactor anaerobio discontinuo secuencial (ASBR), para la producción de H_2 y la **tercera parte**, se desarrolló de forma paralela a la segunda, y consistió, en el acoplamiento de un ASBR para tratar el digestato obtenido del primer reactor y producir metano. La Figura 4.1 ejemplifica las principales etapas de este proyecto.

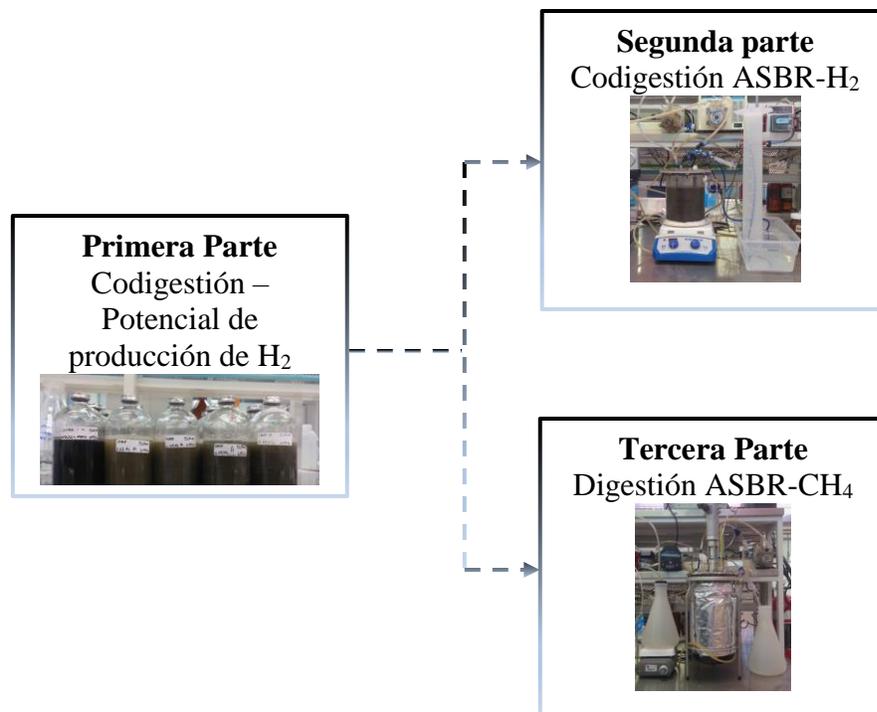


Figura 4.1 Partes en las que se desarrolló el trabajo experimental.

4.1. Obtención del inóculo

Para la realización de este proyecto, fue necesario el uso de un inóculo con los microorganismos necesarios para llevar a cabo la descomposición de la materia orgánica, en

cada una de las etapas. Aunque la fuente del inóculo anaerobio fue la misma, para los ensayos en los que se favorecía la producción de hidrógeno fue necesario realizar un pretratamiento. A continuación, se menciona la forma en la que se prepararon los inóculos para los ensayos.

- **Inóculo para producción de H₂:** El inóculo que se utilizó consistió en un cultivo mixto no definido proveniente del lodo granular de un reactor de lecho de lodos de flujo ascendente (UASB, por sus siglas en inglés) de una planta de tratamiento de agua residual de una industria cervecera localizada en el Estado de Jalisco. Los lodos fueron colectados en el mes de mayo de 2015 y almacenados a 4 °C hasta su uso. Este inóculo se sometió a un pretratamiento de secado a $105 \pm 5^{\circ}\text{C}$ por 24 horas, con el propósito de seleccionar bacterias que forman esporas en condiciones de estrés térmico (bacterias hidrolíticas y productoras de hidrógeno, especialmente las del género *Clostridium*) e inactivar las arqueas metanogénicas que no tienen la capacidad de esporular (Valdez-Vazquez y Poggi-Varaldo, 2009). Después del tratamiento térmico el inóculo se trituró y tamizó para realizar su caracterización fisicoquímica (ST, SV, DQO, carbohidratos y proteínas).
- **Inóculo para producción de CH₄:** Para esta etapa se empleó lodo granular anaerobio proveniente de un reactor UASB que trata aguas residuales de la industria cervecera, en este caso no se realizó ningún pretratamiento.

4.2. Obtención, pretratamiento y caracterización de los sustratos.

El sustrato para la producción de hidrógeno consistió en una mezcla de residuos alimenticios (RA) y lodos de purga (LP). Los RA se recolectaron a partir del muestreo de RSO generados en un restaurante tipo buffet de la ciudad de Querétaro, Qro. Después de separar los huesos, los residuos alimenticios fueron triturados para reducir su tamaño en un molino industrial y tamizados para obtener un tamaño de partícula menor a 5mm y almacenados a -4°C según Castillo-Hernández, (2015). Estos residuos se caracterizaron para conocer sus propiedades fisicoquímicas: humedad, sólidos totales (ST), SVT, ácidos grasos volátiles (AGV, incluyendo ácidos acético, propiónico, butírico, valérico), DQO, carbohidratos y proteínas, alcalinidad, pH.

Para la caracterización física de los residuos se tomó una muestra representativa de los residuos alimenticios recolectados en el restaurante. Dicha muestra se obtuvo mediante el método de cuarteo (NMX-AA-15-1985), donde la muestra de residuos alimenticios proveniente del restaurante, se dividió en cuatro porciones, se seleccionaron dos porciones para conocer su composición en cuanto a harinas, verduras y frutos y cárnicos; y las otras dos se descartaron, para volver a repetir el mismo proceso. Los RSO se recolectaron durante 3 semanas, procesando un total de 75 kg que fueron refrigerados a -4°C para su preservación.

Los lodos de purga por su parte, fueron una mezcla de lodos primarios y secundarios deshidratados en un filtro de prensa, los cuales se obtuvieron de la planta de tratamiento de aguas residuales municipales San Pedro Mártir, ubicada en Querétaro, Qro. Se recolectaron 30 kg y se almacenaron a 4°C para evitar su descomposición. Se determinaron en el laboratorio, el contenido de ST y SV, carbohidratos, proteínas, alcalinidad, pH.

4.3. Primera Parte: potencial biológico de producción de hidrógeno.

Con el fin de establecer la proporción RA:LP que favorecía la mayor producción de hidrógeno, se llevaron a cabo pruebas en lote para establecer el potencial de producción de hidrógeno en botellas serológicas de 160 mL. Los parámetros operacionales que fueron empleados se muestran en la Tabla 4.1. Para este ensayo se fijó una concentración inicial de sólidos volátiles de 10 g/L en cada uno de los reactores por lote. Las proporciones de mezcla se expresaron como el porcentaje de sólidos volátiles que cada uno de los residuos aportaba a la mezcla final en cada uno de los reactores, por ejemplo, el ensayo con la mezcla 90-10% (RA-LP), tuvo una concentración inicial de 10 g SVT/L, al igual que las demás, sin embargo, el 90% de estos sólidos volátiles los aportan los residuos alimenticios, mientras que el 10% restante proviene de los lodos de purga. Las mezclas que fueron preparadas, se muestran en la Figura 4.2.

En cada botella se adicionaron 5 ml de solución de sales como fuente de nutrientes y capacidad buffer (g/L) de acuerdo con Mizuno et al. (2000): 41.6 g NH_4Cl , 4 g K_2HPO_4 , 2 g

MgCl₂·6H₂O, 1.6 g FeSO₄· 7H₂O, 40 mg CoCl₂·6H₂O, 40 mg MnCl₂·4H₂O, 40 mg KI, 8 mg NiCl₂·6H₂O, 8 mg ZnCl₂.

El pH se ajustó a 7.0. Cada una de las pruebas se llevó a cabo por triplicado. Se corrió en paralelo un blanco con inóculo y agua, y los residuos sin inóculo. Las botellas se sellaron con tapones de caucho y cinchos de metal. Se realizó una purga desplazando el oxígeno con gas nitrógeno durante treinta segundos para remover el oxígeno presente y lograr una atmósfera anaerobia.

Tabla 4.1. Condiciones operacionales de la prueba de producción de hidrógeno en botellas serológicas.

Parámetro, unidad	Valor
Temperatura, °C	37
Sistema de mezcla	Agitación orbital de mezcla completa (150 rpm)
Sistema de medición de biogás	Desplazamiento de volumen
Volumen útil, mL	100
Espacio de cabeza, mL	60
Concentración del inóculo, g SV/g inóculo	0.7
Concentración del sustrato, g SV/L	10
Relación S ₀ /X ₀ ,	0.7

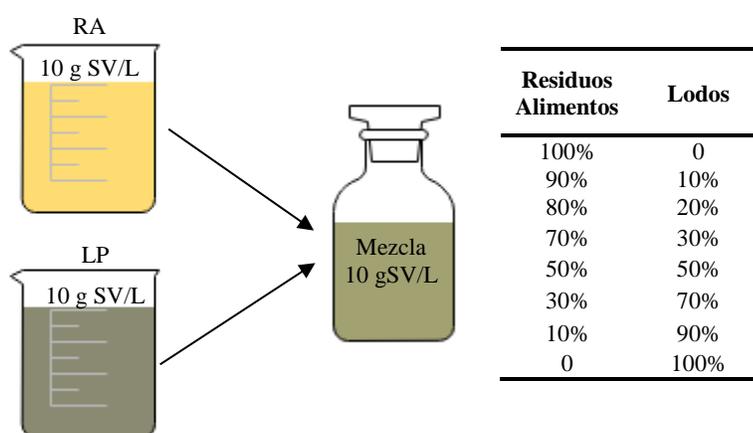


Figura 4.2 Preparación de las distintas mezclas de residuos alimenticios (RA) y lodos de purga (LP)

Finalmente las botellas se pusieron en una incubadora con temperatura controlada (37°C) y un dispositivo de agitación orbital (150 rpm) diseñado especialmente para las pruebas llevadas a cabo en el laboratorio. La medición de producción de biogás se llevó a cabo cada 6 horas empleando un sistema de desplazamiento de agua por medio de una probeta invertida. Después de medir la producción de biogás se determinó la composición del mismo usando cromatografía de gases según Martínez y Buitrón (2013). La medición de biogás prosiguió hasta que la curva de producción de biogás se volvió asintótica. Al término de la cinética, se midió pH, concentración final de carbohidratos, DQO total, SVT y ácidos grasos volátiles.

Los resultados de producción de hidrógeno obtenidos en esta prueba fueron ajustados con la ecuación modificada de Gompertz (Lay, et, al., 1998):

$$H(t) = H_{m\acute{a}x} * \exp \left[- \exp \left(\frac{2.71828 * R_{m\acute{a}x} (\lambda - t)}{H_{m\acute{a}x}} \right) \right] \quad \text{Ec.1}$$

Donde H (t) es la producción acumulada de hidrógeno (ml/gSV), λ es la fase de latencia (h), $H_{m\acute{a}x}$ es la máxima cantidad o potencial de hidrógeno producido (ml/gSV) y $R_{m\acute{a}x}$ es la máxima velocidad específica de producción de hidrógeno (ml/gSV/h). Los valores de λ , $H_{m\acute{a}x}$ y $R_{m\acute{a}x}$ se obtuvieron mediante un ajuste de mínimos cuadrados usando el complemento Solver de Excel Microsoft 2010. Todo esto con el fin de comparar la codigestión realizada con la de otros trabajos similares.

4.4. Operación de los bioreactores en dos etapas

Un adecuado tratamiento de residuos sólidos orgánicos, así como la producción de biogás, dependen en gran medida del tipo de reactor o digestor donde se lleva a cabo el proceso. La elección del tipo de reactor, depende en su mayoría de la abundancia, del tipo de sustrato, sus características fisicoquímicas, entre otras, de manera que se pueda remover la mayor cantidad de DQO o sólidos volátiles y a la vez producir la mayor cantidad de biogás. En esta investigación, se eligió trabajar con reactores de tipo discontinuo secuencial, debido a que posee beneficios como una alta retención de biomasa, no requiere de unidades adicionales para la separación de sólidos, como clarificadores, su modo de operación es flexible y se

obtienen buenas eficiencias de remoción a la vez de que es un sistema de operación simple (Chen, et al., 2009).

El sistema en dos etapas se desarrolló con reactores ASBR, el primero de ellos se utilizó para digerir la mezcla de residuos alimenticios y lodos de purga que resultó más favorable para la producción de hidrógeno y el segundo reactor, se utilizó para tratar el efluente líquido generado en el primer reactor para la producción de metano. A continuación se muestran algunas generalidades de las características y operación de un reactor discontinuo secuencial.

4.4.1. Reactor anaerobio discontinuo secuencial (ASBR)

Un reactor anaerobio discontinuo secuencial (ASBR por sus siglas en inglés) es un reactor por lote que incluye tanto la digestión del sustrato como la separación de sólidos en un mismo tanque. Un ASBR opera a través de una secuencia de cuatro fases o etapas, las cuales se llevan a cabo en el mismo tanque (ver Figura 4.3) y se describen a continuación:

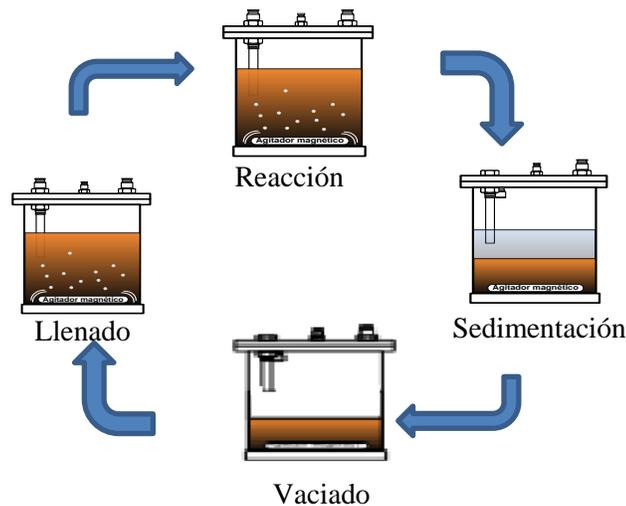


Figura 4.3. Etapas de operación de un ASBR

- **Llenado:** consiste en la alimentación o en la adición de sustrato al reactor. Al mezclar continuamente durante el llenado, la concentración de sustrato en el tanque, aumenta rápidamente, al igual que las tasas metabólicas alcanzan su valor más alto. El volumen que se alimenta se determina con en base en ciertos factores como el TRH deseado, la carga orgánica óptima, las características de sedimentación del lodo.

- **Reacción:** la etapa de reacción es la más importante ya que es donde se convierte la materia orgánica en biogás. El tiempo requerido para la etapa de reacción dependerá de varios parámetros, incluyendo las características del sustrato, la calidad del efluente requerido, la producción de biogás, concentración de la biomasa, entre otras.
- **Sedimentación:** se detiene la agitación para permitir la sedimentación o separación de los sólidos, el reactor por sí solo, actúa como clarificador. El tiempo requerido para la sedimentación variará, dependiendo de la sedimentabilidad, pero generalmente toma de 10 a 30 minutos.
- **Vaciado:** La etapa de vaciado se da después de que se ha dado una adecuada separación de sólidos. El volumen que se vacía, normalmente es igual al volumen de alimentación. El tiempo de vaciado dependerá del volumen que se saca del reactor y de la velocidad de vaciado. Una vez se completa este último paso, el reactor está listo para ser alimentado con una nueva carga de sustrato y el ciclo se reinicia.

Dado de que la separación de sólidos se da dentro del mismo reactor en este tipo de sistemas, el tiempo de retención de sólidos, está desacoplado del tiempo de retención hidráulico (Sung y Dague, 1995), sin la necesidad de un clarificador o realizar la recirculación de lodo. De este modo, el tiempo de retención hidráulico es el tiempo promedio en el que cierto volumen de influente se mantiene dentro del reactor, mientras que el tiempo de retención de sólidos es el tiempo promedio que el lodo se retiene dentro del reactor. Las ecuaciones utilizadas durante la operación de los reactores ASBR se muestran a continuación:

$$TRH = \frac{V_t}{Q} \quad \text{Ec. 2}$$

$$Q = V_{LL} \times NC \quad \text{Ec. 3}$$

$$TRH = \frac{t_c \times V_t}{24 \times V_{LL}} \quad \text{Ec. 4}$$

$$CO = \frac{S \times Q_t}{V_t} = \frac{S}{TRH} \quad \text{Ec. 5}$$

Donde:

CO Carga Orgánica [g·L⁻¹ h⁻¹]

S	Concentración del sustrato, [g·L ⁻¹]
V _t	Volumen total, [L]
Q	Caudal [L·h ⁻¹]
V _{LL}	Volumen de llenado [L]
NC	Número de ciclos
t _c	Tiempo de cada ciclo o reacción [h]
24	Factor de conversión de horas a días

4.4.2. Segunda parte: producción de hidrógeno

Se utilizó un reactor con un volumen total de 2 L, un volumen de trabajo de 1.5 L y un espacio de cabeza de 0.5 L. El reactor contaba con deflectores en las paredes para asegurar la agitación completa. Estaba equipado con un electrodo combinado BNC de marca Sensorex[®] para medir el pH, un controlador de pH 140 series marca EUTECH Instruments[®], conectado a una bomba Master Flex[®] de 1100 rpm que suministraba NaOH 1N para mantener el pH en 5.5. Contaba con tres puertos para la alimentación, salida de efluente y salida de biogás, el cual era medido con la técnica de probeta invertida en una solución ácida con pH menor de 2. Las bombas de alimentación y de salida fueron de la marca Master Flex[®] (0-100 rpm). La agitación se llevó a cabo con un agitador magnético de 4 cm de longitud en una parrilla de agitación.

