



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO
INSTITUTO INTERAMERICANO DE TECNOLOGÍA Y
CIENCIAS DEL AGUA



Influencia del tiempo de retención hidráulico sobre la codigestión anaerobia psicrófila de lodo biológico

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS DEL AGUA

PRESENTA

M.C.A. SERGIO ALCARAZ IBARRA

TUTOR ACADÉMICO

DR. MARIO ESPARZA SOTO

TUTORAS ADJUNTAS

DRA. MARÍA DEL CARMEN JIMÉNEZ MOLEÓN

DRA. MERCEDES LUCERO CHÁVEZ

TOLUCA, MÉXICO. NOVIEMBRE DE 2019

DEDICATORIA

A mi abuelita, ejemplo de fortaleza y perseverancia, gracias por tu apoyo incondicional y por tus oraciones.

A mi madre, gracias por darme la vida y por tu apoyo.

A mis hermanos (Marco Antonio y Emmanuel), por darme la dicha de ser su hermano y compartir pláticas y momentos inolvidables.

A mis tíos (Alfonso y Rosalva) y a mis primos (Alfonso, Alondra y Anita) por darme la oportunidad de volverme uno más de su familia.

A mis tíos (Sergio y Sofía) por sus palabras de aliento y su apoyo incondicional para lograr esta meta.

*¿Dónde yace nuestro porvenir, nuestro futuro, nuestro destino?
Infinitas son las posibilidades, amplias son las opciones, inmenso es el Universo
Estamos juntos en este viaje, el destino es lo de menos
Gocemos del trayecto mientras vivimos el presente con plenitud
Oremos porque nunca perdamos de vista los objetivos: la prosperidad y la felicidad*

- A N O N I M O -

AGRADECIMIENTOS

Al comité de tutores, particularmente al Dr. Mario Esparza Soto, por su apoyo, su guía y sus enseñanzas a lo largo de estos 7 años.

A mis compañeros y amigos del equipo de trabajo: Adris, Miros, Paco, Hanz, Junior, Yampier y Richard, el “Team Esparza”, por el apoyo, el compañerismo, la amistad y las ocurrencias de cada uno.

A mis entrañables compañeras y amigas del IITCA: Heryka, Lilia y Karen... Siete años compartiendo la escuela, la vida, la dicha de coincidir en el mismo tiempo y el mismo lugar.

Al personal de los laboratorios de calidad del Agua (maestra Ana Elisa, Elizabeth y Oscar) y del laboratorio de Modelos Hidráulicos del IITCA, por el apoyo otorgado para la realización de este trabajo de investigación.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada para la realización de los estudios de doctorado.

Al Consejo Mexiquense de Ciencia y Tecnología (COMECYT) por los apoyos brindados para la participación en eventos nacionales e internacionales.

A todos los miembros del sínodo, por su orientación y consejos.

ACRÓNIMOS

°C	Grado Celsius
MEE-3D	Matriz de Exitación – Emisión en 3D
AGV	Ácidos grasos volátiles
atm	Atmósferas
C/N	Relación carbono / nitrógeno
CH₄	Metano
CoD	Codigestión
CO₂	Dióxido de carbono
COV_{apl}	Carga orgánica volumétrica aplicada
COV_{rem}	Carga orgánica volumétrica removida
DA	Digestión anaerobia
DQO	Demanda química de oxígeno
DQO_T	Demanda química de oxígeno total
DQO_s	Demanda química de oxígeno soluble
DQO_p	Demanda química de oxígeno particulada
ECM	Error cuadrático medio (indicador estadístico)
EF	Espectrometría de fluorescencia
ER_{DQOs}	Eficiencia de remoción de la demanda química de oxígeno soluble
ER_{ST}	Eficiencia de remoción de sólidos totales
ER_{SV}	Eficiencia de remoción de sólidos volátiles
g	Gramo
H₂	Hidrógeno (forma gaseosa)
kg	Kilogramo
kJ	Kilojoule
L	Litro
LBP	Lodo biológico de purga
L_{BG}	Litros de biogás
m	Metro (longitud)
m³	Metro cúbico (volumen)

mg	Miligramo
MH	Masa húmeda (de sustrato)
mL	Mililitro
MMG	Modelo modificado de Gompertz (modelo cinético)
MOD	Materia orgánica disuelta
MPO	Modelo de primer orden (modelo cinético)
NH₃	Amoníaco
NH₄⁺	Ion amonio
NaHCO₃	Bicarbonato de sodio
pH	Potencial de hidrógeno
PBM	Potencial bioquímico de metano
PMS	Productos microbianos solubles
P_{BG}	Producción de biogás
P_{CH4}	Producción de metano
PTAR	Planta de tratamiento de aguas residuales
Q	Gasto, flujo o caudal
R²	Coefficiente de regresión lineal (indicador estadístico)
RAAS	Reactor anaerobio de alimentación semicontinua
R_{BG}	Rendimiento de biogás
R_{CH4}	Rendimiento de metano
ROC	Residuos orgánicos de cocina
SF	Sólidos fijos
ST	Sólidos totales
SV	Sólidos volátiles
t/a	Toneladas anuales
TRH	Tiempo de retención hidráulico
TRS	Tiempo de retención de sólidos
UASB	Upflow anaerobic sludge blanket (reactor RAFA)

RESUMEN

La digestión anaerobia (DA) se ha consolidado como una tecnología eficiente, sustentable y con valor agregado para el tratamiento de distintos tipos de residuos, entre los que se encuentran las aguas residuales, la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos, los residuos agroindustriales, etc. El valor agregado de la DA yace en la producción de un biocombustible: el biogás.

El biogás, formado principalmente por metano y dióxido de carbono, representa una fuente de energía alterna a los combustibles fósiles. Países desarrollados en Europa y algunos países en América han apostado por esta fuente de energía, cuyo impacto ambiental es menor en comparación con los combustibles derivados del petróleo. Para países en vías de desarrollo como México, donde los costos de producción de energía eléctrica son considerablemente elevados, la producción de energía a partir de la degradación biológica de distintos residuos representa un área de oportunidad bastante atractiva.

Algunas de las limitaciones que representa la DA para el tratamiento de distintos residuos orgánicos es la temperatura de operación de los reactores y el balance de materia orgánica y nutrientes requerido para el correcto funcionamiento del proceso biológico de degradación. La DA es llevada a cabo por medio de consorcios microbianos de bacterias y arqueas metanogénicas, cuyo metabolismo se ve mejorado con el incremento en la temperatura de operación, principalmente en rangos de temperatura mesofílica (35 °C) y termofílica (55 °C). Por otro lado, el contenido de materia orgánica y nutrientes de cada tipo de residuo que se somete a un proceso de DA, es decisivo para mantener un correcto funcionamiento de los reactores anaerobios.

La DA representa un gran reto cuando se trata de operar reactores a condiciones de baja temperatura (temperatura psicofílica). Este es el caso particular del Valle de Toluca, donde por situación geográfica de elevada altitud (2,700 msnm), la temperatura anual promedio no sobrepasa los 21 °C.

Por lo anterior, durante esta investigación se diseñaron y operaron cinco reactores anaerobios de alimentación semicontinua (RAAS). Los RAAS fueron construidos con materiales económicos y accesibles, con la finalidad de que en el futuro esta tecnología de bajo costo pueda ser implementada en los hogares del valle de Toluca. En los RAAS se llevó a cabo la DA de una mezcla de residuos orgánicos (producidos típicamente en las cocinas de los hogares) y lodo biológico de purga proveniente de un sistema de tratamiento

de agua residual (por lodos activados) a escala piloto. La proporción de mezcla adecuada (codigestión) de ambos residuos fue determinada por medio de pruebas del potencial bioquímico de metano.

Los RAAS fueron evaluados en términos del efecto del tiempo de retención hidráulico (TRH) sobre los parámetros de eficiencia de remoción de sólidos totales y volátiles, producción y rendimientos específicos de biogás y metano. De manera adicional, se realizó la evaluación del influente y efluente de cada RAAS por técnicas de espectrofotometría de fluorescencia, con la finalidad de evaluar los cambios en la materia orgánica disuelta de los RAAS en función del TRH.

Los resultados aquí mostrados indican que el TRH en el rango evaluado (40 a 120 días) no tuvo mayor impacto sobre las variables de respuesta evaluadas en cada RAAS. Sin embargo, se pudo observar que, bajo las condiciones de baja temperatura, un TRH de 40 días puede ser insuficiente para llevar a cabo un proceso de DA eficiente. De igual manera, se pudo determinar que los resultados mostrados por los RAAS son comparables con DA en rango de temperatura mesofílica e incluso termofílica. Esto resulta relevante pues se estaría obteniendo una ganancia de energía neta mayor en el caso de la DA a baja temperatura, al no requerir de energía externa adicional para calentamiento de los reactores.

ABSTRACT

The anaerobic digestion (AD) has been consolidated as an efficient, sustainable and added value technology for the treatment of a wide variety of organic wastes, such as wastewaters, the organic fraction of solid municipal waste, agroindustry wastes, etc. The added value relies on the production of biogas.

The biogas, mainly composed by methane and carbon dioxide, represents an alternate energy source different from fossil fuels. Developed countries such as those in Europe and others in America, have been focusing their efforts on this source of energy, whose environmental impact is minor compared to the use of oil fuels. For developing countries such as Mexico, in which the electrical energy production costs are high, the production of bioenergy via the biodegradation of wastes, represents a feasible area of opportunity.

Some of the main limitations of the AD for the treatment of different organic wastes are the operating temperature of the reactors and a proper organic matter and nutrients balance, which is required for the correct functioning of the biological degradation through AD. AD is conducted through a microbial community of bacteria and methanogenic archaea, whose metabolism gets improved with the operating temperature, mainly in the mesophilic (35 °C) and thermophilic (55 °C) ranges. Furthermore, the organic matter content and proper nutrients balance is vital for the correct operation of anaerobic digesters.

AD conducted at low temperature presents a big challenge. This is the case of Toluca Valley, where its geographical location of high altitude (2,700 meters above sea level) leads to a low annual average temperature, below 21 °C.

For this research, five anaerobic semi continuous feeding reactors (ASFR) were designed, built and operated. The ASFR were built out of commercial low-cost materials, so that in the future this low-cost technology may be implemented in the homes of the Toluca Valley. The AD of a mixture of typical organic kitchen waste and waste activated sludge from a pilot-scale activated sludge system for wastewater treatment, was carried out in the ASFR. The codigestion of both wastes was evaluated through biomethane potential tests.

The ASFR were evaluated in terms of the effect of hydraulic retention time (HRT) on the total and volatile solids removal efficiency, as well as the biogas and methane production and the specific biogas and methane yields. Additionally, the evaluation of the influent and effluent of each ASFR was performed through fluorescence spectroscopy, in order to evaluate the main changes in the dissolved organic matter.

The results shown in this research indicate that HRT in the evaluated range (40 to 120 days) had no significant impact in the evaluated response parameters for each ASFR. However, it was observed that, under these low temperature conditions, a HRT of 40 days was not enough to ensure a proper functioning and stability of the AD process. Furthermore, it was possible to determine that the results of the ASFR performance are similar to those reported in literature at a higher operation temperature, such as mesophilic and thermophilic temperatures. This is relevant because a higher net energy yield would be obtained in low temperature AD, since no external energy for heating the reactors would be required.

ÍNDICE GENERAL

INTRODUCCIÓN	1
ANTECEDENTES	3
Principios y parámetros de la DA	3
Conceptos y principios básicos	3
Parámetros que controlan y afectan la DA	4
El efecto del pH y los AGV en la DA	5
El efecto de la temperatura en la DA	6
El TRH, la COV_{apl} y su efecto en la DA	7
Modos de operación de digestores anaerobios: batch, continuo y semicontinuo ...	12
El potencial bioquímico de metano (PBM)	14
Efecto de la CoD de LBP y otros residuos orgánicos en la relación C/N en pruebas de PBM	16
Modelos matemáticos para la predicción del PBM	17
Caracterización de la materia orgánica disuelta (MOD) por espectrometría de fluorescencia (EF)	18
Aplicaciones de la EF	19
JUSTIFICACIÓN CONTEXTUAL Y CIENTÍFICA	21
HIPÓTESIS	23
OBJETIVOS GENERALES Y ESPECÍFICOS	23
Objetivo General	23
Objetivos específicos	23
METODOLOGÍA	24
Sustratos	24
Lodo biológico de purga (LBP)	24
Residuos orgánicos de cocina (ROC)	25
Caracterización de sustratos y factor de conversión $DQO_T - SV$	26
Propuestas de CoD	26
Pruebas del potencial bioquímico de metano (PBM)	27
Modelación matemática del PBM	28
Reactores anaerobios de alimentación semicontinua (RAAS)	29
Diseño y construcción de los RAAS	29
Cuantificación del biogás y unidad de control de temperatura	29

Inoculación de los RAAS	31
Operación y monitoreo de los RAAS	31
Determinación del tiempo de retención de sólidos (TRS).....	32
Balance de sólidos (SV y SF) y producción de metano (P_{CH_4}) teórica.....	33
Rendimiento bacteriano observado (Y_{obs})	35
Caracterización por espectrometría de fluorescencia	35
Métodos analíticos.....	36
RESULTADOS	37
Caracterización de sustratos.....	37
Pruebas del PBM.....	41
Modelación matemática del PBM.....	43
Desempeño de los RAAS	53
Temperatura ambiente y de los RAAS.....	53
Primera etapa experimental (estado estacionario)	55
pH de los RAAS.....	55
Eficiencia de remoción de sólidos totales (ER_{ST}) y volátiles (ER_{SV}).....	57
Producción de biogás (P_{BG}) y de metano (P_{CH_4}), rendimiento de biogás (R_{GB}) y de metano (R_{CH_4})	62
Segunda etapa experimental (cambio de sustrato y acidificación)	74
pH de los RAAS.....	74
ER_{ST} y ER_{SV}	76
Parámetros de control: P_{BG} , R_{GB} y R_{CH_4}	78
Tercera etapa experimental (reinicio).....	83
pH de los RAAS.....	83
Parámetros de control: ER_{ST} , ER_{SV} , P_{BG} , R_{GB} y R_{CH_4}	84
Análisis de la P_{BG} acumulada y la P_{BG} horaria.....	86
Sólidos de la cama de lodos y TRS	92
Balance de sólidos y P_{CH_4} teórica	99
Rendimiento bacteriano observado (Y_{obs})	103
Caracterización por espectrometría de fluorescencia	106
CONCLUSIONES	116
RECOMENDACIONES	118
REFERENCIAS	119

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Cuatro etapas de la DA de compuestos orgánicos, tomado de Appels et al. (2008)	3
Figura 2. Correlación lineal entre el TRH y el R_{CH_4} de 14 trabajos reportados en rango de temperatura mesofílica	8
Figura 3. Esquema de reactor a escala piloto de lodos activados para obtención del LBP. El reactor funcionó de manera continua por medio de una bomba peristáltica. $Q = 340$ L/d; TRH = 16 h (0.67 d); TRS = 10 d; $Q_w = 22.6$ L/d (desde el licor mixto)	24
Figura 4. Diagrama del reactor para la prueba del PBM	27
Figura 5. Ensamble de los RAAS. La unidad de control monitoreó las temperaturas del reactor y la del ambiente, las cuales presentaron diferencias mínimas (<1 °C) entre sí. ...	29
Figura 6. Medidor de biogás Ritter MGC-1 (tomado del manual de operación del equipo 05.14 / V 3.4 / Rev. 07-2016), donde: 1. Unidad de conteo; 2. Socket de señal de salida; 3. Boquilla de entrada de biogás; 4. Boquilla de salida de biogás; 9. Tubo microcapilar; 10. Sensores magnéticos (contactos reed); 11. Magneto permanente; 12. Caja del líquido de empaque; 13. Celda de medición	30
Figura 7. Correlaciones de SV y DQO_T para: a) concentración de SV en función de la MH; y b) concentración de SV en función del volumen (L)	38
Figura 8. PBM_{exp} para los cuatro diferentes sustratos y blanco experimental	42
Figura 9. PBM_{exp} y modelado (izquierda) para: a) LBP- PBM y MMG; b) LBP- PBM y MPO; c) ROC- PBM y MMG; y d) ROC- PBM y MPO. Las figuras de la derecha muestran las correlaciones entre el PBM_{exp} y el PBM predicho por cada modelo.	44
Figura 10. PBM_{exp} y modelado (izquierda) de la CoD1 para: a) día 0 – 16 con MMG; b) día 0 – 16 con MPO; c) día 17 – 131 con MMG; y d) día 17 – 131 con MPO. Las figuras de la derecha muestran las correlaciones entre el PBM_{exp} y el PBM predicho por cada modelo.	46
Figura 11. PBM_{exp} y modelado (izquierda) de la CoD2 para: a) día 0 – 16 con MMG; b) día 0 – 16 con MPO; c) día 17 – 131 con MMG; y d) día 17 – 131 con MPO. Las figuras de la derecha muestran las correlaciones entre el PBM_{exp} y el PBM predicho por cada modelo.	48
Figura 12. Correlación entre el % ROC en cada sustrato y las constantes cinéticas de: a) R_{max} (MMG) y b) K (MPO). No se incluyen las constantes cinéticas del BCO- PBM ni las de las CoD's de la segunda sección del PBM_{exp} (día 17 – 131), dado que se trata de secciones con comportamientos independientes. El valor de la constante encerrada en un recuadro no se incluyó en la regresión.	52
Figura 13. Temperatura de los RAAS del día 0 (febrero 19, 2018) al 435 (abril 30, 2019). Los puntos de cada serie de datos muestran los valores de temperatura promedio para cada día. De manera general, la temperatura de los RAAS fue superior a la del ambiente en la mayor parte del tiempo. La temperatura promedio de los RAAS de toda la corrida	

experimental (20.24 °C) se indica con la línea de puntos horizontal, mientras que la del ambiente (19.04 °C) se indica con la línea horizontal discontinua. 54

Figura 14. Comportamiento del pH del influente y efluentes de los cinco RAAS durante la primera etapa experimental. El pH no se determinó en los primeros 19 días de operación. Las líneas discontinuas horizontales indican los valores promedio de pH del influente (5.61) y global de los cinco efluentes (8.51). Las líneas punteadas verticales indican los días en los que se cambió la dosis de NaHCO_3 en el sustrato, de 6.67 g/L (día 0) a 3.33 g/L (día 51) y a 0 g/L (día 118). 56

Figura 15. Comportamiento de la ER_{ST} y ER_{SV} , durante la primera etapa experimental (estado estacionario) para: a) RAAS₄₀; b) RAAS₆₀; c) RAAS₈₀; d) RAAS₁₀₀ y e) RAAS₁₂₀. Las líneas punteadas verticales indican los días en los que se analizó la cama de lodos de los RAAS. 58

Figura 16. Promedio de la ER_{ST} , ER_{SV} y desviaciones estándar para cada uno de los cinco RAAS durante la primera etapa experimental. 60

Figura 17. P_{BG} diaria (L_{BG}/d) durante la primera etapa experimental (estado estacionario) para: a) RAAS₄₀; b) RAAS₆₀; c) RAAS₈₀; d) RAAS₁₀₀ y e) RAAS₁₂₀. Los valores están reportados a condiciones estándar de temperatura (0 °C) y presión (1 atm). Las líneas punteadas verticales indican los días donde se hizo la apertura de los RAAS para el análisis de la cama de lodos. 64

Figura 18. P_{BG} promedio y desviación estándar para cada uno de los cinco RAAS durante la primera etapa experimental. Los valores están reportados a condiciones estándar de temperatura (0 °C) y presión (1 atm). 66

Figura 19. Valores promedio y desviaciones estándar del R_{BG} para los cinco RAAS durante la primera etapa experimental. Los valores están reportados a las condiciones estándar de temperatura (0 °C) y presión (1 atm). 67

Figura 20. Valores promedio y desviaciones estándar del R_{CH_4} durante la primera etapa experimental para los cinco RAAS. Los valores están reportados a condiciones estándar de temperatura (0 °C) y presión (1 atm). 70

Figura 21. R_{CH_4} ($L_{CH_4}/g-SV_{agr}$) durante la primera etapa experimental (día 0 – 275) para: a) RAAS₄₀; b) RAAS₆₀; c) RAAS₈₀; d) RAAS₁₀₀ y e) RAAS₁₂₀. Los valores están reportados a condiciones estándar de temperatura (0 °C) y presión (1 atm). Las líneas punteadas verticales indican los días donde se abrieron los RAAS para el análisis de la cama de lodos. 72

Figura 22. Valores promedio y desviaciones estándar del R_{CH_4} en función de los SV removidos para los cinco RAAS durante la primera etapa experimental. Los valores están reportados a condiciones estándar de temperatura (0 °C) y presión (1 atm). 73

Figura 23. Comportamiento del pH del influente y efluentes de los cinco RAAS durante la segunda etapa experimental (día 275 – 380). Las líneas discontinuas horizontales indican los valores promedio de pH del influente (5.39) y global de los cinco efluentes (7.79). 74

Figura 24. Evolución de la ER_{ST} y ER_{SV} en el tiempo durante la segunda etapa experimental (cambio de sustrato y acidificación) para: a) RAAS ₄₀ ; b) RAAS ₆₀ ; c) RAAS ₈₀ ; d) RAAS ₁₀₀ y e) RAAS ₁₂₀ . Las líneas punteadas verticales indican los días en los que se analizó la cama de lodos de los RAAS.	76
Figura 25. Promedio de la ER_{ST} , ER_{SV} y desviaciones estándar para cada uno de los cinco RAAS durante la segunda etapa experimental.	77
Figura 26. P_{BG} promedio y desviación estándar para cada uno de los cinco RAAS durante la segunda etapa experimental. Los valores están reportados a condiciones estándar de temperatura (0 °C) y presión (1 atm).	79
Figura 27. P_{BG} diaria (L_{BG}/d) durante la primera segunda experimental (cambio de sustrato y acidificación) para: a) RAAS ₄₀ ; b) RAAS ₆₀ ; c) RAAS ₈₀ ; d) RAAS ₁₀₀ y e) RAAS ₁₂₀ . Los valores están reportados a condiciones estándar de temperatura (0 °C) y presión (1 atm). La línea punteada vertical indica el día donde se hizo la apertura de los RAAS para el análisis de la cama de lodos.	80
Figura 28. Valores promedio y desviaciones estándar del R_{BG} para los cinco RAAS durante la segunda etapa experimental. Los valores están reportados a las condiciones estándar de temperatura (0 °C) y presión (1 atm).	81
Figura 29. Valores promedio y desviación estándar durante la segunda etapa experimental para: a) R_{CH_4} por SV_{agr} y b) R_{CH_4} por SV_{rem} . Los valores están reportados a condiciones estándar de temperatura (0 °C) y presión (1 atm)	82
Figura 30. Comportamiento del pH del influente y efluentes de los cinco RAAS durante la tercera etapa experimental (día 381 - 435). Las líneas punteadas horizontales indican los valores promedio de pH del influente (4.59) y global de los cinco efluentes (7.63).	83
Figura 31. P_{BG} diaria y volumen de biogás acumulado a lo largo de 270 días de operación.	86
Figura 32. P_{BG} diaria y volumen de biogás acumulado para un periodo de dos semanas (día 30 al 44) en el RAAS ₄₀	87
Figura 33. P_{BG} diaria y volumen de biogás acumulado para un periodo de dos días (día 35 al 37) en el RAAS ₄₀	88
Figura 34. P_{BG} diaria y volumen de biogás acumulado para: a) 270 días de operación; b) periodo de dos semanas (día 110 al 124); y c) periodo de 72 horas (día 117 al 120), en el RAAS ₁₀₀	90
Figura 35. P_{BG} diaria y volumen de biogás acumulado para: a) RAAS ₆₀ ; b) RAAS ₈₀ y c) RAAS ₁₂₀	92
Figura 36. Evolución en el tiempo de ST , SV , SF y SV/ST para: a) RAAS ₄₀ ; b) RAAS ₆₀ ; c) RAAS ₈₀ ; d) RAAS ₁₀₀ y e) RAAS ₁₂₀ . Las líneas punteadas verticales indican las tres etapas experimentales. La ecuación mostrada en cada gráfico pertenece a la línea de tendencia de los SV en cada RAAS para la primera etapa experimental, antes del cambio de sustrato.	

Las concentraciones de ST, SV y SF se muestran en el eje vertical primario. La relación SV/ST se muestra en el eje vertical secundario.	94
Figura 37. Evolución del TRS en el tiempo de operación	97
Figura 38. Correlación entre el TRH y el TRS de los RAAS con regresión: a) lineal y b) exponencial.....	98
Figura 39. Correlación del TRH con las pendientes de las regresiones de la evolución a través del tiempo de los ST, SV y SF dentro de la cama de lodos de los RAAS.....	100
Figura 40. Correlación lineal entre: a) P_{CH_4} medida y P_{CH_4} por balance de SV; y b) P_{CH_4} medida y P_{CH_4} por ecuación de CH_4 teórico.....	103
Figura 41. Correlación lineal entre el Y_{obs} y el TRH de cada RAAS.	104
Figura 42. Evolución de la DQO_s en el periodo de operación de los RAAS.....	107
Figura 43. Correlación entre el TRH y la ER_{DQOS} . El valor de la ER_{DQOS} del RAAS ₆₀ (encerrado en un recuadro) no se incluyó en la regresión.....	108
Figura 44. MEE-3D de: a) influente de los RAAS; y b) efluente del RAAS ₄₀	109

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Valores de TRH empleados por diferentes autores y R_{CH_4} obtenido en rango de temperatura mesofílico.....	7
Tabla 2. Comparación del desempeño de digestores anaerobios durante la DA de sustratos simples o CoD.....	10
Tabla 3. Comparación del PBM a partir de la DA de diferentes sustratos	15
Tabla 4. Longitudes de onda de excitación y emisión para la identificación espacial de algunos fluoróforos.....	20
Tabla 5. Composición del sustrato sintético ROC para esta investigación	25
Tabla 6. Sustratos y mezclas de CoD's propuestas para las pruebas de PBM. Las fracciones de cada sustrato en las CoD's están basadas en el peso húmedo de cada componente .	26
Tabla 7. Caracterización fisicoquímica del inóculo (lodo anaerobio) para los cinco RAAS	31
Tabla 8. COV_{apl} para cada uno de los cinco RAAS durante las tres etapas experimentales	32
Tabla 9. Valores de SV y DQO_T para la caracterización de los sustratos, CoDs e inóculo	37
Tabla 10. Resultados de la caracterización fisicoquímica de los diferentes sustratos para la prueba del PBM	39
Tabla 11. Condiciones del experimento para la prueba de PBM.....	41
Tabla 12. Constantes cinéticas obtenidas del MMG y predicción del PBM. Se muestra el ECM y el coeficiente de correlación R^2	49

Tabla 13. Constantes cinéticas obtenidas del MPO y predicción del PBM . Se muestra el ECM y el coeficiente de correlación R^2	49
Tabla 14. Porcentaje de ROC en cada sustrato y su relación con las constantes cinéticas	52
Tabla 15. Valores promedio de la ER_{ST} , ER_{SV} y desviaciones estándar para cada uno de los cinco RAAS , durante la primera etapa experimental.....	60
Tabla 16. Valores promedio y desviaciones estándar de los parámetros de control para los cinco RAAS durante la primera etapa experimental	62
Tabla 17. Valores del desempeño de digestores anaerobios operados bajo condiciones de temperatura psicrófila en América Latina (Adaptado de Garfí et al., 2016).	68
Tabla 18. Valores promedio de la ER_{ST} , ER_{SV} y desviaciones estándar para cada uno de los cinco RAAS durante la segunda etapa experimental.	77
Tabla 19. Valores promedio y desviaciones estándar de los parámetros de control para los cinco RAAS durante la segunda etapa experimental.....	78
Tabla 20. Valores promedio y desviaciones estándar de los parámetros de control para los cinco RAAS durante la tercera etapa experimental (reinicio de los RAAS).....	84
Tabla 21. Valores de ST , SV , SF y SV/ST en la cama de lodos de los cinco RAAS para la determinación del TRS	93
Tabla 22. Valores de TRS obtenidos en cada periodo de tiempo (días 75, 113, 165 y 215) para cada uno de los cinco RAAS	96
Tabla 23. Valores de P para las regresiones lineales del comportamiento de los ST , SV y SF en el tiempo para la primera etapa experimental.	99
Tabla 24. Balance de SF en función de los valores de P y concentración de SF en el influente y efluente de cada RAAS	101
Tabla 25. Balance de SV en función de los valores de P y concentración de SV en el influente y efluente de cada RAAS	102
Tabla 26. Determinación del CH_4 por balance de SV y por ecuación del CH_4 teórico y comparación con el CH_4 medido.	102
Tabla 27. Resultados de Y_{obs} para los cinco RAAS durante la primera etapa experimental	104
Tabla 28. Valores promedio y desviación estándar de los parámetros de diseño y control de los cinco RAAS durante la primera etapa experimental.....	105
Tabla 29. Valores promedio de DQO_s de las muestras de influente y efluente de los cinco RAAS	106
Tabla 30. Propiedades fluorescentes promedio del influente y efluentes de los cinco RAAS	112

INTRODUCCIÓN

Con el interés creciente en todo el mundo por las energías renovables resulta interesante observar el potencial de la digestión anaerobia (DA) para la generación de dichas energías. La DA ofrece una tecnología bioquímica para el tratamiento de diferentes tipos de residuos orgánicos que representan una amenaza para la salud humana, tales como las aguas residuales domésticas e industriales, los lodos biológicos de purga (LBP) de las plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR), los residuos orgánicos de cocina (ROC), etc. Además, brinda una fuente de energía en forma de biogás, el cual se ha empleado con éxito para la cogeneración de energía eléctrica y calor.

Dos problemas serios en la actualidad son la producción excesiva de LBP y de ROC en diferentes núcleos de población. El impacto socioeconómico que tiene la generación y manejo integral de estos residuos es notable, y la necesidad de opciones para su disposición final es imperante. En lo que respecta a las PTAR, la disposición final del LBP constituye un problema de suma importancia, que representa hasta el 50% de los costos de operación en una PTAR convencional (Appels et al., 2008). En los Estados Unidos de América, existen alrededor de 1,484 PTAR que operan con digestores anaerobios para el tratamiento de los LBP; sin embargo, únicamente el 10% de estas plantas utilizan el biogás generado, mientras que el resto lo quema. Esto se debe principalmente a que los altos costos de cogeneración de electricidad superan el bajo precio de la energía eléctrica en ese país, lo cual representa un bajo costo-beneficio (Aichinger et al., 2015). Por otro lado, en la región central y Norte de Europa, donde las bajas temperaturas predominan, la mayoría de las PTAR poseen digestores anaerobios e infraestructura para la generación de electricidad y para calentamiento (Aichinger et al., 2015).

De acuerdo con Espinosa y Remis (2013), en México se generaban 640,000 toneladas/año (t/a) de lodos residuales, de las cuales el 51% era estabilizado por DA. De los lodos estabilizados, el 76% eran depositados en tiraderos al aire libre. Sin embargo, no se recuperaba el biogás generado en este proceso, por lo que el aprovechamiento para recuperación energética era nulo. Si se compara la situación en México (donde los altos costos de la energía eléctrica causan merma en la economía social) con la situación en países de Europa o los Estados Unidos de América, esto representa un área de oportunidad bastante atractiva para la generación de energía alternativa.

Por otro lado, la falta de tratamientos efectivos y eficaces para el manejo integral de los ROC representa una amenaza para la salud humana y para el ambiente. Tan solo en China

se generan 90 millones de t/a de ROC, mientras que en los Estados Unidos de América se generan 35 millones de t/a (Zhang et al., 2014). Por su cuenta, Japón genera 19 millones de t/a de las cuales el 78% son incineradas (Kawai et al., 2014), mientras que el Reino Unido se generan apenas un millón de t/a (Shanmugam y Horan, 2009). México presenta un serio problema en ese sentido, pues la estimación para el 2015 indicó la generación de 42.2 millones de t/a de basura, de las cuales el 53% corresponderían a ROC (Ramírez et al., 2013).

La DA se ha empleado para el manejo, control y estabilización de los LBP y de los ROC. Esta ha reflejado excelentes resultados en el tratamiento de este tipo de residuos debido a su alto contenido orgánico y a su biodegradabilidad. Sin embargo, existen algunos inconvenientes en la DA debido a factores operacionales, principalmente los largos tiempos de retención hidráulico (TRH), el buen control de la relación carbono/nitrógeno (C/N), la temperatura (T), el pH y la relación inóculo/sustrato (I/S); y a factores de tipo socioeconómico, como la ganancia neta de energía, los costos de implementación y mantenimiento, el manejo del biogás, etc. (Appels et al., 2008; Zhang et al., 2014).

En esta investigación, se evaluó el efecto del TRH sobre el rendimiento de biogás (R_{BG}) y de metano (R_{CH_4}) durante la codigestión (CoD) de LBP y ROC en rango de temperatura psicrófila (temperatura ambiente del Valle de Toluca). Asimismo, se buscan determinar las condiciones ideales de operación para estos sistemas de CoD anaerobia. Los datos que se obtengan de la investigación permitirán demostrar la factibilidad de la DA a baja temperatura y servirán como base para el diseño y operación de estos sistemas en regiones de clima frío.

ANTECEDENTES

Principios y parámetros de la DA

Conceptos y principios básicos

Al proceso fermentativo en el que la materia orgánica es degradada y donde se produce biogás, compuesto principalmente de metano (CH_4) y dióxido de carbono (CO_2), se le conoce como DA. Los procesos de DA ocurren en muchos espacios donde existe materia orgánica disponible y donde no hay presencia de oxígeno, por ejemplo, los estómagos de algunos rumiantes, en pantanos, sedimentos de lagos y zanjas e incluso en el alcantarillado municipal (van Lier et al., 2008).

En el proceso de DA, tiene lugar la conversión biológica de macromoléculas orgánicas complejas a través de la actividad secuencial y coordinada de varios grupos tróficos microbianos que catalizan las cuatro etapas del proceso (**Figura 1**), que se enlistan a continuación:

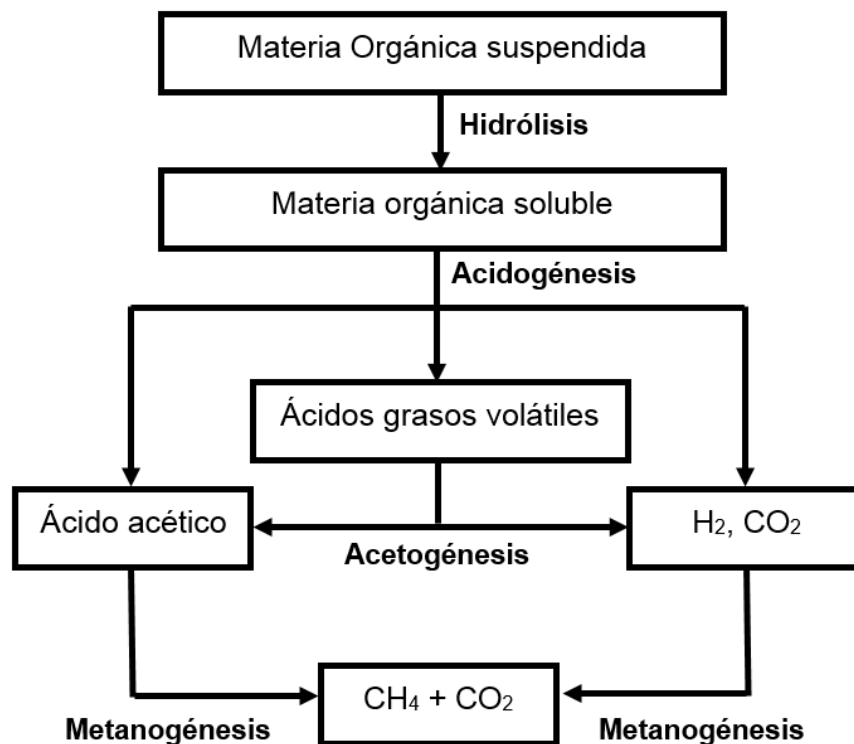


Figura 1. Cuatro etapas de la DA de compuestos orgánicos, tomado de Appels et al. (2008)

- 1. Hidrólisis:** En esta etapa, las sustancias orgánicas de elevado peso molecular (lípidos, proteínas y carbohidratos) son descompuestas por la acción de un grupo de bacterias hidrolíticas anaeróbicas y reducidas a compuestos más simples.
- 2. Acidogénesis:** Esta etapa se efectúa por la acción de las bacterias acidogénicas que convierten los productos solubles de la etapa de hidrólisis en ácidos orgánicos de cadena corta, CO_2 y H_2 . Los azúcares, aminoácidos y ácidos grasos se transforman en ácidos orgánicos (ácido acético, propiónico, valérico, butírico, etanol, etc.).
- 3. Acetogénesis:** Los alcoholes, ácidos grasos y compuestos aromáticos obtenidos en la etapa anterior se degradan produciendo ácido acético, CO_2 y H_2 , por un grupo de bacterias que aportan, aproximadamente, el 54 % del hidrógeno que se utilizará en la formación de CH_4 .
- 4. Metanogénesis:** En esta etapa, estrictamente anaerobia, los organismos metanogénicos producen CH_4 a partir de los productos orgánicos obtenidos en las etapas anteriores.

La energía disponible para la conversión metanogénica de compuestos como ácidos grasos, alcoholes o aminoácidos es muy baja. Muchas de las reacciones son termodinámicamente desfavorables bajo condiciones estándar por lo que se han desarrollado, de manera natural, cadenas tróficas de microorganismos (como bacterias y arqueas) que permiten la recuperación de energía y el crecimiento de dichos microbios (McKeown et al., 2012). Generalmente, la etapa limitante en la DA es la hidrólisis pues en ella se requiere un gasto energético mayor para romper la estructura de los compuestos orgánicos complejos y generar moléculas de menor tamaño (Appels et al., 2008; Veeken y Hamelers, 1999 y Coelho et al., 2011, citados en Zhang et al., 2014). Además de la hidrólisis, existen otros factores clave que controlan el proceso de DA, los cuales se discuten a continuación.

Parámetros que controlan y afectan la DA

La estabilización de los digestores anaerobios ocurre gracias al enriquecimiento de las interacciones inter- e intracelulares en los diversos grupos de flora bacteriana (McInerney et al., 2009; Narihira et al., 2009; Stams et al., 2012, citados en Mehariya et al., 2018). Cualquier alteración mayor en la dinámica del sistema puede incrementar el estrés bacteriano, lo que afecta la interacción de los distintos grupos bacterianos y conduce al fallo del digestor. Existen diferentes parámetros de diseño y control que regulan la interacción

de los grupos bacterianos y que son requeridos para mejorar el desempeño de los digestores anaerobios. Entre los diferentes parámetros se encuentran los siguientes: pH y ácidos grasos volátiles (AGV), temperatura de operación, tiempo de retención hidráulico (TRH) y carga orgánica volumétrica aplicada (COV_{apl}) y removida (COV_{rem}), configuración y condiciones de operación del digestor, entre otros.

El efecto del pH y los AGV en la DA

Los AGV son los intermediarios entre las etapas de acidogénesis y metanogénesis de la DA. Si bien los microorganismos metanógenos de un lodo anaerobio buscan emplear estos AGV para producir CH_4 , en concentraciones elevadas pueden generar un efecto inhibitorio de la actividad microbiana. Los AGV determinan el pH del medio, el cual es uno de los factores más importantes que afectan la DA. Los microorganismos anaerobios necesitan diferentes rangos de pH para su crecimiento. Por ejemplo, los microorganismos fermentativos (hidrolíticos y acidogénicos) pueden desarrollarse en un amplio rango de pH de 4.0 – 8.5, mientras que los metanogénicos se desarrollan mejor en un limitado rango 6.5 a 7.2 (Chen et al., 2008; Appels et al., 2011, citado en Zhang et al., 2014). La acumulación de AGV indica que se ha perdido el equilibrio entre los microorganismos productores y consumidores de los ácidos. La inhibición de la actividad microbiana dependerá siempre de la concentración de AGV's en el sistema y del tipo específico de AGV que se presente.

En los trabajos de Jang et al. (2015) la COV_{apl} se incrementó gradualmente durante cinco etapas experimentales. La concentración de AGV aumentó desde 0.79 (primera etapa) hasta 55.26 (etapa cinco) medidos como mg-DQO/L. Se observó una disminución en la remoción de SV y DQO_T al final de la corrida experimental, lo cual coincide con un incremento en la concentración de AGV's. Además, se presentaron descensos en el pH y la alcalinidad del sistema.

En el caso de Tandukar y Pavlostathis (2015), realizaron la CoD de LBP y diferentes tipos de residuos orgánicos. Para la CoD de LBP y residuos de una fábrica de goma de mascar, se empleó una COV_{apl} de 4.5 kg-DQO/m³·d, lo que resultó en un TRH de 15 días. Los resultados de los análisis en el efluente de los reactores, utilizando cromatografía gaseosa con flama de ionización, no lograron detectar AGV's (límite de detección entre 10 y 20 mg-DQO/L, dependiendo de la especie específica de AGV). Aun cuando el TRH corto (<20 d) supone una posible acumulación de AGV (Rincón et al, 2008), no se identificaron AGV's en el efluente. A una COV_{apl} de 4.5 kg-DQO/m³·d, se puede concluir que no existen problemas de sobrecarga ni posible acumulación de AGV.

Por otro lado, Gao et al. (2015) evaluaron el efecto del bicarbonato de sodio (NaHCO_3) como buffer del pH en la producción de metano (P_{CH_4}). Para ello, realizaron la DA de desperdicios sólidos de cocina bajo temperatura mesofílica ($41\text{ }^\circ\text{C}$). Durante los experimentos, observaron que la generación de AGV fue inmediata al iniciar la corrida, predominando los ácidos acético, propiónico y butírico. Se observó que los AGV se convirtieron rápidamente en biogás en aquellos reactores donde se había agregado NaHCO_3 como buffer de pH, y en donde la tasa AGV/ALC fue menor a 0.4. También se observó este comportamiento en los reactores donde la relación I/S fue tan baja como 1:2.8 (0.35), aun cuando otros autores habían reportado problemas de acumulación de AGV cuando la relación I/S fue menor a 0.8 (Raposo et al., 2009).

Además del pH, otro de los factores fisicoquímicos que afectan el desempeño de un sistema de DA es la temperatura.

El efecto de la temperatura en la DA

La temperatura es uno de los factores más significativos que afectan en la DA, ya que no solo influye en la actividad de enzimas y coenzimas, sino que además afecta la P_{CH_4} y la calidad del digestato (Sánchez et al., 2001; Appels et al., 2011, Yan et al., 2015). De manera general, los microorganismos anaerobios se pueden agrupar en tres grupos basados en su temperatura óptima de crecimiento y metabolismo:

- Psicrófilos, que crecen en un rango de temperatura menor a $20\text{ }^\circ\text{C}$ (Zhang et al., 2019) o en rangos de $10 - 30\text{ }^\circ\text{C}$ (Zhang et al., 2014).
- Mesófilos, cuya temperatura óptima de operación se encuentra en el rango de $35 - 40\text{ }^\circ\text{C}$ (Zhang et al., 2019) o de $30 - 40\text{ }^\circ\text{C}$ (Zhang et al., 2014). La mayoría de los trabajos llevados a cabo en este rango de temperatura se reportan a $35, 36$ o $37\text{ }^\circ\text{C}$.
- Termófilos, en condiciones de 50 a $65\text{ }^\circ\text{C}$ (Zhang et al., 2014, Zhang et al., 2019).

En la revisión de Zhang et al. (2014), se observó que la mayoría de los autores coinciden en que la eficiencia de la DA se incrementa con el aumento en la temperatura, siendo más efectiva la DA termofílica. La razón de esto es que a temperatura termofílica se incrementan las tasas metabólicas, mayores tasas específicas de crecimiento y mayor producción y/o calidad del biogás (El-Mashad et al., 2004; Kim et al., 2006). Por esta razón, existe poca información reportada en la literatura sobre la DA a baja temperatura. Sin embargo, elevar la temperatura de digestores en zonas de elevada altitud o de clima frío implica la aplicación de grandes cantidades de energía para calentamiento de los reactores.

El TRH, la COV_{apl} y su efecto en la DA

Uno de los principales criterios de diseño de digestores anaerobios es el TRH. El TRH determina el tiempo de contacto entre los microorganismos anaerobios y el sustrato dentro del digestor. En la bibliografía se observa que el TRH parece mantener una relación directa con el rendimiento de metano (R_{CH_4}), uno de los principales parámetros indicadores del desempeño de un digestor anaerobio. En la Tabla 1 y la Figura 2 se muestran los resultados obtenidos por algunos investigadores donde realizaron procesos de DA en rango de temperatura mesofílico.