Para llevar a cabo los ciclos de operación del reactor ASBR, fue necesario controlar las bombas para alimentación y vaciado, así como la parrilla de agitación para diferenciar la fase de reacción y la de sedimentación; para ello se hizo uso de una plataforma del software Lab View, con una tarjeta de adquisición de datos National Instruments[®] en el que se fijaron los tiempos de reacción, sedimentación, vaciado y llenado. El modo de operación se realizó bajo la siguiente estrategia: tiempo de llenado (5 min.), tiempo de reacción (variable dependiendo del TRH), tiempo de sedimentación (60 min), vaciado y llenado de aproximadamente 5 min. La agitación del reactor se realizó por medio de un agitador magnético en el fondo del reactor (alrededor de 350 rpm) para mantener completamente mezclado el reactor durante los tiempos de reacción. La temperatura (35°C ±1°C) fue controlada por medio de un recirculador de agua con un serpentín alrededor del reactor.

La Figura 4.4 esquematiza los principales componentes de la segunda parte y la *Figura* muestra el sistema real que se montó en laboratorio.

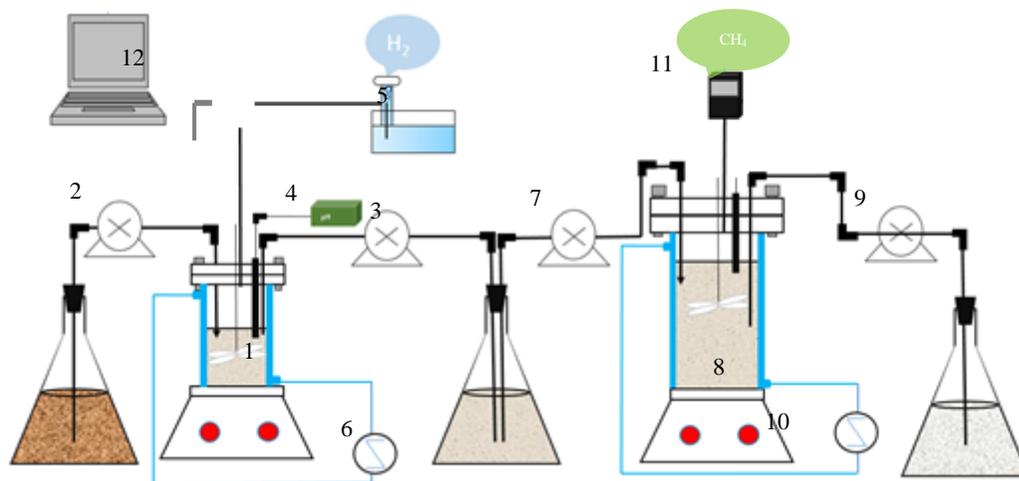


Figura 4.4 Sistema anaerobio de dos etapas. 1) SBR productor de hidrógeno, 2) bomba de llenado, 3) bomba de vaciado, 4) control de pH, 5) Probeta invertida 6) recirculador de agua, 7) bomba de llenado del sistema productor de metano, 8) SBR productor de metano, 9) bomba de vaciado, 10) recirculador de agua, 11) Ritter (medidor de flujo de biogás), 12) Controlador de ciclos de operación

❖ Arranque del reactor ASBR-H₂ y activación del inóculo

El reactor fue inoculado con 20 g de lodo anaerobio tratado térmicamente a 105°C por 24 h (para inhibir a los microorganismos metanogénicos). El arranque del reactor inició con la activación del inóculo, el cual se activó durante 6 ciclos de operación, con tiempos de reacción de 12 horas cada uno y alimentación de 15 g/L de glucosa a la cual se le agregó medio mineral de acuerdo con Mizuno et al. (Mizuno et al., 2000): 41.6 g NH₄Cl, 4 g K₂HPO₄, 2 g MgCl₂·6H₂O, 1.6 g FeSO₄·7H₂O, 40 mg CoCl₂·6H₂O, 40 mg MnCl₂·4H₂O, 40 mg KI, 8 mg NiCl₂·6H₂O, 8 mg ZnCl₂. El pH se mantuvo en 5.5, temperatura en 37°C y la agitación en 350 rpm. Cabe destacar que antes de arrancar el reactor, se realizó el cambio de atmósfera con nitrógeno para asegurar condiciones de anaerobiosis. Durante este periodo se verificó que la concentración de H₂ estuviera entre 45-50%. Una vez pasados los 6 ciclos de

operación, se dejó sedimentar el reactor durante 3 horas y finalmente se extrajo el sobrenadante, para mantener los microorganismos activos en el biorreactor.

❖ **Operación del ASBR-H₂**

Para la operación del reactor, se preparaba alimentación con una concentración de 15 g SVT/L, la cual consistía en una mezcla de 90% residuos alimenticios y 10% lodos de purga y se almacenaba en un refrigerador para evitar su descomposición antes de ser procesada en el reactor. El ciclo de operación comenzaba con la alimentación del reactor, 0.75 L de la mezcla de residuos e inmediatamente iniciaba la fase de reacción cuya duración dependía del tiempo de retención hidráulico que se estuviera probando. Los tiempos de reacción fueron de 12, 8 y 4 horas los cuales correspondieron a los TRH de 24, 16 y 8 horas, respectivamente, los cuales se evaluaron durante al menos 15 ciclos de operación. En el transcurso de la fase de reacción, se iba recolectando el biogás producido en una probeta invertida sumergida en una solución ácida para evitar que se disolviera el CO₂ en la fase líquida. En cada ciclo de operación, se tomó una muestra del biogás producido para evaluar su composición en un cromatógrafo de gases. Una vez finalizado el tiempo de reacción, se detenía la agitación e iniciaba la fase de sedimentación por una hora, después de esto se encendía la bomba de vaciado que evacuaba 0.75L de sobrenadante, lo que contaba como el efluente de este reactor. Finalizado el vaciado, se iniciaba un nuevo ciclo de operación con la adición de más alimento. Durante la operación del reactor, se tomaron las muestras necesarias para calcular la remoción de SVT y DQO, la producción de AGV, además de la producción y composición de biogás.

❖ **Operación del ASBR-CH₄**

Para la tercera etapa se usó un reactor ASBR de 7 L de volumen total y 4 L de volumen de reacción con el fin de degradar el digestato resultante del proceso de producción de hidrógeno. Los ciclos de operación de este reactor fueron de la siguiente forma: tiempo de llenado (10 min), tiempo de reacción: variable, cuando se conseguía una remoción de DQO soluble mayor a 90%, tiempo de sedimentación (120 min) y vaciado (10 min). El reactor fue inoculado con 200 ml de lodos anaerobios provenientes de una planta de tratamiento de aguas

de una industria cervecera. Se evaluó la eficiencia de remoción de DQO y sólidos volátiles, así como la producción de biogás y su composición. La Figura 4.4 muestra los componentes principales del reactor productor de metano y la Figura 4.5 muestra el reactor real utilizado en el laboratorio.

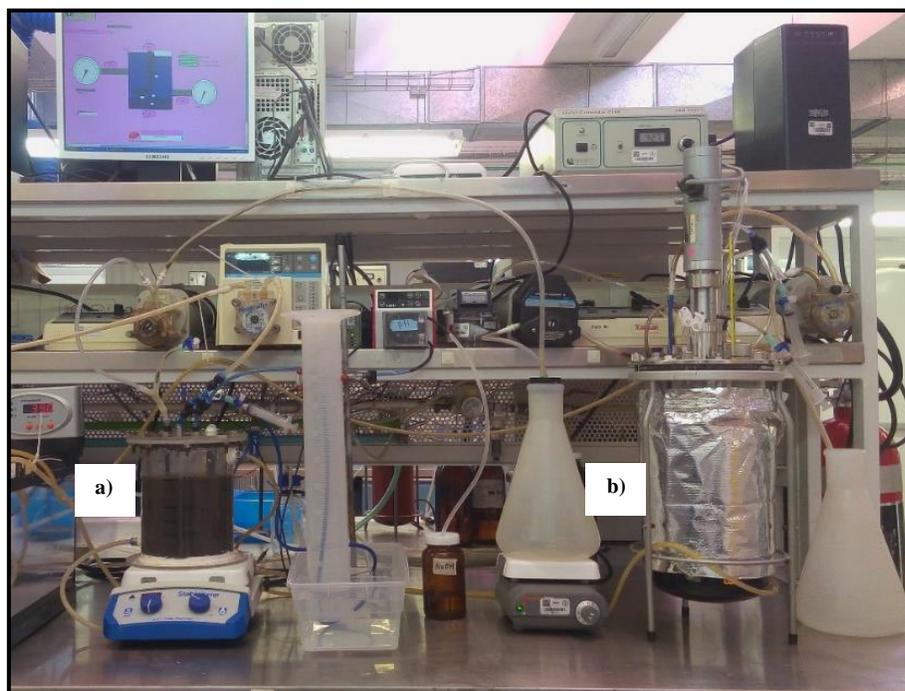


Figura 4.5. Sistema real montado en el laboratorio. a) Reactor productor de H_2 . b) Reactor productor de CH_4

4.5. Métodos analíticos

4.5.1. Volumen y composición del biogás

Para medir el volumen de biogás se utilizó la técnica de probeta invertida en una solución ácida ajustada a un pH igual o inferior a 2 para evitar que se disolviera el CO_2 . En esta técnica, se coloca una manguera en el fondo de una probeta de volumen adecuado, se llena con la solución ácida y se dispone invertida en un recipiente con más líquido; de esta manera el biogás generado queda atrapado dentro de la probeta para poder medir el volumen. Se tiene el cuidado de tomar la temperatura del líquido y la presión del lugar donde se hace experimento, para hacer la corrección del volumen con respecto a la presión y temperatura estándar.

La composición del biogás se determinó por cromatografía de gases, la muestra de 10 mL completamente seca, se tomó de las botellas o de la probeta invertida con una jeringa de 20 mL. Esta muestra se inyectaba en un cromatógrafo de gases 8610C equipado con un detector de conductividad térmica y dos columnas empacadas en serie (columna empacada con sílica gel de 1.83 m x 0.32 cm y columna de tamiz molecular 13x de 1.82 m x 3.175 mm). Las temperaturas del inyector y del detector se mantuvieron a 90 y 150 °C, respectivamente. La temperatura inicial de la columna de 4°C se mantuvo durante 4 minutos y después se incrementó hasta 110 °C con una velocidad de 20°C/min. La temperatura final de la columna se mantuvo durante 3 minutos. Se utilizó nitrógeno como gas acarreador con un flujo de 20 mL/min.

4.5.2. Sólidos totales y sólidos volátiles totales

La concentración de ST y SVT de los sustratos y del inóculo se cuantificaron por gravimetría, acorde a los procedimientos descritos en los métodos estándar (APHA, 2005).

4.5.3. Demanda Química de Oxígeno (DQO)

Para cuantificar la DQO se utilizó el método Hach 435. Este consiste en tubos de ensayos ya preparados con una solución estándar (dicromato de potasio, ácido sulfúrico, plata y mercurio) para determinar la DQO en un rango de 0 a 15000 mg DQO/L. La lectura del valor de DQO se realizó en un espectrofotómetro portátil Hach DR/2010 a una longitud de onda de 620 nm.

4.5.4. Cuantificación de carbohidratos

La cuantificación de carbohidratos se realizó por el método colorimétrico fenol-ácido sulfúrico por (Dubois, et al., 1956), para el cual se utilizó una curva de calibración hecha con glucosa. Este método consistió en poner 0.5 ml de la muestra, 0.5 ml de fenol 5%(v/v) y finalmente 2.5 mL de ácido sulfúrico 98%(v/v), se dejó reaccionar durante 20 minutos.

Finalmente la concentración se determinó en un espectrofotómetro portátil Hach DR/2010 a una longitud de onda de 490nm.

4.5.5. *Cuantificación de proteínas*

La cuantificación de proteínas de las muestras se realizó con el método descrito por (Lowry, et al.,1951). Se utilizó albúmina bovina como proteína estándar. Dicho método es colorimétrico de valoración cuantitativa. A la muestra se añade un reactivo que forma un complejo coloreado con las proteínas, siendo la intensidad de color proporcional a la concentración de proteínas, según la ley de Lambert-Beer. Este método consiste en la reacción de las proteínas con el ion Cu^{2+} en medio alcalino para formar un complejo con los átomos de nitrógeno de los enlaces peptídicos. Seguido de la reacción de reducción del reactivo de Folín por los grupos fenólicos residuos de tirosina, presentes en la mayoría de las proteínas, actuando el cobre como catalizador.

4.5.6. *Ácidos grasos volátiles (AGV), solventes y lactato*

La producción anaerobia de hidrógeno se acompaña por la acumulación de ácidos grasos volátiles (AGV), como ácido acético, propiónico, ácido butírico, así como solventes incluyendo etanol. Los AGV se determinaron tomando 1 mL de una muestra centrifugada, filtrada a $0.45\ \mu\text{m}$ y con pH menor a 2.5, se utilizó un cromatógrafo de gases con detector de ionización de flama (FID) marca Agilen Tech 6890N VARIAN 330 C, equipado con una columna capilar de sílice Zebram ZB-FFPA de 0.53 mm de diámetro, 15 metros de largo y $1\ \mu\text{m}$ de espesor de película. La temperatura inicial del horno fue de 55°C por tres minutos y posteriormente se incrementó a una tasa de 45°C por minuto hasta llegar a 135°C , la temperatura del inyector fue de 190°C , la temperatura del detector fue de 210°C , el gas portador que se utilizó es el nitrógeno.

El lactato se determinó mediante cromatografía de iones con un cromatógrafo Dionex ICS-1500 equipado con una columna REIC IonPac AS23 de 250x24 mm. El eluyente consistió en una mezcla de 0.8mM NaHCO_3 y 4.5mM Na_2CO_3 usando un flujo isocrático de 3 mL/min y 30°C .

Capítulo 5. Resultados y Análisis

5.1. Obtención y caracterización del inóculo

El inóculo para la etapa productora de H₂, consistió en lodo granular anaerobio, proveniente de una planta de tratamiento de aguas residuales de la industria cervecera, tratado térmicamente a 105 ± 5 °C durante 24 horas. Luego del pretratamiento térmico, el lodo granular se trituró en un mortero hasta obtener un polvo con tamaño menor a 0.5 mm, como se observa en la Figura 5.1. La caracterización fisicoquímica del inóculo obtenido fue la siguiente:

Tabla 5.1 Caracterización fisicoquímica del inóculo.

Parámetro	
ST	0.983 ± 0.01 g/g _{inóculo}
SV	0.69 ± 0.02 g/g _{inóculo}
DQO Total	2.132 g/g _{inóculo}
Carb. Totales	0.073 ± 0.0005 g/g _{inóculo}
Proteínas Total	0.143 g/g _{inóculo}



Figura 5.1 Lodo granular anaerobio antes y después del tratamiento térmico.

5.2. Obtención y caracterización de los residuos

La Figura 5.2 muestra los residuos provenientes del restaurante tipo buffet, antes de su caracterización física, molienda y licuado. La composición física promedio de los residuos

presentó una mayor proporción de harinas 45%, cárnicos 20%, verduras y frutas 11% y otros 20% (huesos y cáscaras de limón). Los huesos fueron descartados por ser un material difícil de degradar, lo mismo que las cáscaras de limón, debido a que los limones afectan negativamente la producción de H₂ (Castillo- Hernández, 2015). El residuo seleccionado pasó por un proceso de molienda y tamizado para obtener un tamaño de partícula homogéneo de 0.5 mm. En cuanto a los lodos de purga, sólo se tamizaron para quitar material inerte como piedras y cabello, la Figura 5.3.

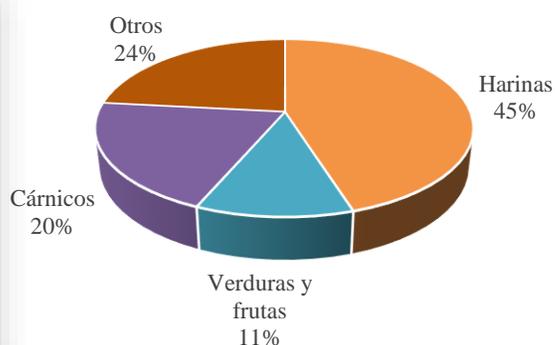


Figura 5.2. Caracterización física de los residuos alimenticios.

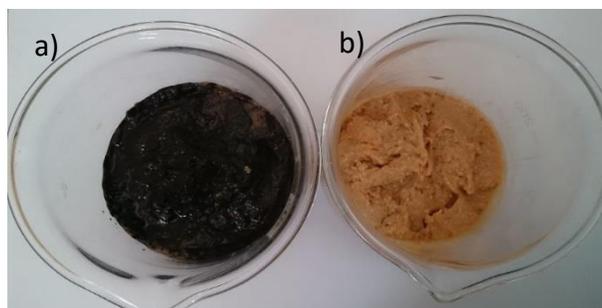


Figura 5.3. a) Lodos de purga. b) Residuos alimenticios procesados.