Tabla 1. Valores de TRH empleados por diferentes autores y R_{CH_4} obtenido en rango de temperatura mesofílico

TRH, d	R_{CH_4} , $L_{CH_4}/g-SV_{agr}$	Sustrato	Referencia
16	0.128	Estiércol de cerdo y aves	Rao y Seenayya, 1994
28	0.181	Residuos de granja	Schäfer et al., 2006
28	0.146	Estiércol de caballo	Kusch et al., 2008
35	0.127	Estiércol de cerdo	Jha et al., 2012
35	0.150	Estiércol de cerdo	Jha et al., 2012
40	0.135	Rastrojo de arroz y trigo	Somayaji y Khanna, 1994
42	0.175	Estiércol de caballo	Kusch et al., 2008
50	0.164	Residuos agrícolas	Shyam, 2002
63	0.167	Estiércol de cerdo	Jha et al., 2013
63	0.194	Estiércol de cerdo	Jha et al., 2013
72	0.208	Estiércol de caballo	Kusch et al., 2008
90	0.260	Estiércol de pollo y vaca	Güngör-Demirci y Demirer, 2004
100	0.227	Residuos de granja	Schäfer et al., 2006
100	0.230	Residuos agrícolas	Shyam, 2002

A pesar de que los datos fueron recopilados de 14 investigaciones diferentes en las que se emplearon una amplia variedad de sustratos para la DA (en su mayoría estiércol de diferentes animales), existió una correlación directamente proporcional entre el R_{CH_4} y el TRH ($R^2 = 0.7782$) (Figura 2).

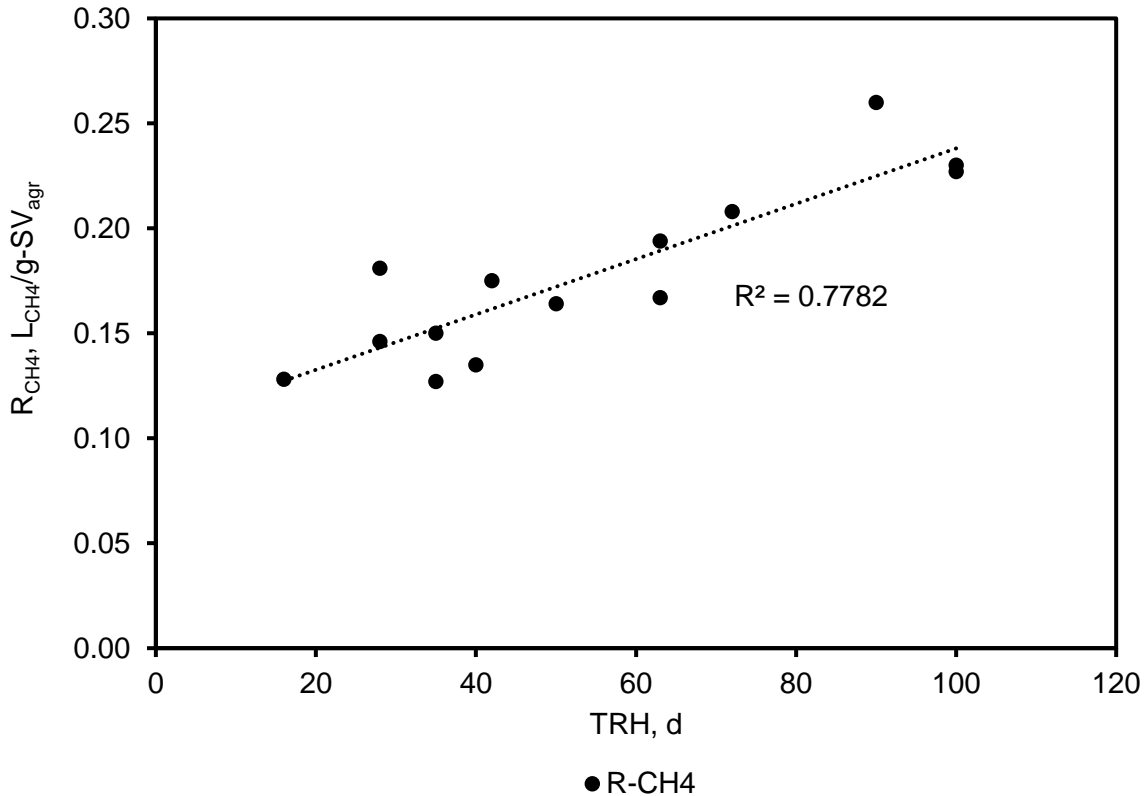


Figura 2. Correlación lineal entre el TRH y el R_{CH_4} de 14 trabajos reportados en rango de temperatura mesofílica

La pendiente positiva de la correlación sugiere que el TRH y el R_{CH_4} son directamente proporcionales: a medida que se incrementa el TRH, el R_{CH_4} aumenta. Esto es lógico pues si se incrementa el TRH, el tiempo de contacto entre bacterias y sustrato aumenta. Dicho de otra forma, la degradación del sustrato se optimiza. Sin embargo, una desventaja que implican los TRH largos es la necesidad de grandes volúmenes de reactor. Por otro lado, los TRH cortos implican la aplicación de altas COV_{apl} , que representan un riesgo para la DA.

Un valor elevado de COV_{apl} (>7 kg-DQO_T/m³·d) puede generar una desestabilización en el proceso porque genera condiciones de estrés para la biomasa (Jang et al., 2015; Rincón et al., 2008). Los investigadores del tema han evaluado el efecto de la COV_{apl} sobre diferentes tipos de reactores (reactores BATCH, reactores biológicos secuenciales (RBS), reactores semicontinuos). La gama de COV_{apl} empleadas y las unidades para reportarla son amplias y los resultados variados.

Jang et al. (2015) realizaron la DA de LBP con agua residual de origen alimenticio con alto contenido de sólidos suspendidos. Ellos observaron que la remoción de sólidos totales (ST), sólidos volátiles (SV) y de la demanda química de oxígeno total (DQO_T) disminuyó cuando se incrementó de 6.88 a 8.21 kg-DQO_T/m³·d. Esta caída en la eficiencia del sistema la atribuyeron a la disminución en el valor del pH debido a la acumulación de AGV por la sobrecarga del sistema con una COV_{apl} alta. Rincón et al. (2008), realizaron la digestión de los residuos sólidos generados en la industria del aceite de olivo. La COV_{apl} estuvo en el rango de 1.5 a 11.0 kg-DQO_T/m³·d (1.16 a 8.55 kg-SV/m³·d) y se observó una estabilidad en el sistema hasta la COV_{apl} de 7.15 kg-SV/m³·d; después de este valor la acumulación de AGV provocó una caída en el pH. Su trabajo concluyó que una COV_{apl} alta (>7.15 kg-SV/m³·d) reduce la capacidad buffer del sistema y la desestabilización de este, con lo cual la remoción de DQO_T y la P_{CH4} disminuyeron.

Los problemas principales ocasionados por una COV_{apl} alta en los sistemas de DA, son la acumulación de AGV, el descenso del pH y la desestabilización del sistema por problemas en el efecto buffer. Sin embargo, la COV_{apl} es muy variada para cada sistema en particular y no puede ser generalizada. Por ello es necesario buscar un rango de COV_{apl} preferentemente por debajo de 7.00 kg-SV/m³·d. La COV_{apl} dependerá a su vez del tipo de sustrato empleado en particular y de las condiciones fisicoquímicas del experimento (temperatura, relación C/N y relación I/S).

En la **Tabla 2** se muestra un cuadro resumen de algunas investigaciones que se han realizado tanto en la digestión de sustratos individuales como en diferentes propuestas de CoD, todas en rango de temperatura mesofílica. Cabe señalar que la mayoría de los autores recomiendan trabajar con COV_{apl} menores a 8 g-SV_{agr}/L.d, pues se observa que la P_{CH4} y R_{CH4} disminuyen al alcanzar o superar ese valor de COV_{apl}. Autores como Nguyen et al., 2017 y Guo et al., 2014 aplicaron COV_{apl} superiores a 8 g-SV_{agr}/L.d, pero con una masa de inóculo anaerobio elevada (125.9 y 380 g-SV, respectivamente). Otros autores como Zhang et al. (2013) usaron una COV_{apl} de 6 hasta 12 g-SV_{agr}/L.d sin problemas de inhibición. Sin embargo, a una COV_{apl} de 16 g-SV_{agr}/L.d la inhibición de los reactores fue inevitable.

También se puede observar que la mayoría de las investigaciones se han realizado con reactores de escala laboratorio, con volúmenes de reactor (V_R) menores a 20 L. Esto supone un mejor control de las condiciones de operación al tratarse de un V_R pequeño.

Tabla 2. Comparación del desempeño de digestores anaerobios durante la DA de sustratos simples o CoD

Sustrato	Temp., °C	¹ V _R , L	TRH, d	COV ^{api} , g-SV _{agr} / L/d	Inóculo, g-SV/L (o %)	Masa del inóculo, g-SV	² Q, L/d	³ C ₀ , g-SV/L	R _{CH₄} , L _{CH₄} /g- SV _{agr}	P _{CH₄} , L _{BG} /d	Autores
Residuos de comida + estiércol lechero	36	1.8	160	1	1.33%	23.9	0.011	160.0	0.79	1.42	Agyeman y Tao, 2014
			80	2			0.023	160.0	0.85	3.04	
			54	3			0.033	162.0	0.71	3.82	
Lodos biológicos de purga + residuos de comida	35	2	33	1	11.6	13.9	0.061	33.0	0.35	0.70	Gou et al., 2014
			16.7	2			0.120	33.4	0.35	1.40	
			11.1	3			0.180	33.3	0.33	2.00	
			8.3	4			0.241	33.2	0.33	2.60	
			6.7	5			0.299	33.5	0.23	2.30	
			5.6	6			0.357	33.6	0.02	0.20	
Residuos de comida	38	10	100	2.2	12.59	125.9	0.100	216.0	0.18	3.89	Nguyen et al., 2017
			60	3.6			0.167	214.8	0.30	10.74	
			30	7.2			0.333	215.4	0.49	35.18	
			25	8.6			0.400	215.5	0.65	56.03	
Lodos biológicos de purga + residuos de comida	38	20	10	10.3	1.90%	380.0	2.000	103.0	0.76	156.56	Guo et al., 2014
			8	12.9			2.500	103.2	0.74	190.92	
Estiércol de ganso + paja de trigo	Mesofílica	10	10	1.5	1.82%	182.0	1.000	15.0	0.17	2.50	Hassan et al., 2017
			10	3			1.000	30.0	0.25	7.50	
			10	4.5			1.000	45.0	0.18	8.00	
Lodos biológicos de purga	37	1	12	1.9	14.82	9.4	0.083	22.9	0.07	0.13	Latif et al., 2017

Tabla 2. Comparación del desempeño de digestores anaerobios durante la DA de sustratos simples o CoD (continuación)

Sustrato	Temp., °C	¹ V _R , L	TRH, d	COV _{apl} , g-SV _{agr} / L/d	Inóculo, g-SV/L (o %)	Masa del inóculo, g-SV	² Q, L/d	³ C ₀ , g-SV/L	*R _{CH₄} , L _{CH₄} /g- SV _{agr}	*P _{CH₄} , L _{BG} /d	Autores
Residuos de comida + rastrojo de maiz	37	5	68	1	3.40%	170.0	0.074	68.0	0.63	3.15	Owamah e Izinyon, 2015
			27	2.5			0.185	67.5	0.64	8.00	
			19	3.5			0.263	66.5	0.70	12.25	
			15	4.5			0.333	67.5	0.72	16.20	
Residuos de comida + estiércol de pollo	35	3.5	100	0.9	1.76%	61.6	0.035	87.0	0.92	2.80	Wang et al., 2014
			70	1.3			0.050	88.2	0.91	4.03	
			50	1.8			0.070	88.0	0.90	5.57	
			35	2.5			0.100	87.5	0.86	7.56	
Residuos de comida crudos	35	0.8	28	6	1.20%	9.6	0.029	168.0	0.45	2.16	Zhang et al., 2013
			21	8			0.038	168.0	0.33	2.11	
			14	12			0.057	168.0	0.20	1.92	
			10.5	16			0.076	168.0	-	-	

¹ V_R – Volumen efectivo del reactor² Q – gasto o caudal de operación³ C₀ – concentración de sustrato en el influente

* Valores reportados a condiciones estándar de temperatura (0 °C) y presión (1 atm)

Modos de operación de digestores anaerobios: batch, continuo y semicontinuo

De manera general, los digestores anaerobios pueden trabajar bajo condiciones diferentes de operación en función de su forma de alimentación. La operación tipo batch o por lotes implica una alimentación de sustrato seguida de un periodo de reacción generalmente largo. Normalmente, este tipo de operación se utiliza para las pruebas de biodegradabilidad de sustrato, o bien, para la determinación del potencial bioquímico de metano el cual se discutirá en el siguiente apartado.

Mientras las pruebas del PBM permiten estimar la producción y R_{CH_4} máximos que se pueden obtener de un sustrato dado y bajo condiciones experimentales específicas, las pruebas de DA en reactor con modo de operación continua y/o semicontinua permiten estimar el desempeño que puede tener un digestor comercial a escala real. Por ello, se han realizado diversas investigaciones para evaluar el comportamiento de los sistemas de DA cuando se les alimenta de manera continua o semicontinua. La mayoría de las investigaciones se centran en digestores operados a temperatura mesofílica o termofílica.

Por ejemplo, Latif et al. (2017), evaluaron la DA continua de LBP. Para ello, emplearon un reactor de 1.5 L completamente mezclado a condiciones mesofílicas (37 °C), alimentado de manera continua por medio de bombas peristálticas. Los autores observaron una disminución del R_{CH_4} (de 0.69 a 0.20 L-CH₄/g-SV_{agr}) a medida que el pH de operación bajó de 7.0 a 5.0. De la misma forma, la degradación de SV disminuyó de 33.0 a 2.5%, directamente proporcional al descenso del pH. El valor de R_{CH_4} obtenido por estos autores es menor al publicado en otras investigaciones (>0.15 L-CH₄/g-SV_{agr}) para el mismo sustrato a un TRH de 12 días (Lafitte-Trouqué y Forster, 2002). Este R_{CH_4} bajo fue atribuido a un bajo coeficiente de hidrólisis, provocando una solubilización reducida de las partículas orgánicas del sustrato.

En otras investigaciones de DA de LBP, como la realizada por Rubio Loza y Noyola (2010) se evaluó la digestión mesofílica y termofílica de una mezcla de lodo primario y LBP de una PTAR municipal. En un sistema combinado de un digestor acidogénico termofílico y digestores de mezcla completa a dos temperaturas (meso y termofílica) y con modo de alimentación semicontinua (por medio de bombas peristálticas), los autores evaluaron la producción de biogás (P_{BG}), % de CH₄ y reducción de SV. La P_{BG} se mantuvo en un rango de 2.5 a 3.7 L_{BG}/d, con un contenido de CH₄ de 43 a 55%. La remoción de SV estuvo por debajo de 38%, valor establecido como mínimo por la normativa mexicana.

Se han realizado investigaciones de DA en sistemas continuos y semicontinuos evaluando los beneficios de una CoD de diferentes tipos de sustratos. Por ejemplo, Owamah e Izinyon (2015), realizaron la CoD en modo continuo de residuos de comida con rastrojo de maíz. En dos digestores anaerobios controlados por computadora, los autores realizaron la CoD de 75% de residuos de comida y 25% de rastrojo de maíz, a diferentes COV_{apl} de 1 a 4.5 g-SV/L/d durante 120 días. La temperatura de operación fue de 37 °C y la alimentación se realizó por medio de bombas peristálticas. Se obtuvieron buenas eficiencias de remoción de SV (>74%) y un R_{BG} de 0.63 a 0.72 L-biogás/g-SV, con un contenido de CH_4 del 63.5 a 67.0%.

Wang et al. (2014) realizaron la CoD de residuos de comida con estiércol de aves en un modo de alimentación semicontinua a 35 °C. Se emplearon digestores anaerobios de 5 L totalmente mezclados y la alimentación se realizó por medio de bombas peristálticas. El TRH inicial fue de 100 días y gradualmente disminuyó a 50 días, resultando en COV_{apl} de 0.87 a 2.50 kg-SV/L/d. El R_{CH_4} obtenido durante la prueba estuvo en el rango de 0.50 a 0.55 L- CH_4 /g-SV_{agr}.

En otra investigación realizada por Hassan et al. (2017) se efectuó la CoD mesofílica de estiércol de ganso con rastrojo de trigo. Utilizando reactores de 10 L, los autores aplicaron COV_{apl} de 1.5 a 4.5 g-SV/L/d. El TRH empleado para esta investigación fue de 10 días y el máximo R_{CH_4} fue de 0.255 L- CH_4 /g-SV_{agr} para una COV_{apl} de 3 g-SV/L/d a una relación C/N de 25.

En otro trabajo realizado por Tandukar y Pavlostathis (2015) se evaluó la CoD de LBP y residuos orgánicos externos bajo condiciones similares a las de un digestor a escala real. Para ello, se emplearon digestores de 2 L (volumen efectivo de 1 L) de mezcla completa, a 35 °C y con un TRH de 15 días. Como inóculo emplearon un lodo anaerobio del efluente de un digestor mesofílico y la alimentación de sustrato se realizó una vez al día. Los sustratos empleados fueron LBP en una primera fase, LBP y un residuo orgánico individual en una segunda fase y LBP con una mezcla de residuos orgánicos en una tercera fase. En los resultados se observó que la destrucción de SV fue estadísticamente similar en todos los modos de operación (entre 43.1 y 48.6%), pero se observó un ligero incremento en los modelos de CoD en comparación con la digestión individual del LBP. La P_{CH_4} varió en un rango de 891 a 1,830 mL CH_4 /d con un contenido de CH_4 entre 65.2 y 68.9%. Se observó que la CoD que ofreció el mejor resultado fue la del LBP con grasas y aceites deshidratados, a una COV_{apl} de 5.4 g-DQO/L/d.

Se han reportado investigaciones de CoD entre LBP y otros residuos orgánicos bajo condiciones de escala real. Por ejemplo, Koch et al. (2016) evaluaron la CoD de una mezcla de lodo primario y LBP con ROC en un digestor de 1,350 m³ ubicado en la PTAR de Garchin/Alz (Alemania). El proceso se llevó a cabo a 33 °C con un TRH de 40 días. Después de evaluar dos periodos de operación (uno de mono-digestión de LBP y otro de CoD de LBP y ROC) se observó una producción específica de biogás que incrementó de 0.0129 a 0.0253 m³-biogás/kg-MH (MH – masa húmeda) y que el R_{CH₄} se incrementó de 0.310 a 0.393 L-CH₄/g-SV_{agr} para la monodigestión y CoD, respectivamente.

El potencial bioquímico de metano (PBM)

Existen diferentes métodos experimentales utilizados para anticipar la producción y rendimiento de CH₄. Existen los de largo plazo (1 – 2 años), generalmente en sistemas continuos, para simular las condiciones de los digestores comerciales y estudiar su desempeño en el tiempo. Por otro lado, existen los métodos a corto plazo (1 – 2 meses) en pruebas por lotes como el PBM (Labatut et al., 2011). El PBM es una prueba de biodegradabilidad anaerobia para sustratos de diferente origen (Angelidaki et al., 2009). Esta prueba permite determinar el R_{CH₄} como una función de la cantidad de biomasa que se encuentra en contacto con un sustrato en particular. Existen diversas metodologías para la realización de la prueba, lo que puede dificultar su comprensión y/o comparación. Además, los protocolos y las condiciones ambientales son diversos.

Para estandarizar la prueba de PBM, la International Water Association (IWA), a través del grupo especializado en DA, ha generado un reporte de ensayos anaerobios para la determinación de la prueba y los factores que pueden intervenir sobre ella. Angelidaki et al. (2009) han propuesto algunas guías de ayuda y consejos para el desarrollo de estas pruebas, con el fin de unificar el uso de unidades y técnicas para estos ensayos. Sin embargo, en la literatura aún se observan diferentes enfoques para determinar el PBM en los ensayos anaerobios, tales como la adición o no adición de nutrientes, los diferentes periodos de incubación de las muestras o la temperatura de incubación (Mgana, 2003).

Se deben considerar también algunos errores sistemáticos causados por las condiciones experimentales de las pruebas del PBM (Strömberg et al., 2014). Entre los factores que se deben considerar para la obtención de valores de PBM reales están la temperatura, presión atmosférica y los espacios muertos en los reactores de la prueba. El diseño experimental, el equipo y materiales, así como los cálculos numéricos, deben elegirse considerando los

factores anteriores. Para ello, Strömberg et al. (2014) han publicado una serie de recomendaciones a seguir para evitar errores en la obtención e interpretación de los datos.

En un taller realizado en junio de 2015 en Leysin, Suiza con 40 asistentes de 30 laboratorios alrededor del mundo, se buscó llegar a soluciones comunes para la gran inconsistencia de los resultados de pruebas de PBM. Como resultado, el artículo publicado por Holliger et al. (2016) muestra el consenso de las discusiones intensas y comparación cruzada de las metodologías empleadas en cada laboratorio para determinar el PBM. Se incluyen, entre otros, el número de réplicas, el uso de blanco y control, un criterio para la duración de la prueba, etc. Finalmente, se exponen algunas recomendaciones sobre factores que influyen fuertemente en el PBM, tales como la preparación del sustrato, características del inóculo, preparación de la prueba y el análisis de los datos.

Según Holliger et al. (2016), la temperatura de incubación de la prueba del PBM no tiene influencia en el resultado del ensayo, ya que la temperatura solo afecta las tasas de P_{CH_4} . Sin embargo, si el inóculo es obtenido de un digestor que opera a una temperatura diferente a la estandarizada (37 y 55 °C para digestión mesofílica y termofílica, respectivamente) el PBM debe efectuarse a esa misma temperatura. Normalmente se recomienda un ambiente de temperatura controlada y estable, de manera que las variaciones de temperatura sean de ± 2 °C como máximo.

En la **Tabla 3** se muestran algunos valores de PBM reportados por algunos investigadores bajo condiciones de temperatura diferentes y con diversos sustratos.

Tabla 3. Comparación del PBM a partir de la DA de diferentes sustratos

Sustrato	Rango de temperatura	PBM mL-CH ₄ /g-SV _{agr}	Referencia
CoD de LBP y ROM	Mesofílica	220.6 ± 6	Nielfa et al., 2015.
CoD de LBP y ROM	Mesofílica	433 ± 13	Fitamo et al., 2016.
Lodos primarios y secundarios con ROM	Mesofílica	360	Koch et al., 2016.
LBP y residuos de frutas y verduras	Mesofílica	430	Di Maria et al., 2016.
LBP y residuos de confitería	Termofílica y Mesofílica	640	Lafitte-Trouqué y Forster, 2000.
Rastrojo de maíz	Mesofílica	233	Raposo et al., 2006.
Estiércol de vaca	Psicrofílica	208.7 ± 8.7	Massé y Saady, 2015.

Como se puede ver en la **Tabla 3**, los autores han propuesto realizar CoD de diferentes tipos de sustratos, ya que se ha observado una mejora en el PBM, comparado a la digestión individual de algún tipo de residuo orgánico. La CoD principalmente se ha empleado para mejorar la relación C/N, pues algunos sustratos por sí solos carecen de un buen balance carbono – nitrógeno para el metabolismo de las bacterias.

Efecto de la CoD de LBP y otros residuos orgánicos en la relación C/N en pruebas de PBM

La composición de carbono y nitrógeno de los diferentes sustratos a emplear en un proceso de DA es muy importante. El carbono representa la fuente de sustrato para el crecimiento de los microorganismos mientras que el nitrógeno representa uno de los nutrientes principales necesarios para el metabolismo celular. Un balance apropiado entre estas partes es necesario (relación C/N) pues los microorganismos anaerobios requieren la proporción adecuada de nutrientes para su óptimo crecimiento y así mantener un ambiente estable para llevar a cabo el proceso de DA. Por un lado, una concentración elevada de carbono puede conducir a la acumulación excesiva de AGV y acidificación del medio, mientras que la presencia de nitrógeno en exceso puede generar concentraciones tóxicas de amonio, lo que puede inhibir la actividad microbiana (Nielfa et al., 2015).

Los LBP son residuos con un elevado contenido de nitrógeno, por lo que la relación C/N de este tipo de sustratos es generalmente baja. Por ejemplo, Nielfa et al. (2015) determinaron una relación C/N del LBP de 8.9, mientras que Hassan et al. (2016) obtuvieron un valor de 7.7 para el mismo residuo. Por ello, se ha explorado la CoD de dos o más tipos de sustratos para prevenir la acidificación o inhibición en los sistemas de DA (Koch et al., 2016, Kong et al., 2016). Diversos autores han investigado sobre la CoD de LBP con otros sustratos, tales como los ROC, residuos de pasto, plantas o estiércol (Di Maria et al., 2016; Fitamo et al., 2016; Koch et al., 2016; Jang et al., 2015; Nielfa et al., 2015; Tandukar y Pavlostathis, 2015; Zhang et al., 2016). Estos procesos de CoD han permitido mejorar los sistemas de DA, a través del mejoramiento de la relación C/N. Algunos autores coinciden en que la relación C/N de los ROC es elevada, obteniendo valores de 51.8 (Nielfa et al., 2015) y de 61.3 (Hassan et al., 2016), por citar algunos. Las propuestas de CoD de dos sustratos han permitido mejorar la relación C/N para beneficio de los microorganismos anaerobios.

A pesar de ello, existe una discrepancia en cuanto a cuál es la relación C/N ideal por emplear. Algunos investigadores determinaron que una relación C/N en el rango de 20 a 30 es una condición adecuada para la DA (Li et al., 2011; Nielfa et al., 2015; Puyuelo et al.,

2011; Zhang et al., 2014). Sin embargo, otros autores han observado problemas de acidificación cuando la relación C/N es elevada (>20), lo que puede conducir a una acumulación excesiva de AGV (Kong et al., 2016). Otros estudios recientes indican que una relación C/N en el rango de 15 a 20 funciona bien (Zhang et al., 2014).

Nielfa et al. (2015) efectuaron la CoD de LBP y ROC, y observaron que el PBM aumentó cuando se incrementó la relación C/N en un rango de 21.7 a 39.8. Por su lado, Fitamo et al. (2016) realizaron la CoD de LBP con ROC y residuos de pasto, donde los sustratos presentaron una relación C/N en el rango de 5.6 y hasta 21.9. El PBM de la digestión de LBP fue de 280 mL-CH₄/g-SV, y este aumentó cuando se realizó la CoD de LBP con ROC hasta 500 mL-CH₄/g-SV.

Los resultados obtenidos por varios investigadores no son concluyentes respecto a cuál es la mejor relación C/N a emplear en un proceso de DA. Independientemente de los sustratos empleados, un proceso de DA requiere de una relación C/N adecuada para garantizar el funcionamiento del experimento. Por esta razón, es necesario llevar a cabo diferentes mezclas de sustratos en reactores a escala laboratorio para determinar la mejor relación C/N en un experimento específico, y así poder llevarlo a mayor escala. Con base en la revisión bibliográfica, se observa que un rango de $15 < C/N < 40$ parece funcionar bien y ofrece buenos resultados de PBM.

Modelos matemáticos para la predicción del PBM

En la actualidad se han utilizado diferentes modelos matemáticos para la predicción del PBM durante la DA de diferentes sustratos orgánicos. Estos modelos se basan principalmente en la relación exponencial entre la tasa específica de crecimiento y la densidad de población de los microorganismos anaerobios (Kafle y Chen, 2016).

Uno de los modelos que se suele utilizar para la predicción de la curva del PBM es el modelo de primer orden (MPO). Este es un modelo simplificado en el que se asume que la P_{CH₄} sigue una cinética de primer orden. En este modelo la acumulación de CH₄ se incrementa de manera exponencial hasta un valor máximo (Nielfa et al., 2015; Bilgili et al., 2009).

Otro de los modelos que se ha utilizado para describir el crecimiento de microorganismos es el modelo modificado de Gompertz (MMG) (Gibson et al., 1987; Zwietering et al., 1990). Este modelo se utilizó originalmente para la simulación del desarrollo de microorganismos en un cultivo, considerando que durante su crecimiento existe una fase de latencia (fase lag) que representa el tiempo que tardan las bacterias para iniciar la P_{CH₄}, o bien en

acostumbrarse al sustrato. Este modelo matemático se ha utilizado con éxito en la modelación del PBM y ha sido estadísticamente acertado para predecir la curva de la P_{CH_4} (Kafle et al., 2013; Nielfa et al., 2015; Kafle y Chen, 2016; Kong et al., 2016).

Caracterización de la materia orgánica disuelta (MOD) por espectrometría de fluorescencia (EF)

La materia orgánica disuelta (MOD) juega un papel importante en las reacciones biológicas pues el metabolismo de los microorganismos ocurre en la fase líquida-soluble (Li et al., 2014). La MOD sirve como fuente de energía y carbono orgánico para las bacterias. Está formada por componentes disueltos de la materia orgánica del influente y los intermediarios de los procesos microbianos durante la degradación de compuestos orgánicos complejos (Shakeri Yekta et al., 2012).

Existe una parte de la MOD que puede absorber energía de radiación luminosa y remitirla parcialmente en forma de fluorescencia. La fluorescencia se basa en un principio energético de las moléculas. En condiciones ambientales normales, las moléculas de la MOD se encuentran en un nivel energético vibracional bajo. La absorción de energía luminosa promueve el paso de electrones a niveles superiores de energía. Durante el retorno al estado inicial, una parte de la energía absorbida es reemitida por las moléculas. A esta emisión de energía se le conoce como fluorescencia (Esparza-Soto, 2008) y a técnica que permite su determinación se le conoce como espectrometría de fluorescencia (EF).

Teóricamente cualquier molécula capaz de absorber radiación electromagnética debería ser capaz de emitir fluorescencia. No obstante, la mayoría de las moléculas no fluorescen porque disponen de vías no radiantes. La mayoría de los compuestos que contienen anillos aromáticos en su estructura molecular proporcionan emisión fluorescente. Ciertos compuestos carbonílicos alifáticos y alicíclicos, así como algunas estructuras con dobles enlaces también fluorescen (Vives et al., 2001). A estos compuestos fluorescentes se les denomina comúnmente fluoróforos, y se caracterizan por ser moléculas fluorescentes con un espectro de absorción y emisión bien definido (Martínez-Estrada y Moctezuma-González, 2006).

Los compuestos húmicos son los principales fluoróforos. Las sustancias húmicas son los compuestos orgánicos más ampliamente dispersos en la naturaleza, que se pueden presentar en suelos, composta, agua potable y marina, además de los depósitos de ríos, lagos y mares, así como en los lodos. Este material tiene una influencia esencial en las propiedades del suelo e indirectamente en el crecimiento de las plantas (Pajączkowska et

al., 2003). Las sustancias húmicas provienen principalmente del rompimiento de tejidos vegetales por medio de procesos biológicos y químicos en ambientes terrestres y acuáticos (Elkins y Nelson, 2001; Stedmon et al., 2003; Patel-Sorrentino, et al., 2004) y de algunos péptidos y proteínas que contienen aminoácidos fluorescentes (Hudson et al., 2007).

Tres aminoácidos fluorescentes (triptófano, tirosina y fenilalanina) son indicativos de proteínas y péptidos. La fluorescencia de estos aminoácidos específicos es debida a la presencia de un grupo indol (un compuesto orgánico heterocíclico que contiene un anillo bencénico y un anillo heterocíclico aromático que contiene átomos de nitrógeno en su estructura) (Hudson et al., 2007). El origen de la presencia de proteínas fluorescentes en algunas muestras de agua podría deberse a los aminoácidos constituyentes de la pared celular de los microorganismos (Determann et al., 1998). Existen evidencias claras de fluorescencia de origen bacteriano en las muestras de agua.

Aplicaciones de la EF

En la literatura se muestran algunas aplicaciones de la EF para caracterizar materia orgánica natural (como los ácidos húmicos) o la materia orgánica disuelta (MOD) en los efluentes de diferentes sistemas de tratamiento (como lodos activados o la DA de diversos tipos de sustratos). La fluorescencia tridimensional por matriz de excitación-emisión (MEE-3D) es una metodología espectrofotométrica rápida y selectiva que se ha empleado con éxito en la caracterización de diferentes muestras de agua (Esparza-Soto et al., 2011a; Hudson et al., 2007, Zheng et al., 2014). El principio de la MEE-3D es que la excitación, la emisión y la intensidad de fluorescencia (IF) pueden ser escaneadas a lo largo de un amplio rango de longitudes de onda de forma sincronizada y graficadas en una sola imagen, mostrando un mapa de espacio óptico (Hudson et al., 2007).

La gráfica de una MEE-3D permite la visualización de un rango de fluoróforos en una muestra dada, en su posición relativa en el espacio óptico (Hudson et al., 2007). Las longitudes de onda de excitación y emisión de algunos de estos fluoróforos se muestran en la **Tabla 4**.

Tabla 4. Longitudes de onda de excitación y emisión para la identificación espacial de algunos fluoróforos

Fluoróforos	λ_{Exc} Max	λ_{Em} Max
Tirosina	220 y 280	300-305
Triptófano	220 y 280	340-350
Fenilalanina	260	280
SRHA (Suwannee River Humic Acid)	230 y 360	420-460
SRFA (Suwannee River Fulvic Acid)	230 y 300	420
Clorofila	400	660
Diésel	475	600
Queroseno	280	390
Carbaril	270	320
Naftol	280	340
Carbofurano	270	300

La EF se ha empleado para caracterizar los diferentes subproductos intermediarios de las reacciones biológicas en los procesos de DA de una amplia gama de sustratos (Li et al., 2014; Luo et al., 2013; Qu et al., 2017). Esto ha permitido establecer la secuencia de degradación de cada elemento presente en la MOD, investigar los cambios en las características químicas de la MOD durante los procesos de DA y proveer información sobre la estabilidad y fertilidad de los efluentes de los sistemas de DA (Li et al., 2014).

JUSTIFICACIÓN CONTEXTUAL Y CIENTÍFICA

Después de cerca de 10 años de operación continua de un reactor de tipo UASB, ubicado en las instalaciones del CIRA tratando agua residual industrial, se ha logrado establecer un cultivo de bacterias psicrófilas, capaces de soportar condiciones de baja temperatura ambiente y que han demostrado tener muy buenos rendimientos en la DA de agua residual industrial (Esparza-Soto et al., 2011b; Esparza-Soto et al., 2013). Es necesario continuar las investigaciones de DA con este tipo de bacterias, ya que tienen potencial para el tratamiento anaerobio de otra clase de residuos orgánicos.

La DA psicrófila podría contribuir a una ganancia neta mayor de energía, comparada con la DA mesófila o termófila, ya que no sería necesario utilizar energía externa de calentamiento para los sistemas de DA. Por citar un ejemplo, en algunas investigaciones se ha empleado el calor específico del agua residual igual al del agua natural de 4.2 kJ/L·°C (Crites et al., 2014); si se requiere elevar la temperatura de 20 L de agua residual (densidad aproximada de 1000 g/L) desde 11.3 °C (temperatura promedio del valle de Toluca) hasta 35 °C (temperatura mesófila), el calor necesario para elevar la temperatura del agua sería:

$$Q = m C_P \Delta T = 20 \text{ L} \times 4.2 \frac{\text{kJ}}{\text{L} \cdot ^\circ\text{C}} \times (35 - 11.3) ^\circ\text{C} = 1,990 \text{ kJ} = 0.55 \text{ kWh}$$

Este consumo de potencia equivale a mantener encendidas cinco bombillas incandescentes de 100 W durante un periodo de una hora. Además, esta potencia no considera el hecho de que el sustrato que se pretende emplear en esta investigación es una mezcla de LBP con ROC, lo que puede incrementar el C_P de la sustancia y aumentar la necesidad de calor para elevar la temperatura del reactor. Además, considerando el número de reactores que se desean implementar y que la operación será continua y de largo plazo, los requerimientos energéticos son elevados.

Por otro lado, se requiere de más información sobre estos sistemas de DA psicrófila, ya que la literatura sobre el tema es escasa. Además, es poca la información que existe sobre estos sistemas operados en régimen semicontinuo, pues la mayoría operan como reactores biológicos secuenciales (RBS) (Saady y Massé, 2015). La operación de un RBS implicaría grandes volúmenes de reactor, lo que lleva a incrementar los costos de construcción y mantenimiento; esto, sin mencionar los problemas de almacenamiento de los sustratos que diariamente se generarían. Para la gran cantidad de residuos que se generan a diario en todos los sectores productivos, un digestor anaerobio en régimen semicontinuo es la mejor opción.

También resulta interesante evaluar la CoD de LBP con ROC; pero para ello se debe determinar cuál es la proporción de mezcla ideal para cada sustrato y así obtener la mejor relación C/N. Una relación C/N inadecuada puede tener efectos adversos sobre la actividad microbiana y puede ser causa de la falla en el sistema. La literatura no muestra información sobre casos de estudio donde se busque una relación C/N en sistemas de DA psicrófila.

Se requiere además evaluar el proceso de DA con sustratos que se pueden emplear en la CoD del LBP. Algunos desechos orgánicos pueden contener altos niveles de materiales lentamente biodegradables (como los residuos de jardinería o los agroindustriales), lo que puede causar una inhibición en la actividad enzimática de las bacterias y limitar el proceso de hidrólisis durante la DA, causando una falla en el proceso de digestión. Otros factores que también deben definirse durante la DA son los AGV y la ALC, ya que permitirán identificar cuales sustratos pueden representar un mayor riesgo de acumulación de AGV. Tomando esto en cuenta, será posible determinar cuál es la mejor opción para mantener la ALC del sistema en un rango aceptable que no comprometa el desempeño de los reactores.

La evaluación de la COV y la relación I/S aplicadas permitirá sentar las bases para el diseño de estos sistemas de DA en modo semicontinuo. Teniendo estos datos, será posible establecer estrategias y alternativas para el tratamiento combinado de los residuos LBP y ROC, con un alto costo beneficio por el valor agregado del biogás que se estaría generando.

Por lo anterior, en este proyecto de investigación se buscará identificar cuál es la mejor relación C/N de dos sustratos (LBP y ROC) por medio de las pruebas del PBM, con la que se obtenga el mejor PBM. Una vez encontrado el valor ideal, se realizará la CoD anaerobia LBP con ROC en cuatro reactores operados de forma semicontinua y a baja temperatura (temperatura ambiente del Valle de Toluca). Las variables principales que evaluar serán las fisicoquímicas (T, COV, pH, relación C/N, relación I/S) que permitirán establecer los criterios de operación para estos sistemas semicontinuos. También se evaluará la cantidad y composición del biogás generado, así como su potencial energético como una fuente renovable y sustentable de energía.

HIPÓTESIS

El R_{CH_4} ($L_{CH_4}/g-SV_{agr}$) se incrementa cuando el TRH aumenta durante la CoD anaerobia de LBP y ROC en un reactor operado a baja temperatura y en régimen de alimentación semicontinua.

OBJETIVOS GENERALES Y ESPECÍFICOS

Objetivo General

Evaluar el efecto que tiene el incremento del TRH y la disminución de la COV_{apl} sobre el R_{CH_4} de cinco reactores biológicos operados en régimen semicontinuo durante la CoD anaerobia psicrófila (~ 20 °C) de LBP y ROC.

Objetivos específicos

- Evaluar la caracterización fisicoquímica (pH, T, contenido de ST, SV, SV/ST, DQO_T y EF) de los sustratos a emplear (LBP y ROC) y del inóculo.
- Identificar una relación C/N adecuada de trabajo con la CoD de diferentes mezclas de LBP con ROC por medio de pruebas del PBM.
- Correlacionar el incremento del TRH (desde 40 hasta 120 días) con los parámetros de control y desempeño (ER_{SV} , el R_{CH_4} , R_{BG} , entre otros) de cinco reactores anaerobios de alimentación semicontinua (RAAS) a escala laboratorio de 11 L de volumen efectivo.
- Calcular la cantidad y composición del biogás producido, tanto en las pruebas de PBM como en los RAAS y compararlas con otras investigaciones.
- Establecer la influencia del TRH sobre los parámetros de operación de los cinco RAAS implementados con el fin de determinar las condiciones ideales de operación para su posible escalamiento.

METODOLOGÍA

Sustratos

Lodo biológico de purga (LBP)

El LBP que se utilizó para esta investigación se obtuvo de un reactor de lodos activados (RLA) a escala piloto de 226 L. El RLA trató el efluente de un reactor de tipo UASB, que a su vez depuró agua residual de una industria chocolatera (Esparza-Soto et al., 2011b, Esparza-Soto et al., 2013). El RLA (Figura 3) fue construido con placas de acrílico transparente de 0.6 cm de espesor y un bastidor de madera en el exterior para darle soporte. El RLA constó de una zona de aireación dotada de un difusor de aire en la parte inferior (tubería de PVC con perforaciones de diámetro < 1 mm). El RLA también contó con un sedimentador adyacente con 45° de inclinación respecto a la pared vertical que permitió el retorno del lodo sedimentado hacia la zona de aireación y un vertedor donde se colectó el efluente del tren de tratamiento. El RLA funcionó de manera continua con un TRH de aproximadamente 16 h y un tiempo de retención de sólidos (TRS) de 10 d. Para controlar el TRS de la biomasa, diariamente se purgaron 22.6 L de licor mixto desde la zona de aireación del reactor. De esta purga se obtuvo el sustrato LBP para esta investigación.

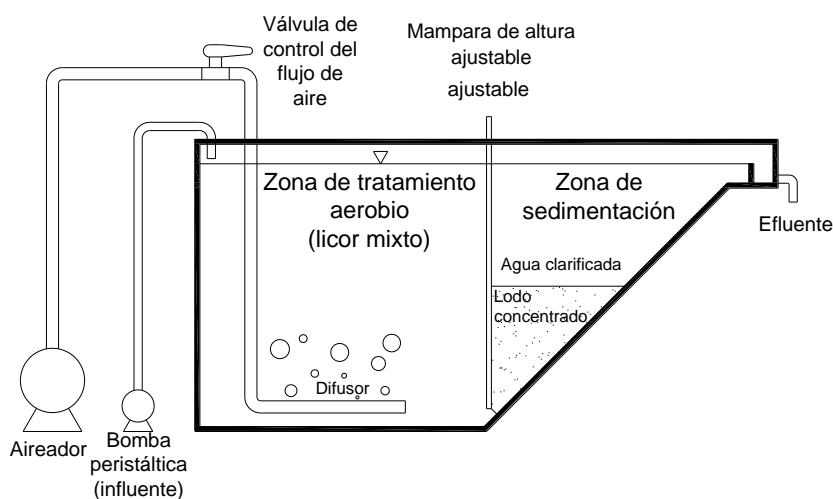


Figura 3. Esquema de reactor a escala piloto de lodos activados para obtención del LBP. El reactor funcionó de manera continua por medio de una bomba peristáltica. $Q = 340 \text{ L/d}$; $\text{TRH} = 16 \text{ h}$ (0.67 d); $\text{TRS} = 10 \text{ d}$; $Q_w = 22.6 \text{ L/d}$ (desde el licor mixto)

El licor mixto purgado se dejó sedimentar por 24 h para concentrar la biomasa. Posteriormente se extrajo cuidadosamente el sobrenadante evitando la pérdida de LBP sedimentado. El volumen sedimentado se hizo pasar a través de un filtro de tela (100%

poliéster) donde se eliminó el exceso de agua. Al final de este proceso el LBP se pudo llevar de una concentración inicial de 2.98 ± 1.32 g/L hasta 63.77 ± 6.52 g/L, es decir, se logró concentrar hasta 21.4 veces. El LBP se mantuvo en refrigeración a 4 °C hasta su utilización.

Residuos orgánicos de cocina (ROC)

Siguiendo las recomendaciones de Nielfa et al. (2015), se elaboró un sustrato sintético para evitar la heterogeneidad de sus componentes. Algunos investigadores han trabajado con sustratos sintéticos basados en la composición típica de la fracción orgánica de los residuos de cocina (Neves et al., 2002; Li et al., 2002; Li et al., 2013, Nielfa et al., 2015). Estos investigadores han propuesto sustratos compuestos por residuos de tres grupos principales: frutas, verduras y productos cárnicos. En algunos casos se consideran alimentos procesados como las harinas en un grupo separado. De manera general, los productos cárnicos abarcan entre el 10 y el 20% de la producción total de los ROC, mientras que la fracción restante la abarcan las frutas y verduras.

Con base en las referencias previas se optó por establecer una fórmula de la composición de los ROC que se pueden encontrar en una cocina convencional. En la vida cotidiana los desperdicios que más se desechan son cáscaras y semillas de las frutas y verduras. Sin embargo, en esta investigación se utilizaron las frutas y verduras enteras para evitar el desperdicio de comida, pues los digestores se operaron por periodos de tiempo largos (>100 d). Los componentes de dicha fórmula se muestran en la **Tabla 5**.

Tabla 5. Composición del sustrato sintético ROC para esta investigación

Grupo	Componente	Fracción porcentual (en peso húmedo)
Frutas	Naranja (entera)	10
	Limón (entero)	10
	Manzana (entera)	10
	Plátano/banana (entero)	10
	Tomate rojo (entero)	10
Verduras	Cebolla	10
	Lechuga	10
	Pepino (entero)	10
	Papa (entera)	10
Cárnicos	Carne de cerdo	10

Tomando como base 1,000 g de residuos de comida, los componentes de esta mezcla fueron pesados (100 g de cada componente) y se adicionaron 6.67 g/L de NaHCO_3 como fuente de alcalinidad y para incrementar el pH de la mezcla. Todos los componentes fueron molidos en una licuadora doméstica durante cinco minutos (Osterizer 600 W, EUA) con 500 mL de agua de grifo hasta obtener un volumen total aproximado de 1,500 mL. Esta proporción de residuos/agua fue la necesaria para garantizar la molienda completa de todos los componentes de la mezcla, permitiendo así que las partículas no fueran mayores a 2 mm de diámetro. La consistencia líquida permitió su fácil introducción a los digestores, además permitió cuantificar fácilmente el sustrato como peso húmedo y/o como volumen.