La caracterización de los sustratos se realizó con los métodos analíticos descritos en la sección 4.5, y los principales resultados se muestran en la Tabla 5.2. En los resultados de la caracterización se observa que los dos residuos, contaban con características diversas y en

ciertos casos complementarios, lo que es un requisito importante para llevar a cabo un proceso de codigestión.

Tabla 5.2 Caracterización fisicoquímica de los residuos empleados en la codigestión.

Parámetro	Residuos alimenticios	Lodos de purga
Humedad	63%	84.4%
ST	0.37 g/g _{RA}	0.16 g/g _{LP}
SV	0.35 g/g _{RA}	0.09 g/g _{LP}
SV/ST	95.6%	56.2%
DQO_{Total}	1212 mg/g-ST	1200 mg/gST
DQO_{Soluble}	356 mg/g-ST	168 mg/gST
Carbohidratos Totales	198 mg/g-ST	42 mg/gST
Carbohidratos Solubles	152 mg/g-ST	5 mg/gST
Proteínas_{Total}	236 mg/g-ST	119 mg/gST
Proteínas_{Soluble}	57.3 mg/g-ST	-
Densidad	1.04 g/ml	0.91 g/ml
pH	3.9	8.4
Alcalinidad	160 mg CaCO ₃ /L	535 mg CaCO ₃ /L

La humedad de ambos residuos es alta, lo cual es importante cuando se quiere llevar a cabo un proceso de digestión húmeda, la humedad de los lodos de purga es la más alta, debido a que es un residuo del tratamiento de aguas municipales, mientras que la humedad de los residuos alimenticios proviene principalmente de las frutas y verduras.

De la caracterización hecha, también se observa que la concentración de sólidos volátiles en los residuos alimenticios, es casi la misma que de sólidos totales, 0.35 y 0.37 g/g_{RA}, respectivamente. Debido a que los sólidos volátiles son una medida indirecta de la cantidad de materia orgánica biodegradable, el hecho de que los sólidos volátiles sean tan altos, indica que en su mayoría los desperdicios de alimentos están constituidos por materia orgánica que puede ser fácilmente biodegradada en un proceso de digestión anaerobia para producir biogás. Sin embargo, la fracción volátil de los lodos de purga es menor al 56% de los sólidos totales, lo que indica que el 44% del material restante en los lodos de purga no es materia

orgánica que pueda digerirse para producir biogás, lo que cuenta como una prueba de la menor biodegradabilidad de los lodos y una gran desventaja a la hora de realizar la digestión anaerobia de los mismos. La cantidad de sólidos volátiles entonces, cuenta como una de las razones por las cuales resultaría adecuado realizar la codigestión de los residuos alimenticios y los lodos de purga.

Por otra parte, cuando se habla de producción de hidrógeno a partir de residuos orgánicos, es crucial verificar la cantidad de carbohidratos presentes en el sustrato, ya que el H_2 se forma principalmente en las primeras etapas de la digestión anaerobia a partir de los carbohidratos (Das & Veziroglu, 2008). Teniendo en cuenta este hecho, los residuos alimenticios tienen un mayor potencial para la producción de H_2 , ya que poseen 4.7 veces más carbohidratos totales que los lodos de purga.

El pH es otro factor con alto impacto en los procesos de digestión anaerobia, como se ha señalado en esta tesis, la producción de ácidos grasos volátiles afecta directamente las funciones metabólicas de los microorganismos por los que es necesario mantener el pH dentro de niveles establecidos. El pH más bajo de los residuos evaluados, es de los residuos alimenticios 3.9, el cual está por debajo del pH óptimo de operación para la fermentación oscura. No obstante el pH de los lodos de purga es más básico 8.4, por lo cual la mezcla de ambos sustratos, supone la ventaja de nivelar el pH hacia los valores óptimos requeridos que para la producción de hidrógeno los pH óptimos están de 5.5 a 6.0 (Valdez-Vazquez & Poggi-Varaldo, 2009). De igual forma la alcalinidad de los residuos es otro factor decisivo en proceso de digestión, el cual es ejemplo de las cualidades de complementación de estos residuos. Los residuos alimenticios poseen menos de la mitad de la alcalinidad de los lodos de purga, por tanto, al realizar la codigestión de los residuos alimenticios, los requerimientos de adición químicos para evitar el descenso del pH durante la operación, pueden verse disminuidos, lo que finalmente se traduciría en menores costos operacionales.

Por último, en el análisis de la caracterización de los residuos, se tienen algunos metales traza, los cuales son considerados muy importantes en el desempeño de la digestión anaerobia, ya que asisten el metabolismo, el crecimiento celular, el funcionamiento y

activación de enzimas y coenzimas y por ende la producción de hidrógeno (Balachandar et al., 2013). Por esta razón, es necesario adicionar elementos traza a los digestores anaerobios ya que algunos sustratos o residuos con potencial de producción de biogás por sí solos no contienen las cantidades necesarias requeridas para el correcto desempeño del proceso. En la Tabla 5.3 se muestra la concentración de metales traza presentes en cada uno de los sustratos y se observa que los lodos de purga poseen una mayor concentración de metales traza como el hierro y níquel, los cuales son importantes para la biosíntesis de enzimas y la formación de hidrogenasas que son las responsables de la producción de H₂ a partir de la reducción de protones en el proceso de la fermentación oscura (Hallenbeck, 2013). Además los lodos de purga también presentan una mayor concentración de calcio y aluminio, los cuales han sido reportados que ayudan al crecimiento y a la retención de células dentro del biodigestor, por lo cual se consideran necesarios para el buen funcionamiento del reactor, evitar problemas de lavado de biomasa (Yuan et al., 2010).

Tabla 5.3 Componentes traza en los residuos.

Metales (mg/L)									
Sustratos	Ca	Al	Fe	Zn	Cu	Mn	Ni	K	Na
RA	7.3	1.1	0.5	1.4	0.01	0.2	--	27	127
LP	197	31	56	1.7	1.0	0.7	0.5	14	78

A partir de la caracterización de los sustratos es posible darse una idea acerca del potencial que estos poseen, para la producción de biogás y los posibles efectos sinérgicos que pueden darse al mezclar ambos residuos en un proceso de codigestión. Los desperdicios de comida poseen una mayor cantidad de materia orgánica biodegradable lo que posibilita una mayor producción de biogás, mientras que los lodos de purga contienen elementos traza que puede servir de ayuda para mejorar el proceso de digestión. Teniendo en cuenta esto, se procedió a realizar el estudio de potencial biológico de producción de hidrógeno con diferentes mezclas de los residuos, el cual se describe en la siguiente sección de este capítulo.

5.3. Pruebas de potencial biológico de producción de H₂

Después de caracterizar los lodos de purga y los residuos alimenticios, se procedió a realizar el ensayo de potencial de producción biológica de H₂, probando distintas mezclas con los

sustratos. Para este ensayo se fijó una concentración inicial de sólidos volátiles de 10 g/L en cada uno de los reactores por lote. Las proporciones de mezcla se expresaron como el porcentaje de sólidos volátiles que cada uno de los residuos aportaba a la mezcla final en cada uno de los reactores, por ejemplo, el ensayo con la mezcla 90-10% (RA-LP), tuvo una concentración inicial de 10 g SVT/L, al igual que las demás. Sin embargo, el 90% de estos sólidos volátiles los aportan los residuos alimenticios, mientras que el 10% restante proviene de los lodos de purga. Debido a que el porcentaje de sólidos volátiles que contribuye cada uno de los sustratos varió en cada uno de los ensayos, la concentración inicial de carbohidratos y la DQO inicial también cambió; la Tabla 5.4 muestra la composición inicial de cada una de las proporciones de mezcla probadas.

Tabla 5.4 Composición inicial de las distintas mezclas de sustratos.

<i>Mezcla de RA:LP (%)</i>	Carbohidratos totales (g/L)	SVT (g/L)	DQO (g/L)
100	2.1	10	12.7
90-10	1.9	10	13.5
80-20	1.8	10	14.2
70-30	1.7	10	15.0
60-40	1.5	10	15.7
50-50	1.4	10	16.5
30-70	1.1	10	18.0
0-100	0.7	10	20.2

La cantidad de carbohidratos iniciales aumenta a medida que se incrementa la cantidad de residuos alimenticios en la mezcla, el valor más bajo, 0.7 g/L, corresponde al ensayo con sólo lodos de purga y aumenta hasta 2.1 g/L en el ensayo con sólo desperdicios de alimentos. En el caso de la DQO inicial, aumenta proporcionalmente a la cantidad de lodos de purga en la mezcla, debido que este residuo posee menos sólidos volátiles por gramo y hubo que agregar mayor cantidad en los ensayos para alcanzar la concentración de 10 g SVT/L.

Una vez preparadas las mezclas se procedió a iniciar la codigestión y registrar la cinética de producción de hidrógeno. En la Figura 5.4, se muestra la producción acumulada de hidrógeno en ml/gSV-adicionado que se obtuvo en este ensayo, los marcadores corresponden a los datos

experimentales, mientras que las líneas punteadas representan el ajuste con la ecuación modificada de Gompertz (Lay et al, 1998), en todos los casos se consiguió un buen ajuste con un coeficiente de determinación mayor a 0.99, por lo que se pudo describir bien la cinética de producción de hidrógeno de cada una de las mezclas analizadas. Cabe destacar, que durante la cinética realizada, no se detectó producción de CH₄ en ninguno de los casos.

En la Figura 5.4 se aprecia que, al aumentar la cantidad de residuo alimenticio en la mezcla, se incrementa la producción acumulada de hidrógeno, por lo que se esperaría que la máxima producción acumulada de hidrógeno, se consiguiera con el ensayo 100% residuos alimenticios. Sin embargo, la mayor producción acumulada se logró con la mezcla conformada por un 90% de residuos de alimentos y un 10% de lodos de purga.

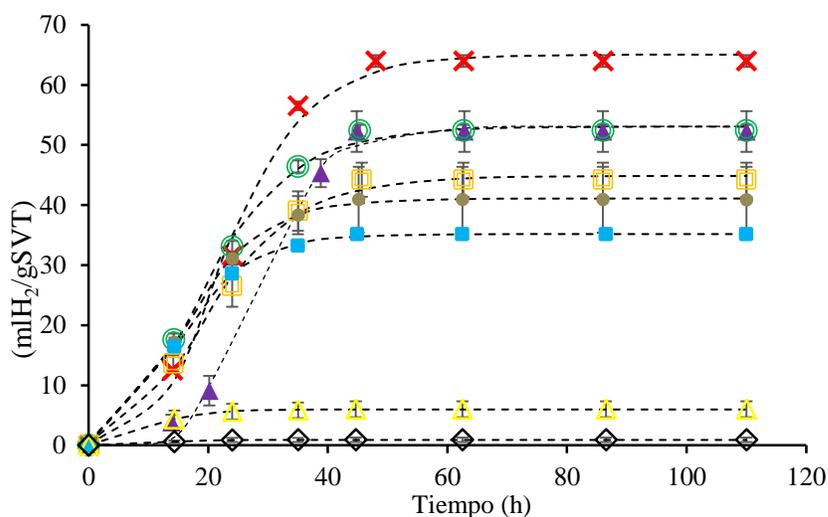


Figura 5.4 Producción acumulada de H₂ con varias proporciones de mezcla. ▲100% RA, × 90-10%(RA-LP), ●80-20%(RA-LP), ◻ 70-30%(RA-LP), ● 60-40%(RA-LP), ■ 50-50%(RA-LP), △ 30-70%(RA-LP), ◊100%LP

Para establecer la mezcla con mayor desempeño, se analizaron todos los parámetros cinéticos obtenidos del ajuste con la ecuación modificada de Gompertz, además se analizó el rendimiento de producción de H₂ respecto a los azúcares iniciales (Figura 5.5). El primer parámetro analizado es la fase de latencia (λ), es decir, el tiempo que toman los microorganismos para adaptarse la nueva condición en la que se colocaron y comenzar a

producir enzimas para digerir el sustrato y producir hidrógeno. En la gráfica **a)** de la Figura 5.5, se observa que la fase de latencia más larga fue la del ensayo con 100% RA, es decir, los microorganismos tardaron más en adaptarse a esta condición pese a la mayor disponibilidad de carbohidratos que tenían en esta condición. La fase de latencia se hizo más corta, conforme se agregaron lodos de purga a las mezclas, evidenciando que la adición de lodos de purga a los residuos alimenticios actuó como un facilitador del proceso de digestión acelerando la actividad metabólica de los microorganismos. La fase de latencia se ve influenciada por varios factores, como el tipo de compuesto a degradar, la temperatura, el pH, entre otros, los cuales ayudan o desfavorecen la actividad metabólica de los microorganismos (Kim y Gadd, 2008).

Dado que las condiciones de pH y temperatura, se mantuvieron iguales en todos los ensayos es posible afirmar que la adición de lodos de purga en las mezclas analizadas, aportó nutrientes adicionales, que mejoraron la actividad metabólica de los microorganismos, permitiendo que la producción de hidrógeno iniciara más rápido.

La gráfica **b)** de la Figura 5.5 muestra el parámetro $R_{m\acute{a}x}$ o velocidad máxima de producción de hidrógeno, el cual es más alto en las mezclas con mayor proporción de residuos alimenticios. Este parámetro es importante cuando lo que se quiere es escalar a sistemas en continuo, donde es necesario que se produzca la mayor cantidad de biogás en el menor tiempo de residencia del sustrato en el digester. La mayor velocidad de producción, se produjo con la mezcla 90-10% (RA-LP), sin embargo no es significativamente diferente de la que se obtuvo con el ensayo 100% RA.

La gráfica **c)** de la Figura 5.5 permite evaluar el potencial de producción específica de hidrógeno ($H_{m\acute{a}x}$) de cada una de las mezclas en unidades de ml H_2 /g SVT, y es el parámetro más importante de esta prueba, ya que permite establecer si alguna de las mezclas en codigestión favoreció la generación de hidrógeno. La producción acumulada estuvo entre 6.0–65 ml H_2 /g SV siendo la más baja para el ensayo de 100% LP y aumentó a medida que se agregaba más residuo alimenticio en la mezcla. Este es un comportamiento esperado, ya que los lodos de purga se caracterizan por ser un residuo pobre en carbohidratos, por lo que

al aumentar la cantidad de residuos alimenticios, incrementa el contenido de carbohidratos y con ello el potencial de producción de hidrógeno. Se esperaría que la mayor producción de H_2 correspondiera con el ensayo con mayor cantidad de carbohidratos (100%RA), no obstante, la mayor producción acumulada se obtuvo con la mezcla 90-10% (RA-LP), 65 ml H_2 /g SV, 18% más H_2 acumulado que el ensayo con 100% residuos alimenticios. Se realizó un ANOVA de un solo factor entre los ensayos 100% RA y 90-10% (RA-LP) y un nivel de significancia de 0.05 con el programa RStudio®; el cual arrojó un valor $p = 0.00446$, que al ser menor a 0.05 demuestra que hay una diferencia significativa entre los potenciales de producción de hidrógeno, siendo el mejor aquel que corresponde a la mezcla 90-10% (RA-LP).

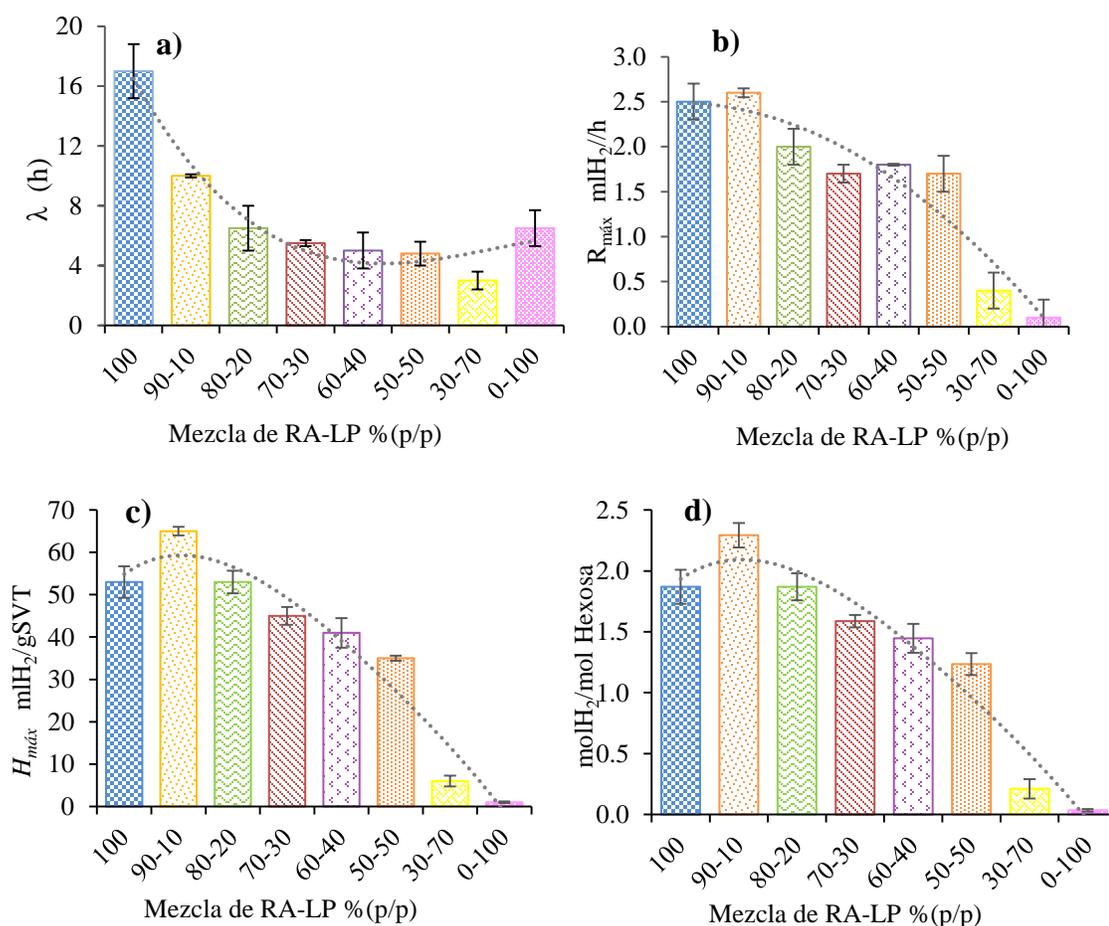


Figura 5.5 Parámetros cinéticos y rendimiento de producción de H_2 para cada una de las mezclas. **a)** Fase de latencia, **b)** Velocidad máxima de producción de H_2 , **c)** Potencial de producción H_2 . **d)** Rendimiento de producción de H_2 con respecto a carbohidratos iniciales. La línea punteada representa el ajuste de los valores a un polinomio de cuarto orden.

Dado que la producción de hidrógeno se genera en su mayoría a partir de los carbohidratos presentes en el sustrato, el rendimiento de producción de hidrógeno con base en los carbohidratos iniciales es un factor importante para juzgar qué tan favorables fueron las rutas metabólicas para la producción de H_2 . La gráfica d) de la Figura 5.5 ilustra que las mezclas 90-10, 80-20, 70-30, 60-40 y 50-50% (RA-LP), poseen un rendimiento similar o incluso mayor que el ensayo con 100% RA. Lo anterior demuestra que al agregar lodos de purga como co-sustrato para la digestión de residuos alimenticios, se favorecieron las rutas metabólicas para la producción de hidrógeno. El mayor rendimiento se logró con la mezcla 90-10% (RA-LP) $2.3 \text{ molH}_2/\text{molHexosa}$ mientras que el obtenido con 100% RA fue de $1.48 \text{ molH}_2/\text{molHexosa}$, lo que cuenta como una mejora del proceso de digestión hacia la producción de hidrógeno.

Finalmente, la mezcla 90-10% (RA-LP) demostró tener el mayor potencial de producción de hidrógeno en comparación con las demás mezclas que se probaron en el ensayo. Lo que muestra evidencia, de que la adición de una pequeña cantidad de lodos de purga a los residuos alimenticios mejora el proceso digestivo y favorece la producción de hidrógeno. Dicha mejora en el proceso digestivo, se debe principalmente al hecho de que los lodos de purga aportan ciertos nutrientes y elementos traza como el níquel, hierro, los cuales son importantes para la biosíntesis de enzimas y la formación de hidrogenasas que son las responsables de la producción de H_2 (Yang y Shen, 2006; Yuan, et al., 2010y Dong, et al, 2009).

Los resultados de la prueba de potencial de producción de hidrógeno se compararon con los resultados obtenidos en otros trabajos; la Tabla 5.5 muestra la proporción de mezcla con la que se consiguieron los mejores resultados, así como la composición inicial de estas mezclas y los rendimientos de producción de hidrógeno. Se observa que las mejores proporciones de mezcla están conformadas por más del 80% de residuos alimenticios y el resto de lodos de purga, lo cual demuestra que la adición de una pequeña cantidad de estos últimos a los residuos alimenticios, supone una mejora en el proceso digestivo, logrando que se produzca más hidrógeno. En cuanto a los rendimientos de producción de hidrógeno, los resultados de los estudios son bastante variados, lo cual se debe a la composición inicial heterogénea de los residuos alimenticios, la que depende de la fuente que los genera. En aquellos estudios

con una mayor concentración inicial de carbohidratos se generó más hidrógeno, pero sus rendimientos de producción de moles de hidrógeno por moles de carbohidratos iniciales fueron menores al que se obtuvo en este estudio.

Tabla 5.5 Comparación de distintas pruebas de potencial de producción de H₂ a partir de la codigestión de residuos alimenticios y lodos de purga.

Autor	Mezcla (RA-LP%)	Composición Inicial		Y _{H2}	
		SVT	Carbohidratos	molH ₂ /mol _{Hex}	mlH ₂ /gSVT
<i>Kim, et al 2004</i>	87-13	30g/L	13.6 g/L	1.0	60
<i>Kim, et al 2011</i>	95-5	46 g/L	28.0 g/L	1.9	162
<i>Liu, et al., 2013</i>	80-15	10 g/L	2.7 g/L	2.6	106
<i>Este estudio</i>	90-10	10 g/L	2.1 g/L	2.3	65

*Hex.= hexosa

Por otro lado, la Tabla 5.6 muestra la remoción de sólidos volátiles de los ensayos con distintas mezclas de residuos, las mayores remociones se dieron en las pruebas de 100% RA y 90-10% RA-LP, 53 y 51%, respectivamente. Estas remociones fueron similares a las reportadas por otros autores (Liu, et al., 2013; Kim et al., 2011) con proporciones de mezcla similares, lo que comprueba que los residuos alimenticios fueron más fácilmente biodegradables.

Tabla 5.6 Remoción de SVT y carbohidratos a distintas mezclas de sustrato

Mezcla de RA-LP (%)	Remoción de SVT (%)	Remoción de carbohidratos (%)
100	53±2.1	93±0.5
90-10	51±1.6	95±1.2
80-20	49±2.2	91±2.0
70-30	42±4.3	88±4.0
60-40	44±3.8	95±3.7
50-50	36±5.1	89±1.5
30-70	23±7.2	90±3.5
0-100	12±5.3	92±2.3

Así mismo, las remociones de carbohidratos fueron similares y mayores al 90% para las mismas mezclas (100% RA y 90-10% RA-LP). Pese a que la remoción de carbohidratos no tuvo diferencia significativa entre ambas mezclas, la producción de hidrógeno fue mayor para 90-10% RA-LP lo que cuenta como una prueba adicional de la mejora que experimentó la digestión al agregar lodos de purga a los residuos alimenticios.

Finalmente, se analizó la fracción soluble de cada uno de los ensayos cuando terminó la cinética de producción de hidrógeno, con el fin de establecer la cantidad y el tipo de ácidos grasos volátiles que se produjeron. La Figura 5.6 ilustra la totalidad de los ácidos grasos volátiles así como su composición en mg/L para cada una de las mezclas. Como es de esperarse, la mayor producción de AGV se consiguió con la mezcla 90-10% RA-LP ya que esto coincide con la mayor producción de hidrógeno en este ensayo. En cuanto a la composición, los principales metabolitos generados en todas las mezclas fueron acetato y butirato, los cuales están relacionados con la producción de hidrógeno (Hallenbeck, 2001), excepto para las mezclas con mayor cantidad de lodos (100% LP, 30-70% RA-LP), en las que el tercer metabolito más producido fue el propionato, asociado al consumo de hidrógeno, lo que cuenta como una explicación adicional para la baja producción de hidrógeno en estas pruebas. Además es interesante notar, que en estas mismas mezclas no hubo producción significativa de etanol, debido posiblemente a que el sistema no produjo solventes como un mecanismo para mitigar la acidificación del medio.

Si bien es cierto que la producción de hidrógeno con lodos de purga solamente (100%LP) fue prácticamente nula, debido a la baja cantidad de carbohidratos disponibles (Kim et al., 2011), es interesante observar que al usar los residuos de comida como co-sustrato para la digestión de los lodos, la concentración de AGV aumentó considerablemente. Esto se ve claramente, al comparar las concentraciones de ácidos grasos volátiles de los ensayos 100% LP y 30-70% (RA-LP), la cual pasó de 405 a 678 mg/L un aumento de 1.5 veces. Este hecho es importante, sabiendo que los ácidos grasos volátiles son los precursores de la formación de metano, por lo que la mezcla 30-70% (RA-LP) tiene un alto potencial para ser usada en la digestión de lodos de purga en plantas de tratamiento de aguas residuales, con el fin de aumentar el rendimiento de producción de metano.

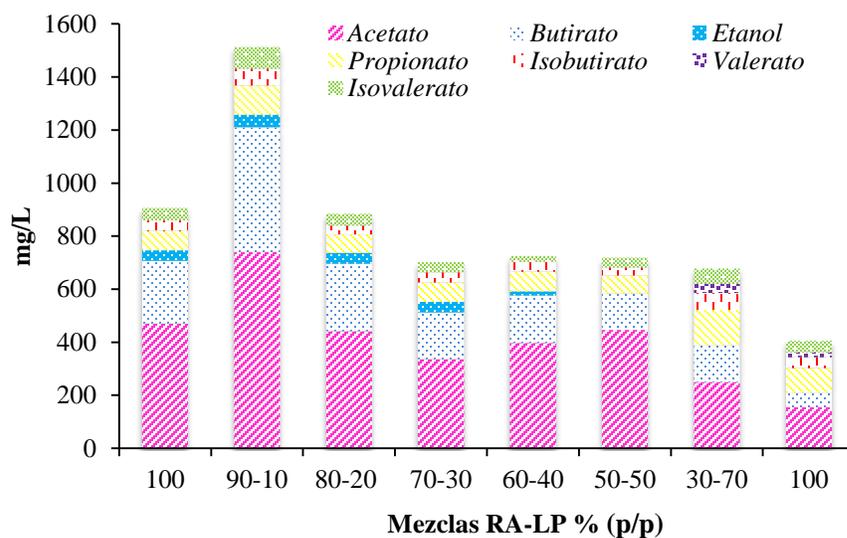


Figura 5.6 Ácidos grasos volátiles generados en la prueba de potencial de producción de H_2 en cada de las mezclas.

Debido a que el mejor desempeño durante las pruebas de potencial de producción de H_2 lo presentó la mezcla 90-10% RA-LP, se procedió a usar esta mezcla en la siguiente etapa de operación del ASBR- H_2 .

5.4. Arranque del reactor productor de Hidrógeno (ASBR- H_2)

La Figura 5.7 muestra la producción acumulada de hidrógeno con el ajuste de Gompertz, del último ciclo de operación del reactor en la etapa de arranque. Luego de 6 ciclos de operación con tiempos de reacción de 12 horas, se obtuvieron los siguientes parámetros cinéticos $H_{m\acute{a}x}$: 103 ml H_2 /g SV, λ : 3.6 h y $R_{m\acute{a}x}$: 21 ml H_2 /g SV·h y un rendimiento de 2.89 mol H_2 /mol hexosa. Lo cual constata que el inóculo se encontraba completamente activo y orientado hacia la producción de hidrógeno. Cabe destacar, que durante el arranque con glucosa, no se detectó metano en el biogás generado, lo que señala que el pretratamiento de choque térmico fue efectivo para inhibir arqueas metanogénicas.

De igual forma se evaluó la fracción soluble para ver la composición de ácidos grasos volátiles, la cual se muestra en la Tabla 5.7. En esta etapa se observa que el acetato y butirato fueron los ácidos grasos que se produjeron en mayor cantidad, lo que demuestra que los

microorganismos del inóculo siguieron las rutas acidogénicas, en especial aquellas que producen metabolitos asociados a la producción de hidrógeno. Todo lo anterior, se tomó como una prueba de que el reactor había arrancado bien y se podía proceder a alimentar con la mezcla de residuos para la codigestión.

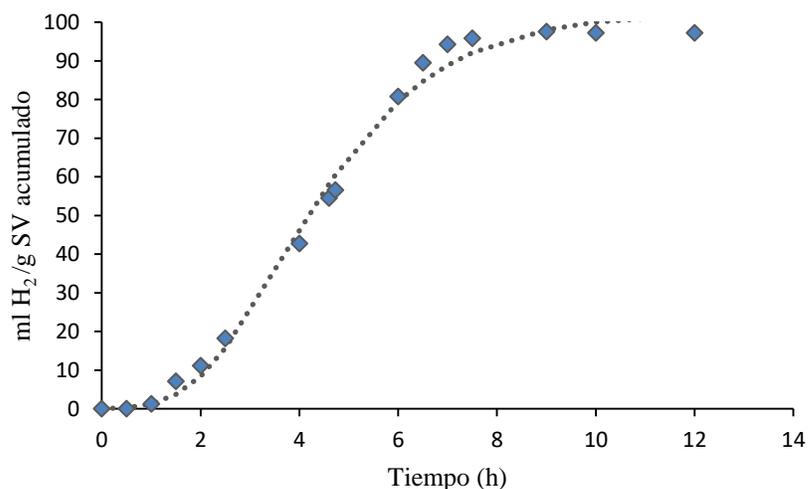


Figura 5.7 Producción acumulada de H₂ en el arranque del reactor usando glucosa como sustrato.

Tabla 5.7 Concentración y composición de los AGV durante el arranque del reactor productor de H₂, usando glucosa como sustrato.

Composición de los AGV (mg/L)							
Acetato	Butirato	Etanol	Propionato	i-butilato	Valerato	i-Valerato	Caproato
5168	3913	675	904	0	607	364	1849

5.5. Operación del reactor productor de H₂ (SBR-H₂) codigestión de la mezcla de residuos.

Después de elegir la mezcla de 90-10% RA-LP para realizar la codigestión se llevó a cabo la operación del reactor productor de hidrógeno. Este reactor estuvo operando durante 110 días y la fase de reacción inicial se fijó en 12 horas, lo que cuenta como un TRH de 24 horas, todo esto durante 40 ciclos de degradación. Posteriormente el TRH se disminuyó a 16 horas (40 ciclos de degradación) y finalmente se fijó un TRH de 8 horas durante 30 ciclos de degradación. Todas estas variaciones en el tiempo de reacción se realizaron para observar el

comportamiento en la producción de hidrógeno, es decir, en la composición del biogás y en la producción de biogás.

5.5.1. Efecto del TRH en la composición del biogás

La Figura 5.8 muestra las variaciones en la composición de H_2 , CH_4 y CO_2 que se produjeron a lo largo de los ciclos de operación de los distintos tiempos de retención hidráulicos evaluados. El primero de ellos corresponde al TRH de 24 horas y al observar el comportamiento de la composición del biogás, se evidencia que al principio de esta condición (10 ciclos) se obtuvieron buenos porcentajes de H_2 en el biogás ($46 \pm 15\%$) para un sistema de fermentación oscura a partir de residuos sólidos orgánicos (Ramos et al., 2012). Sin embargo, la composición de H_2 en el biogás fue disminuyendo conforme iban pasando los ciclos de degradación ($18 \pm 5\%$). Adicionalmente, es interesante notar que a partir del ciclo de operación 29, se empezó a detectar metano en el biogás ($5 \pm 2.6\%$).

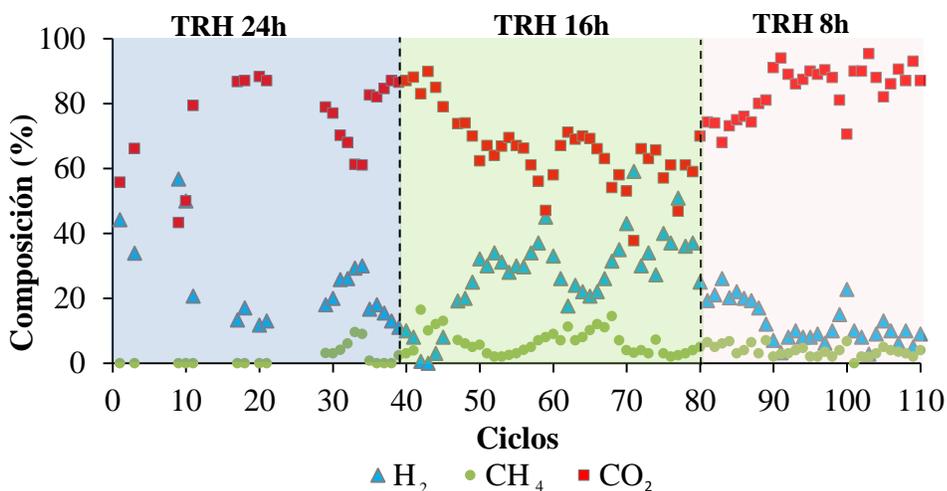


Figura 5.8 Composición de H_2 , CH_4 y CO_2 en el biogás generado en los ciclos de operación del reactor

Lo anterior sugiere que la concentración de H_2 en el biogás durante esta condición no se mantuvo estable pese a que los principales parámetros de operación como temperatura, pH, agitación y concentración de sustrato del influente se mantuvieron constantes. Otros autores han reportado esta misma problemática de inestabilidad en la composición del biogás durante

la producción de hidrógeno a partir de residuos orgánicos, en reactores que operan a largo plazo (Kyazze et al., 2006; Tenca et al., 2011). Algunas de estas investigaciones, señalan que el deterioro de la concentración de hidrógeno en el biogás se fundamenta o tiene una conexión con los cambios en la diversidad microbiana, especialmente cuando se utiliza una alimentación no estéril, como es el caso de esta investigación, la cual actúa como un inóculo que aumenta la cantidad de microorganismos indeseables como los acidogénicos no productores de hidrógeno o microorganismos consumidores de hidrógeno dentro del reactor (Kim y Shin, 2008; Hussy et al., 2003; Jo, et al., 2007).