Caracterización de sustratos y factor de conversión DQO_T – SV

Se determinó la DQO_T y SV de los sustratos y el inóculo para determinar un factor de conversión entre ambos parámetros. Para ello, se utilizaron dos muestras de ROC (ROC-CAR1 y ROC-CAR2), dos diluciones de ROC con agua potable al 75 y 50% (ROC-CAR75\% y ROC-CAR50\%), una muestra de LBP (LBP-CAR), tres CoDs con diferentes fracciones de ROC y LBP en porcentaje de peso húmedo (CoD-CAR75/25 , CoD-CAR50/50 y CoD-CAR25/75) y una muestra del inóculo (Inóculo-CAR). Las diluciones y CoDs mencionadas en esta sección se realizaron exclusivamente para la caracterización de sustratos. Los datos obtenidos se correlacionaron para determinar un factor de conversión de $\text{DQO}_T \rightarrow \text{SV}$ y viceversa.

Propuestas de CoD

Se planteó un diseño experimental para las pruebas del PBM con la digestión de los sustratos individuales (LBP-PBM y ROC-PBM) y con dos propuestas de CoD de LBP y ROC (CoD1-PBM y CoD2-PBM) para evaluar su efecto en la P_{CH_4} . Un reactor con inóculo y sin sustrato se empleó como blanco (BCO-PBM). El diseño experimental para la prueba del PBM se muestra en la **Tabla 6**.

Tabla 6. Sustratos y mezclas de CoD's propuestas para las pruebas de PBM. Las fracciones de cada sustrato en las CoD's están basadas en el peso húmedo de cada componente

Sustrato	Proporción LBP/ROC (% en peso húmedo)
LBP-PBM	100/0
CoD1-PBM	65/35
CoD2-PBM	35/65
ROC-PBM	0/100
BCO-PBM	-

Pruebas del potencial bioquímico de metano (PBM)

La prueba del PBM se realizó siguiendo las recomendaciones de Angelidaki et al. (2009) y Holliger et al. (2016). Los reactores para el PBM (Figura 4) consistieron en botellas de vidrio ámbar de 500 mL de volumen total. En la parte superior se les colocó un tapón de hule y un equipo de venoclisis para el almacenamiento y conducción de biogás hacia el dispositivo captador y cuantificador de volumen producido. El dispositivo cuantificador de biogás consistió en una columna de acrílico transparente. La columna con sección cuadrangular fue graduada con probeta volumétrica. Este dispositivo se colocó de manera invertida en un recipiente con agua, el cual funcionó como sello hidráulico permanente (de 5 cm aproximadamente) para los reactores. Los reactores del PBM se colocaron en un oscilador orbital a 150 rpm para garantizar un mejor contacto entre el inóculo y el sustrato.

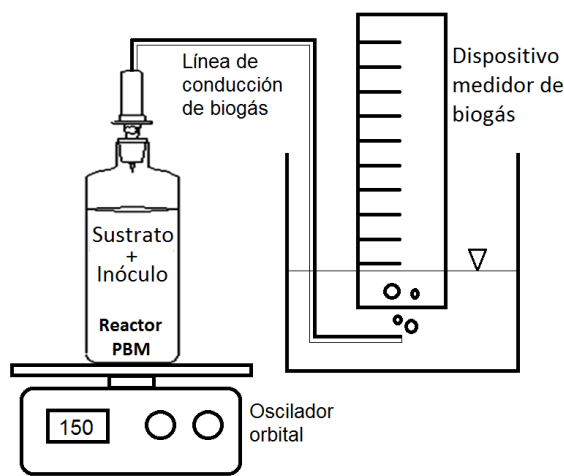


Figura 4. Diagrama del reactor para la prueba del PBM

Los reactores se inocularon con lodo anaerobio previamente aclimatado con los sustratos de LBP y ROC a baja temperatura. Para esta prueba de PBM se eligió trabajar a una relación I/S de 1 con la finalidad de observar la adaptabilidad de la biomasa al sustrato y su capacidad para amortiguar cambios del pH. Se ha observado que a relaciones I/S bajas (<1) se puede presentar una acumulación de AGV, lo que conduce a la acidificación del medio y al fallo general del proceso de DA debido al exceso de sustrato con respecto al inóculo (Gao et al., 2015). A cada reactor se le agregó la cantidad necesaria de inóculo y se adicionó el sustrato correspondiente (LBP, CoD o ROC) para alcanzar la relación I/S de 1. La prueba del PBM se detuvo en el momento que la P_{CH_4} diaria fue menor al 1% de la producción total acumulada, lo cual se calculó con la ecuación [1] (Nielfa et al., 2015):

$$\text{Producción (\%)} = \left(\frac{\text{Producción total(mL)}_n - \text{Producción total(mL)}_{n-1}}{\text{Producción total(mL)}_n} \right) \times 100 \quad [1]$$

En donde: n representa el día del experimento.

Al inicio y al final de la prueba PBM se determinaron los parámetros fisicoquímicos de ST, SV, pH y DQO_T.

Modelación matemática del PBM

Se propusieron dos modelos cinéticos para la predicción del PBM: el MMG y MPO. Ambos modelos cinéticos han sido empleados con éxito para la predicción del PBM de diferentes sustratos orgánicos (Bilgili et al., 2009; Kafle et al., 2013; Nielfa et al., 2015; Kafle y Chen, 2016; Kong et al., 2016).

El MMG asume que la P_{CH_4} es proporcional a la actividad de los microorganismos del inóculo (Kafle et al., 2013), el MMG se emplea por medio de la ecuación [2]:

$$G(t) = G_0 \times \exp \left\{ - \exp \left[\frac{R_{\text{max}} \cdot e}{G_0} (\lambda - t) + 1 \right] \right\} \quad [2]$$

En donde R_{max} es la tasa máxima de P_{CH_4} ($\text{mL}_{\text{CH}_4}/\text{g-SV}_{\text{agr}}/\text{d}$); λ es la fase lag (d); t es el tiempo de digestión (d); $e = 2.7183$.

Por otro lado, el MPO es un modelo simple que asume que la producción de biogás sigue el comportamiento típico de una cinética de primer orden, por lo que la variación de la masa de sustrato en el tiempo y la P_{CH_4} está representada por la ecuación [3]:

$$G(t) = G_0 \times (1 - e^{-k t}) \quad [3]$$

En donde $G(t)$ es la producción acumulada de CH_4 al tiempo de digestión t ($\text{mL}_{\text{CH}_4}/\text{g-SV}_{\text{agr}}$); G_0 es el PBM del sustrato agregado ($\text{mL}_{\text{CH}_4}/\text{g-SV}_{\text{agr}}$); k es la constante de la tasa de P_{CH_4} (constante de primer orden de degradación de sustrato) (d^{-1}) y t es el tiempo de digestión (d).

Se utilizó una hoja de cálculo de Excel 2013 donde se graficó la producción diaria de biogás (mL) contra el tiempo de prueba. Se utilizó el método de mínimos cuadrados parciales y se aplicó la función Solver (Excel 2013) para determinar las constantes cinéticas de ambos modelos. La exactitud de los modelos fue evaluada con el coeficiente de correlación R^2 y con el error cuadrático medio (ECM) (Lesteur et al., 2013).

Reactores anaerobios de alimentación semicontinua (RAAS)

Diseño y construcción de los RAAS

Se diseñaron y construyeron cinco RAAS idénticos cuyo ensamble se muestra en la **Figura 5**. Los RAAS se construyeron con cubetas de polietileno de 19 L de volumen total, con un volumen efectivo de 11 L. Para las conexiones de entrada de sustrato y salida de digestato se empleó tubería de PVC de $\frac{3}{4}$ " de diámetro. La entrada se dispuso a un costado de cada RAAS en la parte baja, mientras que la salida se colocó en la parte media del RAAS a 45° de inclinación respecto a la pared. Una cubeta de las mismas dimensiones partida por mitad se utilizó como cubierta superior; en ella se colocó la salida del biogás con una válvula reguladora de flujo.

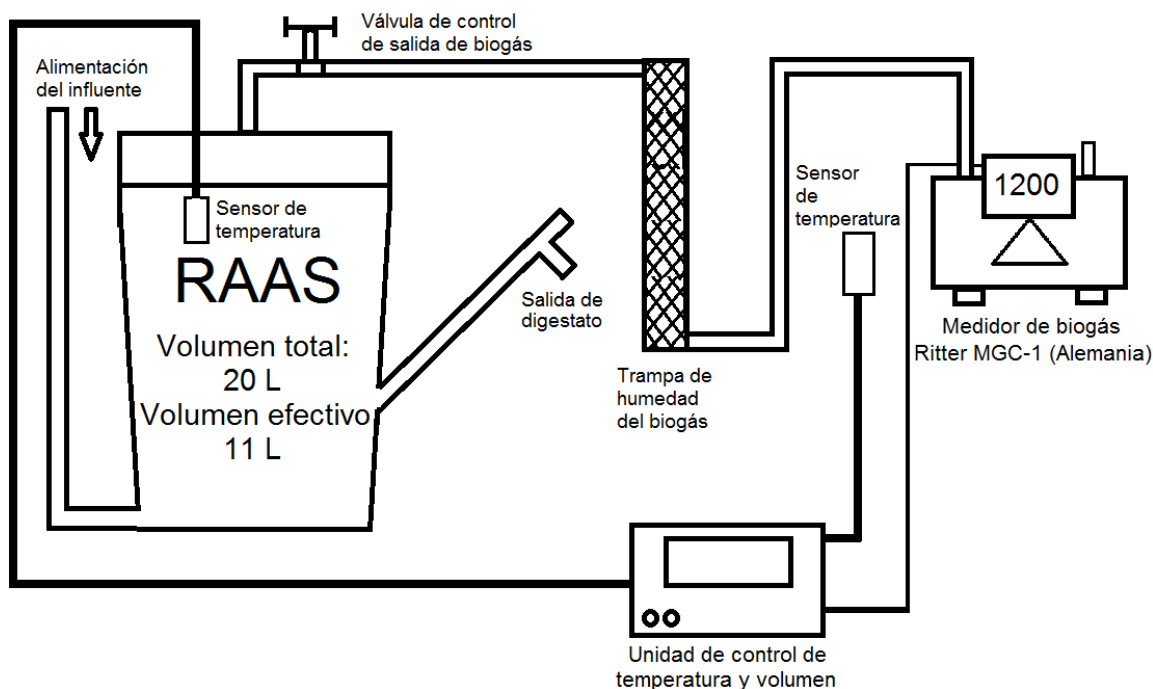


Figura 5. Ensamble de los RAAS. La unidad de control monitoreó las temperaturas del reactor y la del ambiente, las cuales presentaron diferencias mínimas (<1 °C) entre sí.

Cuantificación del biogás y unidad de control de temperatura

La cuantificación del biogás se realizó con medidores Ritter Milligascounter MGC-1 (Bochum, Alemania). Se recomienda el uso de este tipo de medidores para flujos de biogás pequeños. El principio de medición de biogás de los medidores (**Figura 6**) se describe a continuación.

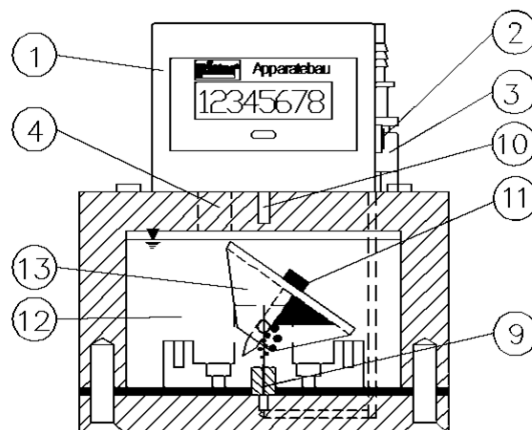


Figura 6. Medidor de biogás Ritter MGC-1 (tomado del manual de operación del equipo 05.14 / V 3.4 / Rev. 07-2016), donde: 1. Unidad de conteo; 2. Socket de señal de salida; 3. Boquilla de entrada de biogás; 4. Boquilla de salida de biogás; 9. Tubo microcapilar; 10. Sensores magnéticos (contactos reed); 11. Magneto permanente; 12. Caja del líquido de empaque; 13. Celda de medición

1. El gas por cuantificar fluye a través de la boquilla de entrada de biogás (3), por medio del tubo microcapilar (9) localizado en la base del MGC-1, hacia la caja del líquido de empaque (HCl 1.8%) (12).
2. El gas sube en forma de pequeñas burbujas a través del líquido de empaque hacia la celda de medición (13). La celda de medición consiste en dos cámaras medidoras las cuales se llenan alternadamente con las burbujas de biogás. Cuando una celda se llena, la flotación de la cámara causa que la celda de medición se incline abruptamente hacia el otro lado, ocasionando que la segunda cámara comience a llenarse y la primera se vacíe.
3. La medición del volumen de biogás ocurre en pasos discretos al contar las inclinaciones de la celda de medición (13) con una resolución de 3.23, 3.29, 3.21, 3.21 y 3.23 mL para los cinco medidores con los que se cuenta (según la hoja de calibración de cada equipo).
4. El proceso de inclinaciones de la celda de medición crea un pulso, por medio del magneto permanente (11) arriba de la celda de medición y uno de los dos sensores magnéticos (contactos reed) (10). Este pulso se registra en la unidad de conteo (1)
5. Para el registro externo de los datos, los pulsos magnéticos son enviados hacia una unidad de control por medio de un cable conectado al socket de salida de la señal (2).
6. El gas medido sale a través de la boquilla de salida del biogás (4).

El líquido de empaque de los medidores MGC-1 que se empleó fue una solución de ácido clorhídrico (HCL) al 1.8%. Esta solución ácida evita la solubilización del CO₂ del biogás en el medio de empaque. De esta forma, la lectura del medidor reporta producción total de biogás y no de CH₄ solamente.

Se implementó un sistema de eliminación de humedad residual del biogás a la salida del RAAS y antes del medidor MGC-1. El dispositivo consistió en una columna de tubo de PVC de ¾" de diámetro y 20 cm de altura, rellena con sílica gel previamente desecada en estufa a 120 °C por durante al menos 6 h. A través de la columna se hizo fluir el biogás inmediatamente después de la salida del digestor con dirección a los medidores de biogás MGC-1. La sílica gel gastada fue reemplazada cada 60 días. Una unidad de control basada en un sistema electrónico de código abierto (ARDUINO) se utilizó para la detección de las señales provenientes de los medidores Ritter MGC-1 y para la determinación de la temperatura del reactor y la temperatura ambiente.

Inoculación de los RAAS

Como inóculo de los RAAS se utilizó una mezcla en proporción 50 % / 50 % de dos lodos anaerobios. El primero, un lodo anaerobio procedente de un reactor de tipo UASB que trató agua residual de una industria chocolatera a baja temperatura (Esparza-Soto et al., 2011b; Esparza-Soto et al., 2013). El segundo, un lodo anaerobio procedente de un digestor de 80 L de volumen, el cual trató una CoD de ROC con LBP a baja temperatura. En la **Tabla 7** se muestran los resultados de la caracterización fisicoquímica del inóculo.

Tabla 7. Caracterización fisicoquímica del inóculo (lodo anaerobio) para los cinco RAAS

Parámetro	Unidades	Valor
ST	g-ST/L	44.06
SV	g-SV/L	26.67
Relación SV/ST	%	0.60
SV por unidad de masa húmeda	g-SV/kg-MH	26.84
pH	-	8.21
Temperatura	° C	18.45

Operación y monitoreo de los RAAS

Los RAAS fueron operados y monitoreados en tres etapas experimentales. La primera etapa (del día 0 al 275) donde se realizó la alimentación con el sustrato sintético descrito previamente. La segunda etapa (día 276 al 381) donde se suspendió la alimentación de

sustrato sintético y se inició la alimentación con residuos típicos de cocina (frutas fermentadas, cáscaras, semillas, tallos y hojas). Finalmente, la tercera etapa que consistió en el reinicio de los RAAS, luego de presentarse una acidificación en la segunda etapa experimental. El modo de operación de los RAAS fue similar al de una fosa séptica con sello hidráulico permanente. Al momento de la alimentación, la válvula de flujo de biogás fue cerrada con la intención de mantener el sello hidráulico constante dentro del reactor. De esta forma la alimentación de sustrato se llevó a cabo de manera simultánea con la colección del efluente. La alimentación de los RAAS se llevó a cabo una vez al día, de lunes a sábado, entre las 9:30 y 10:30 de la mañana. Diariamente se monitorearon los parámetros de pH, temperatura, P_{BG} , R_{BG} , P_{CH4} , R_{CH4} , ST, SV y SF en el influente y efluente de cada uno de los RAAS. De manera periódica, se realizó la apertura de los RAAS para la evaluación de los ST, SV y SF de la cama de lodos.

Los RAAS fueron alimentados con el mismo sustrato (CoD₂), pero con Q de alimentación variable, lo que generó COV_{apl} diferentes para cada etapa experimental (**Tabla 8**). La concentración (C_0) de la CoD₂ fue de 65.96 ± 8.99 , 66.62 ± 12.83 y 68.39 ± 10.48 g-SV/kg-MH para la primera, segunda y tercera etapas experimentales, respectivamente.

Tabla 8. COV_{apl} para cada uno de los cinco RAAS durante las tres etapas experimentales

	* COV_{apl} , g-SV _{agr} /L.d				
	RAAS ₄₀	RAAS ₆₀	RAAS ₈₀	RAAS ₁₀₀	RAAS ₁₂₀
1ª etapa experimental	1.65 ± 0.22	1.06 ± 0.14	0.82 ± 0.11	0.65 ± 0.09	0.53 ± 0.07
2ª etapa experimental	1.66 ± 0.32	1.07 ± 0.21	0.83 ± 0.16	0.65 ± 0.13	0.53 ± 0.10
3ª etapa experimental	1.71 ± 0.26	1.10 ± 0.17	0.85 ± 0.13	0.67 ± 0.10	0.55 ± 0.08

* $COV_{apl} = C_0 / TRH$

Determinación del tiempo de retención de sólidos (TRS)

Con los datos de SV de la cama de lodos y del efluente de cada RAAS, se realizó la determinación del TRS para cada periodo con la ecuación [4]:

$$TRS = \frac{X_r V_R}{X_e Q_e} \quad [4]$$

En donde TRS = tiempo de retención de sólidos (d); X_r = concentración promedio de SV durante cada periodo de muestreo de la cama de lodos de cada RAAS (g-SV/L); V_R = volumen del reactor (L); X_e = concentración promedio de SV en el efluente del reactor

durante cada periodo de muestreo de la cama de lodos (g-SV/L) y Q_e = gasto o caudal del efluente (L/d).

Balance de sólidos (SV y SF) y producción de metano (P_{CH_4}) teórica

Con los datos colectados se realizó el balance de SV y SF alrededor de cada RAAS. Para el balance de SF se consideró que todos los SF de entrada fueron iguales a los de salida, más la acumulación/reducción de SF en la cama de lodos. Se utilizaron las ecuaciones [5 – 8] para el balance de SF:

$$\dot{m}SF_{in} = \Delta\dot{m}SF_{CL} + \dot{m}SF_{ef} \quad [5]$$

$$\dot{m}FS_{in} = Q \times [SF_{in}] \quad [6]$$

$$\dot{m}FS_{ef} = Q \times [SF_{ef}] \quad [7]$$

$$\Delta\dot{m}FS_{CL} = P \times V_R \quad [8]$$

En donde $\dot{m}SF_{in}$ es flujo másico de SF de entrada (g-SF/d); $\Delta\dot{m}SF_{CL}$ es la variación diaria de SF en la cama de lodos (g-SF/d); $\dot{m}SF_{ef}$ es el flujo másico de SF en la salida (g-SF/L); Q es el gasto o caudal de entrada y salida (L/d); $[SF_{in}]$ es la concentración de SF en el influente de cada RAAS (g-SF/L); $[SF_{ef}]$ es la concentración de SF en el efluente de cada RAAS (g-SF/L); P es la pendiente obtenida al graficar los SF de la cama de lodos en función del tiempo durante todas las etapas experimentales (g-SF/L.d) y V_R es el volumen del reactor (L).

El balance de SV se realizó a partir de la ecuación [9], asumiendo que los SV de entrada son iguales a los SV en el efluente, la acumulación/reducción de SV en la cama de lodos y los SV transformados a CH_4 :

$$\dot{m}SV_{in} = \dot{m}SV_{ef} \pm \dot{m}VS_{CL} + \dot{m}SV_{CH_4} \quad [9]$$

Despejando el flujo másico de SV transformados a CH_4 de [9], se tiene la ecuación [10]:

$$\dot{m}SV_{CH_4} = \dot{m}SV_{in} - \dot{m}SV_{ef} \pm \dot{m}VS_{CL} \quad [10]$$

Cada uno de los elementos del balance de SV se calcularon con las ecuaciones [11 – 13]:

$$\dot{m}SV_{in} = Q \times [SV_{in}] \quad [11]$$

$$\dot{m}SV_{ef} = Q \times [SV_{ef}] \quad [12]$$

$$\dot{m}SV_{CL} = P \times V_R \quad [13]$$

Donde $\dot{m}SV_{CH_4}$ es el flujo másico de SV transformados a biogás (g-SV/d); $\dot{m}SV_{in}$ es el flujo másico de SV en la entrada (g-SV/d); $\dot{m}SV_{ef}$ es el flujo másico de SV en la salida (g-SV/d); $\Delta\dot{m}SV_{CL}$ es la variación de SV en la cama de lodos respecto al tiempo (g-SV/d); Q es el gasto o caudal de entrada y salida (L/d); $[SV_{in}]$ es la concentración de SV en el influente de cada RAAS (g-SV/L); $[SV_{ef}]$ es la concentración de SV en el efluente de cada RAAS (g-SV/L); P es la pendiente obtenida al graficar los SV de la cama de lodos en función del tiempo de operación durante todas las etapas experimentales (g-SV/L.d) y V_R es el volumen del reactor (L).

Los $\dot{m}SV_{CH_4}$ se convirtieron a L_{CH_4}/d con la ecuación [14]:

$$P_{CH_4}^{Teo} = \dot{m}SV_{CH_4} \left(\frac{g-SV}{d} \right) \times 1.44 \frac{g-DQO}{g-SV} \times 0.35 \frac{L_{CH_4}}{g-DQO} \quad [14]$$

Donde $P_{CH_4}^{Teo}$ es la P_{CH_4} teórica a condiciones estándar de temperatura (0 °C) y presión (1 atm) (L_{CH_4}/d); 1.44 g-DQO/g-SV y 0.35 $L_{CH_4}/g-DQO$ son factores de conversión.

La P_{CH_4} teórica también se determinó con la ecuación [15] del CH_4 teórico (Metcalf & Eddy, 2003), la cual considera la fracción de DQO removida (DQO_{rem}) que se utiliza para la formación de nuevos microorganismos anaerobios.

$$P_{CH_4}^{Teo} = \frac{nRT}{P} \times \frac{\text{mol } CH_4}{64g-DQO_{rem}} \times [Q \times (C_0 - C_e)] \times \left[1 - \frac{1.44 \times Y_{obs}}{1 + kd \times TRS} \right] \quad [15]$$

Donde $P_{CH_4}^{Teo}$ es la P_{CH_4} teórica a condiciones estándar de temperatura (0 °C) y presión (1 atm) (L_{CH_4}/d); n es el número de moles de CH_4 ; R es la constante universal de los gases (0.0820857 atm.L/mol.K); T es la temperatura de operación (K); P es la presión atmosférica de operación (atm); Q es el caudal de operación (L/d); C_0 y C_e son las concentraciones de DQO_T en el influente y efluente de cada RAAS, respectivamente (g-DQO/L); 1.44 es el factor de conversión de DQO a biomasa anaerobia (1.44 g-DQO_{rem}/g-SV); Y_{obs} es el rendimiento bacteriano observado (g-SV/g-DQO_{rem}); kd es la constante de decaimiento endógeno de la biomasa anaerobia (1/d) y TRS es el tiempo de retención de sólidos calculado con la Ecuación [4] (d).

La constante kd fue corregida por la temperatura con la ecuación de Arrhenius [16]:

$$kd_C = kd \times \theta^{T-35} \quad [16]$$

Donde kd_C es la constante kd corregida por temperatura (1/d); θ es una constante de la ecuación (1.057) y T es la temperatura de operación (°C).

Rendimiento bacteriano observado (Y_{obs})

Con los valores de SV de la cama de lodos y los efluentes de cada uno de los RAAS, se determinó Y_{obs} por medio de las ecuaciones [17 – 20]:

$$Y_{obs} = \frac{\Delta X_R + \Delta X_e}{\Delta DQO_{rem}} \quad [17]$$

$$\Delta X_R = V_R \times (X_{Rf} - X_{R0}) \quad [18]$$

$$\Delta X_e = Q_e \times X_e \times T \quad [19]$$

$$\Delta DQO_{rem} = Q_e \times DQO_{SV_{rem}} \times T \quad [20]$$

Donde Y_{obs} : es el rendimiento bacteriano observado (g-SV/g-DQO_{rem}); ΔX_R : es la variación de los SV dentro de la cama de lodos del reactor (g-SV); ΔX_e : es la cantidad total de SV fugados en el efluente del reactor (g-SV); V_R : es el volumen del reactor (L); X_{R0} : es la concentración de SV en la cama de lodos al inicio de un periodo de tiempo específico (g-SV/L); X_{Rf} : es la concentración de SV en la cama de lodos al final de un periodo de tiempo específico (g-SV/L); Q_e : es el gasto o caudal del efluente (L/d); X_e : es la concentración promedio de SV en el efluente (g-SV/L); T : es el número de días en los que se alimentó el reactor (d); $\square DQO_{rem}$ son los g de DQO removidos en cada RAAS (g-DQO_{rem}); $DQO_{SV_{rem}}$: es la concentración de DQO atribuida a los SV removidos en el reactor (g-DQO_{SV_{rem}}/L), que se obtuvo al multiplicar la concentración de SV removidos en el RAAS (g-SV_{rem}/L) por el factor de conversión de 1.44 g-DQO/g-SV_{rem}.}}

Caracterización por espectrometría de fluorescencia

Se realizó la caracterización de las fracciones solubles del sustrato y de los efluentes de los cinco RAAS por medio de la espectrometría de fluorescencia. Para ello, se colectaron muestras de 50 mL de volumen del influente y de los efluentes de los cinco RAAS diariamente para formar muestras compuestas semanales. La muestra compuesta de sustrato fue centrifugada a 90 rpm durante 25 minutos para lograr la separación de las fracciones soluble y particulada. Por otro lado, las muestras de los efluentes fueron centrifugadas a 3000 rpm durante 25 minutos para separar las fracciones del digestato. Los sobrenadantes de ambas muestras se filtraron al vacío con filtros de fibra de vidrio (GF/C, Whatman, EUA). Las muestras filtradas se almacenaron en viales de cristal ámbar de 40 mL. Se determinó la demanda química de oxígeno soluble (DQO_s) de las muestras filtradas por el método de reflujo cerrado (método 435, DQO de alto rango, HACH Co., EUA). Posteriormente se realizaron diluciones de las muestras a 10 mg/L de DQO_s con agua

desionizada. Se adicionaron 20 μL de H_2SO_4 concentrado previo al análisis espectrofotométrico.

Métodos analíticos

- La DQO (total y soluble) se determinó utilizando el kit HACH, método 435 para DQO de 20 – 1,500 mg/L (APHA, 2012); se utilizó un digestor marca HACH modelo DRB 200 y para las lecturas un espectrofotómetro marca HACH UV-Vis modelo DR 6000.
- Los ST, SV y SF se determinaron con el método 1684 (modificado) para ST, SV y SF en agua, sólidos y biosólidos (EPA, 2001).
- El pH se determinó con un potenciómetro portátil (modelo Pro10, YSI, EUA).
- La temperatura se determinó por medio de los sensores Ds18b20 conectados a la unidad de control con sistema ARDUINO.
- El nitrógeno total Kjeldahl se determinó de acuerdo con la NOM-021-SEMARNAT-2000.
- El carbono orgánico total (COT) se determinó por medio de un Analizador de COT por combustión para muestras sólidas (modelo 1020A, O•I•Analytical, EUA).
- Para el análisis espectrofotométrico de fluorescencia se realizaron MEE-3D en un espectrofotómetro de fluorescencia (modelo LS-55, Perkin Elmer, EUA), equipado con una lámpara de xenón de 150 watts. El espectrofotómetro se controló con el software FL-WINLAB desde una computadora de escritorio. Las MEE-3D se realizaron siguiendo las indicaciones de Esparza-Soto et al. (2011a) y consistieron en 45 escaneos de emisión (de 250 a 600 nm) colectados en un rango longitudes de onda de excitación de 200 a 420 nm con incrementos de 5 nm. El ancho de las aberturas para la excitación y emisión se fijaron en 10 nm. La velocidad de escaneo se fijó en 1500 nm/min.

RESULTADOS

Caracterización de sustratos

Los parámetros de caracterización de las muestras analizadas se reportaron con base en la MH debido a la practicidad que esto representa, ya que la alimentación del sustrato en los reactores del PBM y en los RAAS se realizó en fase semisólida. En la **Tabla 9** se muestran los resultados de los parámetros (SV y DQO_T) obtenidos a partir de las pruebas de laboratorio.

Tabla 9. Valores de SV y DQO_T para la caracterización de los sustratos, CoDs e inóculo

Muestra	SV		DQO _T	
	g-SV/L	g-SV/kg-MH	g-DQO _T /L	g-DQO _T /kg-MH
ROC-CAR1	90.02	88.43	136.07	133.68
ROC-CAR2	93.39	89.56	132.50	127.07
ROC-CAR75%	78.60	77.62	113.00	111.59
ROC-CAR50%	65.89	64.81	89.20	87.73
LBP-CAR	8.17	7.87	12.16	11.71
CoD-CAR75/25	25.00	24.67	36.20	35.72
CoD-CAR50/50	50.52	47.60	62.20	58.61
CoD-CAR25/75	70.73	68.71	106.80	103.75
Inóculo-CAR	19.20	19.08	37.60	37.38

Como se puede ver en la **Tabla 9** existe una diferencia mínima (0 – 4%) entre los valores de concentración por unidad de volumen (L) y por unidad de masa (kg-MH). Esto se debe a la densidad aparente (0.98 ± 0.03 kg/L medida en el laboratorio) la cual se encuentra muy cercana a la unidad, por lo que la diferencia entre cada par de valores no es significativa.

Para verificar la metodología empleada en el laboratorio, se correlacionaron los valores volumétricos de DQO_T con los gravimétricos de SV; dicha correlación se muestra en la **Figura 7**.

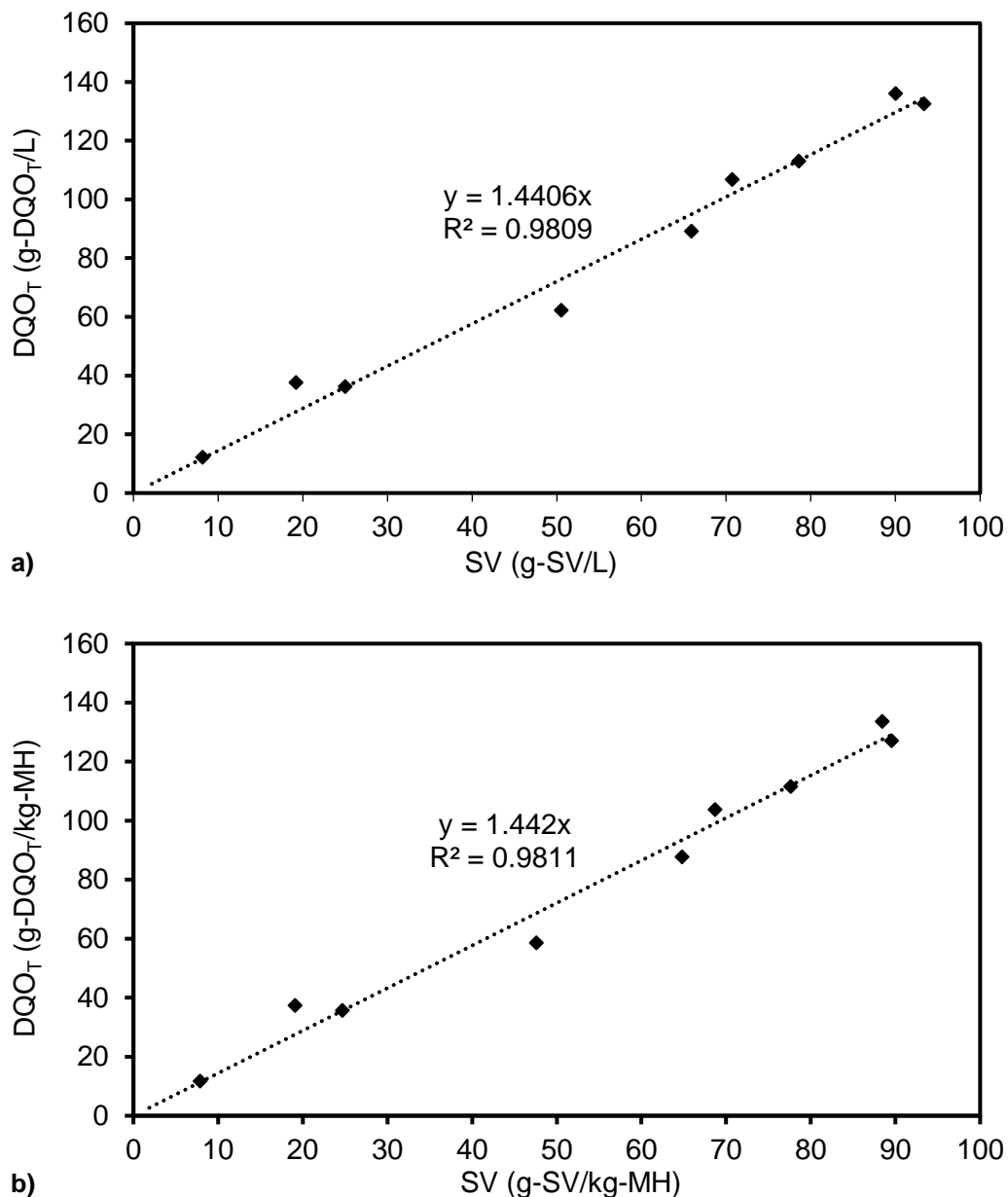


Figura 7. Correlaciones de SV y DQO_T para: a) concentración de SV en función de la MH; y b) concentración de SV en función del volumen (L).

Como se puede observar en la **Figura 7a)** y **b)**, ambas correlaciones muestran un valor de R^2 superior a 0.98, lo cual es evidencia de la alta correlación entre los valores de DQO_T y SV. Por otro lado, la pendiente de la regresión (1.44 en ambos casos) representa la equivalencia de DQO_T de los SV y viceversa. El valor de 1.44 g- DQO_T /g-SV es muy similar al obtenido por Nielfa et al. (2015) de 1.37 g- DQO_T /g-SV, al valor utilizado por Guo et al. (2013) de 1.41 g- DQO_T /g-SV e incluso similar a la DQO teórica de la biomasa (1.42 g- DQO_T /g-SSV) propuesto por Metcalf y Eddy (2004). Los valores son similares aun cuando

los sustratos (materia orgánica biodegradable y microorganismos) son diferentes. Este valor (1.44 g-DQO_T/g-SV) fue empleado como factor de conversión durante la presente investigación.

Los resultados de los análisis fisicoquímicos realizados a los sustratos individuales y las CoDs que se emplearon en las pruebas de **PBM** se muestran en la **Tabla 10**.

Tabla 10. Resultados de la caracterización fisicoquímica de los diferentes sustratos para la prueba del PBM

Parámetro	Unidad	ROC _{-PBM}	LBP _{-PBM}	CoD1 _{-PBM}	CoD2 _{-PBM}
DQO _s	g/L	-	-	-	40.48 ± 8.72
DQO _T	g/L	111.95 ± 10.46	91.82 ± 9.38	98.90 ± 8.52	104.9 ± 9.21
ST	g-ST/kg-MH	88.76 ± 4.05	89.54 ± 3.58	87.52 ± 3.75	81.86 ± 6.68
SV	g-SV/kg-MH	77.74 ± 6.84	63.76 ± 6.52	68.45 ± 6.13	72.85 ± 6.40
SV/ST	%	87.55 ± 6.4	71.20 ± 3.52	78.21 ± 1.05	89.00 ± 0.03
pH	-	4.40 ± 0.19	8.62 ± 0.36	5.85 ± 1.20	6.20 ± 0.95
C/N	-	13.26 ± 2.21	4.89 ± 0.26	7.82 ± 1.08	10.24 ± 1.26

Se observa por la relación SV/ST (87.55, 71.20, 78.21 y 89.00% para ROC_{-PBM}, LBP_{-PBM}, CoD1_{-PBM} y CoD2_{-PBM}, respectivamente) que los cuatro sustratos contienen un porcentaje bajo de sólidos fijos (< 30%), por lo que poseen un alto contenido de materia orgánica biodegradable. Se ha reportado en la literatura relaciones SV/ST similares a las de los sustratos empleados en la presente investigación. Por ejemplo, en el trabajo realizado por Fitamo et al. (2016), la relación SV/ST se ubicó en un rango de 70.93 hasta 88.50%, cuando realizaron la CoD de lodo primario y secundario de una planta de tratamiento de aguas residuales con residuos de comida de una cafetería y de jardinería.

Por otro lado, Zamanzadeh et al. (2016), quienes realizaron la DA de residuos de comida, obtuvieron una relación SV/ST de 90.0% para su sustrato. Aun cuando en la presente investigación se trabajó con el sustrato ROC sintético, la relación SV/ST es muy similar a la determinada por Fitamo et al. (2016) y Zamanzadeh et al. (2016), quienes realizaron la digestión de residuos orgánicos de comida.

Respecto al pH se observa que hay variaciones significativas entre cada sustrato. Para el caso del LBP_{-PBM} el pH fue de 8.62 ± 0.36, mientras que para el sustrato ROC_{-PBM} el pH fue de 4.40 ± 0.19 sin la adición de NaHCO₃. El pH del sustrato ROC_{-PBM} puede considerarse bajo, pues en la literatura se recomienda un rango de pH óptimo de 6.5 a 7.6 para garantizar

la supervivencia de los microorganismos metanogénicos (Rittmann y McCarty, 2001). Sin embargo, en la mayoría de las investigaciones donde se aplica la CoD no se hace mención del control del pH.

Koch et al. (2016) realizaron pruebas de PBM empleando la CoD de ROC y lodo primario mezclado con lodo secundario de una planta de tratamiento de aguas residuales. El pH del LBP fue de 6.33, mientras que de los ROC fue de 5.06. A pesar de estas condiciones de pH, en las pruebas de PBM no se mostraron problemas de inhibición causadas por el efecto de este parámetro. Sin embargo, al tratarse de una prueba en lotes, se puede descartar la acumulación de AGV's pues no existe una alimentación continua de sustrato.

Para evitar una posible acidificación de los reactores del PBM y de los RAAS (en los que la alimentación es semicontinua) se optó por adicionar 6.67 g/L de NaHCO_3 al sustrato ROC en las pruebas del PBM. En el caso de los RAAS, la adición de NaHCO_3 se redujo gradualmente hasta eliminarla del sustrato ROC durante la primera etapa experimental, con la finalidad de evitar el uso de reactivos químicos para el control del pH.

En la **Tabla 10** se muestran las relaciones C/N de cada sustrato, las cuales fueron de 13.26 ± 2.21 , 4.89 ± 0.26 , 7.82 ± 1.08 y 10.24 ± 1.26 para ROC-PBM, LBP-PBM, CoD1-PBM y CoD2-PBM, respectivamente. Se puede observar que la relación C/N es mayor en el sustrato ROC-PBM que en el LBP-PBM, lo cual coincide con lo reportado en otras investigaciones (Hassan et al., 2016; Nielfa et al., 2015). En el caso de la CoD2-PBM, se puede observar que la relación C/N (10.24) se aleja del rango propuesto como ideal ($15 < \text{C/N} < 40$) para garantizar el balance de nutrientes para los microorganismos anaerobios y disminuir el riesgo de acidificación de los reactores (Fitamo et al., 2016; Hassan et al., 2016; Nielfa et al., 2015). Sin embargo, como se discutirá más adelante, no se observaron problemas en el desempeño de los reactores del PBM ni en los RAAS cuando se alimentaron con la CoD2.

Resulta importante señalar el contenido de DQO_s de la CoD2 (40.48 ± 8.72 g/L), que representa el 38.6% de la DQO_T (104.9 ± 9.21 g/L), ya que las reacciones biológicas del metabolismo de los microorganismos ocurren en la fase líquida-soluble (Li et al., 2014). De esta forma, cerca del 40% de la materia orgánica disponible en el sustrato es de naturaleza rápidamente biodegradable. Esta característica promovió un comportamiento distintivo en las gráficas del PBM, que se discuten a continuación.

Pruebas del PBM

La prueba del PBM tuvo una duración de 130 días, momento en el que se cumplió la condición establecida por la ecuación [1]. En la **Tabla 11** se muestran las condiciones de la prueba del PBM para todos los sustratos analizados.

Tabla 11. Condiciones del experimento para la prueba de PBM

	Prueba de PBM						Relación I/S
	MH agregada		Concentración		Masa de SV agregada		
	Sustrato, kg-MH	Inóculo, kg-MH	Sustrato, g-SV/kg-MH	Inóculo, g-SV/kg-MH	Sustrato, g-SV	Inóculo, g-SV	
LBP-PBM	0.180	0.30	32.00	24.27	5.76	7.28	1.26
CoD1-PBM	0.131	0.30	50.59	24.27	6.63	7.28	1.10
CoD2-PBM	0.111	0.30	58.04	24.27	6.44	7.28	1.13
ROC-PBM	0.093	0.30	67.41	24.27	6.27	7.28	1.16
BCO-PBM	-	0.30	-	24.27	-	7.28	-

MH – Masa húmeda de sustrato y/o inóculo

La relación I/S se mantuvo en promedio en 1.16; se recomienda que esta relación no sea menor a 1 pues se pueden presentar problemas de acidificación o inhibición de la actividad metanogénica debido al exceso de sustrato con respecto al inóculo (Gao et al., 2015; Kawai et al., 2014; Raposo et al., 2011; Zeng et al., 2010). En la **Figura 8** se observan las gráficas del PBM para los sustratos y el blanco.

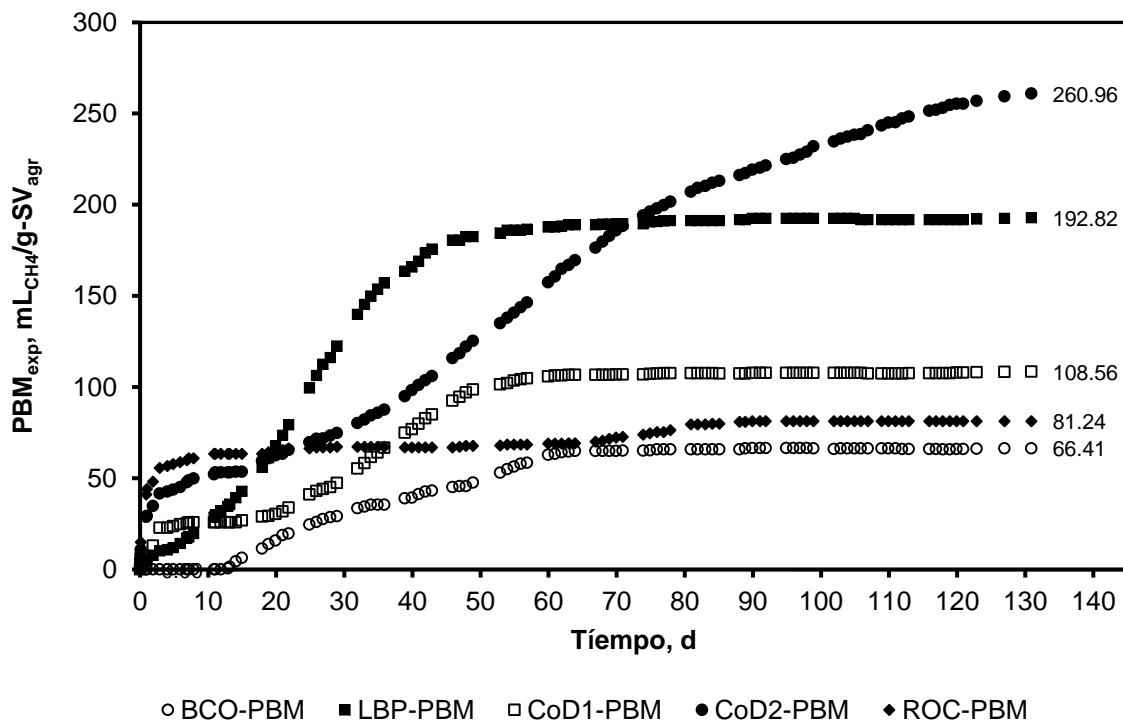


Figura 8. PBM_{exp} para los cuatro diferentes sustratos y blanco experimental

Al término de los 131 días los resultados del PBM (**Figura 8**) fueron 66.41, 192.82, 108.56, 260.96 y 81.24 mL_{CH₄}/g-SV_{agr} para BCO-PBM, LBP-PBM, CoD1-PBM, CoD2-PBM y ROC-PBM, respectivamente (a condiciones estándar de temperatura – 0 °C y presión – 1 atm). A simple vista se puede observar en la gráfica del PBM que el sustrato ROC-PBM tuvo un inicio súbito seguido de una interrupción prolongada de la P_{CH₄}. Este comportamiento fue indicativo de una inhibición de la actividad microbiana.