Adicionalmente, los reactores ASBR son capaces de separar el TRH del TRS, es decir el tiempo promedio que los sólidos son retenidos en el reactor; por esta razón, al pasar de los ciclos de operación, el tiempo de retención de sólidos aumenta hasta mantenerse alrededor de un valor que es mayor al tiempo de retención hidráulico. Para la condición de un TRH 24 horas, el tiempo de retención de sólidos se mantuvo en 72 ± 10 horas (ver Figura 5.9), el cual pudo haber sido suficiente para sustentar el crecimiento de microorganismos consumidores de hidrógeno. Más adelante se evaluará la composición de los metabolitos intermediarios de la digestión así como el estudio de la población microbiana, para tener de forma más clara el motivo de la disminución en la concentración de H_2 en el biogás, durante la condición de operación TRH 24 horas. Finalmente, la Tabla 5.8 muestra el porcentaje acumulado de hidrógeno en el biogás y señala que el promedio de hidrógeno en el biogás para la condición de 24 horas fue de 24 ± 15 %v/v.

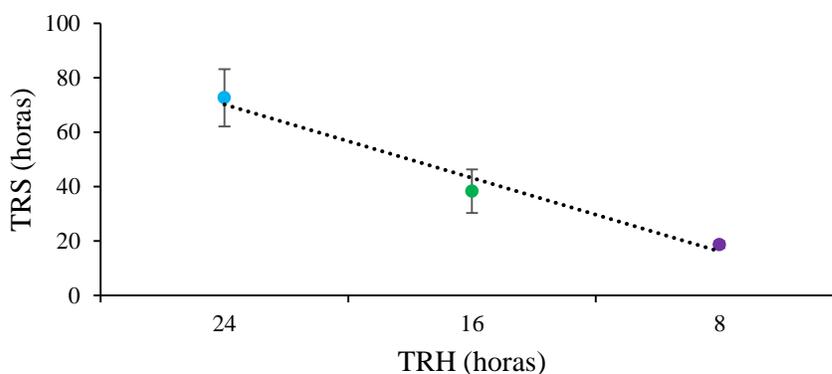


Figura 5.9 Relación de cada TRH probado con el TRS.

Tabla 5.8. Porcentaje promedio de H₂, CO₂ y CH₄ en el biogás, para las condiciones evaluadas.

TRH (horas)	H ₂ % (v/v)	CH ₄ % (v/v)	CO ₂ % (v/v)
24	23 ± 15	1.5 ± 2.7	75 ± 15.4
16	33 ± 8	8 ± 3.5	59 ± 10
8	14 ± 8	3.8 ± 1.7	82.1 ± 9.6

Es bien sabido que el TRH tiene un efecto sobre la producción de hidrógeno a partir de residuos orgánicos y que es característico de cada sistema (Moreno-Andrade, et al. 2015), por lo que se procedió a cambiar de TRH a 16 horas y ver el comportamiento de la composición del biogás. En la Figura 5.8 se observa el comportamiento de la composición de hidrógeno en el biogás generado durante esta condición, del ciclo 41- 45 la concentración de hidrógeno llegó a niveles muy bajos, siguiendo la tendencia de disminución del TRH de 24 horas. Sin embargo, en los ciclos posteriores, la concentración comienza a aumentar y a mantenerse estable (una variación no mayor 10% de la medición anterior) desde el ciclo de degradación 50 al 80, con un promedio de 32.5%. Lo anterior sugiere, que la disminución en el TRH de 24 horas a 16 horas, favoreció la concentración de H₂ en el biogás. La disminución en tiempo de reacción de los ciclos de degradación en reactor, aumentó disponibilidad de sustrato a degradar por unidad de tiempo, lo que se tradujo en una mayor cantidad de hidrógeno en el biogás, debido posiblemente a que se favorecieron las rutas metabólicas hacia la producción de hidrógeno y no las de consumo.

Otros autores como Arooj, et al. (2008) y Chen, et al. (2009) también observaron que las variaciones en el TRH, en reactores SBR, afectan los productos metabólicos y la diversidad de las poblaciones microbianas, lo que tiene un impacto directo en la composición del biogás obtenido. Cabe señalar que en la condición TRH de 16 horas siguió apareciendo metano en el biogás, pese a la disminución en el tiempo de retención de lodos en el reactor, lo cual es una señal de que los microorganismos productores de metano pudieron haber sido inoculados mediante la alimentación no estéril o que se produjo el consumo de hidrógeno para generar metano por acción de arqueas metanogénicas hidrogenotróficas.

Finalmente, se probó una última condición con un TRH de 8 horas, lo que correspondía a ciclos de degradación de 4 horas cada uno, en esta condición el porcentaje de hidrógeno en

el biogás descendió y fue el más bajo registrado de los tres distintos tiempos de retención hidráulicos probados con un promedio de $14 \pm 8.7\%$ y el más alto contenido de CO_2 ($82 \pm 9.6\%$), lo que le resta poder calorífico al biogás generado en esta condición. Aunque la disminución del TRH se ha usado como un mecanismo biocinético para la inhibición de microorganismos consumidores de hidrógeno (Sivagurunathan et al., 2016), el tiempo de reacción en la condición de operación de TRH 8 horas, no fue suficiente para degradar de forma efectiva la carga de residuos alimentada, lo que redujo la cantidad de hidrógeno en el biogás.

De los datos obtenidos en cuanto a la composición del biogás generados en las tres condiciones de operación, se puede concluir que el tiempo de retención hidráulico tuvo un efecto en el porcentaje de hidrógeno en la mezcla del biogás, aunque no de forma significativa. El mayor porcentaje de hidrógeno se consiguió operando el reactor con un TRH de 16 horas (8 horas de reacción) y fue de 32.5 ± 8.7 el cual es menor a los porcentajes de hidrógeno ($52.6 \pm 5.2\%$) obtenidos por Moreno-Andrade, et al. (2015), quienes operaron un reactor anaerobio discontinuo secuencial usando como alimentación residuos alimenticios y un TRH de 24 horas. Cabe destacar que el biogás generado en esta misma investigación no presentó metano, evidenciando la inexistencia de microorganismos metanogénicos consumidores de hidrógeno que disminuyeran el porcentaje de H_2 en el biogás. Con un TRH de 24 horas se consiguió un porcentaje de hidrógeno en el biogás de $23 \pm 15\%$ seguido del TRH de 8 horas $14 \pm 8\%$, contando como la condición con menor porcentaje de hidrógeno en el biogás.

5.5.2. Efecto del TRH en la producción volumétrica de hidrógeno y en otros parámetros de desempeño del ASBR- H_2

La Figura 5.10 muestra los mililitros de hidrógeno que se produjeron, en cada uno de los ciclos de operación del ASBR- H_2 durante las diferentes condiciones de tiempos de retención hidráulicos. El volumen de biogás promedio generado en los ciclos de operación del TRH de 24 horas fue de 830 ± 183 mL, seguido de 825 ± 87 mL para el TRH de 16 horas y por último el promedio de biogás recolectado bajo el TRH de 8 horas fue de 513 ± 62 mL. Dado que el total del biogás generado en cada condición de operación fue similar, la producción de

hidrógeno estuvo estrechamente relacionada con la composición del biogás, más que con el volumen generado. Por lo anterior, la condición que produjo mayor cantidad promedio de hidrógeno por ciclo fue la del tiempo de retención hidráulico de 16 horas: 186 ± 70 mL de hidrógeno.

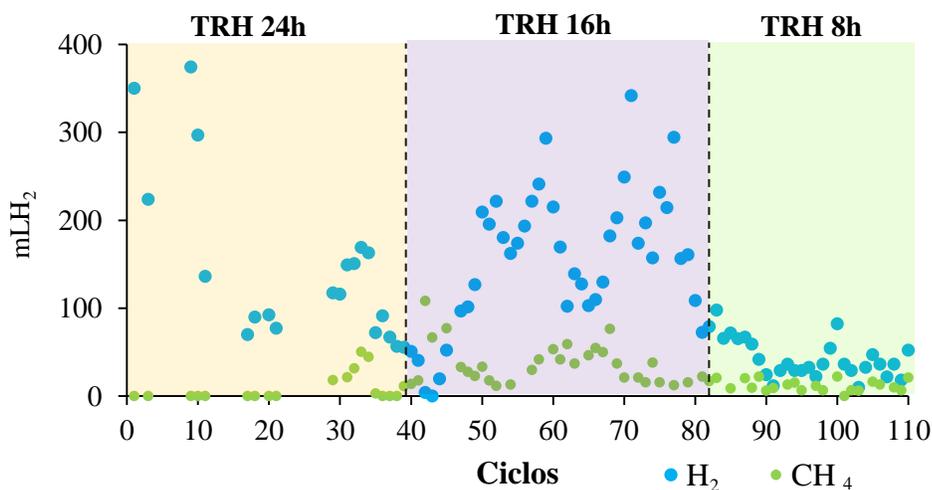


Figura 5.10 Producción en mililitros de H_2 y CH_4 durante los ciclos de operación.

Adicionalmente, se calculó la tasa de producción volumétrica de hidrógeno para los tres TRH evaluados, la máxima se obtuvo con el TRH de 16 horas, 733 ± 282 mL H_2 /L·d, seguido del TRH de 8 horas con una productividad de 383 mL H_2 /L·d y la menor fue la correspondiente al TRH de 24 horas, 364 mL H_2 /L·d. Dado que la producción volumétrica se ve afectada por el número de ciclos al día, se procedió a realizar cinéticas de producción de hidrógeno para cada condición y así comparar su desempeño y verificar y si el TRH tuvo una incidencia o no en la productividad de hidrógeno.

La Figura 5.11 ilustra la producción acumulada de hidrógeno con puntos y el ajuste a la ecuación modificada de Gompertz con líneas punteadas, mientras que la Tabla 5.9 muestra los parámetros cinéticos obtenidos del ajuste así como el rendimiento de producción de hidrógeno con respecto a los sólidos volátiles totales iniciales. En la Figura 21 se observa claramente que el TRH afectó la producción acumulada de hidrógeno ($H_{m\acute{a}x}$) siendo la máxima de 235 ± 27 mL H_2 /L_{reactor} con un tiempo de reacción de 8 horas, lo que corresponde al TRH de 16 horas. La segunda mayor producción acumulada se obtuvo con el TRH de 24

horas, 140 ± 15 mL H_2/L_{reactor} y la menor corresponde al tiempo de retención hidráulico de 8 horas con 43 ± 4 mL H_2/L_{reactor} . El tiempo de latencia fue prácticamente el mismo debido a que las condiciones de operación del reactor como temperatura, pH, agitación y concentración del influente eran las mismas, sin embargo, la diferencia en el comportamiento de la cinética de producción de hidrógeno estuvo en la velocidad máxima de producción $R_{\text{máx}}$ y en la máxima producción acumulada $H_{\text{máx}}$, lo que sugiere, que las reacciones durante la fermentación, se vieron afectadas por el tiempo de reacción haciendo que estuvieran más orientadas o no hacia la producción de hidrógeno.

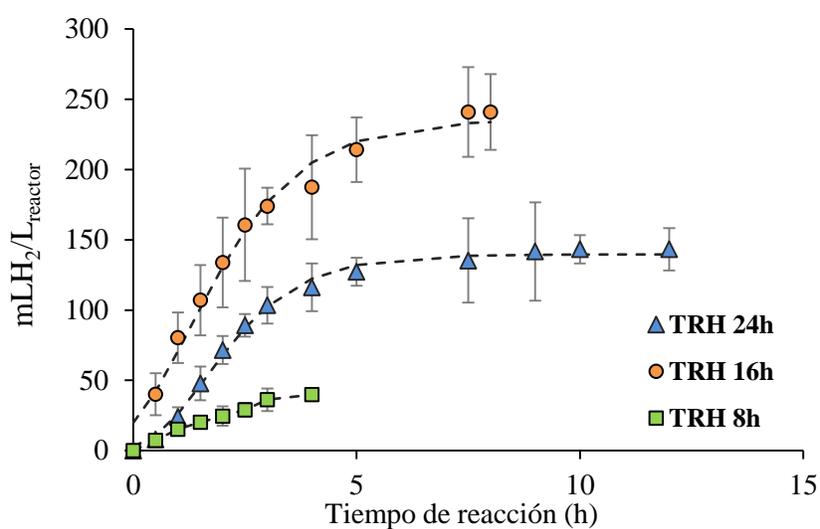


Figura 5.11 Cinéticas de producción de H_2 .

Evaluando el rendimiento, se observa que la mayor cantidad de hidrógeno por sólidos volátiles totales iniciales, se produjo cuando el tiempo de reacción fue de 8 horas (TRH 16 h), es decir, las reacciones de fermentación estuvieron más dirigidas hacia la generación de hidrógeno en esta condición. Estos resultados, está relacionados con los expuestos en la sección anterior, en los que se evidenció que la mayor concentración de hidrógeno en el biogás, correspondió al TRH de 16 horas.

Tabla 5.9 Parámetros cinéticos y producción volumétrica de H_2 a diferentes TRH.

Parámetros cinéticos				Y_{H_2}
TRH (h)	$H_{\text{máx}}$ (mL/L _{reactor})	$R_{\text{máx}}$ (mL/L _{reactor} .h)	λ (h)	mL H_2 /g SVT

24	140 ± 15	44 ± 8	1.6 ± 0.2	9.3 ± 1.0
16	235 ± 27	62 ± 15	1.2 ± 0.1	15.6 ± 1.8
8	43 ± 4	13 ± 4	1.2 ± 0.3	2.8 ± 0.2

Otros autores, han estudiado el efecto de la duración de los ciclos de operación en reactores discontinuos en la producción de hidrógeno, señalando que el TRH puede afectar la población microbiana y los productos metabólicos, lo que incide finalmente en la producción de hidrógeno (Arooj et al., 2008; Piemonte, et al., 2014). En el presente trabajo, el tiempo de retención hidráulico tuvo un impacto en la tasa de producción volumétrica de hidrógeno como se observa en la Figura 5.12, siendo el más apto para la actividad hidrógenolítica el TRH de 16 horas. Adicionalmente, el máximo rendimiento (15.6 ± 1.8 mL H₂/g SVT) se obtuvo con esta misma condición de operación, lo que implica que más cantidad de materia orgánica (medida como sólidos volátiles) fue digerida mediante rutas metabólicas productoras de hidrógeno con el TRH de 16 horas que con los otros dos. En las siguientes secciones se mostrarán los resultados en cuanto a la producción de ácidos grasos volátiles y el estudio de la población microbiana, para relacionarlos con el comportamiento de la producción de hidrógeno.

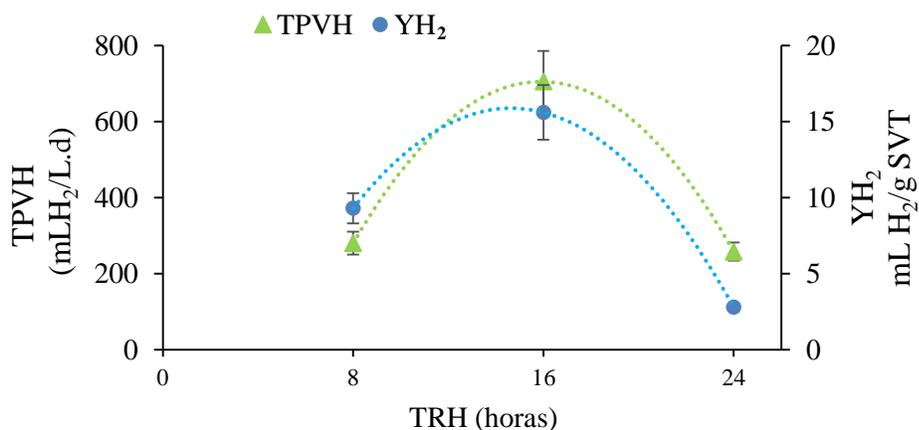


Figura 5.12 Comportamiento de la tasa de producción volumétrica de hidrógeno (TPVH) y el coeficiente de rendimiento (YH₂) dependiendo del THR. La línea punteada representa el ajuste de los datos a un polinomio cuadrado.

La Tabla 5.10 muestra algunos parámetros como la hidrólisis, remoción de carbohidratos y sólidos volátiles, así como el tiempo de retención de sólidos promedio, obtenidos durante la operación del reactor productor de hidrógeno. La hidrólisis es un parámetro importante y

suele ser el cuello de botella durante los procesos de digestión anaerobia, por eso es importante conocerla como parte del desempeño de un sistema de dos etapas. La hidrólisis permite conocer la cantidad de materia orgánica no soluble o material particulado en forma de DQO total que pasó a la fracción soluble, precisamente por la acción de bacterias hidrolíticas productoras de compuestos intermedios como ácidos grasos volátiles, H₂ y CO₂ (de Lemos C., 2007), que serán usados para producir metano y dióxido de carbono como productos finales de la digestión anaerobia.

Tabla 5.10 Hidrólisis, remociones y TRS de los tiempos de retención hidráulicos estudiados.

TRH (h)	Hidrólisis (%)	Remoción de carbohidratos (%)	Remoción de SV (%)	Remoción DQOt (%)	TRS (h)
24	50 ± 5	80.4 ± 13	61.3 ± 5	34 ± 5	72.6 ± 10
16	37 ± 7	80.8 ± 9	66.1 ± 4	15 ± 7	38.3 ± 8
8	27 ± 5	86.8 ± 15	45.2 ± 7	12 ± 4	18.6 ± 1.2

La máxima hidrólisis del 50% se obtuvo con un TRH de 24 horas es decir, 50% del material particulado pasó a la fracción soluble, después de la fermentación en el reactor, aumentando la concentración de metabolitos secundarios como AGV y alcoholes disponibles para la producción de metano en la etapa posterior. Al disminuir el tiempo de retención hidráulico a 16 horas, la hidrólisis se vio afectada y decreció hasta un 37%, lo que es un comportamiento normal, debido a que el tiempo de reacción es menor en esta condición y a que el tiempo de retención de sólidos pasó de 72 horas a tan solo 38 horas, disminuyendo así el tiempo de contacto entre la materia orgánica y los microorganismos fermentadores. Por esta razón, la menor hidrólisis de 27% se obtuvo con el menor tiempo de retención hidráulico de 8 horas. Normalmente, no se reporta la hidrólisis en sistemas de producción de hidrógeno sino en aquellos sistemas de hidrólisis o acidogénicos cuyo principal objetivo es hidrolizar la mayor cantidad de materia orgánica, sin importar el contenido del biogás producido. Estos últimos sistemas se logran fijando un TRH mucho más alto que el fijado para la producción de hidrógeno, Bouallagui, et al.(2003) estudiaron la hidrólisis de frutas y verduras en un reactor discontinuo secuencial, consiguiendo porcentajes de hidrólisis superiores al 70%, sin embargo el tiempo de retención hidráulico fue de 72 horas, mayor al manejado en esta investigación.

Por su parte, no parece haber un impacto significativo del TRH sobre la remoción de carbohidratos, ya que se obtuvo una remoción mayor al 80% en todas las condiciones probadas. Esto debido principalmente, a que los carbohidratos son fácilmente asimilables y son consumidos rápidamente en las primeras horas de la fermentación por los microorganismos antes de que acabe el ciclo de reacción. Pese a que la mezcla en codigestión era heterogénea, la concentración inicial de carbohidratos en cada uno de las condiciones, fue prácticamente la misma, por lo que en cada TRH se pudo haber producido la misma cantidad de hidrógeno, sin embargo, la mayor producción de hidrógeno se registró con el TRH de 16 horas, lo que cuenta como una prueba de que las reacciones bajo esta condición de operación, estuvieron mejor dirigidas hacia la producción de hidrógeno.

La remoción de sólidos volátiles en un reactor discontinuo secuencial se lleva a cabo por la solubilización de la materia orgánica por acción de los microorganismos y por la sedimentación que se da en el reactor, que permite obtener efluente clarificado rico en material soluble, además de la solubilización de la materia orgánica por acción de los microorganismos (Steele, 2003). Según los resultados obtenidos, no hay diferencia significativa en la remoción de sólidos volátiles comparando los TRH de 24 y 16 horas, aunque la solubilización fuera mayor con el TRH de 24 horas. Las condiciones de sedimentación dentro del reactor no fueron medidas, por lo que no se puede relacionar este parámetro con la remoción de sólidos volátiles. La menor remoción de sólidos volátiles se presentó con el TRH de 8 horas, lo cual puede estar relacionado con la baja solubilización de la materia orgánica, además la menor retención de sólidos volátiles dentro del reactor, indica que bajo el TRH de 8 horas pudo haber un lavado progresivo de la biomasa productora de hidrógeno, lo que se relaciona con la baja productividad de hidrógeno en esta condición de operación.

La remoción de DQO total, fue mayor para el TRH de 24 horas debido a que en esta condición de operación, una mayor cantidad de la DQO total pasó a la fracción soluble, además la mayor remoción de sólidos promovió la producción de un efluente más clarificado con una menor concentración de DQO total.

Finalmente, tanto la remoción de sólidos volátiles como de DQO total estuvo asociada al tiempo de retención de sólidos dentro del reactor (Kim, Han, y Shin, 2008), el cual fue de 72 horas aproximadamente con un TRH de 24 horas, bajo esta condición la materia orgánica estuvo más tiempo en contacto con los microorganismos encargados de degradarla.

5.5.3. Producción de metabolitos secundarios en la fermentación.

La producción de metabolitos secundarios solubles obedeció a la actividad hidrolítica y acidogénica de los microorganismos en el reactor, las concentraciones promedio para cada tiempo de retención hidráulico, se encuentran resumidas en la Tabla 5.11. Para apreciar mejor la cantidad generada de cada metabolito durante la fermentación a diferentes condiciones de operación, se debe observar la Figura 5.13. Tanto en la tabla como en la gráfica, se muestran los metabolitos solubles del efluente del reactor, algunos de ellos pueden relacionarse con la producción o consumo de hidrógeno, mientras que otros simplemente se generan a partir del consumo de sustrato pero no producen ni consumen hidrógeno. Para aclarar este punto, se muestran las principales reacciones químicas involucradas en la fermentación oscura en la siguiente tabla:

Tabla 5.11 Principales reacciones químicas involucradas en la fermentación oscura.

$C_6H_{12}O_6 + 4H_2O \rightarrow 2 \text{ Acetato} + 2HCO_3^- + 4H_2 + 4H^+$	Reacción (1)
$C_6H_{12}O_6 + 2H_2O \rightarrow \text{ Butirato} + 2HCO_3^- + 2H_2 + 4H^+$	Reacción (2)
$C_6H_{12}O_6 + 2 H_2 \rightarrow 2 \text{ Propionato} + 2H_2O + H^+$	Reacción (3)
$CO_2 + 4H_2 \rightarrow \text{ Acetato} + 2H_2O + H^+$ (Homoacetogénesis)	Reacción (4)
$CO_2 + 4H_2 \rightarrow \text{ Metano} + 2H_2O$	Reacción (5)

Adaptado de Guo, et al., 2010 y Valdez-Vazquez & Poggi-Varaldo, 2009.

A partir de esta tabla, es posible establecer que la mayor cantidad de hidrógeno es producida cuando el sustrato es utilizado para generar acetato, seguido del butirato. Mientras que otras reacciones como la producción de propionato o incluso la producción de acetato por vía homoacetogénica, consumen el hidrógeno generado.

Tabla 5.12 Concentración de los metabolitos solubles en el efluente del reactor durante los diferentes TRH

Concentración total de metabolitos solubles										
TRH	Acetato (mg/L)	Butirato (mg/L)	Etanol (mg/L)	Propionato (mg/L)	i-butirato (mg/L)	Valerato (mg/L)	i-Valerato (mg/L)	Caproato (mg/L)	Butanol (mg/L)	Lactato (mg/L)
24 h	1510	337	240	838	30	74	0.0	0.0	0.0	250
16 h	1178	604	235	235	13	146	27	30	0.0	300
8 h	543	341	163		0.0	260	0.0	0.0	0.0	380

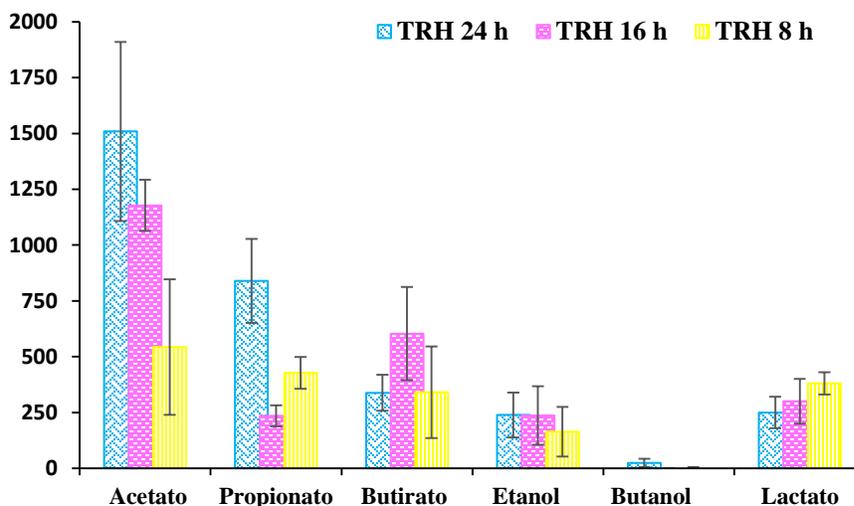


Figura 5.13 Producción de los principales metabolitos solubles durante la fermentación

Se puede observar en la Figura 5.13 que para los tres tiempos de retención evaluados, el principal metabolito generado fue el acetato, seguido del butirato para el TRH de 16 y 8 horas, excepto para el TRH de 24 cuyo segundo metabolito más producido fue el propionato. El acetato y el butirato son los AGV más estrechamente ligados a la producción de hidrógeno, mientras que la presencia de otros metabolitos como el propionato, indica el consumo del mismo hidrógeno generado.

La mayor producción de acetato se obtuvo con un TRH de 24 horas (1510 ± 155 mg/L); sin embargo la producción de hidrógeno no fue la mayor bajo esta condición. La acumulación de acetato en el medio, no implica necesariamente una mayor producción de hidrógeno, ya que varias especies microbianas pueden convertir H_2 y CO_2 en acetato (reacción 4). Dichas especies incluyen microorganismos homoacetogénicos que reducen el CO_2 a acetato mediante la vía acetyl Co-A. Adicionalmente, la producción de hidrógeno en esta condición

se vio afectada por la generación de propionato (838 ± 87 mg/L) , un metabolito que es producido a partir del consumo de sustrato e hidrógeno (Reacción 3) (Motte et al., 2013).

Al disminuir el tiempo de retención hidráulico a 16 horas, la generación de propionato disminuyó (235 ± 30 mg/L), aumentando al mismo tiempo la producción de butirato (604 ± 90 mg/L), el cual es favorable para la obtención de hidrógeno. Este hecho se vio reflejado en una mayor tasa de producción volumétrica hidrógeno para esta condición de operación.

Al probar el último TRH de 8 horas, el tiempo de reacción en cada ciclo era de 4 horas, lo que redujo la concentración de metabolitos solubles en el efluente y la producción de propionato (527 ± 200 mg/L), comparado con la de acetato y butirato obtenidos en esta misma condición de operación, volvió a ser significativa, lo que no fue beneficioso para la producción de hidrógeno. Así mismo, la concentración de metabolitos solubles asociados al consumo de sustrato pero no a la producción de hidrógeno como el lactato, etanol y valerato se volvieron significativas en esta condición de operación, por lo que la reducción en el tiempo de reacción promovió el consumo de sustrato no asociado a la generación de hidrógeno.

Haciendo un balance molar teórico entre el hidrógeno producido o consumido por la producción de acetato, propionato, butirato a partir de la glucosa y la cantidad de hidrógeno producido experimentalmente en cada condición de operación, se demostró que la diferencia entre el hidrógeno teórico producido y el obtenido experimentalmente (23, 12 y 4 mmol/L, para los TRH de 24, 16 y 8, horas respectivamente) se debió al consumo del mismo por bacterias homoacetogénicas. Este fenómeno se presentó en todos los tiempos de retención hidráulico, siendo mayor para el TRH de 24 horas. Usualmente, los microorganismos homoacetogénicos aparecen cuando la presión parcial de hidrógeno es perjudicial para los microorganismos productores de acetato, por lo que al consumir hidrógeno mantienen una presión parcial de hidrógeno baja, aumentando la concentración de acetato en el medio (Zeikus, 1977).

Cabe destacar que el metano producido durante la operación del ASBR-H₂ se atribuyó a la acción de microorganismos metanogénicos hidrógenotróficos y se tuvo en cuenta en el

balance realizado. En todos los TRH evaluados la producción hidrógeno se vio afectada por la generación de metano por parte de estos microorganismos, se esperaba que la disminución en el tiempo de reacción o en el TRH fuera suficiente para eliminar los microorganismos metanogénicos hidrogenotróficos, pero la actividad metanogénica continuó de forma independiente al TRH.

5.6. Operación del reactor productor de metano (ASBR-CH₄)

El efluente del reactor productor de hidrógeno fue recolectado y caracterizado (Ver Tabla 5.12) para ser usado como influente del reactor productor de metano, operado en modo discontinuo secuencial como se describió en la metodología. Los tiempos de reacción y por ende los tiempos de retención hidráulicos fueron variables, dependiendo de la remoción de DQOs, mayor o igual al 90%.

Tabla 5.13 Caracterización del sustrato para la producción de metano.

Parámetros	
ST (g/L)	2.0 ± 0.78
SV (g/L)	1.7±0.8
AGV´s (g/L)	3.3± 0.5
DQO t (g/L)	13.2±2.4
DQO s (g/L)	3.4± 0.3
Proteínas t (g/L)	0.8± 0.1
Proteínas solubles (g/L)	0.1± 0.03
Carbohidratos t (g/L)	1.3± 0.05
Carbohidratos s (g/L)	0.02±0.0

La composición del biogás generado en cada ciclo de reacción del reactor metanogénico, se encuentra graficada en la Figura 5.14. La máxima composición de metano fue de 83% y la mínima de 50%, en promedio la composición fue de 65±8% lo que representa la composición normal del biogás producido en un proceso de digestión anaerobia (Batstone y Jensen, 2011).

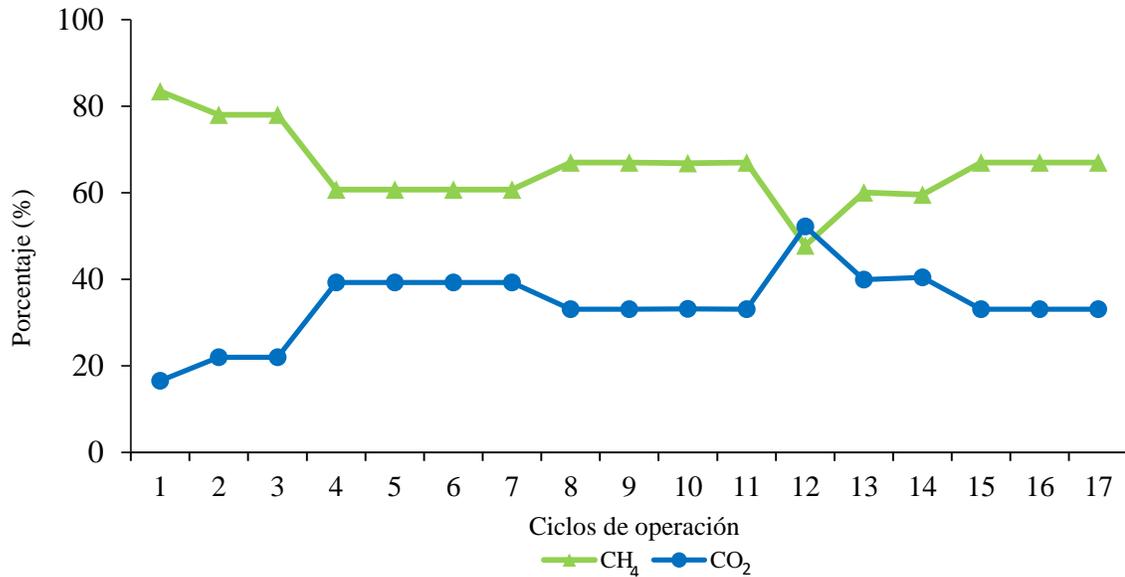


Figura 5.14. Composición del biogás generado en cada ciclo de operación o reacción.

Durante la operación del reactor metanogénico se realizaron las cinéticas de producción de biogás durante los ciclos de operación, el tiempo de reacción se detuvo cuando alcanzó una remoción mayor o igual al 90% de la DQO. La Figura 5.15 muestra la producción acumulada de metano, así como el ajuste con ecuación de Gompertz y los parámetros cinéticos obtenidos. Las cinéticas de producción de metano fueron similares en cada ciclo, alcanzando valores de alrededor de 2600 ml de metano por litro de reactor.