El PBM de ROC-PBM se detuvo en el día 25. Posteriormente se observa un reinicio en la P_{CH₄} a partir del día 50, llegando a un valor máximo en el día 88. Al finalizar la prueba se pudo comprobar que el pH disminuyó de 7.05 a 5.25. La acidificación inhibió la actividad de los microorganismos anaerobios y, como consecuencia, la P_{CH₄} se detuvo. Para las condiciones específicas de este experimento, una relación I/S resultó insuficiente para evitar la inhibición de los microorganismos anaerobios por acidificación. Relaciones I/S > 1 se podrían emplear, pero la disponibilidad de lodo anaerobio y su concentración de SV puede ser una limitante para alcanzar valores mayores a uno.

En la **Figura 8** también se observa que el PBM se incrementa a medida que aumenta la fracción de ROC en las CoD's (de 108.56 mL_{CH₄}/g-SV_{agr} en CoD1-PBM a 260.96 mL_{CH₄}/g-SV_{agr} en CoD2-PBM) siendo mayor en la CoD2-PBM (35% de LBP y 65% de ROC). El mayor

PBM se obtuvo con la CoD2-PBM, mientras que el menor fue para el sustrato ROC-PBM. Este comportamiento fue el esperado, pues se ha observado que las propuestas de CoD pueden mejorar la P_{CH_4} (Nielfa et al., 2015; Fitamo et al., 2016; Zamanzadeh et al., 2016). Los autores anteriores han atribuido el éxito de la CoD al mejoramiento de la relación C/N.

Analizando los valores de la relación C/N de los sustratos utilizados en esta investigación (**Tabla 10**), se puede observar que la relación C/N del LBP-PBM es baja (4.89) como se ha reportado en otras investigaciones (Nielfa et al., 2015; Fitamo et al., 2016). Sin embargo, la relación C/N del sustrato ROC-PBM (13.26) se encuentra muy cercana al rango bajo establecido en la bibliografía como el óptimo ($15 < C/N < 40$). Incluso la propuesta de CoD2-PBM provoca la disminución de la relación C/N (10.24), alejándola del rango mencionado. Por esta razón, es de suponer que el aumento en el PBM de la CoD2-PBM no fue influenciado por el mejoramiento de la relación C/N, sino por otros factores. Existe la posibilidad de que el LBP-PBM haya suplementado al sustrato ROC con diferentes compuestos nitrogenados, necesarios para un balance de nutrientes adecuado para llevar a cabo un proceso de DA eficiente (Mehariya et al., 2018).

Modelación matemática del PBM

Para comprender mejor la cinética de degradación en la prueba del PBM, se realizó el tratamiento de los datos para ajustar los resultados obtenidos a dos modelos cinéticos: MMG y MPO. Para el ajuste a los modelos cinéticos, se consideró lo siguiente:

- La modelación del PBM del sustrato LBP-PBM se realizó con la totalidad de los datos en ambos modelos cinéticos (MMG y MPO).
- Todos los datos de ROC-PBM se ajustaron a los dos modelos (MMG y MPO). Debido a la acidificación que tuvo lugar en este reactor, los valores de las constantes cinéticas de cada modelo son difíciles de interpretar.

El PBM experimental (PBM_{exp}) y el predicho por el MMG para el sustrato LBP-PBM se muestra en la **Figura 9a**). La predicción del MPO para el mismo sustrato se muestra en la **Figura 9b**). Por otro lado, en la **Figura 9c**) y **9d**) se muestran las predicciones del MMG y MPO para el sustrato ROC-PBM, respectivamente.

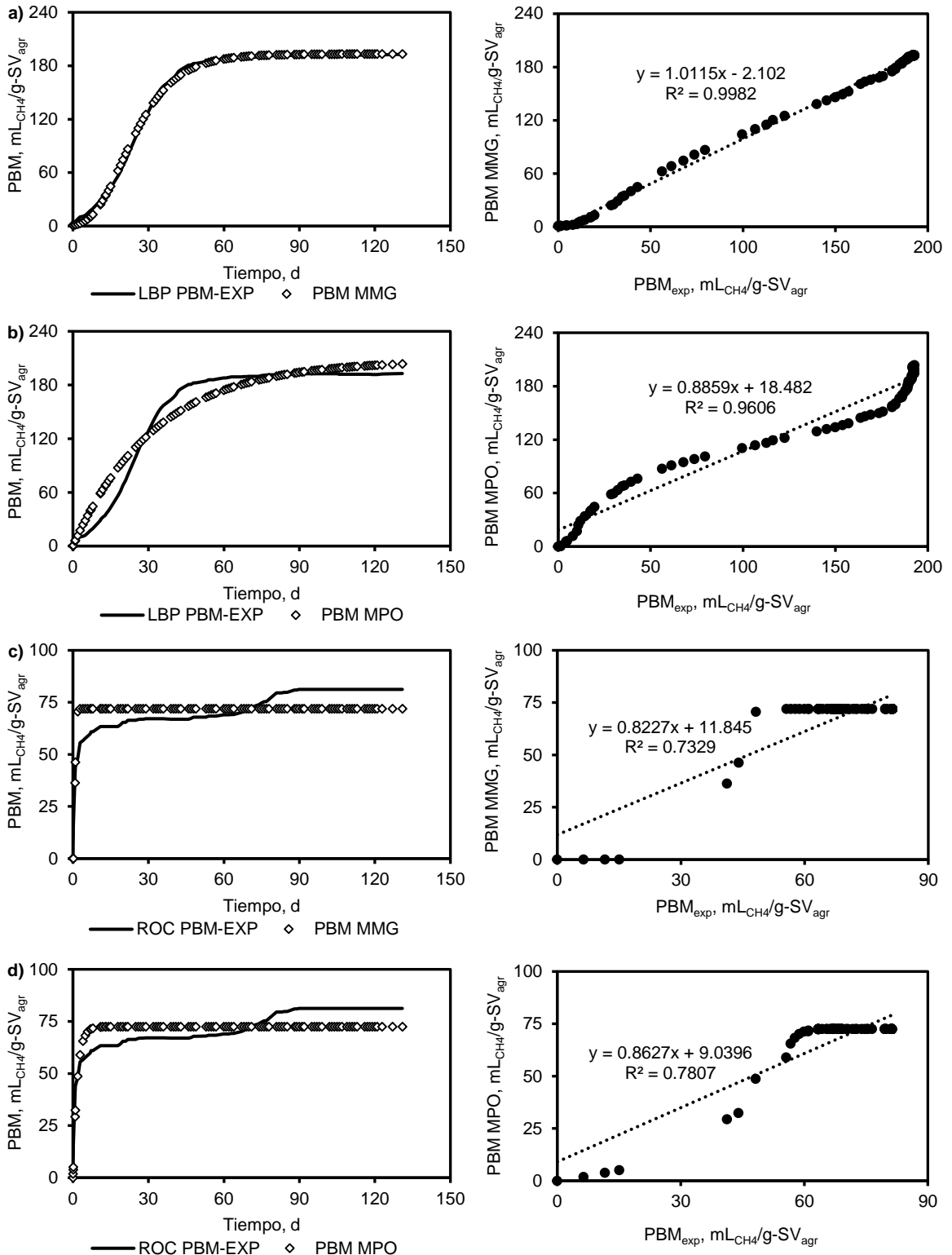


Figura 9. PBM_{exp} y modelado (izquierda) para: a) LBP_{-PBM} y MMG ; b) LBP_{-PBM} y MPO ; c) ROC_{-PBM} y MMG ; y d) ROC_{-PBM} y MPO . Las figuras de la derecha muestran las correlaciones entre el PBM_{exp} y el PBM predicho por cada modelo.

Como se observa en la **Figura 9a)**, el MMG respecto al PBM_{exp} del LBP- PBM tiene un coeficiente de correlación alto ($R^2 = 0.9982$). El MPO mostrado en la **Figura 9b)** también tiene un coeficiente de correlación alto ($R^2 = 0.9606$); sin embargo, gráficamente se puede notar que el MMG se ajusta mejor a los datos experimentales. Esto sugiere que la producción de CH_4 sigue el comportamiento típico de la cinética de Gompertz, en donde existe un periodo de adaptación al sustrato seguido de un crecimiento exponencial en la velocidad de producción de CH_4 . Finalmente, la producción de CH_4 se detiene en un valor máximo.

Es muy probable que la fase de adaptación se deba a que el inóculo que se utilizó en esta prueba provino de un reactor UASB, el cual estaba adaptado a la biodegradación de materia orgánica principalmente soluble. Pero en esta prueba de PMB, al tratarse de LBP, se requirió de una fase de adaptación del inóculo al nuevo sustrato. La fase de adaptación implicó realizar la hidrólisis de las células del LBP y liberación de los productos microbianos solubles (PMS), a partir de los cuales se generaron los AGV's y finalmente el biogás (CO_2 y CH_4).

Otros autores han realizado la modelación del PBM utilizando al menos uno de los dos modelos propuestos en la presente investigación. Kafle et al. (2013), Kafle y Chen (2016) y Matheri et al. (2016) reportaron que el MMG es ideal para la predicción del PBM con coeficientes de correlación R^2 superiores a 0.99, tal como se obtuvo en esta investigación.

En lo que respecta a la modelación del sustrato ROC_{-PBM} con el MMG [**Figura 9c)**] y el MPO [**Figura 9d)**] se puede observar gráficamente que ambos modelos presentan un ajuste similar a los datos experimentales. Sin embargo, al observar las correlaciones del PBM predicho por cada modelo cinético con el PBM_{exp} , se puede comprobar que los coeficientes de correlación son bajos ($R^2 = 0.7329$ y $R^2 = 0.7807$ para el MMG y el MPO, respectivamente). La baja correlación que existe en ambos modelos se debe a los problemas de acidificación que se mencionaron previamente. Al existir una acidificación del medio, la P_{CH_4} se detuvo abruptamente, por lo que la continuidad de las gráficas se vio afectada. Por esta razón, el ajuste de cualquier modelo a los datos experimentales es deficiente.

Por otro lado, en la **Figura 10** se muestran los resultados del PBM para la $CoD1_{-PBM}$. En los incisos a) y b) se muestran las predicciones de los modelos MMG y MPO, respectivamente, para los primeros 16 días de la prueba. Los incisos c) y d) muestran las predicciones de MMG y MPO, respectivamente, para los días 17 al 131.

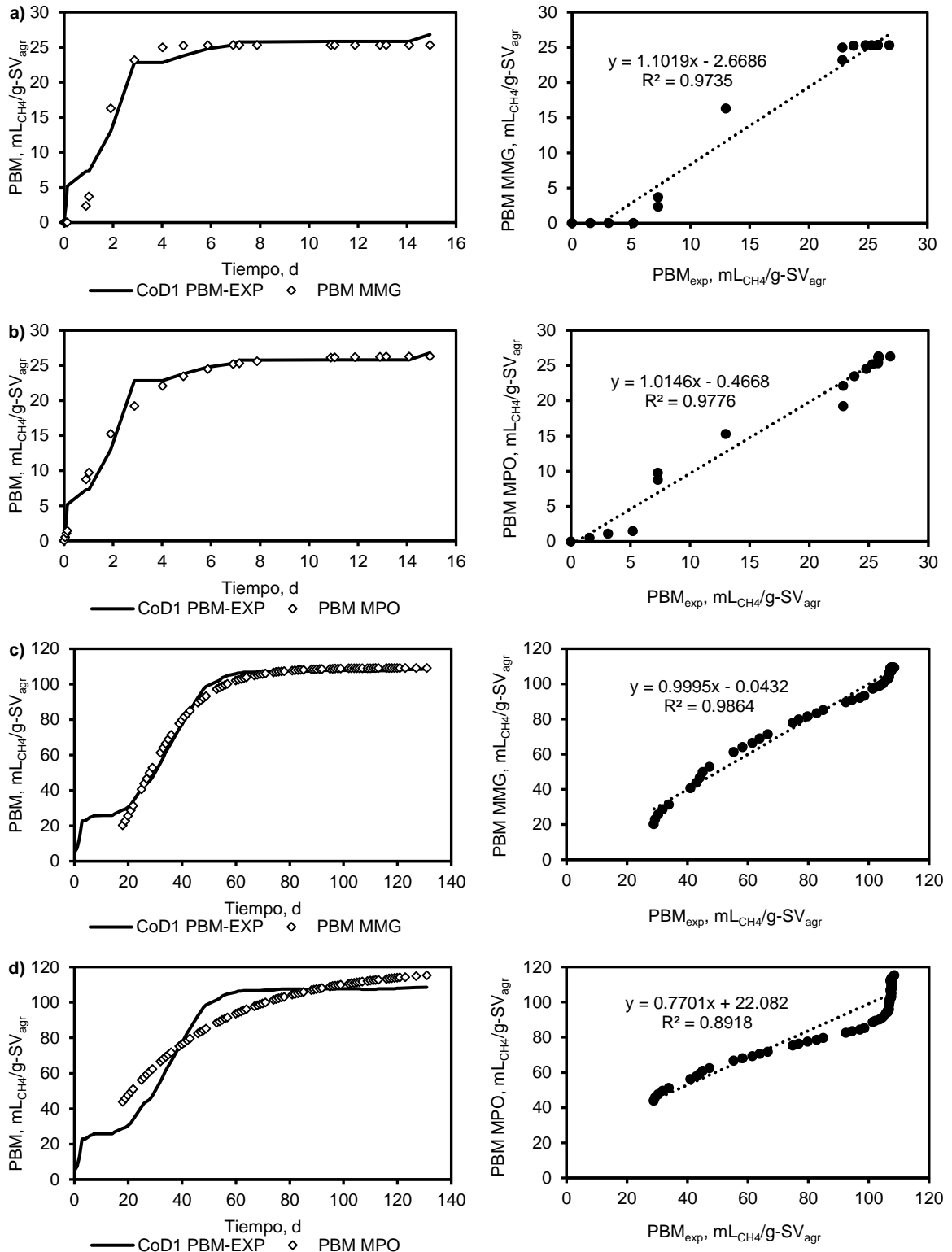


Figura 10. PBM_{exp} y modelado (izquierda) de la CoD1 para: a) día 0 – 16 con MMG; b) día 0 – 16 con MPO; c) día 17 – 131 con MMG; y d) día 17 – 131 con MPO. Las figuras de la derecha muestran las correlaciones entre el PBM_{exp} y el PBM predicho por cada modelo.

Como se puede apreciar en la **Figura 10a)** y **b)**, el MMG y el MPO se ajustan bien a los datos experimentales de los primeros 16 días de la prueba del PBM, con coeficientes de correlación R^2 de 0.9735 y 0.9776 para MMG y MPO, respectivamente. Considerando que el MPO se ajusta mejor a los datos experimentales, se puede decir que el PBM se comporta como una cinética de degradación de primer orden. Esto implica que el inicio de la P_{CH_4} es inmediato, lo cual es consistente con las fracciones solubles rápidamente biodegradables provenientes de los sustratos LBP y ROC en la CoD.

Sin embargo, es necesario aclarar que los coeficientes de correlación son muy similares, por lo que se puede pensar que el PBM también se comporta como una cinética de Gompertz. Esto sugiere que la etapa de adaptación podría ser considerada como la hidrólisis de la demanda química de oxígeno particulada (DQO_P) provenientes de cada sustrato (ROC y LBP) presentes en la CoD. Por lo tanto, es necesario evaluar los indicadores estadísticos de cada modelo para seleccionar el que mejor se ajuste a los datos experimentales. Esto se abordará más adelante con el análisis de las constantes cinéticas de la **Tabla 12** y la **Tabla 13**.

Por otro lado, en la **Figura 10c)** y **d)** se observan las predicciones de los modelos MMG y MPO para los días 17 al 131. De manera gráfica se puede ver que el MMG se ajusta mejor a los datos experimentales. Esto se ve reforzado con el coeficiente de correlación de $R^2 = 0.9864$ del MMG, contra $R^2 = 0.8918$ del MPO.

Asumiendo que durante los primeros 16 días se lleva a cabo la degradación de la materia orgánica rápidamente biodegradable (soluble) del sustrato, se esperaría que durante los días posteriores se lleve a cabo la degradación de la DQO_P de los sustratos en la CoD. Esto, como se ha discutido previamente, es consistente con la etapa de adaptación al sustrato descrita por el MMG, donde se estaría llevando a cabo la hidrólisis de la DQO_P . Esto explicaría por qué el MMG se ajusta mejor a los datos del PBM_{exp} .

En lo que respecta a la $CoD2_{-PBM}$, en la **Figura 11** se presentan los resultados del PBM_{exp} y el predicho por cada modelo cinético. Al igual que en la $CoD1_{-PBM}$, las gráficas del PBM se separaron en dos secciones: la primera del día 0 al 16 [**Figura 11a)** y **11b)**] y la segunda del día 17 al 131 [**Figura 11c)** y **11d)**].

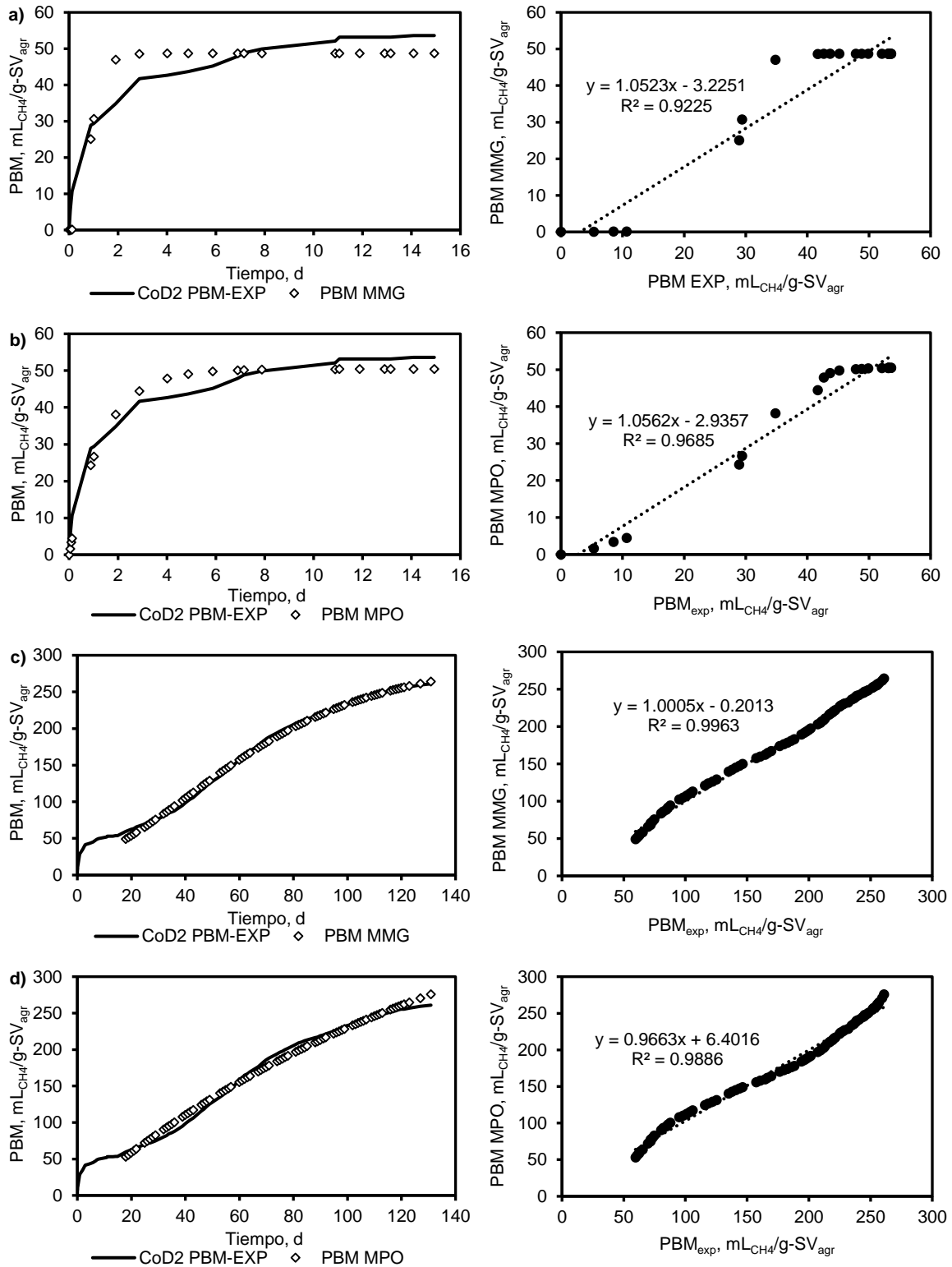


Figura 11. PBM_{exp} y modelado (izquierda) de la CoD2 para: a) día 0 – 16 con MMG; b) día 0 – 16 con MPO; c) día 17 – 131 con MMG; y d) día 17 – 131 con MPO. Las figuras de la derecha muestran las correlaciones entre el PBM_{exp} y el PBM predicho por cada modelo.

Al observar la **Figura 11** se pueden establecer las mismas tendencias de la $CoD1_{-PBM}$ para la $CoD2_{-PBM}$: los datos experimentales de los primeros 16 días de prueba se ajustan mejor al MPO, mientras que los datos del día 17 al 131 se ajustan al MMG.

En la **Tabla 12** y la **Tabla 13** se muestran las constantes cinéticas de cada modelo aplicado, así como los indicadores estadísticos de cada uno.

Tabla 12. Constantes cinéticas obtenidas del MMG y predicción del PBM. Se muestra el ECM y el coeficiente de correlación R^2

Muestra	Tiempo d	PBM _{exp} mL _{CH4} / g-SV _{agr}	G ₀ * mL _{CH4} / g-SV _{agr}	Diferencia** %	ECM	R2	Constantes cinéticas	
							R _{max} mL _{CH4} /g-SV _{agr} /d	λ d
BCO _{-PBM}	0-131	66.52	67.30	-1.16	2.20	0.9933	1.59	11.95
LBP _{-PBM}	0-131	192.82	193.07	-0.13	3.23	0.9982	6.17	7.80
CoD1 _{-PBM}	0-16	26.81	25.30	5.62	2.16	0.9735	15.46	0.81
CoD2 _{-PBM}	0-16	53.61	48.67	9.22	5.52	0.9225	51.70	0.40
ROC _{-PBM}	0-131	81.24	71.92	11.48	8.03	0.7329	92.07	0.49
CoD1 _{-PBM}	17-131	108.56	109.19	-0.58	2.90	0.9864	3.07	11.64
CoD2 _{-PBM}	17-131	260.96	293.43	-12.44	4.00	0.9963	2.70	1.18

* El parámetro G₀ representa la predicción del PBM obtenida con el modelo.

** La diferencia se calculó entre el parámetro G₀ y el PBM_{exp}; el signo positivo indica que el PBM_{exp} está por encima del parámetro G₀, mientras que el signo negativo, indica que se encuentra por debajo del G₀.

Tabla 13. Constantes cinéticas obtenidas del MPO y predicción del PBM. Se muestra el ECM y el coeficiente de correlación R^2

Muestra	Tiempo d	PBM _{exp} mL _{CH4} / g-SV _{agr}	G ₀ * mL _{CH4} / g-SV _{agr}	Diferencia** %	ECM	R2	Constantes cinéticas
							K d ⁻¹
BCO _{-PBM}	0-131	66.52	81.99	-23.25	6.29	0.9558	0.017
LBP _{-PBM}	0-131	192.82	207.39	-7.56	15.29	0.9606	0.031
CoD1 _{-PBM}	0-16	26.81	26.35	1.71	1.51	0.9776	0.455
CoD2 _{-PBM}	0-16	53.61	50.44	5.91	3.54	0.9685	0.741
ROC _{-PBM}	0-131	81.24	72.52	10.73	7.28	0.7807	0.584
CoD1 _{-PBM}	17-131	108.56	119.56	-10.13	8.77	0.8918	0.026
CoD2 _{-PBM}	17-131	260.96	478.21	-83.25	7.21	0.9886	0.007

* El parámetro G₀ representa la predicción del PBM obtenida con el modelo.

** La diferencia se calculó entre el parámetro G₀ y el PBM_{exp}; el signo positivo indica que el PBM_{exp} está por encima del parámetro G₀, mientras que el signo negativo, indica que se encuentra por debajo del G₀.

Comparando los datos de la **Tabla 12** con los de la **Tabla 13**, se observa que BCO_{-PBM} tiene un mejor ajuste al MMG ($R^2 = 0.9933$ y $ECM = 2.20$). Además, el G_0 difiere únicamente 1.16% del PBM_{exp} . La constante R_{max} del modelo indica una velocidad lenta de P_{CH_4} para BCP_{-PBM} ($1.59 \text{ mL}_{CH_4}/\text{g-SV}_{agr}/\text{d}$) en comparación con la misma constante en los demás sustratos. Debido a la ausencia de alimento, la P_{CH_4} corresponde únicamente al decaimiento endógeno de los microorganismos anaerobios. La constante λ (11.95 d) puede representar una aproximación del tiempo que tardan los microorganismos en liberar los PMS, a partir de los cuales se producen los AGV's y el biogás.

Al revisar los indicadores estadísticos para el LBP_{-PBM}, se observa que el modelo que mejor se ajusta al PBM_{exp} es el MMG (diferencia = -0.13%; $ECM = 3.23$; $R^2 = 0.9982$) en comparación con el MPO (diferencia = -7.56%; $ECM = 15.29$; $R^2 = 0.9606$). Con estas referencias, se confirma lo observado previamente en las curvas del PBM_{exp} y los modelos cinéticos.

En lo que respecta al sustrato ROC_{-PBM}, los indicadores estadísticos de la **Tabla 12** y la **Tabla 13** muestran los coeficientes de correlación más bajos ($R^2 < 0.78$) y ECM similares (8.03 y 7.28 para MMG y MPO, respectivamente). La constante R_{max} del MMG es elevada ($92.07 \text{ mL}_{CH_4}/\text{g-SV}_{agr}/\text{d}$) en comparación con la R_{max} de los demás sustratos. Dado que esta constante se obtiene a partir de la pendiente de la curva del PBM en su parte inicial, eso explica por qué su valor es elevado. Como se mencionó previamente, el sustrato ROC está compuesto por cerca del 40% de DQO_s . Por esta razón la parte inicial de la curva es pronunciada, ya que los microorganismos anaerobios degradan primeramente la fracción soluble, generando una gran cantidad de biogás al inicio de la prueba. Esta situación es similar para el MPO, en donde la constante K del modelo es alta (0.584 d^{-1}) en comparación con las constantes K de los demás sustratos.

Para las CoD 's, con los datos de la **Tabla 12** y la **Tabla 13** se reafirma lo que se observó en la **Figura 10** y la **Figura 11**. La primera sección de las curvas del PBM (día 0 – 16) se comporta como una cinética de primer orden ($R^2 > 0.96$), mientras que la segunda sección de la curva (día 17 – 131) se comporta como una cinética de Gompertz ($R^2 > 0.98$). Esto implica que, durante los primeros días de la prueba, la P_{CH_4} sea inmediata. Esto se debe a que ambas CoD 's tienen DQO_s suministrada por el sustrato ROC, la cual es fácilmente biodegradable para los microorganismos anaerobios. Por otro lado, durante los días posteriores de la prueba, la degradación es lenta debido a la presencia de DQO_p , siendo

necesaria una etapa de adaptación al sustrato para llevar a cabo la hidrólisis de dicha materia orgánica.

La constante K del MPO se incrementa de 0.455 a 0.741 d^{-1} para CoD1-PBM y CoD2-PBM, respectivamente. Esto coincide con el incremento de la fracción de ROC en cada CoD, del 35% en CoD1 al 65% en CoD2, lo que implica también un aumento en la fracción de DQO_S fácilmente biodegradable y una rápida P_{CH_4} . Por otro lado, la constante R_{max} del MMG disminuye de 3.07 a 2.70 $mL_{CH_4}/g-SV_{agr}/d$ para CoD1-PBM y CoD2-PBM, respectivamente. Esto pudo deberse a que, con el aumento de la fracción de ROC en la CoD, también se incrementó la DQO_P (lentamente biodegradable) en el alimento. De esta manera, la velocidad de P_{CH_4} es más lenta pues los microorganismos anaerobios deben invertir más tiempo en la hidrólisis del sustrato.

La constante λ del MMG disminuye de 11.64 d en CoD1 a 1.18 d en CoD2. Esta constante hace referencia a la etapa inicial de la curva, donde se degrada principalmente la DQO_S. Ya que la CoD2 tiene una mayor cantidad de DQO_S al contener una fracción mayor del sustrato ROC, la etapa de adaptación se reduce. Esta tendencia es similar para los primeros 16 días de la prueba, donde λ disminuye de 0.81 d en CoD1 a 0.40 d en CoD2, independientemente de que el PBM_{exp} se ajuste mejor al MPO que al MMG.

El hecho de que las constantes R_{max} y K sean mayores para el sustrato ROC-PBM en comparación con cualquiera de los otros sustratos (excepto K en CoD2-PBM, día 0 – 16), supone que con los ROC se obtendría una mayor cantidad de biogás y/o CH_4 . Sin embargo, ambas constantes representan únicamente la velocidad de producción de CH_4 . Considerando que el sustrato ROC por sí solo presenta problemas de acidificación del medio, la cantidad de biogás producida siempre sería menor. Esto se puede comprobar con la constante G_0 de cada modelo, donde independientemente del valor de las constantes cinéticas, la propuesta con mejor potencial para la P_{CH_4} es la CoD2.

En la **Tabla 14**, se muestra la relación entre el porcentaje de sustrato ROC (% ROC) en cada sustrato y las constantes cinéticas más representativas de cada modelo (R_{max} y K). Las constantes cinéticas de las CoD's para los días 17 – 131 se muestran por separado, ya que la curva del PBM_{exp} se dividió en dos secciones independientes.

Tabla 14. Porcentaje de ROC en cada sustrato y su relación con las constantes cinéticas

Muestra	% ROC	Tiempo d	Constantes cinéticas	
			R_{max} ml _{CH4} /g-SV _{agr} /d	K d ⁻¹
BCO-PBM	0	0 – 131	1.59	0.017
LBP-PBM	0	0 – 131	6.17	0.031
CoD1-PBM	35	0 – 16	15.46	0.455
CoD2-PBM	65	0 – 16	51.70	0.741
ROC-PBM	100	0 – 131	92.07	0.584

Por otro lado, en la **Figura 12** se presenta la correlación entre el % ROC y las constantes cinéticas.

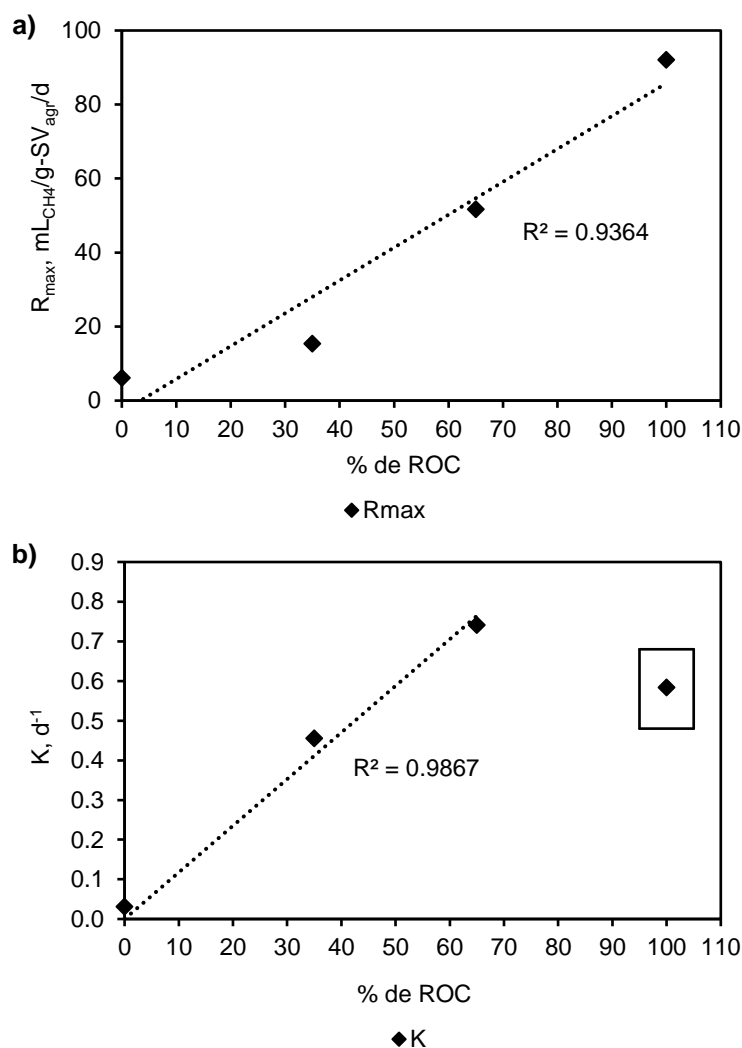


Figura 12. Correlación entre el % ROC en cada sustrato y las constantes cinéticas de: a) R_{max} (MMG) y b) K (MPO). No se incluyen las constantes cinéticas del BCO-PBM ni las de las CoD's de la segunda sección del PBM_{exp} (día 17 – 131), dado que se trata de secciones con comportamientos independientes. El valor de la constante encerrada en un recuadro no se incluyó en la regresión.

Como se ve en la **Figura 12**, las constantes R_{\max} y K se incrementan a medida que aumenta el % ROC en cada sustrato, lo que coincide con el aumento de la fracción de DQO_s rápidamente biodegradable. En la **Figura 12b**), la constante K del ROC-PBM (0.584 d^{-1}) no se ajusta a la regresión. Esto puede deberse a los problemas de acidificación que ocurrieron en el reactor durante la prueba del PBM. Eliminando este valor de la regresión, se observan coeficientes de correlación altos, $R^2 = 0.9364$ para R_{\max} y $R^2 = 0.9687$ para K .

Los valores obtenidos para la constante cinética R_{\max} se encuentran dentro del rango reportado en la literatura. Por ejemplo, Nielfa et al. (2015) reportó una R_{\max} entre 31.42 y 140.39 $\text{mL}_{\text{CH}_4}/\text{g-SV}_{\text{agr}}/\text{d}$ para la digestión de ROC, LBP y cuatro propuestas de CoD, mientras que Kafle y Chen (2016) reportaron valores de 5.5 a 25.2 $\text{mL}_{\text{CH}_4}/\text{g-SV}_{\text{agr}}/\text{d}$. Sin embargo, tanto Nielfa et al. (2015) como Kafle y Chen (2016) operaron sus reactores de PBM a 37 °C, mientras que en esta investigación la temperatura de operación fue de 20 °C. Es decir, los microorganismos anaerobios empleados en la presente investigación pueden comportarse de manera similar a microorganismos mesofílicos, sin necesidad de incrementar su temperatura de operación.

Kafle et al. (2013) reportaron valores para la constante K del MPO de 0.017 a 0.040 d^{-1} . Por otro lado, Kafle y Chen (2016) reportaron valores de la constante K de 0.0493 a 0.1196 d^{-1} . Estos valores se encuentran muy cercanos a los reportados en la presente investigación, independientemente de las temperaturas de operación. De esta manera, se puede concluir que las velocidades de reacción, representadas por las constantes R_{\max} y K , no dependen de la temperatura de operación de los reactores de PBM, por lo que en cualquier rango de temperatura se podrían esperar PBM similares.

Desempeño de los RAAS

Temperatura ambiente y de los RAAS

En la **Figura 13** se muestra el comportamiento de la temperatura de los RAAS durante el periodo comprendido del 19 de febrero de 2018 al 30 de abril de 2019 (435 días de operación).

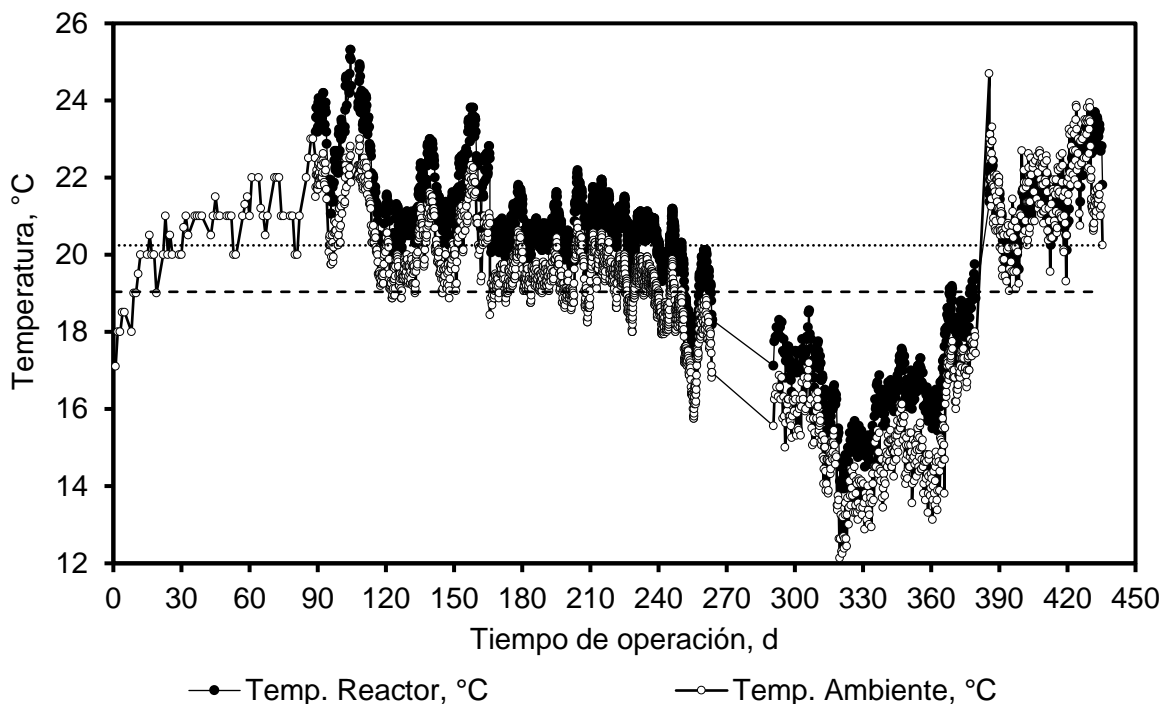


Figura 13. Temperatura de los RAAS del día 0 (febrero 19, 2018) al 435 (abril 30, 2019). Los puntos de cada serie de datos muestran los valores de temperatura promedio para cada día. De manera general, la temperatura de los RAAS fue superior a la del ambiente en la mayor parte del tiempo. La temperatura promedio de los RAAS de toda la corrida experimental (20.24 °C) se indica con la línea de puntos horizontal, mientras que la del ambiente (19.04 °C) se indica con la línea horizontal discontinua.

En la **Figura 13** se observa un periodo del día 0 al 89 donde únicamente se presentan datos de la temperatura ambiente. Dichos datos se obtuvieron de forma manual con un termómetro ambiental de mercurio. La falta de datos se debió a un fallo en la unidad de control de temperatura con sistema ARDUINO. En este periodo, no se pudo determinar la temperatura dentro de los RAAS. Sin embargo, como se puede observar en el resto de la gráfica, las temperaturas de los RAAS y del ambiente no varían más de 1.1 °C entre sí. Esto permite hacer una estimación aproximada de la temperatura dentro de los RAAS de entre 18 y 22 °C. En un segundo periodo comprendido entre el día 263 y el 290, se presentó nuevamente un fallo en la unidad de control, por lo que no se tiene registro de las temperaturas durante ese lapso. Sin embargo, la tendencia descendente en ambas temperaturas coincide con la variación estacional en el valle de Toluca (de verano a otoño), por lo que la ausencia de estos datos no afecta de manera significativa los valores promedio de cada temperatura.

La temperatura promedio en los RAAS (20.24 ± 1.98 °C) indica que los RAAS fueron operados en un rango de temperatura psicofílica, teniendo valor máximo y mínimo de 25.31 y 13.94 °C, respectivamente. Las temperaturas no variaron más de 2.5 °C de un día al siguiente, excepto en el día 380 de la operación, donde se observa un incremento súbito en las temperaturas de aproximadamente 3.5 °C. Esto coincide con la entrada de la primavera, época del año donde se presentan las temperaturas más elevadas en la región. Incluso se puede observar una mayor inestabilidad de la temperatura a partir de ese día, momento en el que se rompe la tendencia previa en la que la temperatura de los RAAS siempre fue superior a la del ambiente. Esto indica que los cambios en la temperatura del ambiente fueron súbitos y más rápidos que en los RAAS. Posiblemente, esto se debió a el efecto aislante del material con que están fabricados los RAAS, evitando el aumento súbito en la temperatura dentro de cada reactor.

La temperatura promedio del ambiente fue de 19.04 ± 2.15 °C, con valores máximo y mínimo de 24.69 y 12.13 °C, respectivamente. Si bien el comportamiento de la temperatura durante el tiempo de operación fue inestable, no se detectó inhibición de los RAAS por efecto de este parámetro. Esto prueba la adaptación de los microorganismos anaerobias a los cambios graduales de la temperatura en el rango estudiado (de 12 a 26 °C).

En la literatura existe poca información respecto a sistemas de DA psicofílica. En la revisión realizada por Garfí et al. (2016), se estudiaron digestores anaerobios a diferente escala en áreas rurales de América Latina. Algunos de los factores que fueron evaluados en esa revisión fueron la escala (casera, piloto o pequeña escala), el tipo de sustrato (principalmente diversos tipos de estiércol) y la temperatura de operación según la región (a nivel del mar o a elevada altitud). Uno de los hallazgos principales de esa revisión es que se pueden obtener R_{CH_4} similares en ambas regiones, independientemente de la temperatura de operación (mesofílica o psicofílica). La temperatura (< 25 °C) de las regiones de elevada altitud mostrada en la revisión de Garfí et al. (2016), es similar a la temperatura empleada en esta investigación (20.20 °C) y se obtuvieron R_{CH_4} similares en ambos casos, los cuales se discutirán más adelante.

Primera etapa experimental (estado estacionario)

pH de los RAAS

En la **Figura 14** se muestra el comportamiento del pH del influente y los efluentes de los cinco RAAS durante la primera etapa experimental (estado estacionario).

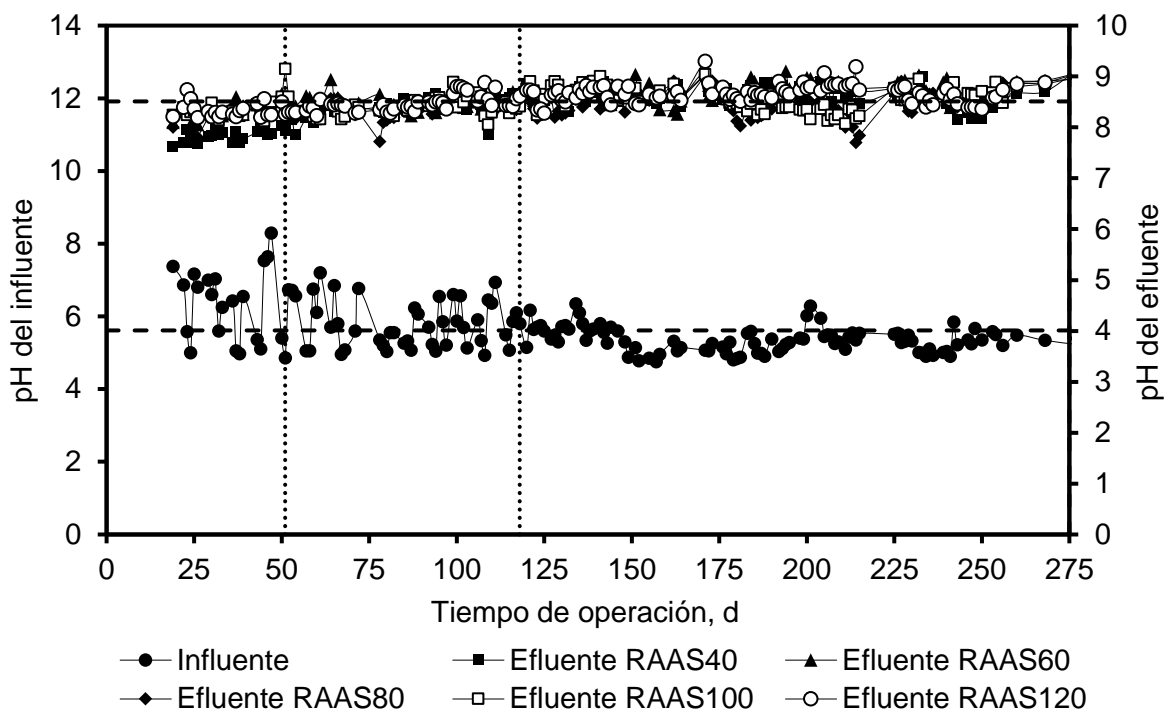


Figura 14. Comportamiento del pH del influente y efluentes de los cinco RAAS durante la primera etapa experimental. El pH no se determinó en los primeros 19 días de operación. Las líneas discontinuas horizontales indican los valores promedio de pH del influente (5.61) y global de los cinco efluentes (8.51). Las líneas punteadas verticales indican los días en los que se cambió la dosis de NaHCO_3 en el sustrato, de 6.67 g/L (día 0) a 3.33 g/L (día 51) y a 0 g/L (día 118).

El pH del influente fue inestable durante los primeros 51 días de operación, teniendo un valor promedio de 6.30, un mínimo de 4.86 y un máximo de 8.29. A pesar de que se adicionó NaHCO_3 al sustrato sintético en esta etapa (6.67 g- NaHCO_3 /L), la alcalinidad no fue suficiente para amortiguar los cambios de pH del influente ni para mantenerlo cercano a la neutralidad. Sin embargo, el pH del efluente se elevó a valores superiores a 8. Por esa razón, a partir del día 51 y hasta el día 118, la cantidad adicionada de NaHCO_3 al influente disminuyó a la mitad (3.33 g- NaHCO_3 /L) y el pH promedio del influente descendió a 5.81 durante esta etapa, aunque se mostró más estable.

A partir del día 119 de la operación se eliminó por completo la adición de NaHCO_3 en el sustrato sintético y el valor de pH del influente disminuyó a un promedio de 5.35. Sin embargo, en esta etapa fue donde el pH del influente se mostró más estable hasta el día 275.

A pesar de que el rango óptimo recomendado para el correcto metabolismo de las arqueas metanogénicas es de 6.5 a 7.6 (Rittmann y McCarty, 2001, Zhang et al., 2014) no se

observó afectación alguna en los indicadores de desempeño de los RAAS. Aun eliminando la adición de NaHCO_3 en el influente, el pH del efluente siempre se mantuvo por encima de 8 unidades hasta el día 275, mostrando siempre un comportamiento uniforme. Zamanzadeh et al. (2016), quienes realizaron la digestión de residuos de comida con un pH relativamente bajo (3.9), observaron que el pH del efluente de 4 digestores anaerobios de mezcla completa se mantuvo por encima de 7.7 durante el periodo de prueba, comportamiento similar al observado en la presente investigación.

En una revisión bibliográfica realizada por Zhang et al. (2014) se determinó que el pH del reactor es indicativo del tipo de AGVs generados y acumulados en el reactor. A valores de pH bajos, los AGVs predominantes son ácido butírico y acético; mientras que, a valores de pH de 8, los AGVs predominantes son ácido acético y propiónico. Esto puede beneficiar a los microorganismos metanógenos para garantizar su supervivencia. De manera selectiva, los microorganismos metanógenos utilizan las fuentes de carbono más simples para su metabolismo (en orden de selectividad: ácido acético – ácido propiónico – ácido butírico) teniendo como producto final el biogás. Si a un pH de 8 las especies de AGVs predominantes son los ácidos acético y propiónico, esto favorecería el metabolismo de las arqueas metanógenas y evitaría una acidificación del medio por acumulación de AGVs de cadena larga.

Eficiencia de remoción de sólidos totales (ER_{ST}) y volátiles (ER_{SV})

En la **Figura 15** se observa el comportamiento de las eficiencias de remoción de sólidos totales (ER_{ST}) y volátiles (ER_{SV}), durante la primera etapa experimental. Al final de esta etapa, todos los RAAS habían operado durante por lo menos dos veces el TRH de diseño. Grobicki y Stuckey (1990) asumen que los reactores anaerobios han alcanzado un estado estacionario cuando los parámetros de operación (P_{BG} y/o P_{CH_4}) y las eficiencias de remoción permanecen constantes durante dos o tres veces el TRH.

Por lo tanto, la variación de los datos que se observa en la **Figura 15** fue provocada por el modo de operación de los RAAS y no por la falta del estado estacionario. Los fenómenos de estratificación y de sedimentación en la cama de lodos y tubo de salida del efluente fueron los causantes de la variabilidad de los datos y su elevada desviación estándar.

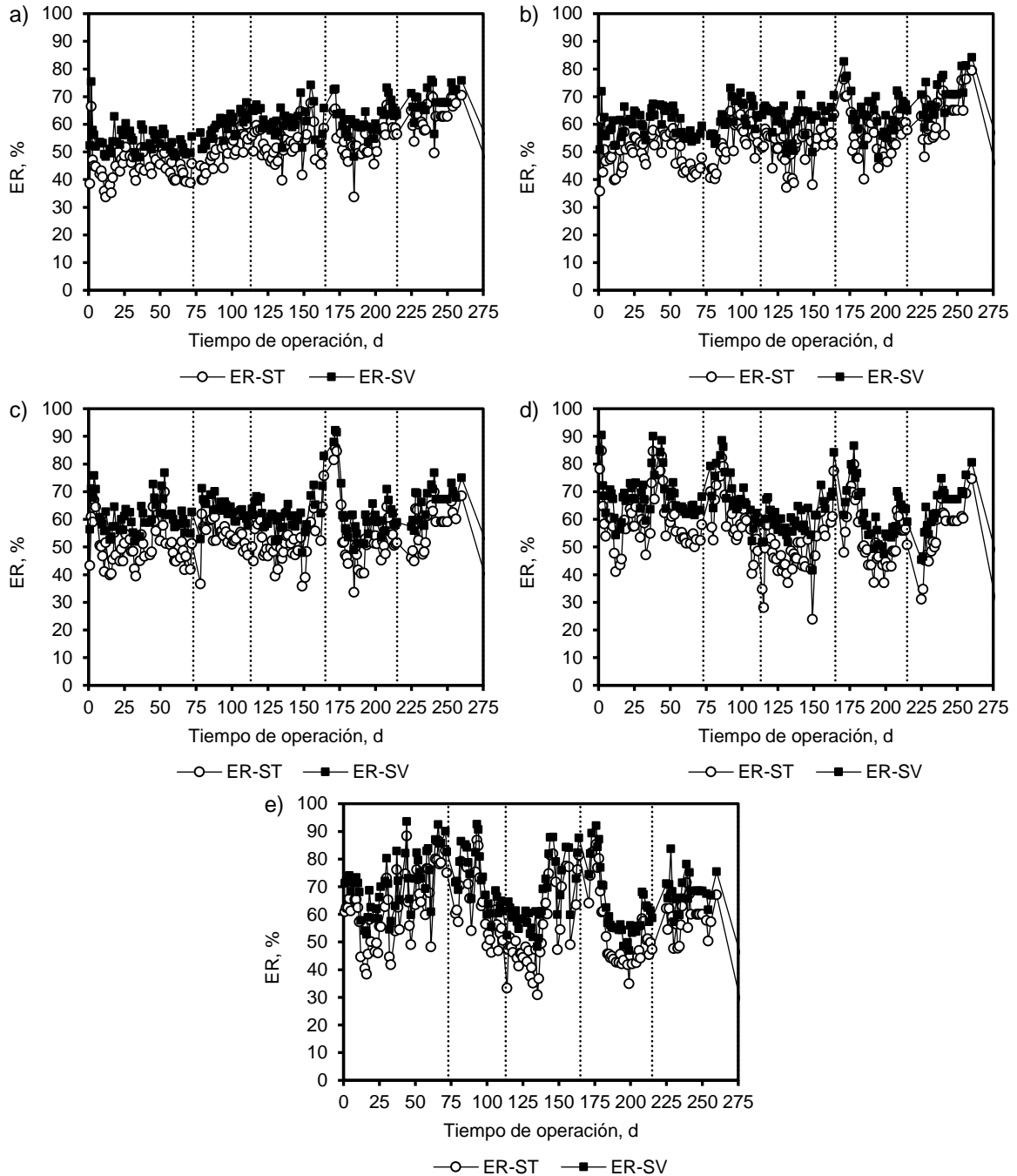


Figura 15. Comportamiento de la ER_{ST} y ER_{SV} , durante la primera etapa experimental (estado estacionario) para: a) RAAS₄₀; b) RAAS₆₀; c) RAAS₈₀; d) RAAS₁₀₀ y e) RAAS₁₂₀. Las líneas punteadas verticales indican los días en los que se analizó la cama de lodos de los RAAS.

En la **Figura 15** se observan que las ER_{ST} y ER_{SV} tienen un comportamiento variable durante toda la primera etapa experimental. Además, se puede observar que esta variación normalmente se incrementa en los días posteriores a la apertura de los RAAS para el análisis de la cama de lodos.

Esto se debió a que, durante los días del análisis de cama de lodos, esta se homogenizó para determinar los ST y SV. Además, en algunos casos los RAAS se sometieron a periodos de hasta 5 días sin alimentación. Esto generó ciclos alternados de homogenización y estratificación de la cama de lodos dentro de cada reactor. Por esa razón, los valores de ER_{ST} y ER_{SV} tuvieron variaciones en los 4 o 5 días posteriores a la apertura de los RAAS. Esta tendencia se puede apreciar fácilmente en los RAAS con TRH's de 60, 80 y 100 días. Para el caso del RAAS₄₀, parece no existir afectación en el comportamiento de las ER_{ST} y ER_{SV} , las cuales se mantuvieron estables. En el RAAS₁₂₀, la variabilidad de los datos tiene mayor relación con los fenómenos de sedimentación en el tubo de salida del efluente, que con los ciclos de análisis de la cama de lodos.

En la **Figura 15** también se observa que los valores de la ER_{ST} y ER_{SV} tienen menor variabilidad en los RAAS con TRH de 40 y 60, en comparación con los RAAS con TRH de 80, 100 y 120 días. Esto podría deberse a que los volúmenes de alimentación fueron mayores (0.28 y 0.18 L/d para RAAS₄₀ y RAAS₆₀, respectivamente), favoreciendo una mezcla interna al momento de la introducción del sustrato, disminuyendo el efecto de la estratificación.

En los RAAS con TRH's largos (80, 100 y 120 días) la concentración de ST y SV en el efluente mostró mayor variación (**Figura 15**) debido a un fenómeno de sedimentación que tuvo lugar en el tubo de salida del efluente del RAAS y estratificación dentro del reactor. Esto provocó que la concentración de sólidos en el efluente de los RAAS fuera menos estable. Sin embargo, se asume que todos los RAAS alcanzaron el estado estacionario, pues la P_{BG} , que se discutirá más adelante (**Figura 17**), fue constante al final de la etapa experimental en todos los RAAS.

Gráficamente, se puede observar que la ER_{ST} es menor que la ER_{SV} , lo cual es un indicio de la alta biodegradabilidad del sustrato. Por otro lado, ambas eficiencias de remoción parecen incrementarse a medida que aumenta el TRH de diseño en cada RAAS observándose, en algunos casos, eficiencias de remoción superiores al 90% (para los RAAS con 80, 100 y 120 días de TRH). Este comportamiento fue el esperado, pues a medida que aumenta el TRH, se incrementó el tiempo de contacto entre los microorganismos y el sustrato, por lo que la degradación se incrementó.

Para determinar las diferencias estadísticas de la ER_{ST} y la ER_{SV} , así como la influencia del TRH en estos parámetros, se determinaron los valores promedio y desviaciones estándar. Dichos valores se muestran en la **Tabla 15** y la **Figura 16** para cada uno de los RAAS.

Tabla 15. Valores promedio de la ER_{ST} , ER_{SV} y desviaciones estándar para cada uno de los cinco RAAS, durante la primera etapa experimental

Parámetro	RAAS ₄₀	RAAS ₆₀	RAAS ₈₀	RAAS ₁₀₀	RAAS ₁₂₀
ER_{ST} , %	51.51 ± 8.09	53.86 ± 8.20	52.84 ± 8.35	55.22 ± 10.92	58.28 ± 13.23
ER_{SV} , %	59.92 ± 6.78	63.20 ± 6.61	62.47 ± 7.05	65.14 ± 9.09	68.32 ± 11.11

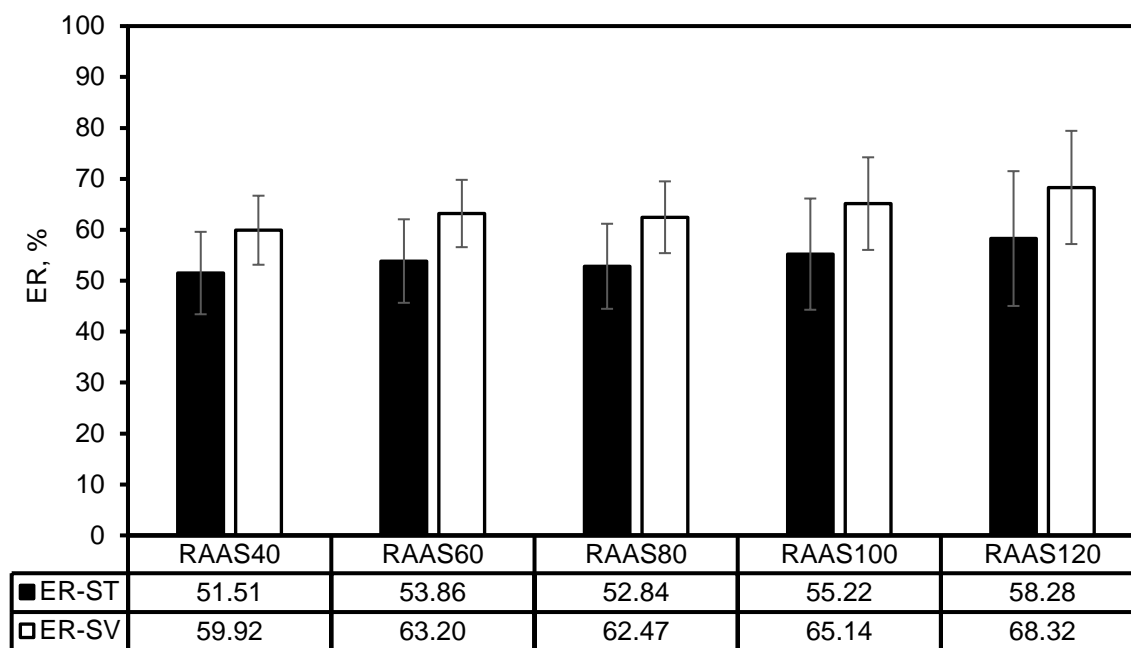


Figura 16. Promedio de la ER_{ST} , ER_{SV} y desviaciones estándar para cada uno de los cinco RAAS durante la primera etapa experimental.

Como se puede observar en la **Tabla 15** y la **Figura 16**, las ER_{ST} y ER_{SV} parecen estadísticamente similares en todos los RAAS, puesto que las desviaciones estándar se cruzan entre sí. Para corroborar si las ER_{ST} y ER_{SV} promedio de los cinco RAAS eran diferentes, se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) de un factor, siendo la variable independiente el TRH de cada RAAS y teniendo como variable de respuesta la ER_{ST} y la ER_{SV} . Con un intervalo de confianza del 95% y con 4 grados de libertad, el ANOVA concluyó que la ER_{ST} y la ER_{SV} son estadísticamente diferentes y se ven influenciadas por el incremento del TRH.

Sin embargo, empleando el mismo análisis ANOVA, se pudo determinar que las ER_{ST} y ER_{SV} en los RAAS con TRH de 60 y 80 días son iguales. Esto sugiere que el TRH solamente tiene un efecto de aumento positivo sobre las variables de respuesta (la ER_{ST} y la ER_{SV}) en rangos específicos de incremento del TRH. Además, es necesario señalar que el incremento de las eficiencias de remoción no aumenta en la misma proporción que el TRH.

Por ejemplo, mientras el TRH aumenta un 300% (de RAAS₄₀ al RAAS₁₂₀), la ER_{ST} y la ER_{SV} solo aumentan 13.14% y 14.02%, respectivamente. Para un escalamiento del proceso a reactores de mayores dimensiones, se debe realizar un análisis de costo-beneficio donde se consideren las variables ER_{ST} y ER_{SV}, dado que los costos de ejecución podrían incrementar considerablemente, pero no así la calidad del digestato.

Mantener estables la ER_{ST} y la ER_{SV} representa un reto para reactores operados a baja temperatura. Park et al. (2018) reportaron que la ER_{SV} disminuyó desde el inicio de la operación de un reactor anaerobio psicrófilico (19.8 ± 2.9 °C) durante el tratamiento de residuos de comida. En un periodo de 40 días, la ER disminuyó a 0% para COV_{apl} medias (de 2 y 3 kg-DQO_T/m³/d). En la presente investigación, la ER_{ST} y ER_{SV} se mantuvieron constantes durante toda la primera etapa experimental, aunque con COV_{apl} ligeramente más bajas.

Las ER_{SV} de los RAAS se encuentran dentro de los valores reportados en la literatura. Por ejemplo, Nguyen et al. (2017) quienes realizaron la digestión semicontinua de ROC, reportaron ER_{SV} en un rango de 43.63 hasta 74.54% para un digestor mesófilico (38 °C) y de 48.84 hasta 79.67% para un digestor termófilico (55 °C). Los TRH empleados por estos investigadores variaron desde 25 hasta 100 días y observaron que la ER_{SV} se incrementó a medida que aumentó la COV_{apl} (de 2.16 a 8.62 g-SV/L•d). Este es el mismo caso de Gou et al. (2014) quienes evaluaron la CoD de LBP y ROC. Los autores observaron que la mayor ER_{SV} fue de 73% a una COV_{apl} de 1 g-SV/L•d, en un digestor operado a 55 °C.

Las ER mayores reportadas por Nguyen et al. (2017) y por Gou et al. (2014), podrían justificarse por la temperatura de operación de sus reactores, asumiendo que la degradación del sustrato se vio favorecida no solo por la actividad microbiana, sino también con el aumento de la temperatura (Lv et al., 2010; Kim et al., 2011).

Una revisión bibliográfica realizada por Zhang et al. (2014), se observó que algunos investigadores han propuesto tratamientos térmicos para romper las membranas celulares facilitando la hidrólisis del sustrato. Si el tratamiento térmico hidroliza el sustrato, facilita su consumo para las bacterias anaerobias. Sin embargo, la principal desventaja que esto implica es la aplicación de grandes cantidades de energía externa y los altos costos de operación. Aun con la producción adicional de CH₄ como resultado del aumento de la temperatura, en algunos casos es insuficiente para compensar los costos adicionales (Zhang et al., 2014).

Por lo descrito en los párrafos anteriores, no se justifica la aplicación de energía externa para calentamiento o para pretratamiento del sustrato aquí estudiado, pues las ER_{ST} y ER_{SV} son similares a las obtenidas en otros rangos de temperatura más altos (35 y 55 °C). Sin embargo, dependerá de la calidad de digestato deseada en términos de coliformes, si se requiere o no la aplicación de tratamientos posteriores para la disposición final del efluente de los RAAS.

Producción de biogás (P_{BG}) y de metano (P_{CH_4}), rendimiento de biogás (R_{BG}) y de metano (R_{CH_4})

En la **Tabla 16**, se presentan los valores promedio de la COV_{apl} , COV_{rem} , P_{BG} , P_{CH_4} , el R_{BG} , el contenido de CH_4 y los R_{CH_4} por SV agregados y removidos de la primera etapa experimental.

Tabla 16. Valores promedio y desviaciones estándar de los parámetros de control para los cinco RAAS durante la primera etapa experimental

Parámetro	RAAS₄₀	RAAS₆₀	RAAS₈₀	RAAS₁₀₀	RAAS₁₂₀
COV_{apl} , g-SV _{agr} /L.d	1.65 ± 0.22	1.06 ± 0.14	0.82 ± 0.11	0.65 ± 0.09	0.53 ± 0.07
COV_{rem} , g-SV _{rem} /L.d	0.97 ± 0.18	0.65 ± 0.13	0.50 ± 0.10	0.40 ± 0.10	0.35 ± 0.08
* P_{BG} , L _{BG} /d	5.71 ± 2.64	4.39 ± 1.10	3.37 ± 0.72	2.71 ± 0.64	2.33 ± 0.52
* P_{CH_4} , L _{CH₄} /d	3.66 ± 1.70	2.90 ± 0.73	2.24 ± 0.48	1.80 ± 0.43	1.55 ± 0.35
* R_{BG} , L _{BG} /g-SV _{agr}	0.31 ± 0.13	0.38 ± 0.10	0.38 ± 0.08	0.38 ± 0.09	0.40 ± 0.09
Cont. de CH_4 , %	64.50	66.00	66.40	66.50	66.70
* R_{CH_4} , L _{CH₄} /g-SV _{agr}	0.20 ± 0.09	0.25 ± 0.07	0.25 ± 0.05	0.25 ± 0.06	0.27 ± 0.06
* R_{CH_4} , L _{CH₄} /g-SV _{rem}	0.35 ± 0.18	0.41 ± 0.13	0.41 ± 0.11	0.40 ± 0.13	0.41 ± 0.14

* Valores reportados a condiciones estándar de temperatura (0 °C) y presión (1 atm)

De manera general, se puede observar que la P_{BG} y la P_{CH_4} disminuyen, mientras que el resto de los parámetros se incrementan, a medida que el TRH aumenta. Este comportamiento está ligado al modo de operación como fosa séptica con sello hidráulico permanente y a la COV_{apl} (como se discutirá más adelante). Sin embargo, es necesario señalar que los parámetros de contenido de CH_4 y R_{CH_4} de los RAAS₆₀ al RAAS₁₂₀ parecer ser estadísticamente iguales. El RAAS₄₀ es el único reactor que parece estar fuera de contexto, pues los valores de los mismos parámetros son menores.

Para determinar las diferencias estadísticas entre los distintos parámetros de cada RAAS y poder evaluar el efecto del TRH en los mismos, se analizó el comportamiento de cada

parámetro durante la primera etapa de la corrida experimental. Durante todo el periodo de prueba, se realizaron aperturas periódicas de los RAAS para la evaluación del contenido de ST y SV y así poder determinar el TRS. A pesar de ello, en la mayoría de los casos los reactores respondieron de manera eficiente y recuperaron rápidamente el estado estacionario. Los distintos parámetros se discuten en los párrafos posteriores.

Se monitoreó de manera constante la P_{BG} en los cinco RAAS. En la **Figura 17** se observan los litros de biogás (L_{BG}) generados por día, durante la primera etapa experimental.

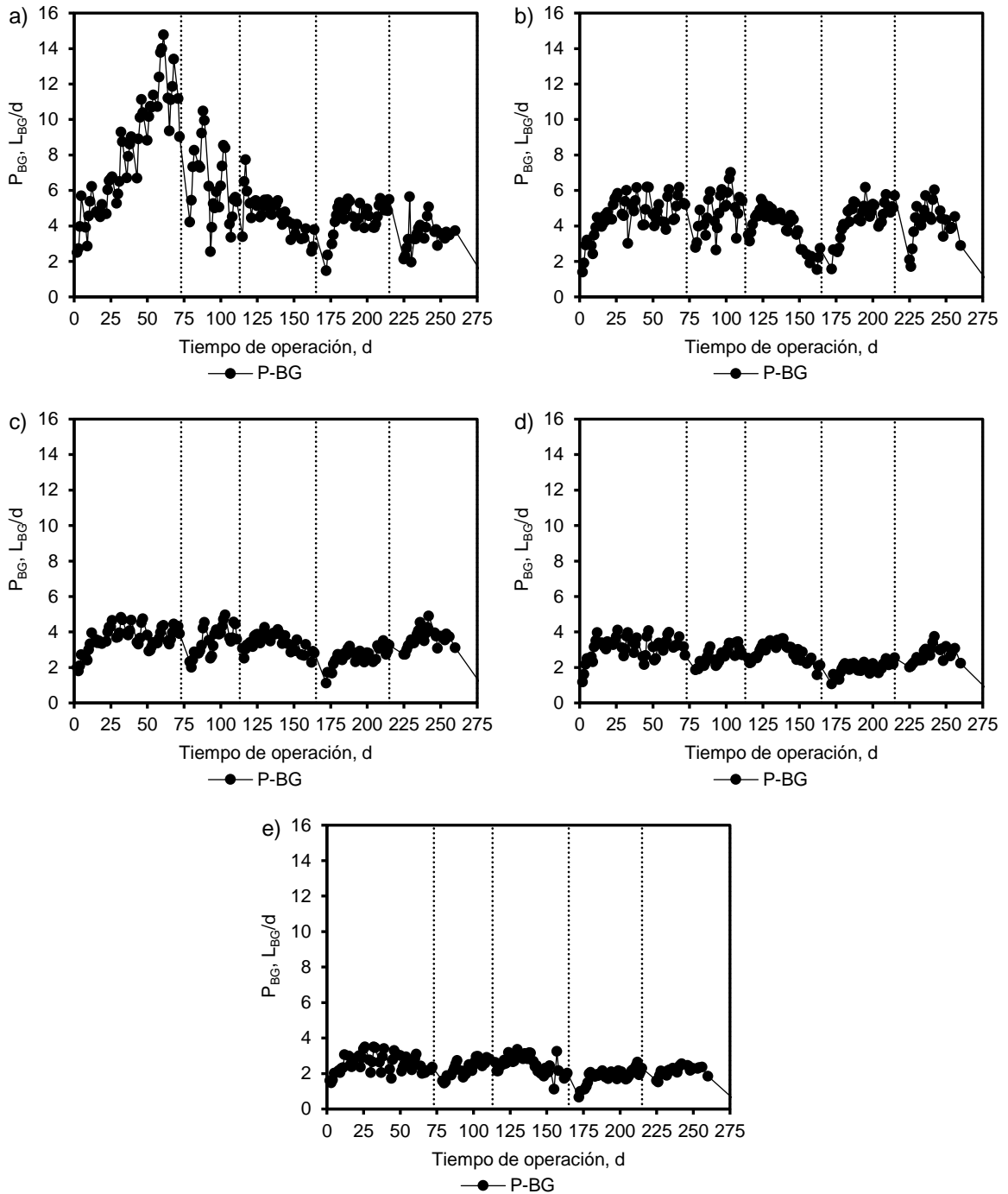


Figura 17. P_{BG} diaria (L_{BG}/d) durante la primera etapa experimental (estado estacionario) para: a) RAAS₄₀; b) RAAS₆₀; c) RAAS₈₀; d) RAAS₁₀₀ y e) RAAS₁₂₀. Los valores están reportados a condiciones estándar de temperatura (0 °C) y presión (1 atm). Las líneas punteadas verticales indican los días donde se hizo la apertura de los RAAS para el análisis de la cama de lodos.

Se puede observar en la **Figura 17** que la P_{BG} tuvo un comportamiento ondulatorio a través del tiempo. Esto se debió al modo de alimentación de los RAAS, pues la introducción del

sustrato se realizó de lunes a sábado, sin considerar los domingos. Este modo de operación provocó que la P_{BG} fuera baja al inicio de semana y que se incrementara en los días posteriores.

La P_{BG} se incrementó gradualmente en los cinco RAAS durante los primeros 20 días de operación hasta alcanzar un estado estacionario (excepto en RAAS₄₀). En el RAAS₄₀ la P_{BG} continuó incrementándose hasta el día 61. Posteriormente, la P_{BG} disminuyó hasta el día 120, momento en el cual la P_{BG} se mantuvo constante. Esto fue indicativo de que el RAAS₄₀ había llegado al estado estacionario. Esta variación en la P_{BG} pudo deberse a la alta COV_{apl} , lo que generó inestabilidad dentro del RAAS₄₀ durante un primer ciclo de TRH (120 días).

Se pueden observar valores mínimos en la P_{BG} de los cinco RAAS en los días 73, 113, 165, 215 y 275. Estos puntos marcan el momento en que los RAAS fueron destapados para el análisis de la cama de lodos. Después del análisis, se presentaron valores bajos de P_{BG} . Cada vez que se hizo la apertura de los RAAS, se dejó de alimentar con sustrato por periodos de hasta 5 días. Esto generó que la P_{BG} fuera baja en el arranque de cada etapa. Sin embargo, todos los RAAS mostraron una rápida recuperación hacia el estado estacionario.

En la **Figura 1** **Figura 18** se muestra la P_{BG} promedio (L_{BG}/d) y su desviación estándar para cada uno de los cinco RAAS durante la primera etapa experimental. Las P_{BG} diarias de los cinco RAAS son 5.71 ± 2.64 , 4.39 ± 1.10 , 3.37 ± 0.72 , 2.71 ± 0.64 y 2.33 ± 0.52 L_{BG}/d para los TRH's de 40, 60, 80, 100 y 120 días, respectivamente. Se observa que la P_{BG} disminuye de manera inversamente proporcional al TRH. Este comportamiento fue el esperado pues a medida que disminuyó la COV_{apl} (de 1.65 a 0.53 $g-SV_{agr}/L.d$) se redujo la cantidad de SV agregados diariamente, por lo cual la P_{BG} descendió.

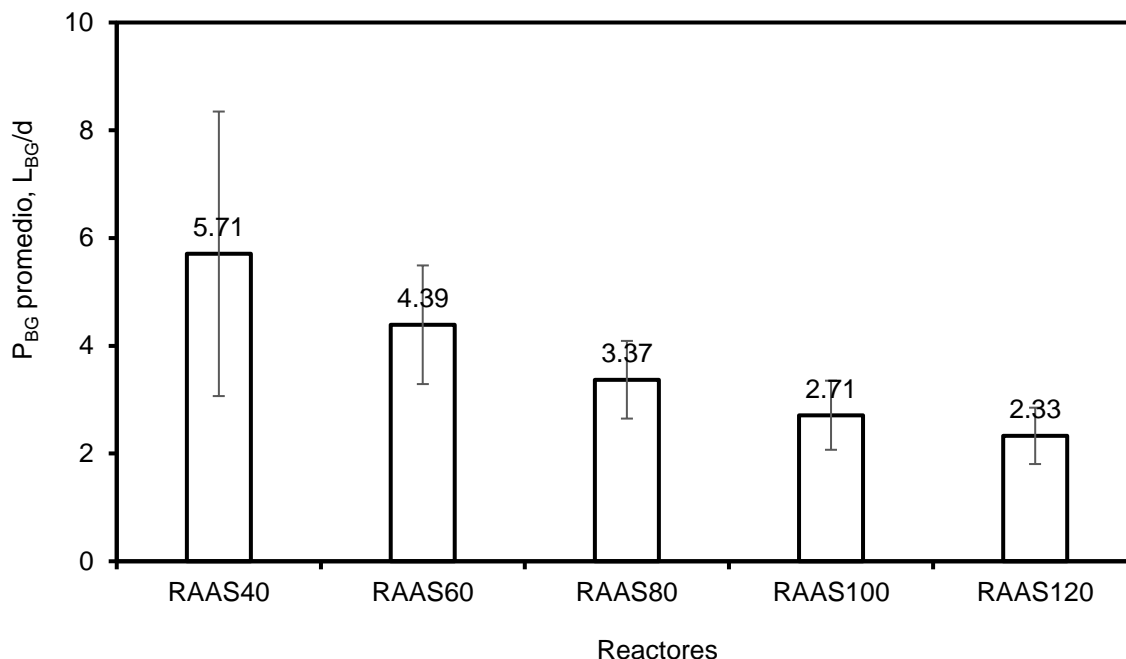


Figura 18. P_{BG} promedio y desviación estándar para cada uno de los cinco RAAS durante la primera etapa experimental. Los valores están reportados a condiciones estándar de temperatura ($0\text{ }^{\circ}\text{C}$) y presión (1 atm).

En la **Figura 18** también se puede observar que la desviación estándar aumentó a medida que disminuyó el TRH. Esto pudo deberse al modo de operación de fosa séptica con sello hidráulico permanente, donde no existieron medios mecánicos para llevar a cabo la agitación. En un reactor de mezcla completa se busca la homogeneidad del contenido, por medio de una mezcla mecánica, asegurando el contacto entre los microorganismos y el sustrato para su degradación. Pero en un reactor que opera como fosa séptica con sello hidráulico permanente, la única mezcla que se lleva a cabo es la generada por la inserción del sustrato y la producción de biogás.

A TRH's largos, el caudal de alimentación es mayor y, por consecuencia, mayor el efecto de mezcla dentro del RAAS. Sin embargo, al no ser una mezcla continua, existe incertidumbre respecto a que tan eficiente fue el contacto entre los microorganismos anaerobios y el sustrato. Por esta razón, la P_{BG} pudo verse influenciada por la eficiencia de la mezcla interna al momento de la alimentación. Por otro lado, cuando se alimentaron volúmenes pequeños, el movimiento de la cama de lodos dentro del reactor fue despreciable favoreciendo la estratificación. Por lo tanto, la variación de la P_{BG} estuvo influenciada por la mezcla interna y esta, a su vez, por el caudal de alimentación y el TRH.

Con la P_{BG} y los SV agregados, se calculó el R_{BG} . En la **Figura 19** se muestran los valores promedio del R_{BG} y su desviación estándar durante la primera etapa experimental para los cinco RAAS. Aplicando el ANOVA con un intervalo de confianza de 95% y 4 grados de libertad, se estableció que existen diferencias estadísticas y los R_{BG} aumentan conforme el TRH se incrementa en los RAAS. Sin embargo, se puede observar que los valores del R_{BG} de los RAAS con TRH de 60 a 100 días parecen ser iguales. Utilizando el mismo análisis estadístico y omitiendo los datos del RAAS₄₀ y el RAAS₁₂₀, se determinó que los R_{BG} de los RAAS₆₀, RAAS₈₀ y RAAS₁₀₀ no tienen diferencias estadísticas significativas. Por lo tanto, en el rango de 60 a 100 días, no existe ninguna influencia del TRH en el R_{BG} .

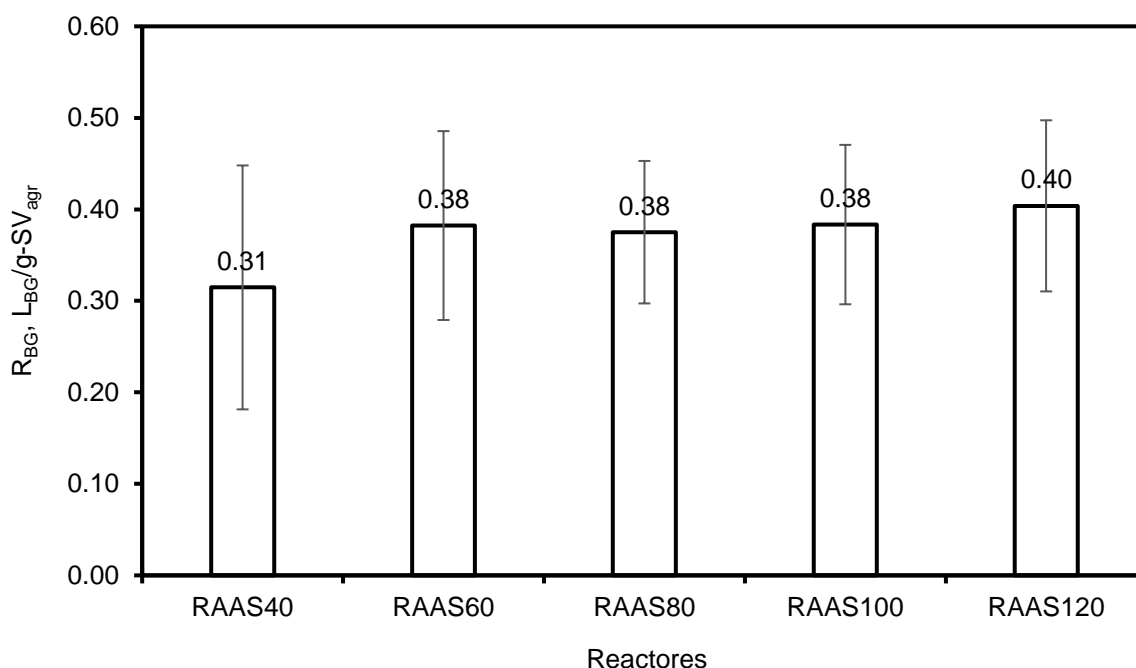


Figura 19. Valores promedio y desviaciones estándar del R_{BG} para los cinco RAAS durante la primera etapa experimental. Los valores están reportados a las condiciones estándar de temperatura (0 °C) y presión (1 atm).

Comparando los resultados obtenidos del R_{BG} con la literatura, se observa que los valores obtenidos en esta investigación (0.31 – 0.40 L_{BG}/g-SV_{agr}) son similares o superiores a lo ya reportado para reactores psicrófilicos. Por ejemplo, Álvarez y Lidén (2008a) operaron digestores anaerobios de mezcla completa de 9.3 L, a una temperatura variable entre 11 y 25 °C, obtuvieron R_{BG} entre 0.08 y 0.16 L_{BG}/g-SV_{agr} durante la CoD psicrófila de estiércol de llama, vaca y oveja. Sin embargo, los autores trabajaron con reactores anaerobios operados a un TRH de 30 días, el cual fue menor a los TRH's empleados en esta

investigación, lo que explicaría el R_{BG} menor reportado. Por otro lado, Lansing et al. (2010) operaron digestores tubulares a 22 °C de 200 L con un TRH de 40 días y obtuvieron un R_{BG} de 0.38 $L_{BG}/g-SV_{agr}$, tratando estiércol de cerdo. Este valor de R_{BG} es cercano al que se obtuvo en el RAAS₄₀ (0.31 $L_{BG}/g-SV_{agr}$) de esta investigación, bajo condiciones de operación similares (40 días de TRH y 20.24 °C de temperatura). Otros resultados reportados en la literatura, con operación en rango de temperatura psicrófila, se pueden encontrar en la **Tabla 17**.

Tabla 17. Valores del desempeño de digestores anaerobios operados bajo condiciones de temperatura psicrófila en América Latina (Adaptado de Garfí et al., 2016).

Referencia	Diseño de digestor	Temperatura ° C	TRH días	Sustrato	COV _{apl} g-SV/L-d	R _{BG} L _{BG} /g-SV _{agr}
Álvarez et al., 2006	RMC*	11	20-50	Estiércol de vaca	0.52 - 3.22	0.01 – 0.06
	RMC			Estiércol de llama	0.89 - 4.43	0.01 – 0.03
Álvarez y Lidén, 2008a	RMC	11 - 25	30	Estiércol de llama, vaca y oveja	2	0.08 – 0.16
Álvarez y Lidén, 2008b	RMC	25	30	CoD de estiércol y otros residuos orgánicos	1.8	0.06 – 0.39
Álvarez y Lidén, 2009	RMC	18	10-30	CoD de estiércol	0.50 - 8.10	0.02 – 0.09
Lansing et al., 2010	Tubular de polietileno	22 - 26	40	Estiércol de cerdo	0.34	0.38
Ferrer et al., 2011	Tubular de polietileno y PVC	< 25	90	Estiércol de vaca	0.22	0.27
			60		1.29	0.33
Garfí et al., 2011	Tubular de PVC	22 - 23	75	Estiércol de cuyo	0.6	0.06
Martí-Herrero et al., 2015	Tubular de polietileno	13 - 19	80	Estiércol de vaca		0.17
				Estiércol de llama	0.44	0.22
				CoD de estiércol		0.34
Esta investigación	RAAS	20.24	40-120	CoD de ROC y LBP	0.53 - 1.65	0.31 – 0.40

RMC: reactor de mezcla completa

La mayoría de los casos mostrados en la **Tabla 17** corresponden a trabajos realizados en zonas de elevada altitud (zona de los Andes de Bolivia) y a escala laboratorio [reactores de mezcla completa (RMC) con volúmenes menores a 10 L. Los trabajos realizados con

digestores tubulares son, en su mayoría, de grandes dimensiones (> 700 L) y que fueron instalados en pequeñas comunidades.

En otros casos, Nguyen et al. (2017) reportaron valores de R_{BG} de 0.18 ± 0.07 hasta 0.58 ± 0.15 $L_{BG}/g-SV_{agr}$. Sin embargo, los autores realizaron DA mesofílica y termofílica, mientras que en la presente investigación se obtuvieron valores similares de R_{BG} en condiciones de temperatura psicofílica. Por otro lado, Agyeman y Tao (2014) reportaron un R_{BG} en un rango de 0.67 a 0.85 $L_{BG}/g-SV_{agr}$ a COV_{apl} de 0.72 a 2.12 $g-SV/L \cdot d$, las cuales son COV_{apl} muy similares a las aplicadas en esta investigación. Sin embargo, los autores trabajaron en un rango de temperatura mesofílico (36 °C) requiriendo de la inversión de energía eléctrica para calentamiento. Este también fue el caso de Álvarez y Lidén (2008c) quienes operaron reactores anaerobios de 1.8 L a 35 °C. Los autores reportaron R_{BG} de 0.13 $L_{BG}/g-SV_{agr}$ para la digestión de residuos de comida (a TRH de 30 días) y de 0.24 – 0.62 $L_{BG}/g-SV_{agr}$ para la CoD de estiércol de vaca con residuos de comida (a TRH de 10 a 70 días). Con lo anterior, es relevante aclarar que en la presente investigación se lograron obtener R_{BG} similares a los reportados en rangos de temperatura meso o termofílica, sin necesidad de aplicar energía externa para calentamiento.

Con el fin de comparar en la literatura se calculó el R_{CH_4} , es decir, los litros de CH_4 (L_{CH_4}) generados por cada gramo de SV agregado ($g-SV_{agr}$) y removido ($g-SV_{rem}$). En la **Tabla 16**, se muestra el contenido de CH_4 en el biogás, mientras que en la **Figura 20** se muestran gráficamente los valores promedio del R_{CH_4} y su desviación estándar de la primera etapa experimental (día 0 – 275).

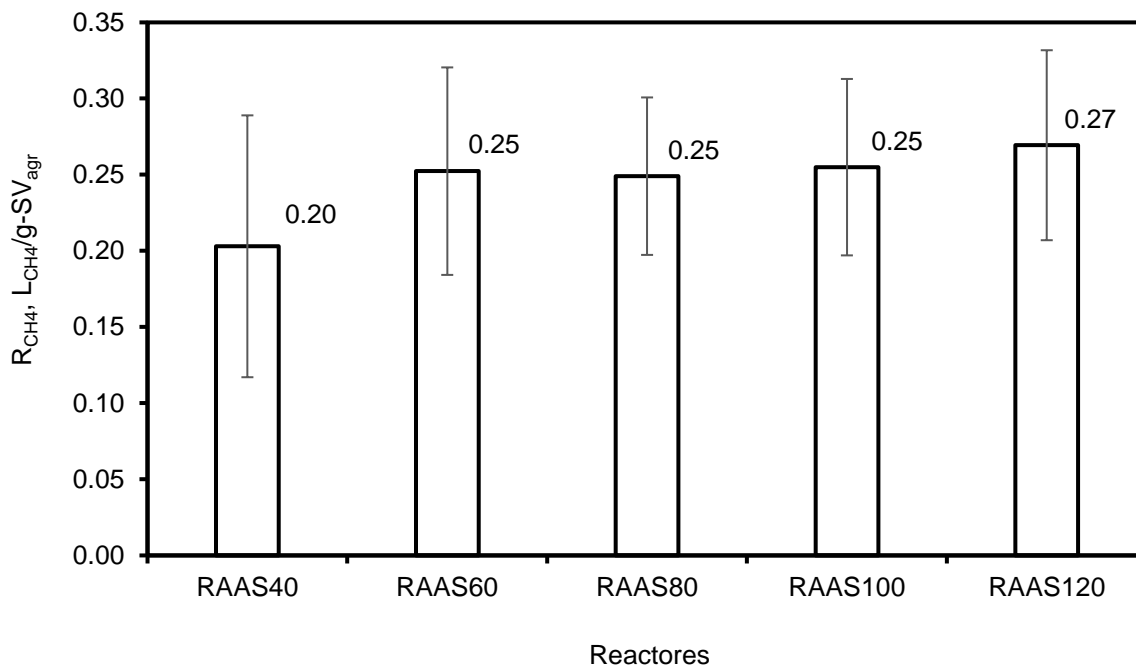


Figura 20. Valores promedio y desviaciones estándar del R_{CH_4} durante la primera etapa experimental para los cinco RAAS. Los valores están reportados a condiciones estándar de temperatura (0 °C) y presión (1 atm).

Los valores del R_{CH_4} promedio para cada RAAS son 0.20 ± 0.09 , 0.25 ± 0.07 , 0.25 ± 0.05 , 0.25 ± 0.06 y 0.27 ± 0.06 L_{CH₄}/g-SV_{agr}, para los TRH de 40, 60, 80, 100 y 120 días, respectivamente. Se aplicó ANOVA de la misma forma que para la ER_{SV} y el R_{BG} con el fin de evaluar las diferencias estadísticas entre los R_{CH_4} . Con un intervalo de confianza de 95% y 4 grados de libertad, el ANOVA estableció que sí existen diferencias estadísticas y los R_{CH_4} aumentan a medida que incrementa el TRH de diseño de cada reactor.