La fase de latencia en todos los casos fue menor a las 24 horas y la fase estacionaria se alcanzaba después de las 50 horas de digestión. Las similitudes en las cinéticas de reacción se atribuyen a la naturaleza del sustrato hidrolizado que fue fácilmente digerible para los microorganismos, adicionalmente, otros autores han reportado que los lodos de purga ayudan al proceso digestivo en la producción de metano cuando son usados como co-sustrato con los residuos alimenticios (Stroot, et al., 2001)

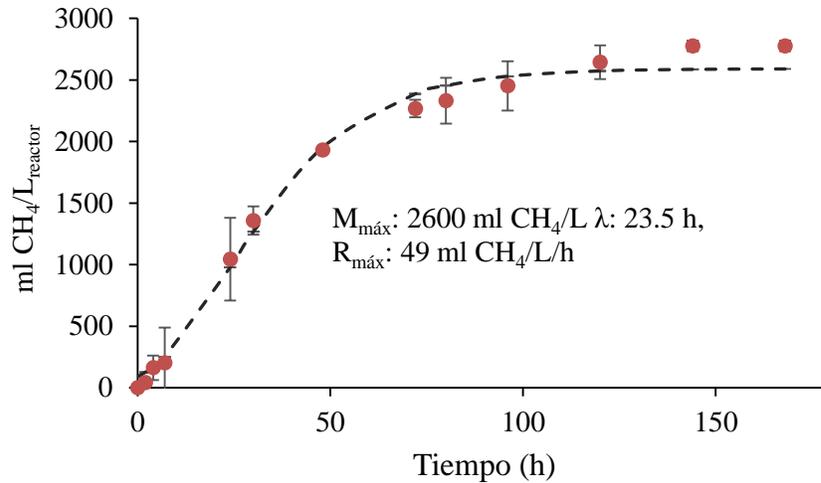


Figura 5.15 Producción acumulada de metano y ajuste de Gompertz.

En la Tabla 5.13 se observa el desempeño general del reactor, los tiempos de retención hidráulicos variaron entre 8 y 10 días, mucho menores a los tiempos de retención que se emplean en reactores de una sola etapa para la producción de metano, los cuales son mayores a 15 días (Nathao, et.al., 2013). La remoción de DQO total fue mayor al 80%, la remoción de sólidos volátiles fue superior al 70% y similar a las obtenidas en otros estudios (Jung et al., 2013; Siddiqui et al., 2011). Por último, el rendimiento de producción de metano fue del 82% del rendimiento teórico a partir de glucosa en un proceso de fermentación (Pabón Pereira, et al., 2013), lo que se tradujo en una muy buena producción volumétrica.

Tabla 5.14 Desempeño general del reactor metanogénico.

TRH	Remoción de DQOt	Remoción de SV	mLCH ₄ /gDQOt	mLCH ₄ /L _{reactor} /d
8-10 d	89% ± 4	74% ± 9	288 ± 15	809 ± 80

La Tabla 5.15 muestra el comparativo de estudios realizados con residuos de alimentos, en algunos casos en codigestión con lodos de purga y en otros sin co-sustrato, para la producción de metano e hidrógeno en sistemas de dos etapas.

Tabla 5.15. Comparativo de estudios de sistemas en dos etapas para la producción de hidrógeno y metano.

Sustrato	Tipo de reactor		Temp. (°C)		TRH (d)		mL/L.d		Ref.
	H ₂	CH ₄	H ₂	CH ₄	H ₂	CH ₄	H ₂	CH ₄	
RA-LP	Lote	ASBR	35	35	2	15	480	1100	[1]
RA	CSTR	CSRT	35	35	5	20	180	330	[2]
RA	LBR	UASB	35	35	0.4	0.6	980	1700	[3]
RA-LP	ASBR	ASBR	35	35	0.6	8	705	809	[4*]

RA: residuos de alimentos, LP: lodos de purga, LBR: Reactor de lecho fijo. [1] Jung et al., 2013, [2] Kim et al., 2008 [3] Nathao et al., 2013 [4*] El presente estudio.

Cabe destacar que en su mayoría, los estudios realizados hasta el momento en sistemas de codigestión de residuos de alimentos con lodos de purga, se han llevado a cabo en sistemas por lote con el fin de obtener una mezcla de residuos que maximice la producción de biogás, pero estos ensayos no se han repetido varias veces para evaluar el efecto de la operación de los reactores a largo plazo. Los resultados obtenidos en este trabajo fueron más favorables para la producción de hidrógeno que los obtenidos por Jung et al. (2013) y Kim et al. (2008), y menores comparados con los que logró Nathao et al., (2013). En cuanto al desempeño del reactor productor de metano, en todos los estudios se reporta que no hubo mayores variaciones en la composición del biogás y la producción se mantuvo estable a lo largo del tiempo de operación. La tasa de producción de metano en la segunda etapa de este estudio, es similar a la que consiguieron Jung et al. (2013), quienes usaron un ASBR y el digestato generado en la codigestión de lodos de purga y residuos alimenticios.

Capítulo 6. Conclusiones y Recomendaciones

6.1. Conclusiones

La adición de pequeñas cantidades de lodos de purga mejora el desempeño de la producción de H_2 a partir de residuos alimenticios. Ya que aumentó la producción de acumulada de hidrógeno, la remoción de sólidos volátiles y la remoción de carbohidratos. La mezcla con la que se obtuvieron los resultados más satisfactorios fue de 90% residuos alimenticios y 10% lodos de purga en relación p/p, con una concentración inicial de sólidos de 10 g SVT/L.

La máxima tasa de producción volumétrica de hidrógeno fue de 733 ± 282 mL H_2 /L·d seguido del TRH de 8 horas con una productividad de 383 mL H_2 /L·d y la menor fue la correspondiente al TRH de 24 horas, 364 mL H_2 /L·d.

El tiempo de retención hidráulico favoreció de las rutas metabólicas hacia la producción de metabolitos ligados a la generación de hidrógeno, específicamente el TRH de 16 horas fue el más adecuado para la producción de hidrógeno, por lo que en esta condición de operación se obtuvo el mayor porcentaje de H_2 en el biogás del $33 \pm 8\%$.

La hidrólisis de la materia orgánica que se da en el reactor productor de hidrógeno facilita la actividad metanogénica en la segunda etapa, favoreciendo la productividad de CH_4 y la disminución de tiempo de retención hidráulico. La tasa de producción volumétrica de metano fue de 809 mL CH_4 /L·d, con un rendimiento de 288 ± 15 mL CH_4 /gDQO, lo que representa un 82% del rendimiento teórico de producción de metano, demostrando el buen desempeño de la etapa metanogénica.

6.2. Recomendaciones

- ✓ Dado que la hidrólisis en la primera etapa de esta investigación fue menor al 30%, sería útil comparar este estudio, con un sistema de dos etapas, en el cual el objetivo de la primera etapa sea la hidrólisis y no la producción de hidrógeno, con tiempos de retención hidráulico más largos, y comparar los balances energéticos de ambos sistemas.
- ✓ Usar un consorcio con una mayor densidad poblacional de microorganismos productores de hidrógeno o realizar una bioaumentación de la comunidad microbiana productora de hidrógeno durante la operación del reactor.
- ✓ Monitorear la presión parcial de hidrógeno en el medio, para evitar la inhibición de producción de hidrógeno por este parámetro.
- ✓ Probar con una concentración de alimentación menor a 15 gSVT/L, y ver si el sistema es capaz de realizar una mejor hidrólisis y producir más hidrógeno.

Capítulo 7 Bibliografía

- Alshiyab, H., Kalil, M. S., Hamid, A. A., & Wan Yusoff, W. M. (2008). Effect of salts addition on hydrogen production by *C. acetobutylicum*. *Pakistan Journal of Biological Sciences*.
- Álvarez, J. a., Otero, L., & Lema, J. M. (2010). A methodology for optimising feed composition for anaerobic co-digestion of agro-industrial wastes. *Bioresource Technology*, *101* (4), 1153–1158.
- Antonopoulou, G., Ntaikou, I., Stamatelatou, K., & Lyberatos, G. (2011). Biological and fermentative production of hydrogen. In *Handbook of Biofuels Production* (pp. 305–346).
- APHA, AWWA, & Federation, W. E. (2005). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater Part 1000 Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater.
- Argun, H., & Kargi, F. (2011). Bio-hydrogen production by different operational modes of dark and photo-fermentation: An overview. *International Journal of Hydrogen Energy*, (pp. 7443–7459).
- Arooj, M. F., Han, S. K., Kim, S. H., Kim, D. H., & Shin, H. S. (2008). Effect of HRT on ASBR converting starch into biological hydrogen. *International Journal of Hydrogen Energy*, (pp. 6509–6514).
- Bakonyi, P., Nemestóthy, N., Simon, V., & Bélafi-Bakó, K. (2014). Review on the start-up experiences of continuous fermentative hydrogen producing bioreactors. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, (pp. 806–813).
- Balachandar, G., Khanna, N., & Das, D. (2013). Biohydrogen Production from Organic Wastes by Dark Fermentation. In *Biohydrogen* (pp. 103–144). Elsevier B.V.
- Bao, M. D., Su, H. J., & Tan, T. W. (2013). Dark fermentative bio-hydrogen production: Effects of substrate pre-treatment and addition of metal ions or L-cysteine. *Fuel*, (pp. 38–44).
- Batstone, D. J., & Jensen, P. D. (2011). 4.17 – Anaerobic Processes. In *Treatise on Water Science* (pp. 615–639).
- Bodik, I., & Kubaska, M. (2013). Energy and Sustainability of Operation of a Wastewater

- Treatment Plant. *Environment Protection Engineering*, (pp. 15–24).
- Bouallagui, H., Ben Cheikh, R., Marouani, L., & Hamdi, M. (2003). Mesophilic biogas production from fruit and vegetable waste in a tubular digester. *Bioresource Technology*, (1), (pp. 85–89).
- Brennan, L., & Owende, P. (2010). Biofuels from microalgae—A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, (2), (pp. 557–577).
- Bru, K., Blazy, V., Jouliau, C., Trably, E., Latrille, E., Quéméneur, M., & Dictor, M. C. (2012). Innovative CO₂ pretreatment for enhancing biohydrogen production from the organic fraction of municipal solid waste (OFMSW). *International Journal of Hydrogen Energy*, (19), (pp. 14062–14071).
- Buitrón, G., & Carvajal, C. (2009). Producción de hidrógeno a Partir de aguas residuales. *Revista.Unam.Mx*,10,9.Retrieved from <http://www.revista.unam.mx/vol.10/num8/art50/art50.pdf>
- Buitron, G., Kumar, G., Martinez-Arce, A., & Moreno, G. (2014). Hydrogen and methane production via a two-stage processes (H₂-SBR + CH₄-UASB) using tequila vinasses. *International Journal of Hydrogen Energy*, (33), (pp. 19249–19255).
- Bújanos Adame, M. C., & Moreno-Andrade, I. (2013). *Producción biológica de hidrógeno a partir de residuos sólidos orgánicos de una cafetería*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Bundhoo, M. A. Z., & Mohee, R. (2016). Inhibition of dark fermentative bio-hydrogen production: A review. *International Journal of Hydrogen Energy*, (16), (pp. 6713–6733).
- Castillo-Hernández, A., Mar-Alvarez, I., & Moreno-Andrade, I. (2015). Start-up and operation of continuous stirred-tank reactor for biohydrogen production from restaurant organic solid waste. *International Journal of Hydrogen Energy*, (pp. 1–7).
- Chen, C. C., Lin, C. Y., & Lin, M. C. (2002). Acid-base enrichment enhances anaerobic hydrogen production process. *Applied Microbiology and Biotechnology*, (2), (pp. 224–228).
- Chen, S. D., Lo, Y. C., Lee, K. S., Huang, T. I., & Chang, J. S. (2009). Sequencing batch reactor enhances bacterial hydrolysis of starch promoting continuous bio-hydrogen

- production from starch feedstock. *International Journal of Hydrogen Energy*, 34(20), (pp. 8549–8557).
- Chen, W. H., Sung, S., & Chen, S. Y. (2009). Biological hydrogen production in an anaerobic sequencing batch reactor: pH and cyclic duration effects. *International Journal of Hydrogen Energy*, (1), (pp. 227–234).
- Craven, S. E., & Russell, R. B. (1988). Increased Sporulation of *Clostridium perfringens* in a Medium Prepared with the Prereduced Anaerobically Sterilized Technique or with Carbon Dioxide or Carbonate, (9), (pp. 700–706).
- Dabrock, B., Bahl, H., & Gottschalk, G. (1992). Parameters affecting solvent production by *Clostridium pasteurianum*. *Applied and Environmental Microbiology*, (4).
- Das, D; Veziroglu, T. (2001). Hydrogen production by biological processes: a survey of literature. *International Journal of Hydrogen Energy*, (1), (pp. 13–28).
- DAS, D., & VEZIROGLU, T. (2008). Advances in biological hydrogen production processes. *International Journal of Hydrogen Energy*, (21), (pp. 6046–6057).
- de Lemos C., C. A. (2007). *Biologica Wastewater Treatment*. Minas Gerais: IWA Publishing.
- Dong, L., Zhenhong, Y., Yongming, S., Xiaoying, K., & Yu, Z. (2009). Hydrogen production characteristics of the organic fraction of municipal solid wastes by anaerobic mixed culture fermentation. *International Journal of Hydrogen Energy*, (2), (pp. 812–820).
- Dubois, M., Gilles, K. a., Hamilton, J. K., Rebers, P. a., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, (3)
- Escamilla-Alvarado, C., Poggi-Varaldo, H., & Ponce-Noyola, M. T. (2011). Producción de hidrógeno y metano como biocombustibles bajo el esquema de biorrefinería. *Concyteg*, (71), (pp. 526–539).
- Esquivel-Elizondo, S., Chairez, I., Salgado, E., Aranda, J. S., Baquerizo, G., & Garcia-Peña, E. I. (2014). Controlled continuous bio-hydrogen production using different biogas release strategies. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, (7), (pp. 1737–1751).
- FAO. (2013). *Food wastage footprint. Impacts on natural resources. Summary Report. Food wastage footprint Impacts on natural resources*.
- Foglia, D., Wukovits, W., Friedl, A., De Vrije, T., & Claassen, P. A. M. (2011). Fermentative hydrogen production: Influence of application of mesophilic and thermophilic bacteria on mass and energy balances. *Chemical Engineering Transactions*, (25), (pp. 815–820).

- Garcia, J. L., Patel, B. K., & Ollivier, B. (2000). Taxonomic, phylogenetic, and ecological diversity of methanogenic Archaea. *Anaerobe*, (4), (pp. 205–226).
- Gottardo, M., Micolucci, F., Mattioli, A., Faggian, S., Cavinato, C., & Pavan, P. (2015). Hydrogen and Methane Production from Biowaste and Sewage Sludge by Two Phases Anaerobic Codigestion, (43), (pp. 379–384).
- Gruhn, M., Frigon, J., & Guiot, S. R. (2016). Bioresource Technology Acidogenic fermentation of *Scenedesmus* sp . -AMDD : Comparison of volatile fatty acids yields between mesophilic and thermophilic conditions. *Bioresource Technology*, (200), (pp. 624–630).
- Gujer, w. Zehnder, a. J. B. (1983). Conversion processes in anaerobic digestion. *Water Research*, (15), pp. (127–167).
- Guo, X. M., Trably, E., Latriille, E., Carrre, H., & Steyer, J. P. (2010). Hydrogen production from agricultural waste by dark fermentation: A review. *International Journal of Hydrogen Energy*, (19), (pp. 10660–10673).
- Gustavsson, J., & Cederberg, C. (2011). *Global food losses and food waste - Extent, causes and prevention. SAVE FOOD: An initiative on Food Loss and Waste Reduction.*
- Hallenbeck, P. C. (2001). Fundamentals of the fermentative production of hydrogen, (pp. 21–29).
- Hallenbeck, P. C. (2013). *Fundamentals of Biohydrogen. Biohydrogen* (1st ed., Vol.2). Copyright © 2013 Elsevier BV. All rights reserved.
- Han, S. (2004). Biohydrogen production by anaerobic fermentation of food waste. *International Journal of Hydrogen Energy*, (6), (pp. 569–577).
- Han, S. K., Kim, S. H., & Shin, H. S. (2005). UASB treatment of wastewater with VFA and alcohol generated during hydrogen fermentation of food waste. *Process Biochemistry*, (8), (pp. 2897–2905).
- Hao, X., Zhou, M., Yu, H., Shen, Q., & Lei, L. (2006). Effect of sodium ion concentration on hydrogen production from sucrose by anaerobic hydrogen-producing granular sludge. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, (4), (pp. 511–517).
- Hernández Castillo, A., & Moreno-Andrade, I. (2015). *Efecto de la Carga Orgánica sobre la producción biológica de hidrógeno apartir de residuos sólidos orgánicos en un reacor continuo.* Universidad Nacional Autónoma de México.