Sin embargo, empleando el mismo análisis estadístico y omitiendo los datos del RAAS₄₀, se determinó que los R_{CH_4} de los RAAS₆₀, RAAS₈₀, RAAS₁₀₀ y RAAS₁₂₀ son virtualmente iguales. El R_{CH_4} del RAAS₄₀ es menor en comparación con el resto de los RAAS. Es probable que el TRH aplicado en ese reactor sea muy corto para llevar a cabo el proceso de digestión. Algunos autores han reportado que el R_{CH_4} tiende a disminuir con la disminución del TRH y/o el aumento de la COV_{apl} (Borja et al., 2002; Rincón et al., 2008) tal como ocurrió en esta investigación.

Por lo anterior, un TRH de 40 días resultaría ser insuficiente para mantener el correcto funcionamiento de este tipo de reactores bajo las condiciones de operación establecidas (modo de operación como fosa séptica con sello hidráulico permanente, baja temperatura, COV_{apl} intermedia y tipo de sustrato).

En lo que respecta a los RAAS de 60 hasta 120 días, la elección del TRH puede ser arbitraria, dado que no existen diferencias significativas en los R_{CH_4} de los cuatro RAAS. Este dato tiene mucha relevancia, pues si se desea diseñar un reactor con un caudal de alimentación constante en el intervalo de TRH de diseño de 60 a 120 días, el volumen del digestor podría aumentar hasta un 200%, pero se esperaría un R_{CH_4} de hasta 8% superior en cualquiera de los casos.

Comparando los valores de los extremos, si se diseña un reactor bajo este concepto de fosa séptica con sello hidráulico permanente con un TRH de 120 días, el R_{CH_4} sería apenas 8% mayor que el de un reactor con un TRH de diseño de 60 días. Sin embargo, el volumen sería 200% más grande. Este hecho puede ser una limitante para la implementación de este tipo de sistemas cuando el espacio sea reducido.

En la **Figura 21**, se observa el comportamiento del R_{CH_4} durante toda la corrida experimental.

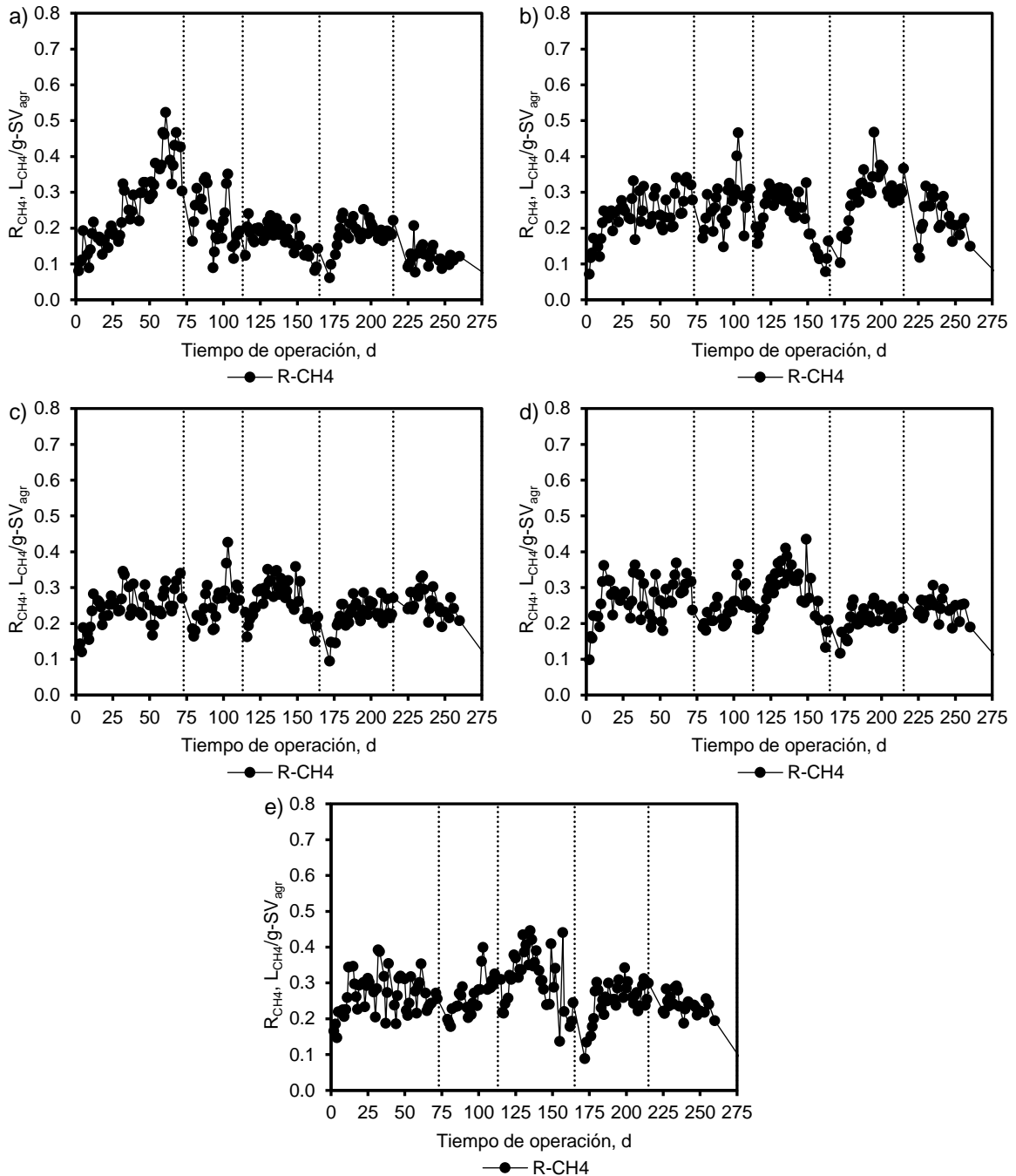


Figura 21. R_{CH_4} ($L_{CH_4}/g-SV_{agr}$) durante la primera etapa experimental (día 0 – 275) para: a) RAAS₄₀; b) RAAS₆₀; c) RAAS₈₀; d) RAAS₁₀₀ y e) RAAS₁₂₀. Los valores están reportados a condiciones estándar de temperatura (0 °C) y presión (1 atm). Las líneas punteadas verticales indican los días donde se abrieron los RAAS para el análisis de la cama de lodos.

Como se ve en la **Figura 21**, el R_{CH_4} muestra un comportamiento similar a la P_{BG} . Existe un comportamiento ondulatorio en el R_{CH_4} que obedece al modo de alimentación continua de seis días, seguido de un día sin alimentación. Al inicio de la corrida experimental, los valores

del R_{CH_4} fueron aumentando gradualmente. A partir del día 24 se observa un comportamiento estable en el R_{CH_4} para todos los RAAS, excepto RAAS₄₀ el cual mantiene un comportamiento variable que podría ser atribuido a la estratificación dentro del reactor. Además, se puede observar una reducción en el R_{CH_4} de todos los RAAS durante los días de apertura de los reactores para el análisis de la cama de lodos. Esto, al igual que en la P_{BG} , no interfirió con el desempeño de los RAAS los cuales lograron recuperarse rápidamente.

Para comprobar si el TRH (en el rango de 60 a 120 días) no estaba afectando al R_{CH_4} , se calculó el rendimiento en función de la COV_{rem} . Para ello, se determinó la cantidad de SV removidos en los RAAS. En la **Figura 22** se muestran los valores promedio del R_{CH_4} en función de los SV removidos para los cinco reactores.

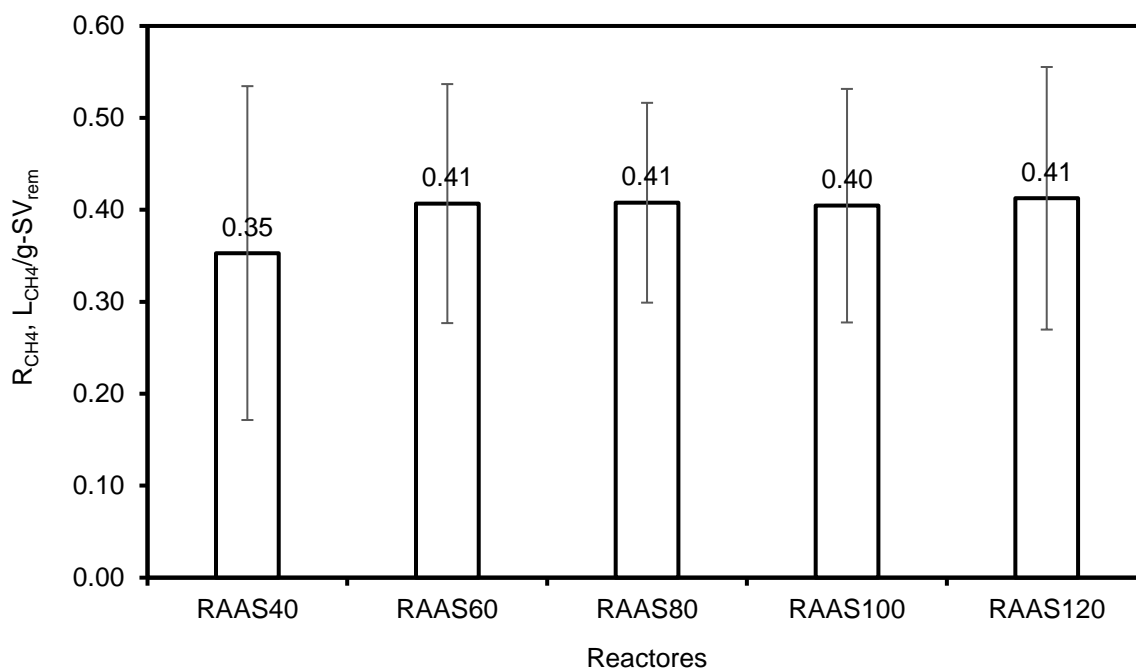


Figura 22. Valores promedio y desviaciones estándar del R_{CH_4} en función de los SV removidos para los cinco RAAS durante la primera etapa experimental. Los valores están reportados a condiciones estándar de temperatura ($0\text{ }^{\circ}\text{C}$) y presión (1 atm).

Como se puede observar en la **Figura 22**, nuevamente se presenta la misma tendencia anterior. Los R_{CH_4} en función de los SV removidos son iguales para los RAAS de 60 a 120 días de TRH. El ANOVA, con intervalo de confianza del 95% y 4 grados de libertad, demostró que no existen diferencias estadísticas significativas entre los cuatro RAAS evaluados y que el TRH no tiene efecto alguno sobre el R_{CH_4} . De esta forma, la elección de

un TRH adecuado en el intervalo especificado puede ser arbitraria. El R_{CH_4} es similar en todos los casos, con la clara excepción del RAAS₄₀. Por lo tanto, la selección del TRH de diseño adecuado dependerá de una evaluación multicriterio donde se valoren todos los parámetros (pH, ER_{ST} , ER_{SV} , P_{BG} , R_{BG} , R_{CH_4}).

Segunda etapa experimental (cambio de sustrato y acidificación)

pH de los RAAS

En la **Figura 23** se muestra el comportamiento del pH del influente y efluentes de los RAAS durante la segunda etapa experimental (cambio de sustrato y acidificación).

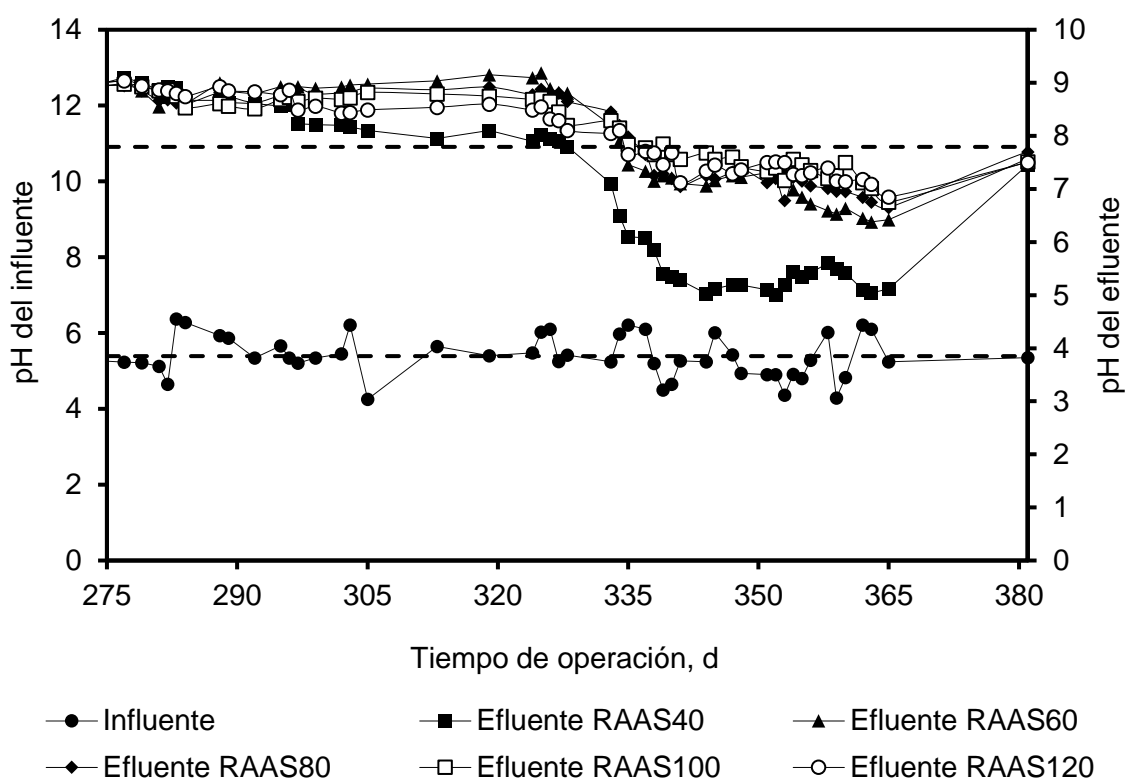


Figura 23. Comportamiento del pH del influente y efluentes de los cinco RAAS durante la segunda etapa experimental (día 275 - 380). Las líneas discontinuas horizontales indican los valores promedio de pH del influente (5.39) y global de los cinco efluentes (7.79).

Como se mencionó en la metodología, a partir del día 275 y hasta el día 365, se suspendió la alimentación de los RAAS con sustrato sintético y se procedió a alimentar los reactores con desperdicios típicos de cocina, tales como cáscaras, semillas, tallos, hojas y frutas fermentadas. La proporción de residuos de cocina respecto al LBP se modificó ligeramente (70% de residuos y 30% de LBP) debido a la disponibilidad del segundo sustrato. Como se

puede ver en la **Figura 23**, el pH del influente tuvo un valor promedio de 5.39 en esta etapa experimental y un comportamiento inestable respecto a la etapa anterior. Esto podría deberse a la composición del sustrato, puesto que dependió directamente del tipo de residuo empleado y sobre el cual no existió un control estricto de selección, en comparación con un sustrato sintético.

Por un periodo de dos meses la operación de los RAAS se mantuvo estable hasta el día 330. A partir de ese momento, el pH de los efluentes comenzó a descender. Tomando en consideración lo descrito por Zhang et al. (2014) en su revisión bibliográfica, el descenso en el pH podría ser indicativo de acumulación de AGV's de cadena larga como el ácido butírico. La acumulación de AGV's pudo desencadenar la falla de los RAAS con TRH's cortos. La velocidad del descenso del pH fue inversamente proporcional al TRH de cada RAAS, siendo más rápida en los RAAS con TRH cortos (40, 60 y 80 días).

Al final de esta segunda etapa, el pH de la cama de lodos de todos los RAAS se acidificó y la P_{BG} disminuyó, indicando la falla de los RAAS₄₀, RAAS₆₀ y RAAS₈₀. Gou et al. (2014) determinaron que los TRH cortos contribuyen al lavado de los metanógenos activos en el efluente, favoreciendo la proliferación de los microorganismos acidogénicos y la acumulación de AGVs. Este podría ser el caso de esta investigación y justificaría por qué en los RAAS con TRHs cortos se presentó una rápida acidificación de la cama de lodos.

Por otro lado, haciendo un análisis de la bitácora de la corrida experimental, se detectó que en el día 310 se utilizó una cantidad mayoritaria (más del 70% de los residuos totales) de cáscaras de naranja para la preparación del sustrato. Se realizó una búsqueda bibliográfica y se encontró que la DA de cáscaras de naranja representa un reto importante para la P_{BG} .

Las cáscaras de cítricos contienen varios compuestos solubles e insolubles (como los aceites esenciales) que se pueden digerir para producir biogás (Mizuki et al., 1990). Sin embargo, la presencia del D-Limoneno en el aceite esencial puede ser nociva para la DA, pues se trata de un compuesto antimicrobiano y que constituye el 90% del aceite esencial de naranja (Wikandari et al., 2015). Se ha reportado como un compuesto altamente tóxico y nocivo para la DA pudiendo causar el fracaso total del proceso (Martín et al., 2010 y Forgács et al., 2012, citados en Wikandari et al., 2015). La conjugación de los factores descritos en los párrafos anteriores explicaría por qué todos los RAAS fallaron al final de esta corrida experimental.

ER_{ST} y ER_{SV}

En la **Figura 24** se muestra la evolución de las ER_{ST} y ER_{SV} de los RAAS durante la segunda etapa experimental.

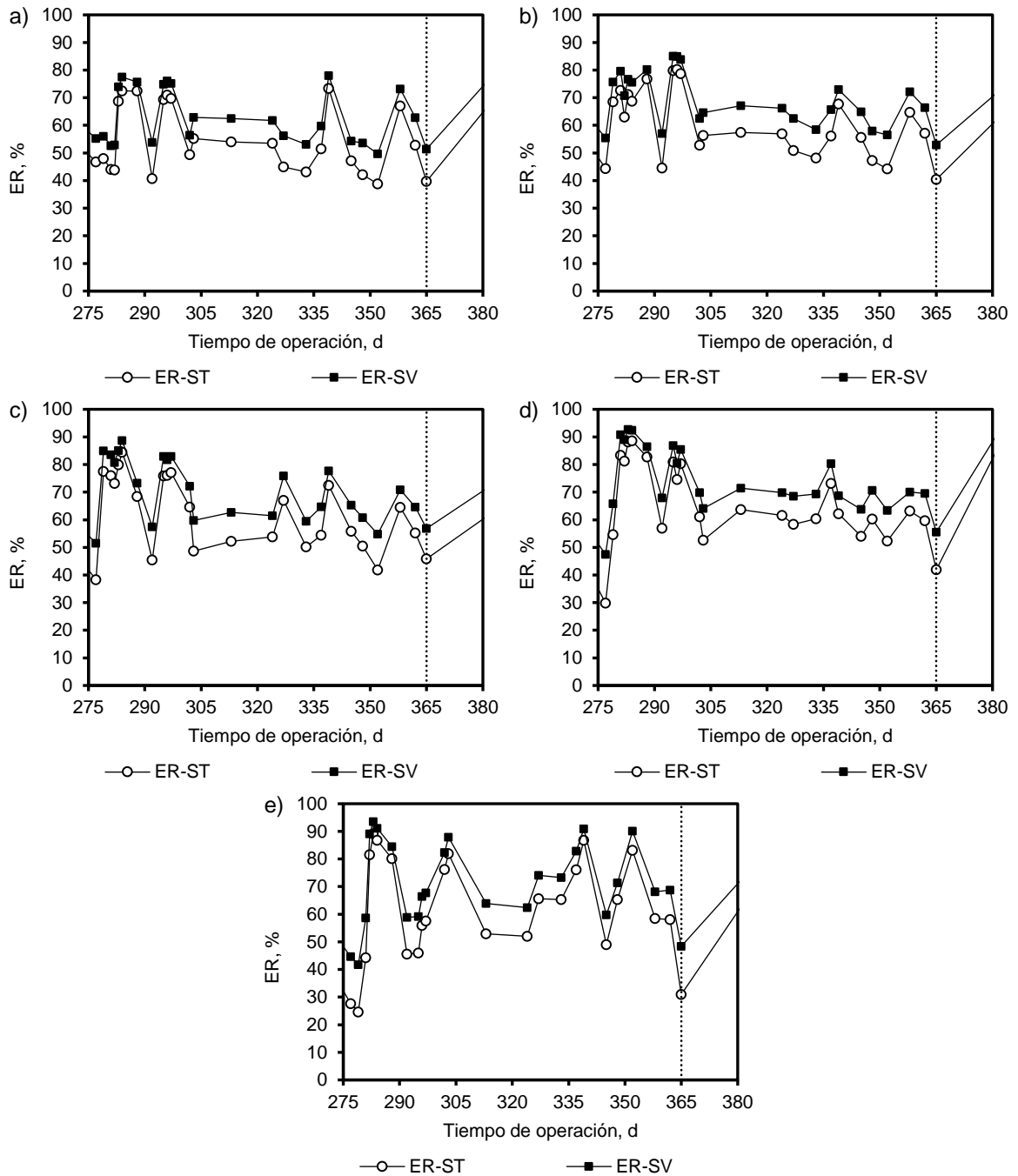


Figura 24. Evolución de la ER_{ST} y ER_{SV} en el tiempo durante la segunda etapa experimental (cambio de sustrato y acidificación) para: a) RAAS₄₀; b) RAAS₆₀; c) RAAS₈₀; d) RAAS₁₀₀ y e) RAAS₁₂₀. Las líneas punteadas verticales indican los días en los que se analizó la cama de lodos de los RAAS.

Como se puede ver en la **Figura 24**, la ER_{ST} y la ER_{SV} tuvieron un comportamiento variable durante el primer mes de alimentación en todos los RAAS. Esto pudo deberse al cambio de sustrato que tuvo lugar en esta segunda etapa experimental. Durante el segundo mes de operación de esta etapa, las ER_{ST} y ER_{SV} se mantuvieron estables en todos los RAAS y se asume que los reactores alcanzaron el estado estacionario. Sin embargo, a partir del día 330 se presentó nuevamente un comportamiento variable en las ER_{ST} y ER_{SV} . Este comportamiento puede atribuirse a los problemas de acidificación descritos previamente, lo que generó inestabilidad en el sistema.

En la **Tabla 18** y la **Figura 25** se muestran los valores promedio de las ER_{ST} y ER_{SV} , así como las desviaciones estándar de los cinco RAAS durante la segunda etapa experimental.

Tabla 18. Valores promedio de la ER_{ST} , ER_{SV} y desviaciones estándar para cada uno de los cinco RAAS durante la segunda etapa experimental.

Parámetro	RAAS ₄₀	RAAS ₆₀	RAAS ₈₀	RAAS ₁₀₀	RAAS ₁₂₀
ER_{ST} , %	54.38 ± 12.13	60.15 ± 12.21	61.98 ± 13.61	65.02 ± 14.70	61.61 ± 19.12
ER_{SV} , %	62.37 ± 9.89	68.61 ± 9.71	70.38 ± 11.34	73.61 ± 11.83	71.17 ± 15.20

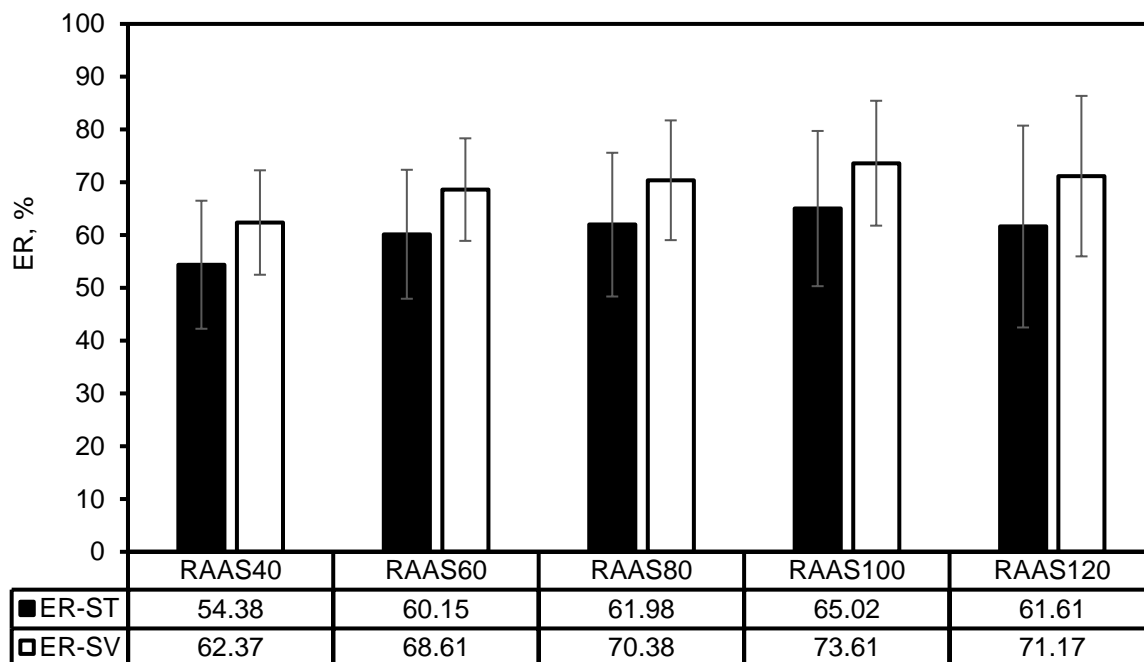


Figura 25. Promedio de la ER_{ST} , ER_{SV} y desviaciones estándar para cada uno de los cinco RAAS durante la segunda etapa experimental.

Como se puede observar en la **Tabla 18** y la **Figura 25**, los valores de la ER_{ST} y ER_{SV} durante la segunda etapa experimental son ligeramente superiores a los de la primera etapa

experimental (**Tabla 15** y **Figura 16**). Esto probablemente se debió al cambio de sustrato, ya que su composición varió en función del residuo que se utilizó para preparar el alimento. Sin embargo, las desviaciones estándar son mayores en esta segunda etapa respecto a la primera. Esto indica que la variación que existió en los valores de la ER_{ST} y ER_{SV} fue superior en esta etapa, lo que pudo estar influenciado tanto por el cambio de sustrato como por los problemas de acidificación que se mencionaron previamente.

Al final de la segunda etapa experimental, todos los RAAS mostraron eficiencias menores del 55% tanto en ER_{ST} como en ER_{SV} . Al realizar la apertura de los RAAS en el día 365 de la operación para el análisis de la cama de lodos, se pudo comprobar la presencia de partículas de materia orgánica sin degradar del sustrato, principalmente en los RAAS₄₀, RAAS₆₀ y RAAS₈₀, lo cual es un indicativo de una digestión poco eficiente. Por esta razón, se decidió desechar la cama de lodos de los reactores mencionados y únicamente se reservaron las de los RAAS₁₀₀ y RAAS₁₂₀, los cuales presentaron menor contenido de materia orgánica sin digerir.

Parámetros de control: P_{BG} , R_{GB} y R_{CH4}

En la **Tabla 19**, se presentan los valores promedio y desviaciones estándar de la P_{BG} , el R_{BG} , el contenido de CH_4 y los R_{CH4} por SV agregados y removidos de la segunda etapa experimental.

Tabla 19. Valores promedio y desviaciones estándar de los parámetros de control para los cinco RAAS durante la segunda etapa experimental

Parámetro	RAAS ₄₀	RAAS ₆₀	RAAS ₈₀	RAAS ₁₀₀	RAAS ₁₂₀
COV_{apl} , g-SV _{agr} /L.d	1.66 ± 0.32	1.07 ± 0.21	0.83 ± 0.16	0.65 ± 0.13	0.53 ± 0.10
COV_{rem} , g-SV _{rem} /L.d	1.05 ± 0.28	0.73 ± 0.16	0.59 ± 0.13	0.49 ± 0.11	0.39 ± 0.12
* P_{BG} , L _{BG} /d	1.26 ± 1.03	2.40 ± 0.78	2.17 ± 0.60	1.74 ± 0.58	1.42 ± 0.49
* P_{CH4} , L _{CH4} /d	0.81 ± 0.66	1.58 ± 0.51	1.44 ± 0.40	1.16 ± 0.39	0.95 ± 0.33
* R_{BG} , L _{BG} /g-SV _{agr}	0.07 ± 0.06	0.20 ± 0.06	0.24 ± 0.06	0.24 ± 0.07	0.24 ± 0.07
Cont. de CH_4 , %	64.50	66.00	66.40	66.50	66.70
* R_{CH4} , L _{CH4} /g-SV _{agr}	0.05 ± 0.04	0.13 ± 0.04	0.16 ± 0.04	0.16 ± 0.05	0.16 ± 0.05
* R_{CH4} , L _{CH4} /g-SV _{rem}	0.07 ± 0.07	0.19 ± 0.05	0.22 ± 0.07	0.22 ± 0.08	0.22 ± 0.06

* Valores reportados a condiciones estándar de temperatura (0 °C) y presión (1 atm)

Al comparar los datos de la **Tabla 19** (segunda etapa experimental) con los de la **Tabla 16** (primera etapa experimental) se puede notar que las COV_{apl} son similares en ambas etapas.

A pesar del cambio en el sustrato, la concentración del nuevo alimento fue similar a la de la primera etapa, por lo que las COV_{apl} no cambiaron. Se observan ligeros aumentos en la COV_{rem} en todos los RAAS, lo que se debió al aumento en las ER_{SV} que se obtuvieron durante esta etapa. En los que respecta a los parámetros de P_{BG} , P_{CH_4} , R_{BG} y R_{CH_4} por SV_{agr} y SV_{rem} , se observa que todos disminuyeron en esta etapa experimental.

Los parámetros del RAAS₄₀ disminuyeron drásticamente en más del 80% respecto a los valores de la primera etapa. El resto de los RAAS, mostraron disminuciones de entre el 30 y 45% respecto a la primera etapa. Estas disminuciones se atribuyeron a la acidificación que ocurrió en los RAAS al final de la segunda etapa experimental. El RAAS₄₀, al ser el reactor con la disminución más severa del pH (**Figura 23**), presentó los menores valores en sus parámetros de desempeño.

Para evaluar las diferencias estadísticas en el parámetro de la P_{BG} , se analizaron sus valores promedio, desviaciones estándar y comportamiento a través del tiempo para todos los RAAS. En la **Figura 26** se muestran los valores de la P_{BG} promedio durante la segunda etapa experimental, mientras que en la **Figura 27** se muestra el comportamiento de la P_{BG} en el tiempo.

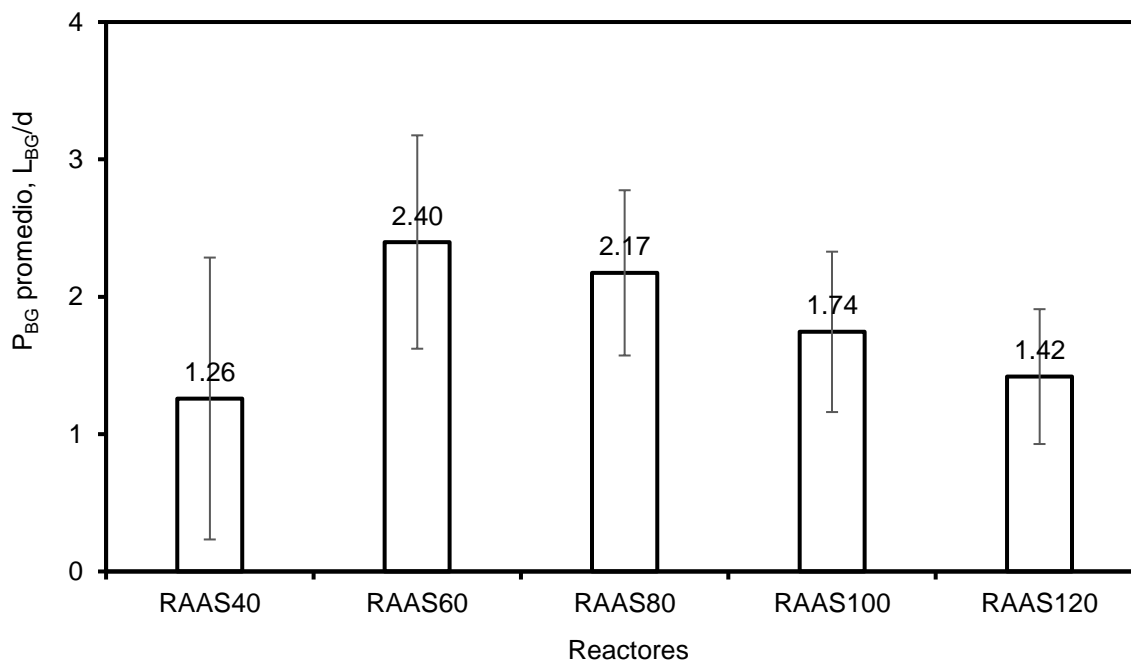


Figura 26. P_{BG} promedio y desviación estándar para cada uno de los cinco RAAS durante la segunda etapa experimental. Los valores están reportados a condiciones estándar de temperatura ($0\text{ }^{\circ}C$) y presión (1 atm).

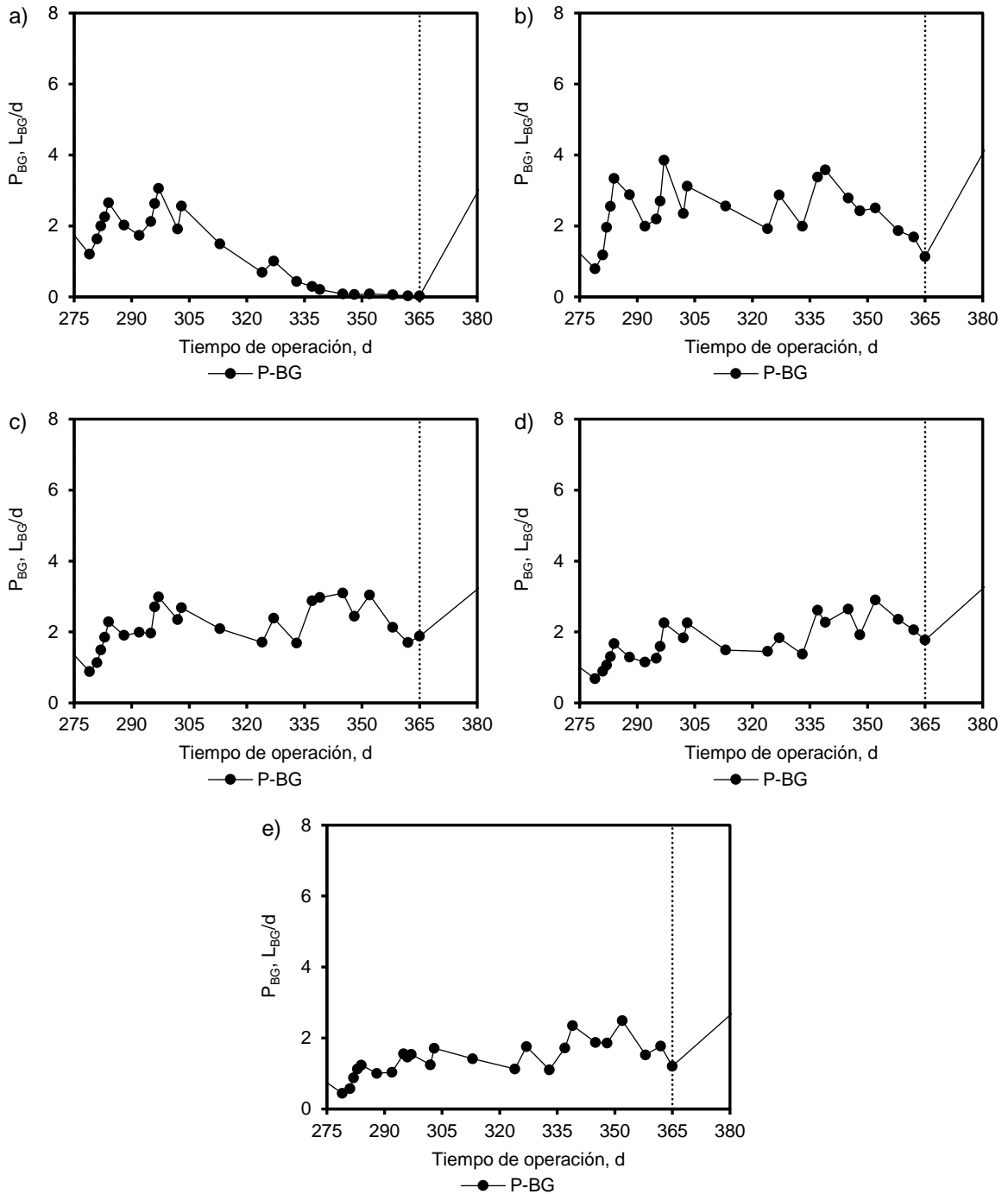


Figura 27. P_{BG} diaria (L_{BG}/d) durante la primera segunda experimental (cambio de sustrato y acidificación) para: a) RAAS₄₀; b) RAAS₆₀; c) RAAS₈₀; d) RAAS₁₀₀ y e) RAAS₁₂₀. Los valores están reportados a condiciones estándar de temperatura (0 °C) y presión (1 atm). La línea punteada vertical indica el día donde se hizo la apertura de los RAAS para el análisis de la cama de lodos.

La P_{BG} de todos los RAAS (**Figura 27**) inició con valores bajos en la segunda etapa experimental, lo que coincide con el comportamiento de la P_{BG} en los días posteriores a la

apertura de los RAAS para el análisis de la cama de lodos. La P_{BG} muestra un incremento durante los primeros 30 días de esta etapa experimental, indicando una respuesta positiva ante el cambio de sustrato. Sin embargo, a partir del día 305, la P_{BG} comenzó a descender en todos los RAAS hasta el día 324. Esta tendencia coincide con el descenso del pH en todos los RAAS, el cual se discutió previamente.

La P_{BG} tuvo un incremento a partir del día 325 en todos los RAAS. Sin embargo, este incremento solo fue momentáneo en el RAAS₄₀ y la P_{BG} continuó descendiendo hasta llegar a cero. Para ese momento, el pH del efluente (5.12) del RAAS₄₀ indicó la acidificación y falla total del reactor. La P_{BG} del RAAS₆₀ continuó incrementándose hasta el día 335, pero a partir de ese día comenzó a descender nuevamente y no se recuperó, alcanzando un valor mínimo de 1.12 L_{BG}/d en el día 365. El pH de la cama de lodos (6.38) indicó una acidificación menor que en el RAAS₄₀, pero la presencia de partículas de materia orgánica de sustrato sin degradar fueron un indicio de la falla del reactor.

Los RAAS con TRH's de 80 a 120 días lograron mantener la P_{BG} , aunque esta disminuyó respecto a la P_{BG} de la etapa experimental anterior en 28.79, 25.03 y 31.28% para RAAS₈₀, RAAS₁₀₀ y RAAS₁₂₀, respectivamente. Gráficamente se puede observar que los reactores menos afectados por la acidificación del pH en la cama de lodos fueron RAAS₁₀₀ y RAAS₁₂₀.

En la **Figura 28** se muestra el R_{BG} de la segunda etapa experimental.

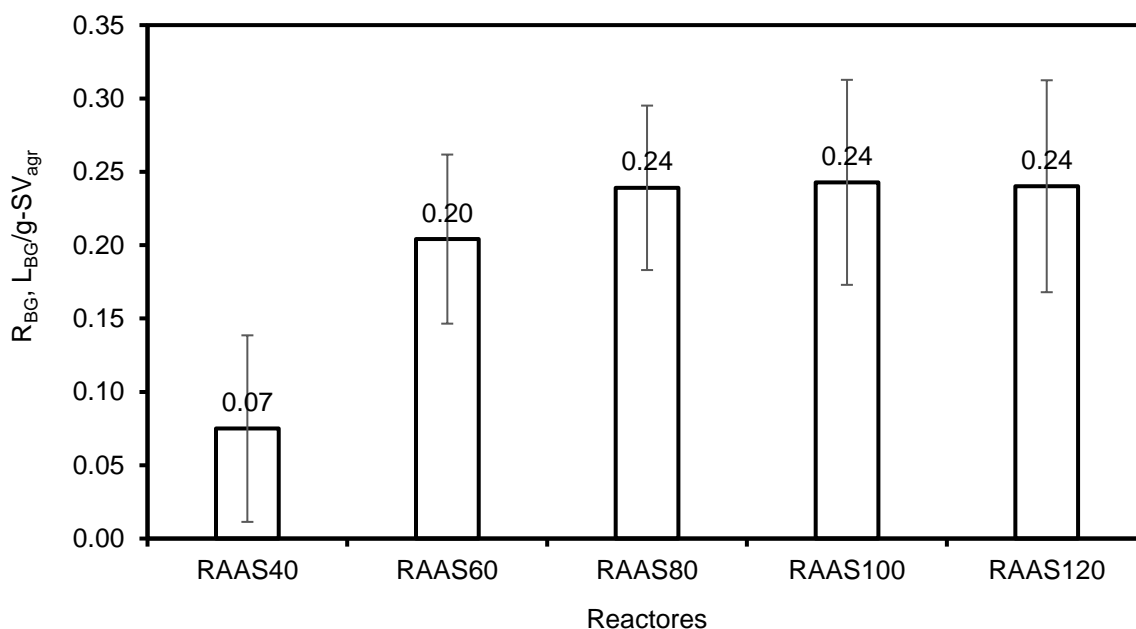


Figura 28. Valores promedio y desviaciones estándar del R_{BG} para los cinco RAAS durante la segunda etapa experimental. Los valores están reportados a las condiciones estándar de temperatura (0 °C) y presión (1 atm).

Por otro lado, en la **Figura 29** se muestran los valores promedio del R_{CH_4} por SV_{agr} y SV_{rem} .

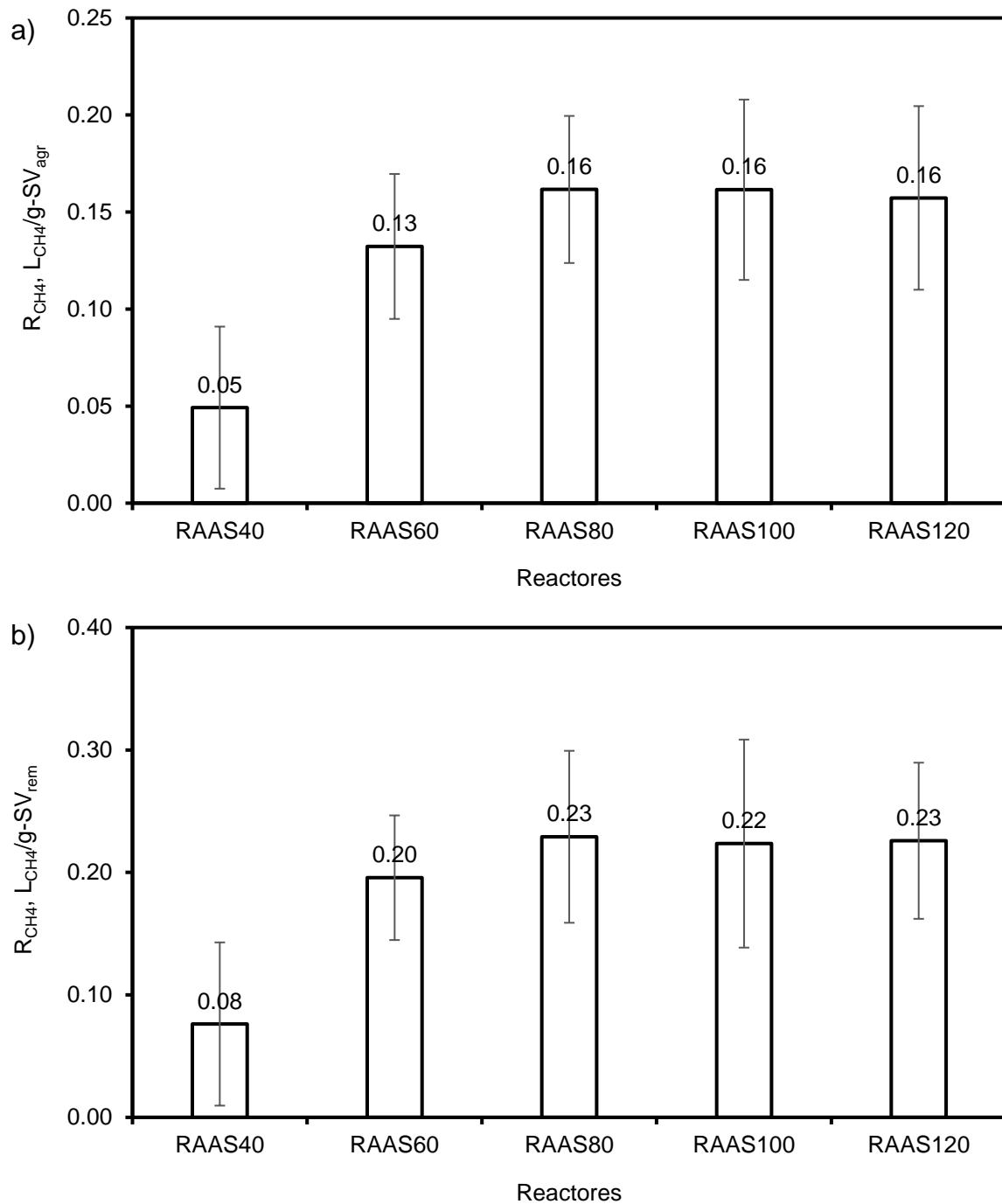


Figura 29. Valores promedio y desviación estándar durante la segunda etapa experimental para: a) R_{CH_4} por SV_{agr} y b) R_{CH_4} por SV_{rem} . Los valores están reportados a condiciones estándar de temperatura ($0\text{ }^{\circ}\text{C}$) y presión (1 atm)

Como se puede ver en la **Figura 28** y en la **Figura 29a)** y **b)**, los valores de R_{BG} y R_{CH_4} están por debajo de los promedios reportados en la primera etapa experimental. El R_{BG} y

R_{CH_4} del RAAS₄₀ es el más bajo como consecuencia de los problemas de acidificación de la cama de lodos en el reactor. El RAAS₆₀ también presenta valores bajos de R_{BG} y R_{CH_4} , siendo estos parámetros un 50% menores que los reportados en la primera etapa experimental. Esto se debió también a la acidificación (aunque en menor grado que para RAAS₄₀) de la cama de lodos.