- Hill, J., Nelson, E., Tilman, D., Polasky, S., & Tiffany, D. (2006). Environmental, economic, and energetic costs and benefits of biodiesel and ethanol biofuels. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, (30), (pp. 11206–11210).
- Hussy, I., Hawkes, F. R., Dinsdale, R., & Hawkes, D. L. (2003). Continuous Fermentative Hydrogen Production from a Wheat Starch Co-Product by Mixed Microflora. *Biotechnology and Bioengineering*, (6), (pp. 619–626).
- Iacovidou, E., Ohandja, D., & Voulvoulis, N. (2012). Food waste co-digestion with sewage sludge e Realising its potential in the UK. *Journal of Environmental Management*, (112), (pp. 267–274).
- Jenicek, P., Bartacek, J., Kutil, J., Zabranska, J., & Dohanyos, M. (2012). Potentials and limits of anaerobic digestion of sewage sludge: Energy self-sufficient municipal wastewater treatment plant? *Water Science and Technology*, (6), (pp. 1277–1281).
- Jiménez, B. E. (2001). *La Contaminación Ambiental en México*. Editorial Limusa. Retrieved from <https://books.google.com/books?id=8MVxlyJGokIC&pgis=1>
- Jo, J. H., Jeon, C. O., Lee, D. S., & Park, J. M. (2007). Process stability and microbial community structure in anaerobic hydrogen-producing microflora from food waste containing kimchi. *Journal of Biotechnology*, (3), (pp. 300–308).
- Jung, K., Moon, C., Cho, S., Kim, S., Shin, H., & Kim, D. (2013). Bioresource Technology Conversion of organic solid waste to hydrogen and methane by two-stage fermentation system with reuse of methane fermenter effluent as diluting water in hydrogen fermentation. *Bioresource Technology*, (139), (pp. 120–127).
- Kawagoshi, Y., Hino, N., Fujimoto, A., Nakao, M., Fujita, Y., Sugimura, S., & Furukawa, K. (2005). Effect of inoculum conditioning on hydrogen fermentation and pH effect on bacterial community relevant to hydrogen production. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, (5), (pp. 524–530).
- Khanal Kumar, S., Wen-Hsing, C., Li, L., & Sung, S. (2004). Biological hydrogen production: effects of pH and intermediate products. *International Journal of Hydrogen Energy*, (29), (pp. 1123–1131).
- Kim, B. H., & Gadd, G. M. (2008). Bacterial Physiology and Metabolism. *The Quarterly Review of Biology*. Nueva York.
- Kim, D.-H., Kim, S.-H., Kim, H.-W., Kim, M.-S., & Shin, H.-S. (2011). Sewage sludge

- addition to food waste synergistically enhances hydrogen fermentation performance. *Bioresource Technology*, (18), (pp. 8501–8506).
- Kim, D. H., Han, S. K., Kim, S. H., & Shin, H. S. (2006). Effect of gas sparging on continuous fermentative hydrogen production. *International Journal of Hydrogen Energy*, (15), (pp. 2158–2169).
- Kim, S. (2004). Feasibility of biohydrogen production by anaerobic co-digestion of food waste and sewage sludge. *International Journal of Hydrogen Energy*, (15), (pp. 1607–1616).
- Kim, S. H., Han, S. K., & Shin, H. S. (2008). Optimization of continuous hydrogen fermentation of food waste as a function of solids retention time independent of hydraulic retention time. *Process Biochemistry*, (2), (pp. 213–218).
- Kim, S. H., & Shin, H. S. (2008). Effects of base-pretreatment on continuous enriched culture for hydrogen production from food waste. *International Journal of Hydrogen Energy*, (19), (pp. 5266–5274).
- Kraemer, J. T., & Bagley, D. M. (2007). Improving the yield from fermentative hydrogen production. *Biotechnology Letters*, (5), (pp. 685–695).
- Kvesitadze, G., Sadunishvili, T., Dudaui, T., Zakariashvili, N., Partskhaladze, G., Ugrekhelidze, V., Jobava, M. (2011). Two-stage anaerobic process for bio-hydrogen and bio-methane combined production from biodegradable solid wastes. *Energy*, (1), (94–102).
- Kyazze, G., Martinez-Perez, N., Dinsdale, R., Premier, G. C., Hawkes, F. R., Guwy, A. J., & Hawkes, D. L. (2006). Influence of substrate concentration on the stability and yield of continuous biohydrogen production. *Biotechnology and Bioengineering*, (5), (pp. 971–979).
- Lay, Jiunn-Jyi, Li Yu-You, N. T. (1998). Mathematical Model For Methane Production From Landfill Bioreactor By Jiunn-Jyi Lay/ Yu-You Li/ and Tatsuya Noike 3. *Environmental Engineering*, (1), (pp. 730–736) .
- Lay, J.-J., Li, Y.-Y., & Tatsuya, N. (1997). Influences of pH and moisture content on the methane production in high-solids sludge digestion. *Water Research*, (6), (pp. 1518–1524).
- Lee, D., Xu, K., Kobayashi, T., & Li, Y. (2014). ScienceDirect Effect of organic loading rate

- on continuous hydrogen production from food waste in submerged anaerobic membrane bioreactor. *International Journal of Hydrogen Energy*, (30), (pp. 16863–16871).
- Lee, H.-S., Salerno, M. B., & Rittmann, B. E. (2008). Thermodynamic Evaluation on H₂ Production in Glucose Fermentation. *Environ. Sci. Technol.*, (7), (pp. 2401–2407).
- Levin, D. B., Pitt, L., & Love, M. (2004). Biohydrogen production: Prospects and limitations to practical application. *International Journal of Hydrogen Energy*, (2), (pp. 173–185).
- Lin, C.-Y., & Chag, R.-C. (2004). Fermentative hydrogen production at ambient temperature. *International Journal of Hydrogen Energy*, (7), (pp. 715–720).
- Lin, C. Y., Chang, C. C., & Hung, C. H. (2008). Fermentative hydrogen production from starch using natural mixed cultures. *International Journal of Hydrogen Energy*, (10), (pp. 2445–2453).
- Lin, Y., Wu, S., & Wang, D. (2012). Hydrogen-methane production from pulp & paper sludge and food waste by mesophilic e thermophilic anaerobic co-digestion. *International Journal of Hydrogen Energy*, (35), (15055–15062).
- Liu, D., Liu, D., Zeng, R. J., & Ā, I. A. (2006). Hydrogen and methane production from household solid waste in the two-stage fermentation process, (40), (2230–2236).
- Liu, H., & Fang, H. H. . . (2003). Hydrogen production from wastewater by acidogenic granular sludge. *Water Science and Technology*, (1), (pp. 153–158).
- Liu, X., Li, R., Ji, M., & Han, L. (2013). Bioresource Technology Hydrogen and methane production by co-digestion of waste activated sludge and food waste in the two-stage fermentation process : Substrate conversion and energy yield. *Bioresource Technology*, (146), (pp. 317–323).
- Lo, Y. C., Su, Y. C., Chen, C. Y., Chen, W. M., Lee, K. S., & Chang, J. S. (2009). Biohydrogen production from cellulosic hydrolysate produced via temperature-shift-enhanced bacterial cellulose hydrolysis. *Bioresource Technology*, (23), (pp. 5802–5807).
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Lewis Farr, A., & Randall, R. J. (1951). Protein Measurement with Folin Phenol Reagent. *The Journal of Biological Chemistry*, (1), (pp. 265–275).
- Luo, X., Wang, J., Dooner, M., & Clarke, J. (2015). Overview of current development in electrical energy storage technologies and the application potential in power system

- operation. *Applied Energy*, (137), (pp. 511–536).
- Mariakakis, I., Bischoff, P., Krampe, J., Meyer, C., & Steinmetz, H. (2011). Effect of organic loading rate and solids retention time on microbial population during bio-hydrogen production by dark fermentation in large lab-scale. *International Journal of Hydrogen Energy*, (17), (pp.10690–10700).
- Martínez Arce, A., & Buitrón Méndez, G. (2013). *Optimización de la producción de metano a partir de la codigestión anaerobia de residuos sólidos*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Massanet-Nicolau, J., Dinsdale, R., Guwy, A., & Shipley, G. (2015). Utilising biohydrogen to increase methane production, energy yields and process efficiency via two stage anaerobic digestion of grass. *Bioresource Technology*, (189), (pp. 379–383).
- Mizuno, O., Dinsdale, R., Hawkes, F. R., Hawkes, D. L., & Noike, T. (2000). Enhancement of hydrogen production from glucose by nitrogen gas sparging. *Bioresource Technology*, (1), (pp. 59–65).
- Moreno-Andrade, I., & Buitrón, G. (2015). Evaluation of particle size and Initial concentration of total solids on Biohydrogen production from food waste. *Frenesius Enviromental Bulletin*, (7), (pp. 2289–2295).
- Moreno-Andrade, I., Carrillo-Reyes, J., Santiago, S. G., & Bujanos-Adame, M. C. (2015). Biohydrogen from food waste in a discontinuous process: Effect of HRT and microbial community analysis. *International Journal of Hydrogen Energy*, (48), (pp. 17246–17252).
- Moreno-Andrade, I., Moreno, G., Kumar, G., & Buitrón, G. (2015). Biohydrogen production from industrial wastewaters. *Water Science & Technology*, (1), (pp.105)
- Motte, J.-C., Trably, E., Escudíé, R., Hamelin, J., Steyer, J.-P., Bernet, N., ... Dumas, C. (2013). Total solids content: a key parameter of metabolic pathways in dry anaerobic digestion. *Biotechnology for Biofuels*, (1), (pp. 164).
- Nathao, C., Sirisukpoka, U., & Pisutpaisal, N. (2013). Production of hydrogen and methane by one and two stage fermentation of food waste. *International Journal of Hydrogen Energy*, (35), (15764–15769).
- Nghiem, L. D., Koch, K., Bolzonella, D., & Drewes, J. E. (2017). Full scale co-digestion of wastewater sludge and food waste: Bottlenecks and possibilities. *Renewable and*

- Sustainable Energy Reviews*, (72), (pp. 354–362).
- Oh, S. E., Zuo, Y., Zhang, H., Gultinan, M. J., Logan, B. E., & Regan, J. M. (2009). Hydrogen production by *Clostridium acetobutylicum* ATCC 824 and megaplasmid-deficient mutant M5 evaluated using a large headspace volume technique. *International Journal of Hydrogen Energy*, (23), (pp. 9347–9353).
- Pabón Pereira, C. P., Slingerland, M., Van Lier, J. B., & Rudyrabbinge. (2013). 7 – Anaerobic digestion as a key technology for biomass valorization: contribution to the energy balance of biofuel chains. *The Biogas Handbook*, (pp. 166–188).
- Pham, T. P. T., Kaushik, R., Parshetti, G. K., Mahmood, R., & Balasubramanian, R. (2015). Food waste-to-energy conversion technologies: Current status and future directions. *Waste Management*, (1), (pp. 399–408).
- Piemonte, V., Di Paola, L., Chakraborty, S., & Basile, A. (2014). Sequencing batch reactors (SBRs) for BioH₂ production: Reactor operation criteria. *International Journal of Hydrogen Energy*, (10), (pp. 4863–4869).
- Ramos, C., Buitrón, G., Moreno-Andrade, I., & Chamy, R. (2012). Effect of the initial total solids concentration and initial pH on the bio-hydrogen production from cafeteria food waste. *International Journal of Hydrogen Energy*, (18), (pp. 13288–13295).
- Ren, N., Wang, B., & Huang, J. C. (1997). Ethanol-type fermentation from carbohydrate in high rate acidogenic reactor. *Biotechnology and Bioengineering*, (5), (pp. 428–433).
- Reungsang, A., Sittijunda, S., & Sreela-or, C. (2016). Methane production from acidic effluent discharged after the hydrogen fermentation of sugarcane juice using batch fermentation and UASB reactor. *Renewable Energy*, (86), (1224–1231).
- Schlegel, H. G. (1997). *Microbiología General*. Barcelona.
- SEMARNAT. (2012). *Informe de la situación del medio ambiente en México*. Retrieved from http://apps1.semarnat.gob.mx/dgeia/informe_12/07_residuos/cap7_2.html
- SEMARNAT-INE. (2006). *Diagnóstico básico para la gestión integral de residuos*. Retrieved from <http://www.semarnat.gob.mx/informacionambiental/singir/Documents/DiagnosticoBasico2006.pdf>
- Siddiqui, Z., Horan, N. J., & Salter, M. (2011). Energy optimisation from co-digested waste using a two-phase process to generate hydrogen and methane. *International Journal of*

- Hydrogen Energy*, (8), (pp. 4792–4799).
- Sivagurunathan, P., Kumar, G., Bakonyi, P., Kim, S. H., Kobayashi, T., Xu, K. Q., Blafi-Bak, K. (2016). A critical review on issues and overcoming strategies for the enhancement of dark fermentative hydrogen production in continuous systems. *International Journal of Hydrogen Energy*, (6), (pp. 3820–3836).
- Steele, M. T. (2003). *Anaerobic sequencing batch reactor treatment of low swine manure and codigestion of energy dense by-products*. Kansas State University.
- Stroot, P. G., McMahon, K. D., Mackie, R. I., & Raskin, L. (2001). Anaerobic codigestion of municipal solid waste and biosolids under various mixing conditions in digester performance, (7), (pp. 1804–1816).
- Tang, J., Yuan, Y., Guo, W. Q., & Ren, N. Q. (2012). Inhibitory effects of acetate and ethanol on biohydrogen production of *Ethanoligenens harbinense* B49. *International Journal of Hydrogen Energy*, (1), (pp. 741–747).
- Tchobanoglous, G., Burton, F. L., & Stensel, H. D. (1991). *Wastewater Engineering - Treatment and Reuse /Metcalf & Eddy Inc.* (Cuarta). New York: Mc Graw Hill.
- Tenca, A., Schievano, A., Lonati, S., Malagutti, L., Oberti, R., & Adani, F. (2011). Looking for practical tools to achieve next-future applicability of dark fermentation to produce bio-hydrogen from organic materials in Continuously Stirred Tank Reactors. *Bioresource Technology*, (17), (pp. 7910–7916).
- Tezel, U., Tandukar, M., & Pavlostathis, S. G. (2011). 6.35 - *Anaerobic Biotreatment of Municipal Sewage Sludge. Comprehensive Biotechnology (Second Edition)* (Second Edi, Vol. 1). Elsevier B.V.
- Thauer, R. K., Jungermann, K., & Decker, K. (1977). Energy conservation in chemotrophic anaerobic bacteria. *Bacteriological Reviews*, (1), (pp. 100–180).
- Uçkun Kiran, E., Stamatelatos, K., Antonopoulou, G., & Lyberatos, G. (2016). 10 – *Production of biogas via anaerobic digestion. Handbook of Biofuels Production*. Elsevier Ltd.
- Ueno, Y., Goto, M., & Sode, K. (2007). Production of hydrogen and methane from organic solid wastes by phase-separation of anaerobic process, (98), (pp. 1861–1865).
- Valdez-Vazquez, I., & Poggi-Varaldo, H. M. (2009). Hydrogen production by fermentative consortia. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, (5), (pp. 1000–1013).

- Van Niel, E. W. J., Claassen, P. A. M., & Stams, A. J. M. (2003). Substrate and product inhibition of hydrogen production by the extreme thermophile, *Caldicellulosiruptor saccharolyticus*. *Biotechnology and Bioengineering*, (3), (pp. 255–262).
- Veziroglu, T., & Barbir, F., (1992). Hydrogen: the wonder fuel. *International Journal of Hydrogen Energy*, (6), (pp. 391–404).
- Wang, B., Wan, W., & Wang, J. (2008). Inhibitory effect of ethanol, acetic acid, propionic acid and butyric acid on fermentative hydrogen production. *International Journal of Hydrogen Energy*, (23), (pp. 7013–7019).
- Weiland, P. (2010). Biogas production: Current state and perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*, (4), (pp. 849–860).
- Xu, S., Luo, L., Selvam, A., & Wong, J. W. C. (2017). 6 – Strategies to Increase Energy Recovery From Phase-Separated Anaerobic Digestion of Organic Solid Waste. *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering*, (pp. 113–134).
- Yang, H., & Shen, J. (2006). Effect of ferrous iron concentration on anaerobic bio-hydrogen production from soluble starch, (31), (pp. 2137–2146).
- Ye, R., Jin, Q., Bohannon, B., Keller, J. K., & Bridgman, S. D. (2014). Homoacetogenesis: A potentially underappreciated carbon pathway in peatlands. *Soil Biology and Biochemistry*, (68), (pp. 385–391).
- Yokoi, H., Saitsu, A., Uchida, H., Hirose, J., Hayashi, S., & Takasaki, Y. (2001). Microbial hydrogen production from sweet potato starch residue. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, (1), (pp. 58–63).
- Yuan, Z., Yang, H., Zhi, X., & Shen, J. (2010). Increased performance of continuous stirred tank reactor with calcium supplementation. *International Journal of Hydrogen Energy*, (7), (pp. 2622–2626).
- Zeikus, J. G. (1977). The biology of methanogenic bacteria. *Bacteriological Reviews*, 41(2), 514–541. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC414011/>
- Zhong, J., Stevens, D. K., & Hansen, C. L. (2015). Optimization of anaerobic hydrogen and methane production from dairy processing waste using a two-stage digestion in induced bed reactors (IBR). *International Journal of Hydrogen Energy*, (45), (pp. 15470–15476).
- Zhu, H., Parker, W., Basnar, R., Proracki, A., Falletta, P., Béland, M., & Seto, P. (2008).

Biohydrogen production by anaerobic co-digestion of municipal food waste and sewage sludges. *International Journal of Hydrogen Energy*, (14), (3651–3659).