Los valores promedio de R_{BG} y R_{CH_4} por SV_{agr} de los RAAS₈₀, RAAS₁₀₀ y RAAS₁₂₀ son 36, 37 y 40% menores que los mismos parámetros reportados en la primera etapa experimental, mientras que el R_{CH_4} por SV_{rem} es 45% menor en todos los casos. A pesar de que ANOVA reporta que todos estos valores son estadísticamente iguales en los tres reactores, los problemas de acidificación provocaron una drástica disminución en su valor.

Tercera etapa experimental (reinicio)

pH de los RAAS

En la **Figura 30** se muestra el comportamiento del pH del influente y efluentes de los RAAS durante la tercera etapa experimental (reinicio).

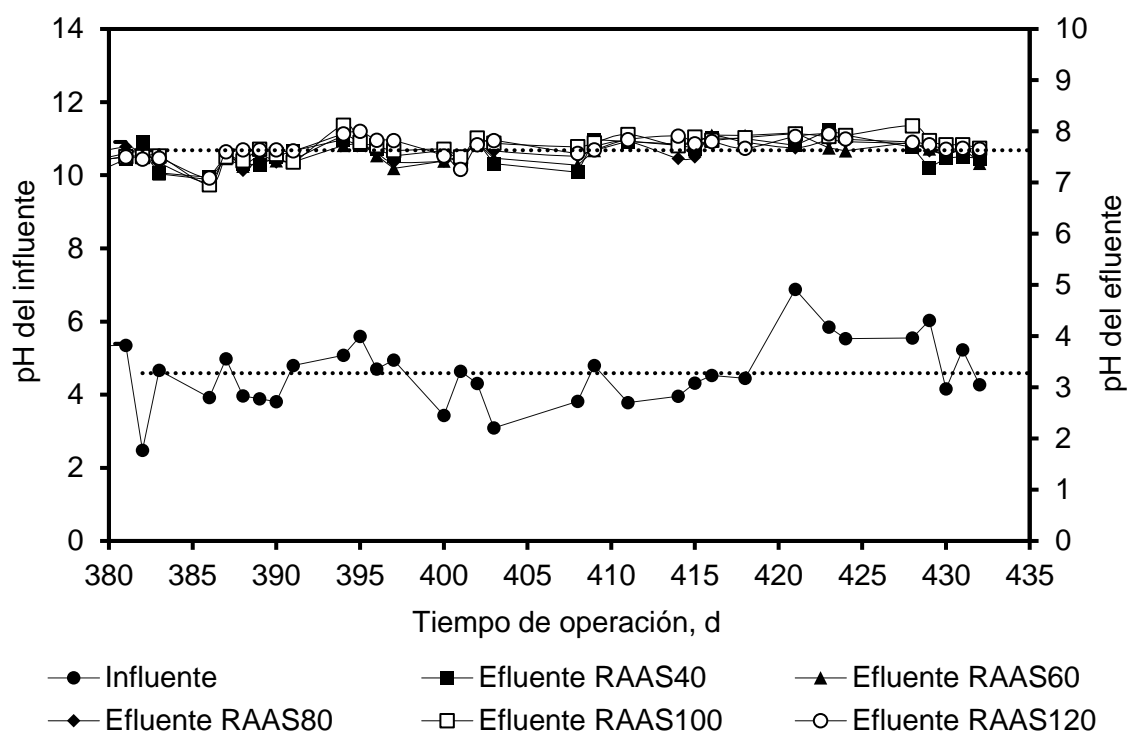


Figura 30. Comportamiento del pH del influente y efluentes de los cinco RAAS durante la tercera etapa experimental (día 381 - 435). Las líneas punteadas horizontales indican los valores promedio de pH del influente (4.59) y global de los cinco efluentes (7.63).

A partir del día 381 se reiniciaron los RAAS (tercera etapa experimental). Como inóculo se utilizaron las camas de lodos de los RAAS₁₀₀ y RAAS₁₂₀ (que presentaron una acidificación menor) y se mezclaron con 40 litros de digestato almacenado a lo largo de la corrida experimental. La alimentación de los RAAS se continuó realizando con residuos de cocina reales (cáscaras, frutas fermentadas, etc.).

En la **Figura 30** se muestra el comportamiento del pH a través del tiempo. A pesar de que el pH del influente fue más ácido en esta tercera etapa (pH = 4.59) en comparación con la etapa anterior (pH = 5.39), el pH de los efluentes de todos los RAAS se mantuvo constante en un valor promedio de 7.63 hasta el final de la corrida experimental. Esta es una señal clara de que la recuperación de los digestores es rápida.

Parámetros de control: ER_{ST}, ER_{SV}, P_{BG}, R_{GB} y R_{CH4}

En la **Tabla 20** se muestran los valores promedio y desviaciones estándar de los parámetros de desempeño de los RAAS durante la tercera etapa experimental.

Tabla 20. Valores promedio y desviaciones estándar de los parámetros de control para los cinco RAAS durante la tercera etapa experimental (reinicio de los RAAS).

Parámetro	RAAS ₄₀	RAAS ₆₀	RAAS ₈₀	RAAS ₁₀₀	RAAS ₁₂₀
COV _{apl} , g-SV _{agr} /L.d	1.71 ± 0.26	1.10 ± 0.17	0.85 ± 0.13	0.67 ± 0.10	0.55 ± 0.08
COV _{rem} , g-SV _{rem} /L.d	1.03 ± 0.21	0.70 ± 0.15	0.54 ± 0.11	0.47 ± 0.11	0.38 ± 0.09
ER _{ST} , %	53.43 ± 8.95	54.11 ± 7.48	55.54 ± 5.26	65.97 ± 16.14	62.79 ± 10.19
ER _{SV} , %	62.46 ± 8.55	64.20 ± 6.41	65.10 ± 5.46	74.66 ± 13.62	71.77 ± 8.27
*P _{BG} , LBG/d	4.19 ± 1.26	4.08 ± 1.67	3.24 ± 0.77	2.81 ± 0.80	2.23 ± 0.72
*P _{CH4} , LCH4/d	3.02 ± 0.91	2.94 ± 1.20	2.33 ± 0.56	2.02 ± 0.58	1.61 ± 0.52
*R _{BG} , LBG/g-SV _{agr}	0.23 ± 0.07	0.34 ± 0.13	0.35 ± 0.08	0.38 ± 0.11	0.38 ± 0.14
Cont. de CH ₄ , %	72.00	72.00	72.00	72.00	72.00
*R _{CH4} , LCH4/g-SV _{agr}	0.16 ± 0.05	0.25 ± 0.10	0.25 ± 0.06	0.28 ± 0.08	0.27 ± 0.10
*R _{CH4} , LCH4/g-SV _{rem}	0.27 ± 0.08	0.38 ± 0.13	0.40 ± 0.10	0.39 ± 0.13	0.39 ± 0.14

* Valores reportados a condiciones estándar de temperatura (0 °C) y presión (1 atm)

Como se puede observar en la **Tabla 20**, las ER_{ST} y ER_{SV} de los RAAS son similares y en algunos casos superiores a las ER_{ST} y ER_{SV} reportadas en la primera y segunda etapas experimentales. Esto habla de una rápida recuperación de los RAAS en la etapa de reinicio de los reactores.

En lo que respecta a las COV_{apl}, estas fueron similares a las aplicadas en las etapas experimentales previas. El cambio de sustrato no derivó en modificaciones mayores en las

COV_{apl} . Dado que las ER_{ST} y ER_{SV} fueron similares en todas las etapas experimentales, las COV_{rem} también lo fueron en todos los RAAS.

La P_{BG} durante la tercera etapa experimental fue de 4.19 ± 1.26 , 4.08 ± 1.67 , 3.24 ± 0.77 , 2.81 ± 0.80 y 2.23 ± 0.72 L_{BG}/d , para RAAS₄₀, RAAS₆₀, RAAS₈₀, RAAS₁₀₀ y RAAS₁₂₀, respectivamente. Los valores de la P_{BG} en esta tercera etapa son muy similares a los de la primera etapa experimental, con excepción de la P_{BG} del RAAS₄₀. La baja P_{BG} del RAAS₄₀ pudo deberse a dos factores: a que el TRH de 40 días fue insuficiente para asegurar un proceso de digestión eficiente (como se describió previamente) o a que la alta COV_{apl} en el reactor generó mayor inestabilidad en la cama de lodos, tal como ocurrió durante los primeros 120 días de la primera etapa experimental.

El inóculo que se utilizó en esta etapa experimental consistió en una mezcla de la cama de lodos de los RAAS₁₀₀ y RAAS₁₂₀ (los cuales tuvieron el menor grado de acidificación) con 40 litros de digestato almacenado durante las primeras dos etapas experimentales. Es probable que, durante el periodo de almacenamiento, los microorganismos anaerobios del digestato hayan incrementado su actividad metanogénica. Los depósitos de digestato funcionaron como reactores anaerobios con TRH's muy largos (> 100 d). En la literatura se ha demostrado que el R_{CH_4} se incrementa a medida que aumenta el TRH (Salminen y Rintala, 2002), probablemente por la extensión del tiempo de contacto entre bacterias y sustrato. Por esta razón, el contenido de CH_4 en el biogás se incrementó a 72% en todos los reactores. Dado que la medición del contenido de CH_4 se realizó al inicio de la tercera etapa experimental, los porcentajes fueron iguales en todos los RAAS.

Los promedios de los parámetros de R_{BG} , R_{CH_4} por SV_{agr} y por SV_{rem} son similares en todos los RAAS a los promedios obtenidos durante la primera etapa experimental, indicando que la recuperación de los RAAS es rápida. RAAS₄₀ es la excepción a esta tendencia y probablemente se deba a la alta COV_{apl} y al TRH corto. Es importante señalar que la tercera etapa experimental fue monitoreada por 55 días, por lo que las tendencias del RAAS₄₀ podrían haber cambiado en el futuro.

Las tendencias que se observan en esta tercera etapa experimental son similares a las reportadas en la primera etapa. La P_{BG} y la P_{CH_4} decrecieron a medida que disminuyó la COV_{apl} , lo que está ligado a la cantidad de SV alimentados en cada RAAS. Por otro lado, los parámetros de R_{BG} y R_{CH_4} se incrementaron a medida que aumentó el TRH. Posiblemente este aumento se debió al incremento del tiempo de contacto entre bacterias y sustrato, tal y como ocurrió en la primera etapa experimental. También se puede observar

que las diferencias estadísticas son despreciables entre los parámetros mencionados para los RAAS con TRH de 60 a 120 días.

Análisis de la P_{BG} acumulada y la P_{BG} horaria

De manera adicional, se evaluó el comportamiento de la P_{BG} durante las 24 h del día por medio de la unidad de control con sistema ARDUINO. La unidad de control permitió identificar el comportamiento de la gráfica acumulativa de biogás durante el tiempo de prueba. En la **Figura 31** se observa el ejemplo del RAAS₄₀. En la gráfica de la P_{BG} se omiten los datos de dos periodos: día 0 – 90 y día 214 – 290, debido a las fallas que se presentaron en la unidad de control. Por esta razón, se presentan únicamente los datos de 270 días de operación y no de los 435 días totales. Sin embargo, los datos aquí presentados permiten hacer observaciones interesantes.

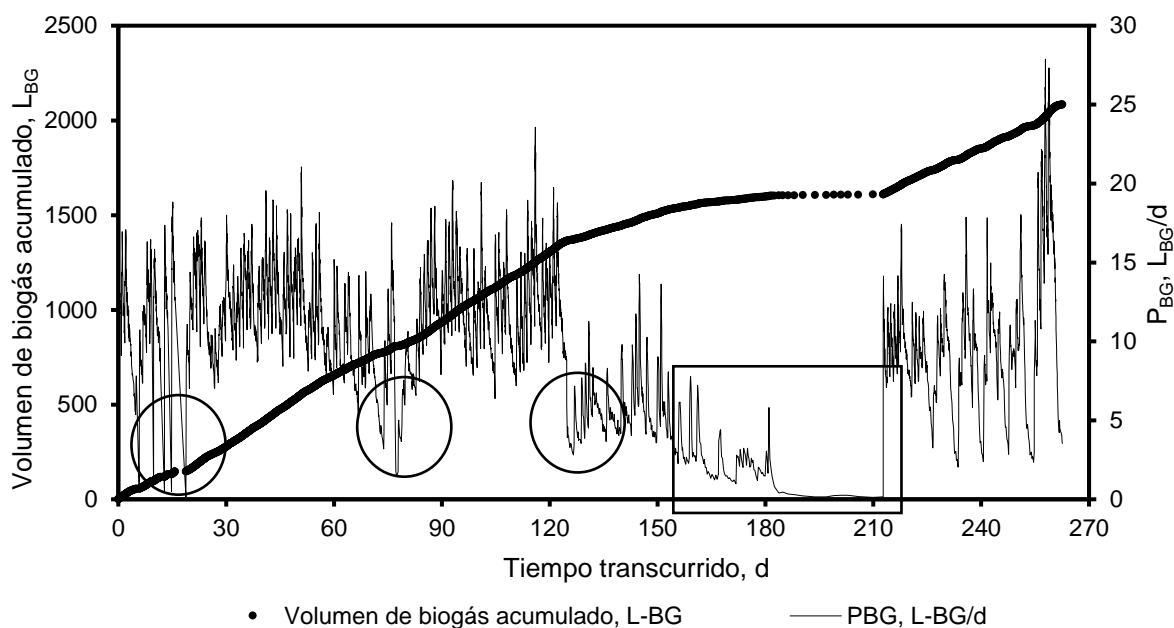


Figura 31. P_{BG} diaria y volumen de biogás acumulado a lo largo de 270 días de operación.

La gráfica de biogás acumulado (L_{BG}) muestra una generación de más de 2,000 L de biogás durante los 270 días. Por su cuenta, la línea de la P_{BG} muestra un comportamiento ondulatorio, el cual es influenciado por el modo de alimentación de 6 días continuos por uno de descanso. Los valores mínimos que se logran observar en la P_{BG} (encerrados en un círculo) corresponden a los periodos en los que se abrieron los digestores para la evaluación de la cama de lodos. La región de la gráfica encerrada en el recuadro corresponde al periodo donde ocurrió la acidificación del RAAS₄₀, momento donde la P_{BG}

cesó por completo. Al hacer un acercamiento en la gráfica, se pueden observar algunas tendencias claras que se muestran en la **Figura 32**.

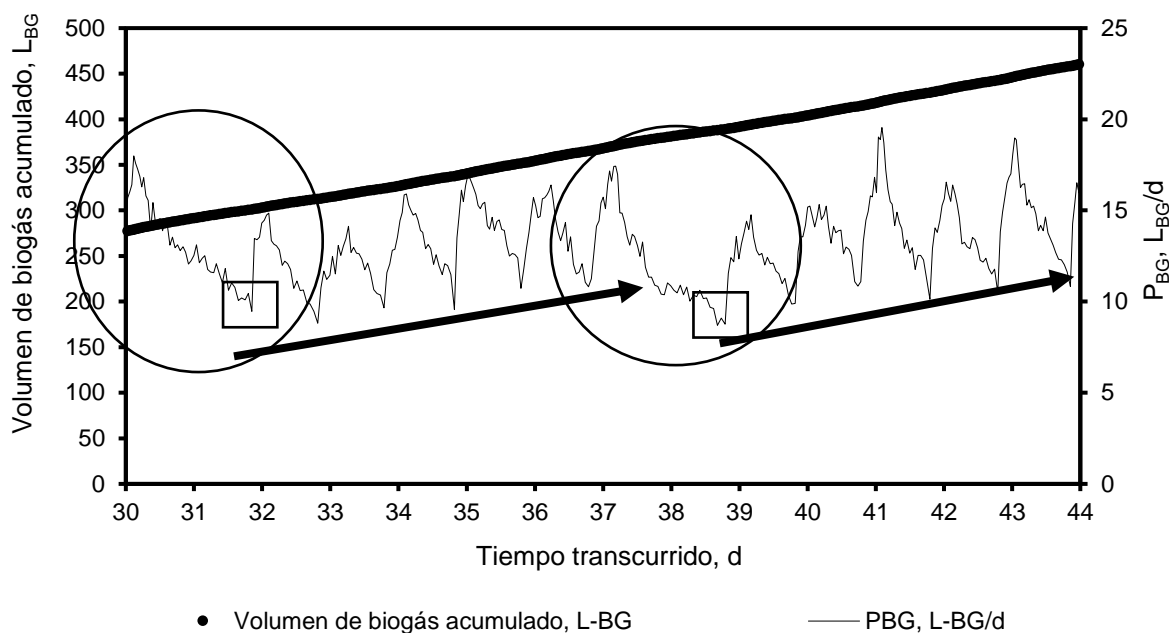


Figura 32. P_{BG} diaria y volumen de biogás acumulado para un periodo de dos semanas (día 30 al 44) en el RAAS₄₀.

En la **Figura 32** se puede observar de forma clara el comportamiento ondulatorio de la P_{BG} . Las regiones enmarcadas en un círculo corresponden a los fines de semana, mientras que los seis picos posteriores representan los días de la semana lunes a sábado. Se puede observar que la P_{BG} mantuvo una tendencia ascendente del lunes al sábado (indicada con la flecha) pero al llegar el fin de semana, la P_{BG} descendió a valores mínimos (señalados con un cuadro) muy similares a los de la semana anterior, debido a la falta de alimentación los domingos.

Esta tendencia ascendente durante la semana parece indicar una acumulación de materia orgánica del sustrato sin degradar. Sin embargo, durante los fines de semana la P_{BG} descendió a valores mínimos similares a los del inicio del ciclo de alimentación. Este ciclo de alimentación intermitente permitió descartar un riesgo de acidificación por sobrecarga de sustrato sin degradar.

En la **Figura 33** se observa un mayor acercamiento a la gráfica del P_{BG} , donde se pueden observar de manera detallada las etapas de la degradación del sustrato.

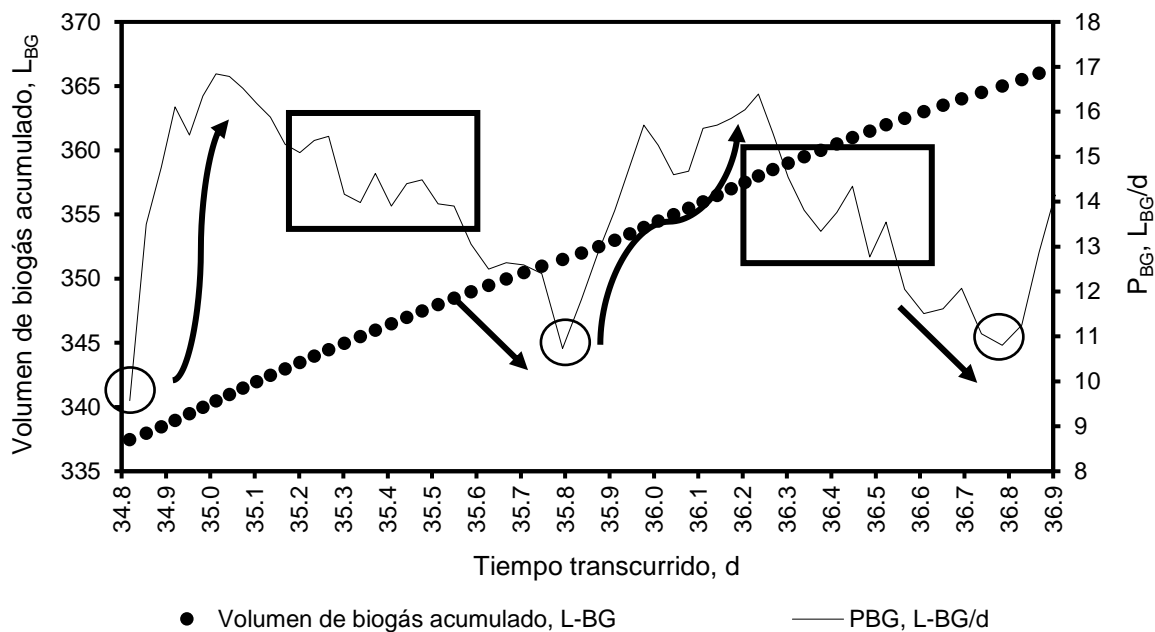


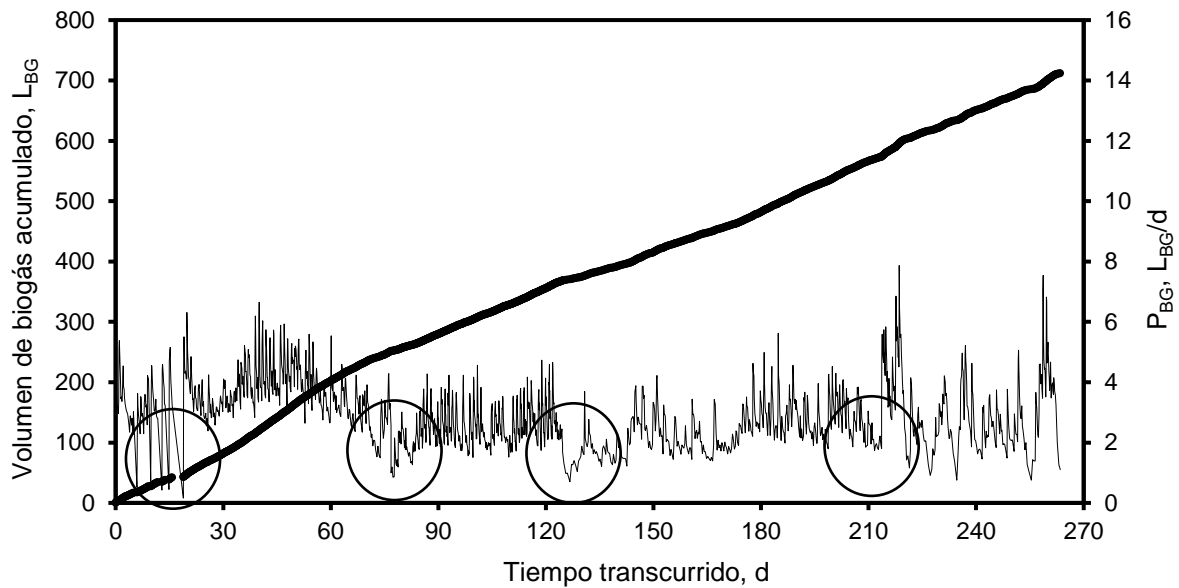
Figura 33. P_{BG} diaria y volumen de biogás acumulado para un periodo de dos días (día 35 al 37) en el RAAS₄₀.

En la **Figura 33** se observa a detalle el comportamiento de la P_{BG} en un periodo de 48 horas. Al analizar la gráfica se pueden observar algunos comportamientos constantes, que se enlistan a continuación:

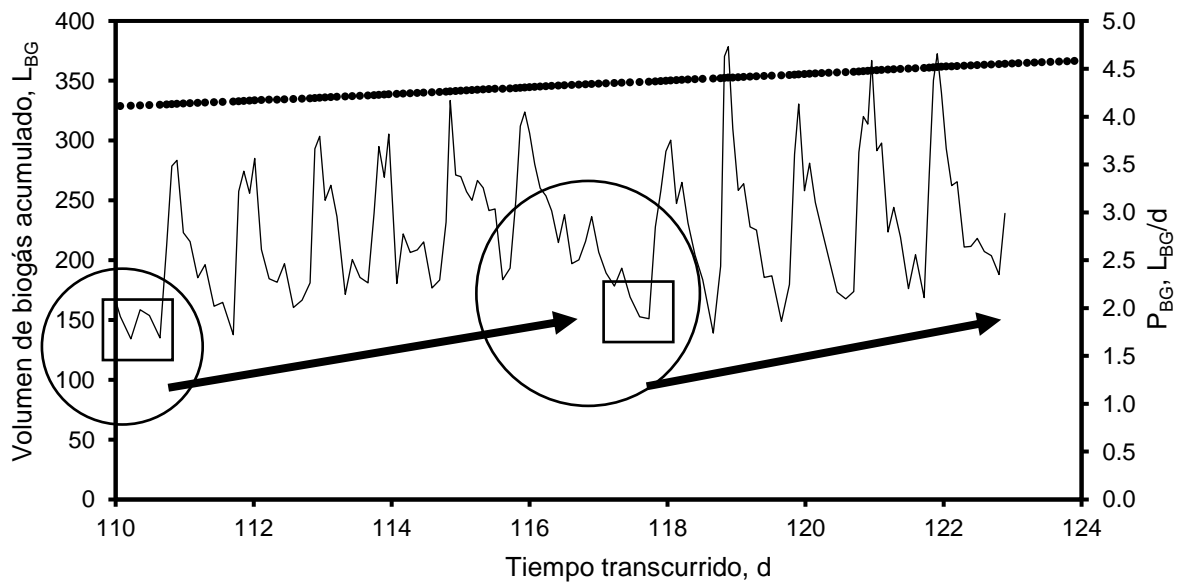
- El ciclo inicia con un valor mínimo de P_{BG} (encerrado en círculos), el cual indica el momento de la alimentación del sustrato.
- Acto seguido, se presenta un incremento súbito en la P_{BG} (indicado con la flecha ascendente), la cual alcanza su punto máximo al cabo de aproximadamente 0.2 – 0.4 d (4.8 a 9.6 h). Esta etapa en el ciclo diario de la P_{BG} podría corresponder al consumo de la fracción fácilmente biodegradable (fracción soluble) del sustrato, la cual es rápidamente asimilada por los microorganismos anaerobios.
- Después de alcanzar el punto máximo, comienza a disminuir la P_{BG} alcanzando una fase de meseta (encerrada en un recuadro). Esta etapa de meseta podría indicar una fase de equilibrio de consumo de sustratos entre las bacterias acidogénicas (que hidrolizan la DQO_P del sustrato) y las arqueas metanogénicas (que utilizan los AGV's para generar biogás). Esta etapa de equilibrio tiene una duración de aproximadamente 0.4 d (9.6 h).
- Finalmente, posterior a la fase de meseta se presenta la disminución de la P_{BG} (indicada con la flecha descendente) la cual continúa hasta llegar a un valor mínimo. Es posible que durante esta fase (de 0.2 d o 4.8 h), la fase predominante en la DA sea la

hidrólisis. Al momento de la alimentación de sustrato, el ciclo vuelve a iniciar de manera repetitiva. Este hallazgo permite mejorar el proceso de alimentación de los RAAS y optimizar el ciclo de la P_{BG} . Se puede determinar el momento ideal para la inserción del sustrato al reactor en función de la P_{BG} , evitando una sobrecarga de materia orgánica en el RAAS, lo que podría desencadenar una acidificación por acumulación de AGVs.

El comportamiento descrito en los párrafos anteriores fue similar en todos los RAAS. En la **Figura 34** se observan las gráficas del RAAS₁₀₀.



a) • Volumen de biogás acumulado, L-BG — P_{BG} , L-BG/d



b) • Volumen de biogás acumulado, L-BG — P_{BG} , L-BG/d

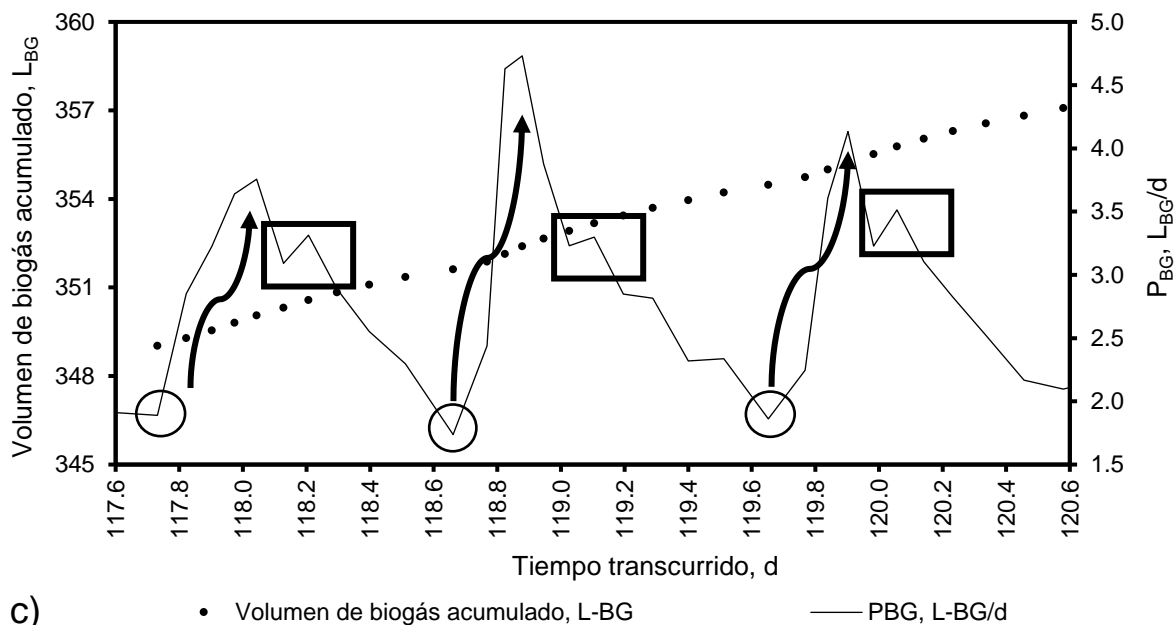


Figura 34. P_{BG} diaria y volumen de biogás acumulado para: a) 270 días de operación; b) periodo de dos semanas (día 110 al 124); y c) periodo de 72 horas (día 117 al 120), en el RAAS₁₀₀.

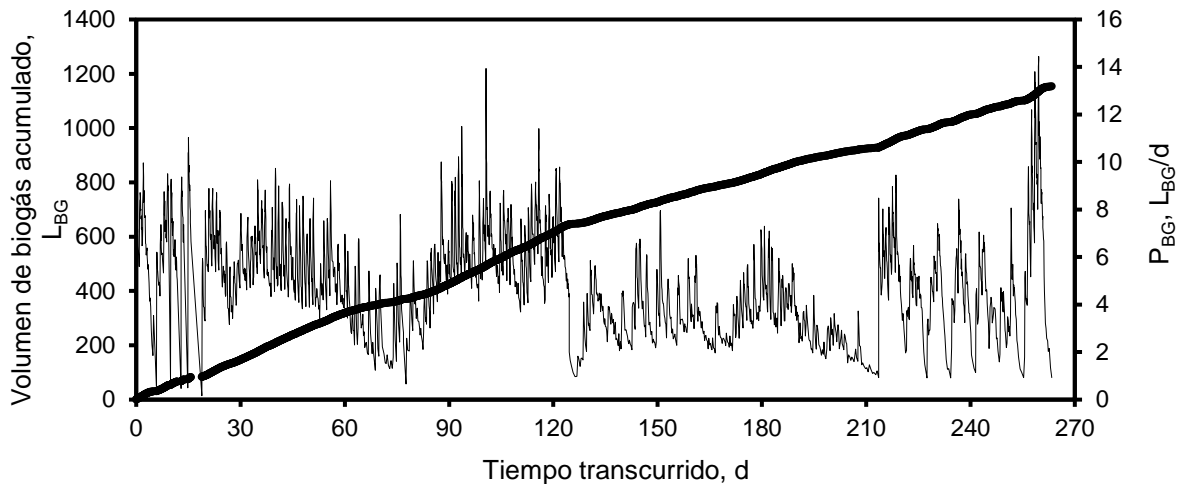
En la **Figura 34a**) se puede observar los L_{BG} acumulados y la P_{BG} diaria del RAAS₁₀₀ durante 270 días de prueba. Se puede observar los valores mínimos de la P_{BG} (encerrados en círculos) que corresponden con la apertura de los RAAS para el análisis de la cama de lodos. En este reactor, los L_{BG} acumulados y la P_{BG} diaria son menores que en el RAAS₄₀ (**Figura 31**), lo que corresponde con la baja COV_{apl} en este reactor (0.65 g-SV_{agr}/L.d). Se puede observar también que la P_{BG} es más estable en este reactor y que sigue un comportamiento uniforme durante los 270 días mostrados en la gráfica. También se puede observar que la P_{BG} no disminuyó entre el día 150 y el día 210, como ocurrió en el RAAS₄₀ a consecuencia de la acidificación de la cama de lodos.

En la **Figura 34b**) se observa el comportamiento de los L_{BG} acumulados y la P_{BG} diaria por un periodo de dos semanas. Las tendencias que se observan son las mismas que en el RAAS₄₀ (**Figura 32**). Las zonas encerradas en círculos corresponden a los fines de semana en donde se presenta la menor P_{BG} del ciclo, mientras que las regiones encerradas en recuadros indican los valores mínimos de la P_{BG} al finalizar la semana. Las fechas indican la tendencia ascendente de la P_{BG} durante los días de alimentación.

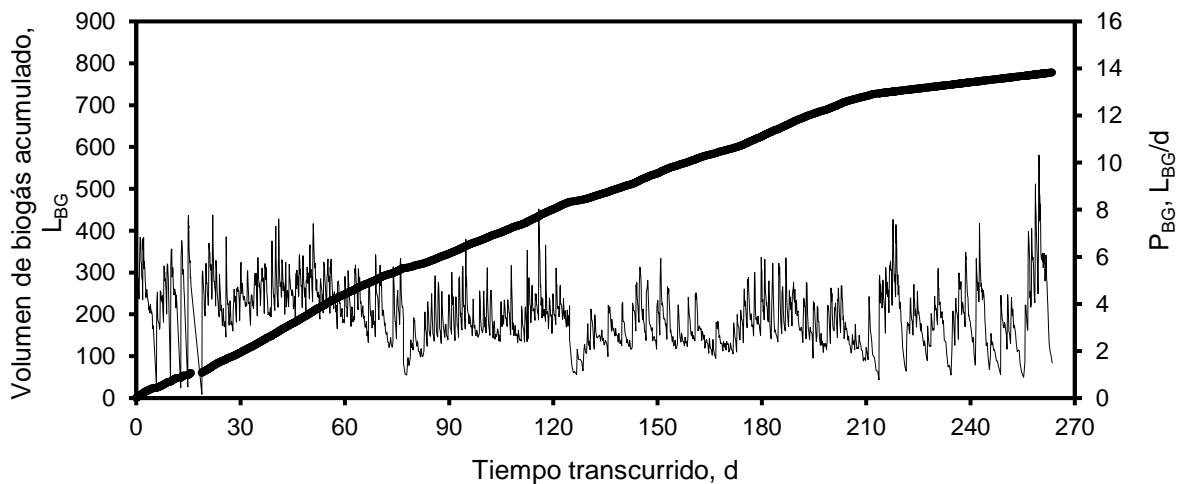
En la **Figura 34c**) se observa con detalle la P_{BG} durante un periodo de 72 horas. Nuevamente se pueden notar las etapas de inicio del ciclo encerrada en círculos (fase de alimentación), de degradación de la fracción soluble (indicada con la flecha), de descenso

de la P_{BG} y fase de meseta (equilibrio entre hidrólisis y metanogénesis) y descenso hasta un valor mínimo. A diferencia del comportamiento del RAAS₄₀ mostrado en la **Figura 33**, en el RAAS₁₀₀ la fase de degradación de la materia orgánica soluble es constante en 0.3 días (7.2 horas) y la fase de meseta es más corta (de 0.1 a 0.2 días o de 2.4 a 4.8 horas). Se puede observar también que el descenso de la P_{BG} es más rápido, lo que disminuye la amplitud en la base del pico de la P_{BG} . Esto se debe a que la cantidad de materia orgánica disponible para consumo de los microorganismos es menor que en el RAAS₄₀. Por lo tanto, el consumo del sustrato es más rápido y la P_{BG} decrece de manera acelerada.

En la **Figura 35**, se observan las gráficas de L_{BG} acumulados y P_{BG} diaria para los RAAS₆₀, RAAS₈₀ y RAAS₁₂₀.



a) • Volumen de biogás acumulado, L-BG — PBG, L-BG/d



b) • Volumen de biogás acumulado, L-BG — PBG, L-BG/d

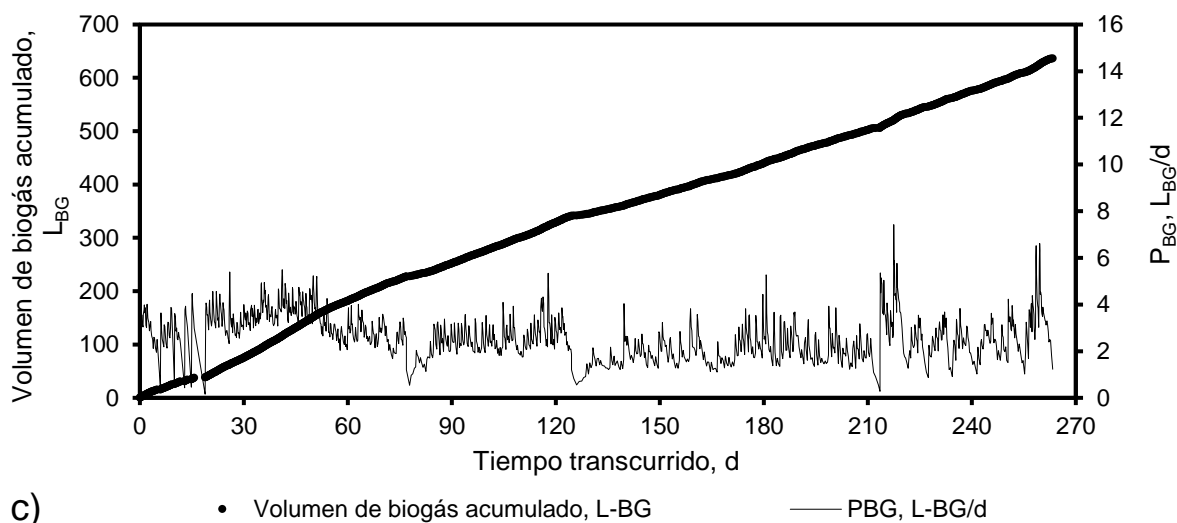


Figura 35. P_{BG} diaria y volumen de biogás acumulado para: a) RAAS₆₀; b) RAAS₈₀ y c) RAAS₁₂₀.

Como se puede observar en la **Figura 35a), b) y c)**, los RAAS₆₀, RAAS₈₀ y RAAS₁₂₀ presentaron un descenso en la P_{BG} mostrado en el día 212, el cual es consistente con la acidificación que tuvieron lugar todos los reactores. Sin embargo, en ninguno de los casos la P_{BG} llegó a cero como ocurrió en el RAAS₄₀. De manera general se puede observar que la P_{BG} y los L_{BG} acumulados disminuyen a medida que disminuye la COV_{apl} (de 1.06 a 0.53 g-SV_{agr}/L.d para entre el RAAS₆₀ y el RAAS₁₂₀, respectivamente), lo que está relacionado a la cantidad de SV_{agr} disponibles para su biodegradación en cada reactor. También se puede observar que la P_{BG} es más estable en los RAAS con TRH largos (100 y 120 días) en comparación con los TRH de 40 a 80 días. La forma y periodicidad de la curva de la P_{BG} , durante periodos semanales y periodos de 72 h de los RAAS con TRH de 60, 80 y 100 días, fue similar a la de los RAAS con TRH de 40 y 100 días.

Sólidos de la cama de lodos y TRS

Durante los 435 días del monitoreo de los reactores dividido en tres etapas experimentales se evaluó el TRS. Para ello se realizó el análisis de la cama de lodos de los RAAS (en los días 0, 75, 113, 165, 215, 275, 365, 381 y 435) para determinar el contenido de sólidos. En la **Tabla 21** se muestran los valores de ST, SV, SF y SV/ST de la cama de lodos de los cinco RAAS para la determinación del TRS. Por otro lado, en la **Figura 36** se muestra gráficamente el comportamiento de los sólidos a través del tiempo.

Tabla 21. Valores de ST, SV, SF y SV/ST en la cama de lodos de los cinco RAAS para la determinación del TRS

Reactor	Parámetro	Día de operación								
		1ª etapa experimental						2ª etapa experimental		3ª etapa experimental
		0	75	113	165	215	275	365	381	435
RAAS ₄₀	ST, g/L	44.77	40.19	33.73	29.71	27.08	24.84	30.84	37.94	34.53
	SV, g/L	30.02	29.92	25.14	22.62	21.06	19.00	25.05	28.45	26.27
	SF, g/L	14.85	10.29	8.49	7.22	6.01	5.70	5.66	9.44	8.10
	SV/ST, %	67.05	74.46	74.52	76.13	77.77	76.49	81.22	74.99	76.08
RAAS ₆₀	ST, g/L	42.97	38.13	33.86	29.61	27.56	24.08	36.05	37.94	35.53
	SV, g/L	28.63	26.88	24.24	22.12	20.72	17.42	29.73	28.45	26.70
	SF, g/L	14.54	11.37	9.43	7.45	6.89	6.43	6.31	9.44	8.72
	SV/ST, %	66.63	70.49	71.58	74.72	75.18	72.34	82.46	74.99	75.14
RAAS ₈₀	ST, g/L	44.43	39.94	36.83	33.37	34.21	26.51	35.34	37.94	36.46
	SV, g/L	29.96	27.85	25.89	24.10	25.31	18.68	28.44	28.45	27.39
	SF, g/L	14.44	11.89	10.72	9.25	8.86	7.63	6.79	9.44	8.75
	SV/ST, %	67.42	69.72	70.28	72.21	73.97	70.45	80.48	74.99	75.12
RAAS ₁₀₀	ST, g/L	43.82	44.12	43.55	38.76	38.34	31.84	36.44	37.94	38.62
	SV, g/L	29.05	30.39	30.32	27.05	27.62	21.72	27.69	28.45	28.99
	SF, g/L	14.87	13.51	13.01	11.56	10.96	9.74	8.55	9.44	9.33
	SV/ST, %	66.29	68.88	69.62	69.80	72.05	68.21	76.00	74.99	75.06
RAAS ₁₂₀	ST, g/L	44.29	45.70	43.30	40.46	40.94	34.97	41.35	37.94	38.39
	SV, g/L	29.40	31.51	30.22	27.91	28.94	24.16	31.11	28.45	28.69
	SF, g/L	15.00	13.89	12.81	12.32	11.85	10.45	9.98	9.44	9.38
	SV/ST, %	66.38	68.96	69.80	68.99	70.70	69.08	75.23	74.99	74.74

La concentración de ST, SV, SF y el cociente SV/ST en el día 0 es similar en todos los RAAS, ya que todos los reactores iniciaron la operación con un mismo lote de inóculo. Todos los RAAS se alimentaron con un volumen de 11 L de lodo anaerobio. Las variaciones que se observan durante la prueba corresponden a los cambios en la dinámica de cada RAAS, influenciada por el modo de operación, los caudales de alimentación y el tipo de sustrato alimentado, así como lo problemas de acidificación que se presentaron durante la segunda etapa experimental.

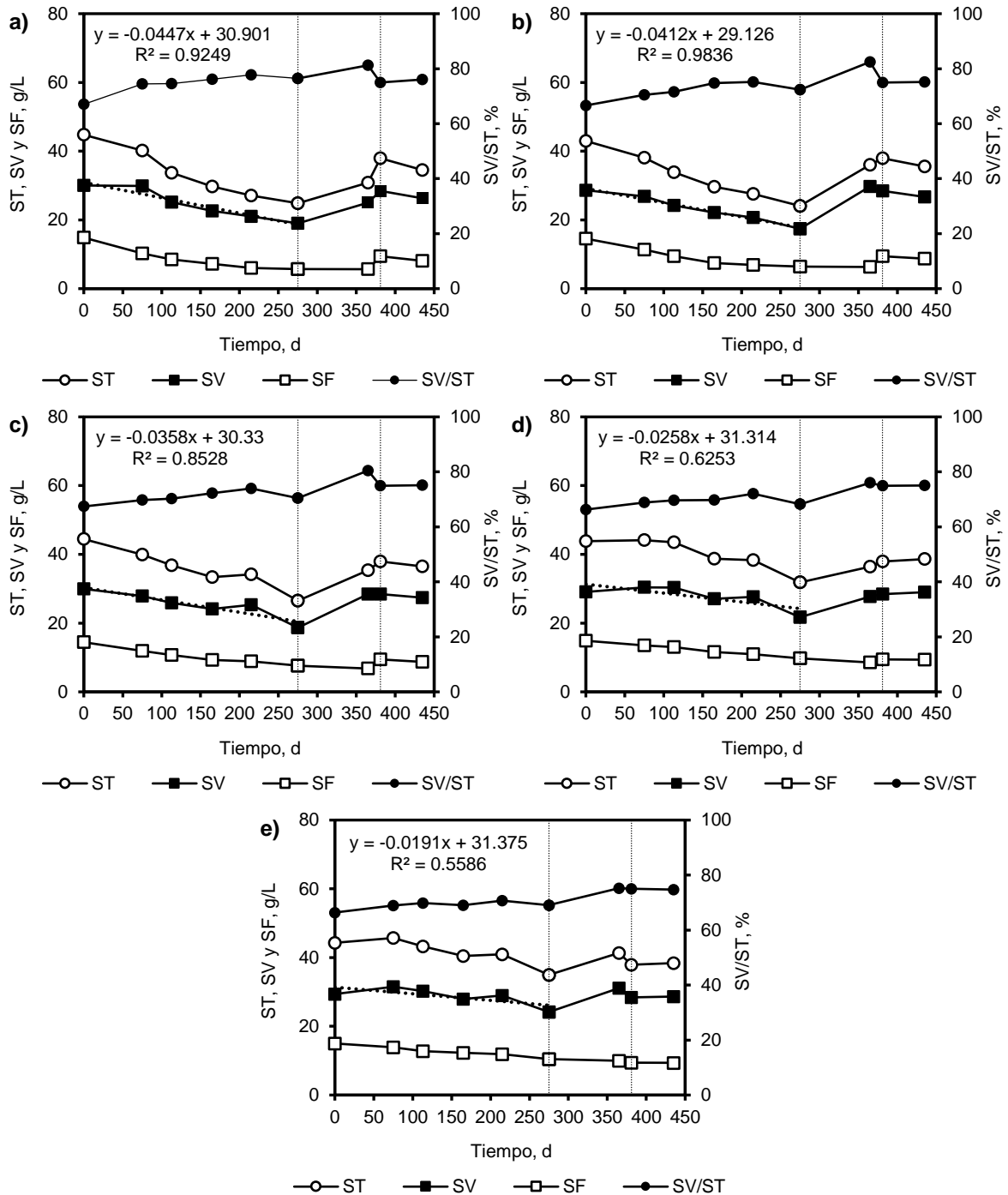


Figura 36. Evolución en el tiempo de ST, SV, SF y SV/ST para: a) RAAS₄₀; b) RAAS₆₀; c) RAAS₈₀; d) RAAS₁₀₀ y e) RAAS₁₂₀. Las líneas punteadas verticales indican las tres etapas experimentales. La ecuación mostrada en cada gráfico pertenece a la línea de tendencia de los SV en cada RAAS para la primera etapa experimental, antes del cambio de sustrato. Las concentraciones de ST, SV y SF se muestran en el eje vertical primario. La relación SV/ST se muestra en el eje vertical secundario.

Como se puede ver en la **Tabla 21** y **Figura 36**, en todos los RAAS se observó la misma tendencia de disminución de los sólidos (ST, SV y SF) hasta el día 275, pero a diferentes

velocidades. La pendiente de la ecuación mostrada en cada gráfico de la **Figura 36** representa la velocidad a la que disminuyeron los SV durante la primera etapa experimental y se puede observar que esta velocidad se redujo a medida que aumentó el TRH. Por otro lado, la relación SV/ST aumentó gradualmente en todos los RAAS.

En la determinación de los sólidos del día 365 se observó un ligero incremento en la concentración de ST y SV respecto al día 275, así como en la relación SV/ST. Esto pudo deberse a los cambios efectuados en la segunda etapa experimental, ya que en el día 275 se realizó un cambio de sustrato. Las variaciones en la concentración de sólidos también pudieron deberse a los problemas de acidificación descritos previamente.

Como se mencionó anteriormente, la presencia del compuesto D-Limoneno en el nuevo sustrato alimentado durante la segunda etapa experimental pudo generar un efecto inhibitorio en los microorganismos anaerobios. Esto explica el aumento de los valores de ST y SV. De la misma forma, el aumento súbito en la relación SV/ST es indicativo de acumulación de materia orgánica sin biodegradar. Durante el proceso de la DA, ocurre una mineralización del sustrato, por lo que los SV deben reducirse y los SF deben aumentar. Este es uno de los principales indicadores del buen desempeño de un digestor anaerobio (Kazimierczak, 2012).

Los resultados mostrados en la **Tabla 21** y la **Figura 36** indican que los SF ya presentaban una tendencia hacia la disminución durante la primera etapa experimental. Esto sugiere que ya se estaba presentando una acumulación de sustrato sin estabilizar. Sin embargo, gráficamente se observa que la disminución de los SF en RAAS₁₀₀ y RAAS₁₂₀ fue más lenta, en comparación con los RAAS de 40, 60 y 80 días de TRH. Esto explicaría por qué al momento de realizar el cambio de sustrato, los RAAS de 40, 60 y 80 días de TRH presentaron los problemas de acidificación descritos previamente que llevaron a la falla general de los reactores. De igual manera, explica por qué los RAAS de 100 y 120 días de TRH lograron mantenerse en funcionamiento y con ligeros descensos en el pH que no repercutieron en su desempeño general.

El punto localizado en el día 365 (al final de la segunda etapa experimental) corresponde a la última determinación de los sólidos en la cama de lodos original, momento en el cual se presentaban fallas en el desempeño de los reactores. Por su cuenta, el dato del día 381 corresponde al reinicio de los digestores con un nuevo lote de lodo anaerobio. Para el reinicio, se emplearon las camas de lodos de los RAAS₁₀₀ y RAAS₁₂₀ y se mezclaron con digestato colectado a lo largo de la corrida experimental.

Al final de esta investigación, en el punto localizado en el día 435 (tercera etapa experimental), ya se podían observar las mismas tendencias que al inicio de la primera etapa. Se observa la disminución de los ST, SV y SF en los RAAS con TRH de 40, 60 y 80 días y un ligero aumento en la relación SV/ST. Por otro lado, los RAAS de 100 y 120 días de TRH presentan valores muy similares a los del reinicio de la corrida experimental. Esto indica que mientras mayor sea el TRH de diseño, mayor es la estabilidad de la cama de lodos.

Con los valores de SV del efluente y de la cama de lodos de cada RAAS, se determinó el TRS. Con los métodos actuales disponibles, no es posible distinguir la naturaleza de los SV en el efluente de los reactores anaerobios (SV del sustrato sin digerir o SV correspondientes a microorganismos anaerobios) (Zhang et al., 2019). Por lo tanto, el cálculo del TRS se determinó con los SV de la cama de lodos y con los SV del efluente de los RAAS, asumiendo que los SV son atribuidos a microorganismos anaerobios. El TRS durante la etapa de experimentación se muestra en la **Tabla 22**.

Tabla 22. Valores de TRS obtenidos en cada periodo de tiempo (días 75, 113, 165 y 215) para cada uno de los cinco RAAS.

Reactor	Día de muestreo							Indicadores estadísticos		
	75	113	165	215	275	365	435	TRS promedio, d	D.E.	C.V.
RAAS ₄₀	36	40	40	41	38	36	43	39	2.4	0.06
RAAS ₆₀	60	66	61	66	60	71	70	65	4.7	0.07
RAAS ₈₀	81	87	84	91	78	97	94	87	6.8	0.08
RAAS ₁₀₀	136	150	119	131	106	146	168	136	20.7	0.15
RAAS ₁₂₀	187	208	167	169	153	190	184	180	17.9	0.10

D.E. Desviación estándar; C.V. Coeficiente de variabilidad (D.E./promedio)

En la **Tabla 22** se observa que los valores de TRS en todos los RAAS son mayores al TRS propuesto para un digestor anaerobio operado a 21 °C (24 días) (Metcalf y Eddy, 2003). Sin embargo, los autores proponen este TRS (24 días) para digestores anaerobios de mezcla completa. En esta investigación, los RAAS fueron operados como fosas sépticas con sello hidráulico permanente y sin ningún tipo de mezcla mecánica, por lo cual los TRS varían de manera diferente. Aun cuando los RAAS fueron operados por largos periodos de tiempo y

con TRS elevados, no existió inhibición de los sistemas ni taponamientos por acumulación de lodos.

Resulta interesante observar que para los RAAS con TRH de 40, 60 y 80 días, el TRS es de magnitud similar (39, 65 y 87 días, respectivamente). A pesar de que se esperaba un desacoplamiento del TRH y el TRS por el modo de operación, en estos tres reactores los tiempos fueron semejantes, por lo que se comportaron como reactores de mezcla completa. En el caso de los RAAS con TRH de 100 y 120 días, los TRS fueron 36 y 50% más largos, respectivamente. Esto puede deberse a la estratificación de la cama de lodos que se presentó en los reactores con TRH largos, provocada por la mezcla mínima a la hora de la alimentación.

En la **Figura 37** se muestra el comportamiento del TRS de los RAAS durante el tiempo de operación.

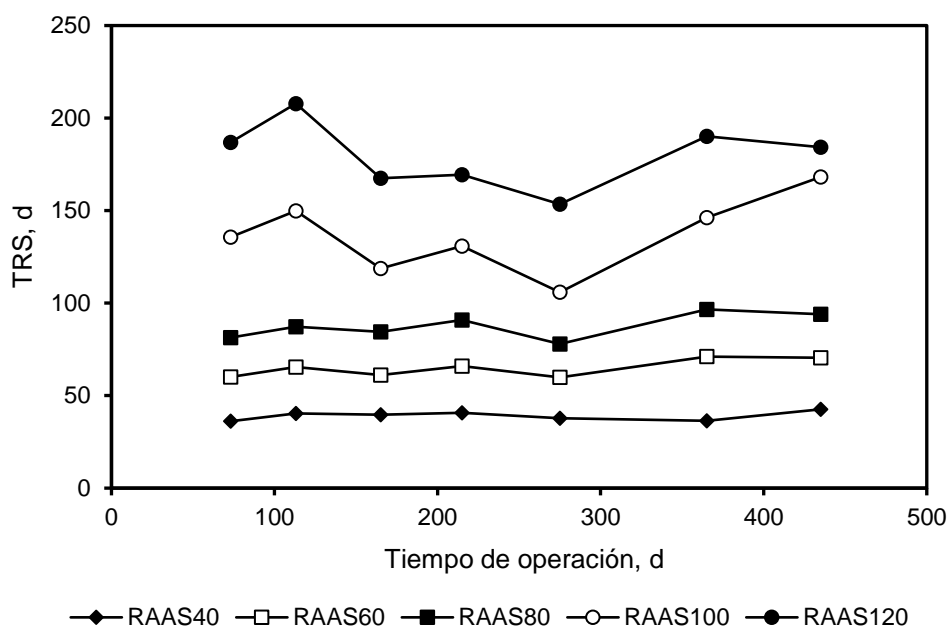


Figura 37. Evolución del TRS en el tiempo de operación

Como se puede ver en la **Figura 37**, el TRS de los RAAS con TRH de 40, 60 y 80 días se mantuvieron estables durante la corrida experimental. Por otro lado, el RAAS₁₀₀ y el RAAS₁₂₀ presentan un comportamiento ondulatorio e inestable. El TRS de los RAAS₁₀₀ y RAAS₁₂₀ presentan valores máximos de 168 y 208 días (para RAAS₁₀₀ y RAAS₁₂₀, respectivamente) y valores mínimos de 106 y 153 días (RAAS₁₀₀ y RAAS₁₂₀, respectivamente).

Esta variación en el TRS no depende del comportamiento de los sólidos en la cama de lodos, pues como se observa en la **Tabla 21**, la concentración de SV en estos dos reactores fue la más estable. La variación del TRS es función de la fuga de sólidos en el efluente, pues como se puede observar en la **Figura 15**, los RAAS₁₀₀ y ₁₂₀ son los que presentaron una variación mayor en la ER_{SV}. Esto podría deberse a que los RAAS con TRHs largos acumularon una mayor cantidad de sólidos en su interior (debido a la estratificación) y, ocasionalmente, se fugó una cantidad grande de SV en el efluente. A pesar de esto, los RAAS nunca presentaron problemas hidrodinámicos (taponamientos) en su interior.

En la **Figura 38** se muestran dos correlaciones entre el TRH y el TRS promedio de los cinco RAAS con diferentes propuestas de regresión (lineal y exponencial).

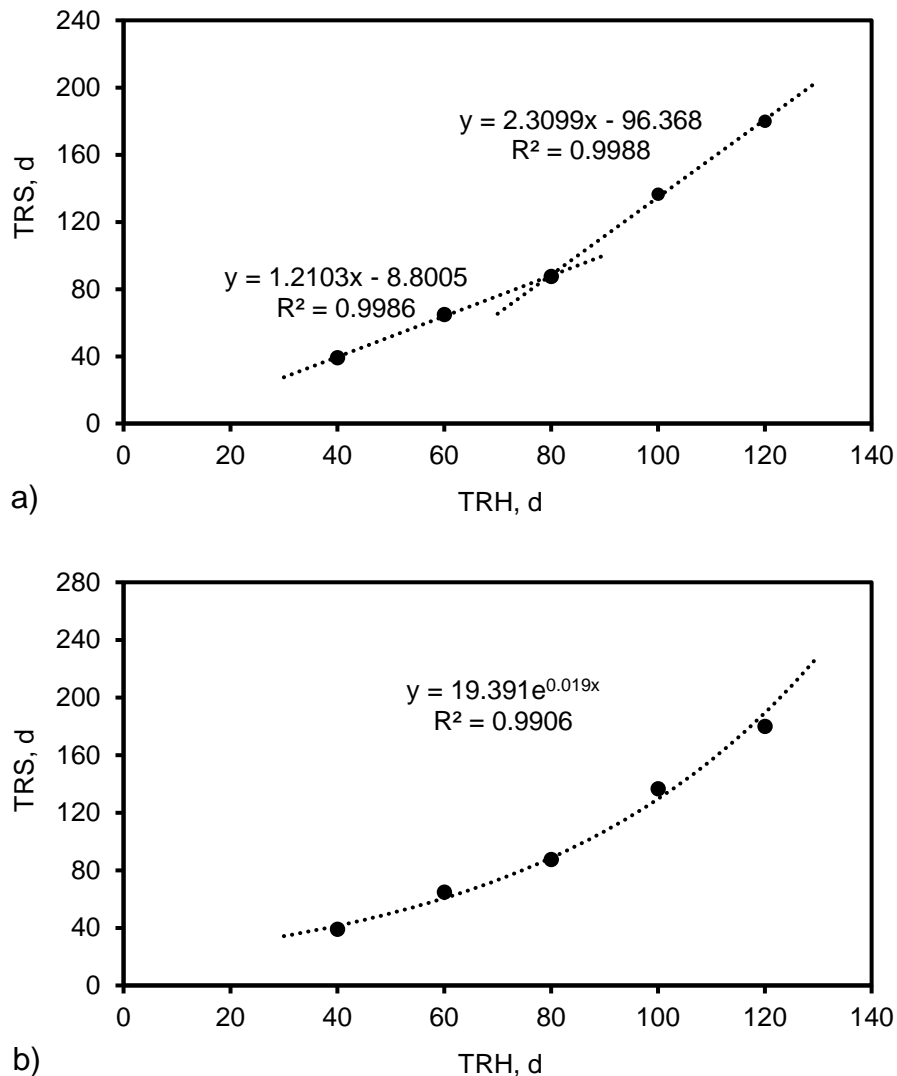


Figura 38. Correlación entre el TRH y el TRS de los RAAS con regresión: a) lineal y b) exponencial

En la **Figura 38a)** se pueden diferenciar dos grupos de datos: el grupo A con TRH de 40 a 80 días y el grupo B con TRH de 80 a 120 días. Las correlaciones lineales de cada grupo de datos muestran altos coeficientes de correlación (R^2 de 0.9986 y 0.9988 para grupo A y B, respectivamente). La ecuación de la pendiente de los datos del grupo A indican que el TRS se puede incrementar hasta $1.21x - 8.80$ días respecto al TRH. Por su cuenta, la ecuación del grupo B indica incrementos de $2.31x - 96.36$ veces el TRH de diseño.

Por otro lado, en la **Figura 38b)** se muestra una correlación exponencial con un coeficiente R^2 alto (0.9906). La ecuación de la regresión indica que el TRS se incrementa de manera exponencial en un factor de $e^{0.019x}$. Los resultados de ambas regresiones sugieren que a TRH's largos, el TRS sería mucho mayor. Esta situación podría generar problemas hidrodinámicos dentro de los RAAS, como taponamientos y colmataciones. Sin embargo, en el rango estudiado de TRH (40 a 120 días) no se observaron dichos problemas. No obstante, se debe considerar que mientras más largo sea el TRS, más acumulación de sólidos existirá en la cama de lodos y será necesario plantear un programa de purga periódica para evitar colmatación.

Balance de sólidos y P_{CH4} teórica

Se realizaron las regresiones lineales del comportamiento de los ST, SV y SF en el tiempo, únicamente de la primera etapa experimental donde se logró el estado estacionario y se obtuvieron las pendientes (P) que se muestran en la **Tabla 23**. Las regresiones lineales de estos parámetros indican la tasa de acumulación o de reducción de sólidos en la cama de lodos de cada RAAS. Es decir, indican la cantidad de ST, SV o SF (g-Sx/L) que se eliminan o se acumulan cada día (d) de la cama de lodos (g-Sx/L/d).

Tabla 23. Valores de P para las regresiones lineales del comportamiento de los ST, SV y SF en el tiempo para la primera etapa experimental.

TRH del RAAS, d	P de la regresión (Figura 37), g-Sx/L.d		
	ST	SV	SF
40	-0.0768	-0.0447	-0.0327
60	-0.0703	-0.0412	-0.0303
80	-0.0600	-0.0358	-0.0243
100	-0.0440	-0.0258	-0.0188
120	-0.0339	-0.0191	-0.0159

Al analizar los valores de P en las regresiones lineales de los ST, SV y SF en cada RAAS, se observa lo siguiente:

- P es negativas en todos los casos. Esto indica que existe reducción de ST, SV y SF en todos los RAAS a través del tiempo y que no hay acumulación en la cama de lodos.
- Los valores de P en los ST son mayores que para los SV y estos, a su vez, son mayores que en los SF. Esto indica que los ST se reducen a mayor velocidad que los SV en cada RAAS, lo que explicaría el hecho de que la relación SV/ST aumenta. Por su parte, el signo negativo de P en los SF indica una posible acumulación de materia orgánica inerte sin digerir.
- A mayor valor de P, mayor velocidad de reducción de los sólidos en la cama de lodos. Esta tendencia es uniforme en todos los RAAS.

En la **Figura 39** se muestra la correlación de pendientes con el TRH de diseño de cada RAAS.

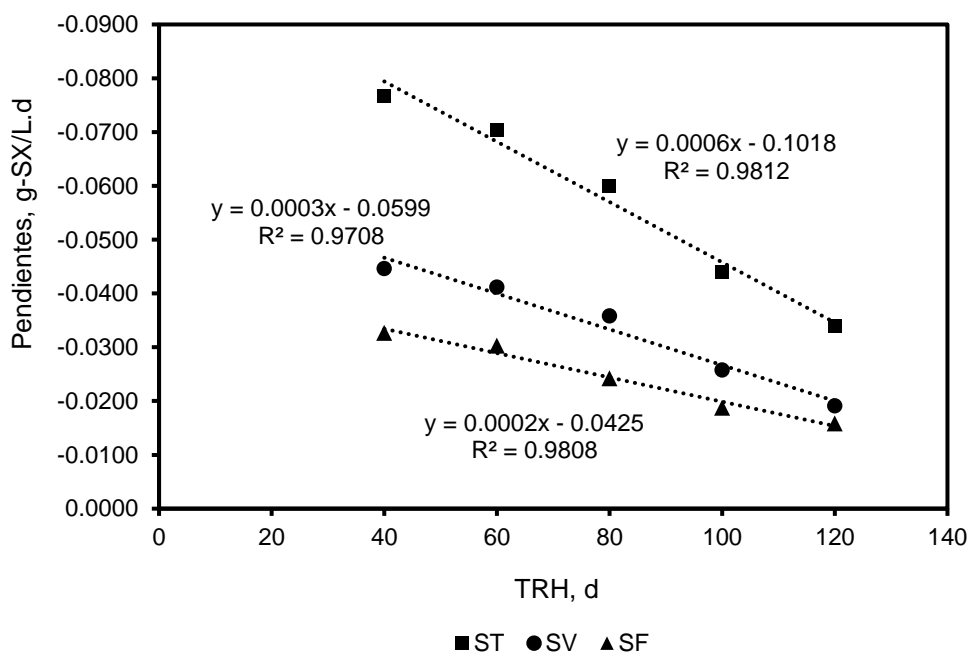


Figura 39. Correlación del TRH con las pendientes de las regresiones de la evolución a través del tiempo de los ST, SV y SF dentro de la cama de lodos de los RAAS.

Al observar la **Figura 39** se puede notar que el comportamiento de las pendientes es inversamente proporcional al TRH de diseño: a mayor TRH, menor velocidad de reducción de sólidos. La interpretación de esta gráfica puede ser inexacta. Por un lado, se buscaría

elegir un TRH donde las velocidades de reducción de ST y SV sea **mayor**, pues es lo que se busca en un reactor anaerobio: la reducción de materia orgánica. Por otro lado, se buscaría elegir un TRH donde la velocidad de reducción de SF sea **menor**, puesto que es un indicador de la mineralización de la materia orgánica. Si se observa la gráfica, se puede ver que las pendientes de disminución en la velocidad de reducción de SV y SF tienen una tendencia muy similar (pendientes de 0.0003 y 0.0002, respectivamente). Por lo tanto, eligiendo un TRH largo, se puede esperar que las velocidades de reducción de sólidos tiendan a ser similares. Como se ha mencionado previamente, la elección de un TRH de diseño adecuado es una decisión multicriterio y se deben considerar todas las variables y parámetros aquí descritos.

Con el valor de P mostrado en la **Tabla 23** y los valores de concentración de SF en el influente y efluente de cada RAAS, se realizaron los balances de SF y SV de acuerdo con las ecuaciones de la metodología. Los resultados del balance de SF se muestran en la **Tabla 24**.

Tabla 24. Balance de SF en función de los valores de P y concentración de SF en el influente y efluente de cada RAAS

Reactor	Q L/d	V _R L	SF _{in} g-SF/L	SF _{ef} g-SF/L	P g-SF/L.d	mSF _{in} g-SF/d	mSF _{ef} g-SF/d	ΔmSF _{CL} g-SF/d	mSF _{in} por balance g-SF/d	Error* %
RAAS ₄₀	0.28	11	6.90	9.00	-0.033	1.93	2.52	-0.36	2.16	11.81
RAAS ₆₀	0.18	11	6.90	9.42	-0.030	1.24	1.70	-0.33	1.36	9.70
RAAS ₈₀	0.14	11	6.90	9.62	-0.024	0.97	1.35	-0.27	1.08	11.84
RAAS ₁₀₀	0.11	11	6.90	9.49	-0.019	0.76	1.04	-0.21	0.84	10.25
RAAS ₁₂₀	0.09	11	6.90	9.40	-0.016	0.62	0.85	-0.17	0.67	8.17

* El error representa la diferencia entre el mSF_{in} calculado matemáticamente y el mSF_{in} calculado con la ecuación del balance de masas.

Como se puede ver en la **Tabla 24**, el mSF_{in} calculado con la ecuación del balance de SF está sobreestimado respecto al mSF_{in} calculado matemáticamente. El error de sobreestimación está en el rango de 8.17 a 11.84%. Esta sobreestimación se debió al error experimental durante la determinación de los parámetros involucrados (determinación de sólidos, homogenización de la cama de lodos, Q de alimentación, etc).

En la **Tabla 25**, se muestran los resultados del balance de SV según las ecuaciones de la metodología.

Tabla 25. Balance de SV en función de los valores de P y concentración de SV en el influente y efluente de cada RAAS

Reactor	Q	V _R	SV _{in}	SV _{ef}	P	mSV _{in}	mSV _{ef}	ΔmSV _{CL}	mSV _{BG}
	L/d	L	g-SV/L	g-SV/L	g-SV/L/d	g-SV/d	g-SV/d	g-SV/d	g-SV/d
RAAS ₄₀	0.28	11	67.04	25.66	-0.0447	18.77	7.19	-0.49	12.08
RAAS ₆₀	0.18	11	67.04	23.95	-0.0412	12.07	4.31	-0.45	8.21
RAAS ₈₀	0.14	11	67.04	24.75	-0.0358	9.39	3.47	-0.39	6.31
RAAS ₁₀₀	0.11	11	67.04	23.07	-0.0258	7.37	2.54	-0.28	5.12
RAAS ₁₂₀	0.09	11	67.04	21.19	-0.0191	6.03	1.91	-0.21	4.34

Para evaluar los resultados obtenidos por el balance de SV, se determinó el error entre la P_{CH₄} medida y la P_{CH₄} obtenida por los dos métodos descritos en la metodología (balance de SV y por ecuación de CH₄ teórico). Dichos resultados se muestran en la **Tabla 26**.

Tabla 26. Determinación del CH₄ por balance de SV y por ecuación del CH₄ teórico y comparación con el CH₄ medido.

Reactor	mVS _{BG}	P _{CH₄} medida	P _{CH₄} por balance de SV		P _{CH₄} por ecuación del CH ₄ teórico	
	g-SV/d	L _{CH₄} /d	L _{CH₄} /d	Error, %	L _{CH₄} /d	Error, %
RAAS ₄₀	12.08	3.66	6.09	66.13	4.89	33.60
RAAS ₆₀	8.21	2.90	4.14	42.67	3.90	34.50
RAAS ₈₀	6.31	2.24	3.18	42.30	3.25	45.44
RAAS ₁₀₀	5.12	1.80	2.58	43.21	2.88	59.93
RAAS ₁₂₀	4.34	1.55	2.19	41.08	2.58	66.37

Como se puede observar en la **Tabla 26** ambos métodos sobreestiman la P_{CH₄} en porcentajes que varían desde el 33.6 hasta el 66.37%. Los dos métodos de estimación están referenciados a la DQO_{rem} y a los SV_{rem}. Dado que no se hizo diferenciación entre materia orgánica del sustrato sin degradar y sólidos atribuidos a la biomasa anaerobia en la cama de lodos y efluente de los RAAS, esta asunción podría ser la causa de la sobreestimación de la P_{CH₄} en ambos métodos.

En la **Figura 40** se observa la correlación entre la P_{CH₄} medida con la P_{CH₄} teórica de cada método de estimación.

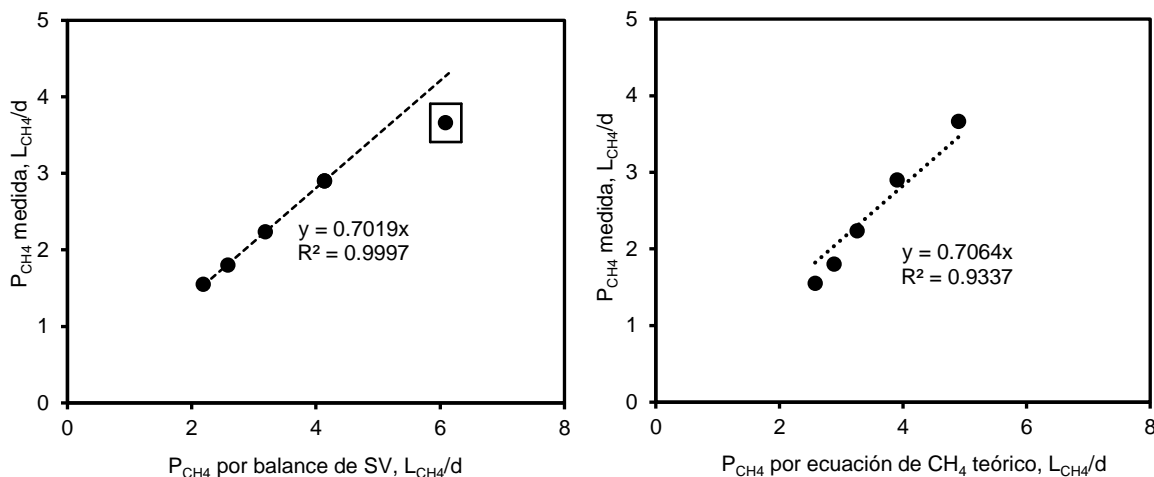


Figura 40. Correlación lineal entre: a) P_{CH_4} medida y P_{CH_4} por balance de SV; y b) P_{CH_4} medida y P_{CH_4} por ecuación de CH_4 teórico

En la **Figura 40a)** se observa que el método de estimación de la P_{CH_4} con mejor coeficiente de correlación es el método por balance de SV ($R^2 = 0.9997$), a comparación del método con la ecuación del CH_4 teórico [**Figura 40b)**]. El valor del RAAS₄₀ [**Figura 40a)**, encerrado en el recuadro] no se consideró en la regresión puesto que los indicadores del desempeño de este reactor (ER_{SV} , P_{CH_4} y R_{CH_4}) indican que el TRH de 40 días es insuficiente para garantizar la efectividad del proceso de DA.

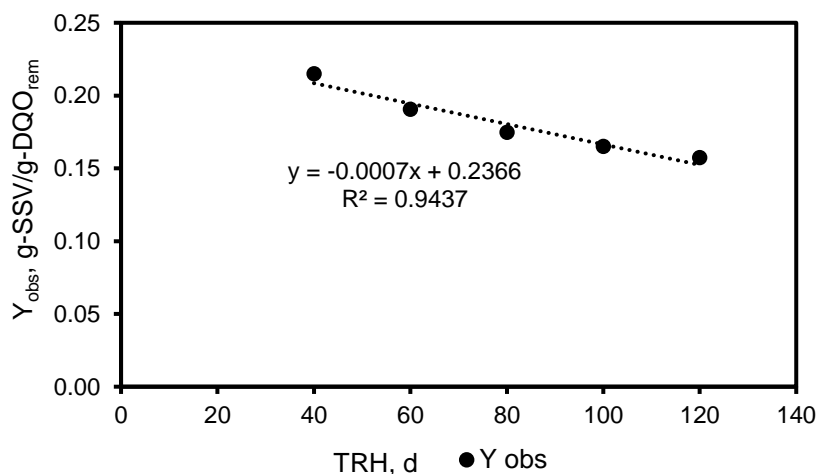
El valor de la pendiente (0.7019) podría estar indicando, tanto el error experimental en la determinación de los parámetros del método, como una estimación de la fracción de SV en la cama de lodos y el efluente que corresponden a sustrato sin degradar y/o a biomasa anaerobia.

Rendimiento bacteriano observado (Y_{obs})

Con los datos de SV de la cama de lodos y del efluente de los RAAS (**Tabla 21** y **Tabla 25**) se determinó el Y_{obs} . El Y_{obs} se determinó tomando en consideración la misma propuesta que para el TRS, donde los SV de la cama de lodos y del efluente correspondían en su totalidad a microorganismos anaerobios. El Y_{obs} de los cinco RAAS para la primera etapa experimental se muestra en la **Tabla 27** y la correlación de Y_{obs} con el TRH se muestra en la **Figura 41**.

Tabla 27. Resultados de Y_{obs} para los cinco RAAS durante la primera etapa experimental

Reactor	TRH, d	Y_{obs} , g-SSV/g-DQO _{rem}
RAAS ₄₀	40	0.21
RAAS ₆₀	60	0.19
RAAS ₈₀	80	0.17
RAAS ₁₀₀	100	0.17
RAAS ₁₂₀	120	0.16

**Figura 41.** Correlación lineal entre el Y_{obs} y el TRH de cada RAAS.

En la literatura, se han propuesto valores de Y_{obs} para bacterias acidogénicas y arqueas metanogénicas de 0.18 y 0.03 g-SSV/g-DQO_{rem}, respectivamente (Stronach et al., 1986, citado en Borja et al., 2002). Sin embargo, cuando se trata de cultivos mixtos, es difícil establecer los rendimientos individuales de cada grupo de microorganismos. Los valores mostrados en la **Tabla 27** se encuentran ligeramente por encima del rango de Y_{obs} reportado en la literatura (0.15 – 0.16 g-SSV/g-DQO_{rem}) para cultivos mixtos a temperatura mesofílica (Borja y Banks, 1994; Borja et al., 2002).

En contraste, otros autores han reportado que la operación de reactores anaerobios a baja temperatura puede incrementar la Y_{obs} (Tian et al., 1994; Guo et al., 2013). Por ejemplo, Tian et al. (1994) reportaron una Y_{obs} de 0.45 g-SSV/g-DQO_{rem} entre 8 y 20 °C. Las variaciones que se observaron entre los valores de Y_{obs} reportados en la literatura y los obtenidos en la presente investigación (0.16 a 0.21 g-SSV/g-DQO_{rem}) pudieron deberse a que no es posible diferenciar la naturaleza de los sólidos en la cama de lodos del reactor y en el efluente, además de que se utilizaron sustratos diferentes.

En cuanto a la correlación del Y_{obs} con el TRH de diseño de cada RAAS, la **Figura 41** muestra una correlación lineal con un alto coeficiente R^2 (0.9437). El valor de Y_{obs} disminuye a medida que aumenta el TRH de diseño. Este comportamiento se debió a la ER_{SV} de los RAAS. A medida que se incrementó el TRH de diseño, la ER_{SV} aumentó en cada RAAS, en consecuencia, disminuyendo el Y_{obs} .

En la **Tabla 28**, se muestra un resumen de los parámetros de diseño y control de los cinco RAAS durante la primera etapa experimental, considerada como la etapa más eficiente donde se logró el estado estacionario.

Tabla 28. Valores promedio y desviación estándar de los parámetros de diseño y control de los cinco RAAS durante la primera etapa experimental

Parámetro	Reactores									
	RAAS ₄₀		RAAS ₆₀		RAAS ₈₀		RAAS ₁₀₀		RAAS ₁₂₀	
	Prom.	D.E.	Prom.	D.E.	Prom.	D.E.	Prom.	D.E.	Prom.	D.E.
TRH, d	40	-	60	-	80	-	100	-	120	-
TRS, d	39	2.40	65	4.70	87	6.80	136	20.70	180	17.90
COV _{apl} , g-SV _{agr} /L.d	1.65	0.22	1.06	0.14	0.82	0.11	0.65	0.09	0.53	0.07
COV _{rem} , g-SV _{rem} /L.d	0.97	0.18	0.65	0.13	0.50	0.10	0.40	0.10	0.35	0.08
pH influente	5.61	0.66	5.61	0.66	5.61	0.66	5.61	0.66	5.61	0.66
pH efluente	8.46	0.31	8.60	0.23	8.43	0.24	8.50	0.23	8.57	0.21
Temperatura, °C	20.24	1.98	20.24	1.98	20.24	1.98	20.24	1.98	20.24	1.98
SV del influente, g-SV/kg-MH	65.96	8.99	65.96	8.99	65.96	8.99	65.96	8.99	65.96	8.99
SV del efluente, g-SV/kg-MH	26.40	5.78	24.07	4.62	24.52	4.58	22.58	5.10	20.62	6.89
ER _{SV} , %	59.92	6.78	63.20	6.61	62.47	7.05	65.14	9.09	68.32	11.11
P _{BG} , L _{BG} /d	5.71	2.64	4.39	1.10	3.37	0.72	2.71	0.64	2.33	0.52
P _{CH₄} , L _{CH₄} /d	3.68	1.70	2.90	0.73	2.24	0.48	1.80	0.43	1.55	0.35
R _{BG} , L _{BG} /g-SV _{agr}	0.31	0.13	0.38	0.10	0.38	0.08	0.38	0.09	0.40	0.09
Contenido de CH ₄ , %	64.50	-	66.00	-	66.40	-	66.50	-	66.70	-
R _{CH₄} , L _{CH₄} /g-SV _{agr}	0.20	0.09	0.25	0.07	0.25	0.05	0.25	0.06	0.27	0.06
R _{CH₄} , L _{CH₄} /g-SV _{rem}	0.35	0.18	0.41	0.13	0.41	0.11	0.40	0.13	0.41	0.14

D.E. = Desviación estándar

Caracterización por espectrometría de fluorescencia

Para la caracterización de las muestras de influente y efluente de los RAAS, se determinó el valor de la DQO_S de cada muestra y con ello fue posible establecer una eficiencia de remoción de la fracción soluble del sustrato (ER_{DQOS}). En la **Tabla 29** se observan los valores promedio de la DQO_S para las muestras semanales de influente y efluentes de los cinco RAAS.

Tabla 29. Valores promedio de DQO_S de las muestras de influente y efluente de los cinco RAAS

		DQO_S (g/L)		ER_{DQOS} (%)	
		Promedio	D.E.	Promedio	D.E.
Influente	Sustrato (CoD2)	37,041.25	3,488.95	-	-
	RAAS ₄₀	7,360.42	3,486.87	80.13	9.30
	RAAS ₆₀	4,107.29	1,660.81	88.98	4.36
Efluentes	RAAS ₈₀	5,515.00	1,743.94	85.01	4.90
	RAAS ₁₀₀	5,107.50	2,641.92	86.00	7.68
	RAAS ₁₂₀	3,750.83	1,509.77	89.75	4.28

Como se puede observar, la muestra del influente tiene un elevado contenido de DQO_S (37.04 g/L), casi el 40% de la DQO_T (111.95 g/L, **Tabla 10**). La relevancia de este dato radica en que la parte soluble del sustrato es la más fácil y rápidamente biodegradable. Esta fracción soluble representa un aporte importante en la P_{BG} total.

Descartando el valor del RAAS₆₀, se observa que la DQO_S disminuyó conforme el TRH se incrementó, lo cual es razonable debido a que tuvo más tiempo de contacto entre los microorganismos anaerobios y el sustrato para degradar la DQO_T que ingresó a los RAAS.

En la **Figura 42** se muestra el comportamiento de la DQO_S en las muestras de influente y efluente de los RAAS a lo largo del periodo de operación.

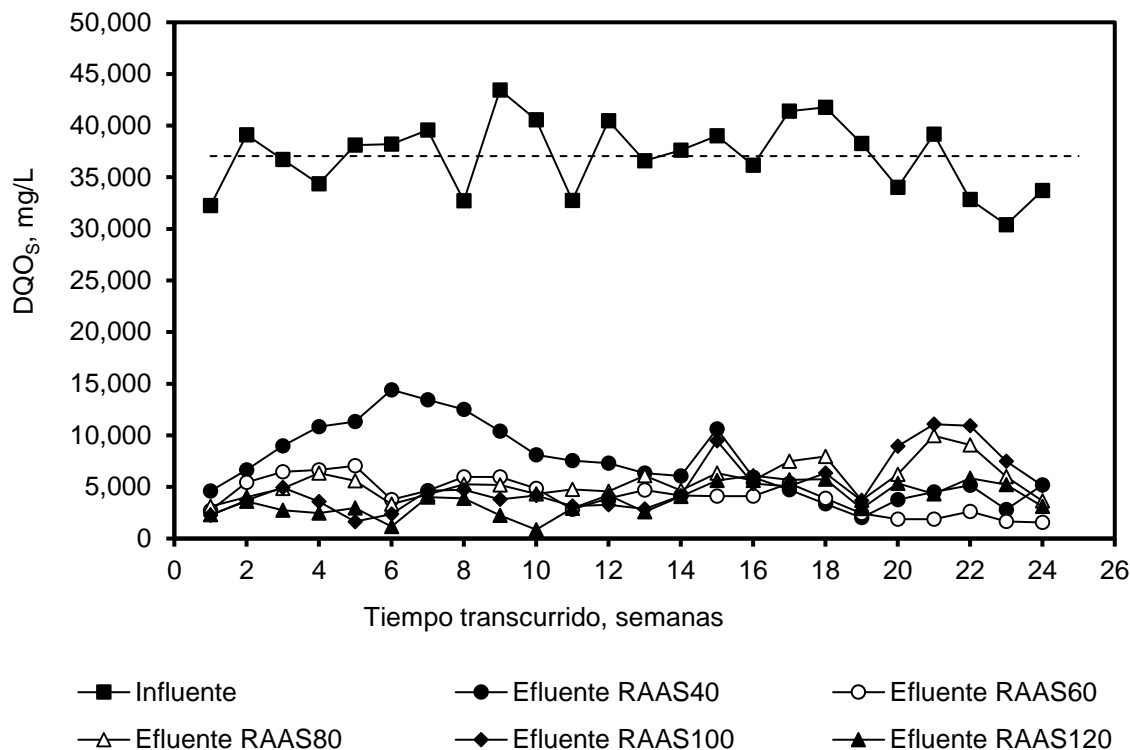


Figura 42. Evolución de la DQO_5 en el periodo de operación de los RAAS

Como se puede ver en la **Figura 42**, la DQO_5 del influente fue estable durante el periodo de operación. Las variaciones que se observan estuvieron en función de la calidad de las frutas y verduras empleadas para la elaboración del sustrato. La composición de las frutas y verduras varía en función de la época del año, por lo que el aporte de DQO_5 de cada uno de los ingredientes del sustrato fue variable. Por otro lado, se observa que la DQO_5 de los efluentes de los RAAS fue estable para todos los reactores (excepto en RAAS₄₀ que presenta una mayor desviación estándar). Esto habla de que los RAAS se encontraban en un estado estacionario de operación y de que la homogeneidad del sustrato evitó variaciones en la fracción soluble de los efluentes.

En la **Tabla 29** también se muestra la ER_{DQO_5} , la cual se correlacionó con el TRH de diseño (**Figura 43**). En la **Figura 43** se observa que, omitiendo el valor del RAAS₆₀, la ER_{DQO_5} aumenta de manera lineal y proporcional con el TRH de diseño. Esto tiene lógica pues con el aumento del TRH se incrementa el tiempo de contacto entre bacterias y sustrato, favoreciendo la biodegradación. Sin embargo, la ER_{DQO_5} en el RAAS₁₂₀ aumenta solamente 9.62% respecto al mismo parámetro en el RAAS₄₀, pero el TRH se incrementó 300%. Esto debe tomarse en cuenta para el escalamiento de estos sistemas, pues en función de la

calidad del efluente que se desee, se debe elegir un TRH de diseño adecuado. El volumen del digestor dependerá del TRH de diseño seleccionado.

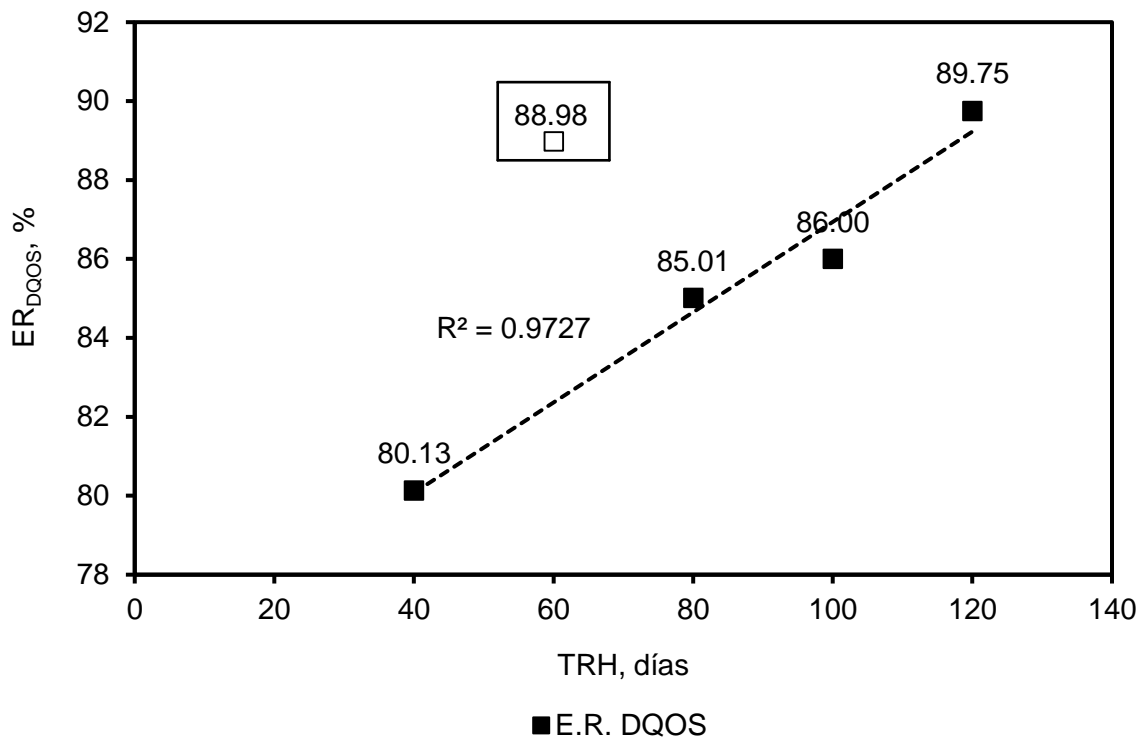


Figura 43. Correlación entre el TRH y la ER_{DQOS} . El valor de la ER_{DQOS} del RAAS₆₀ (encerrado en un recuadro) no se incluyó en la regresión.

En lo que respecta a la ER_{DQOS} del RAAS₆₀, su valor (88.98%) está fuera de la regresión lineal. Esto podría deberse al Q del influente del reactor (0.18 L/d), el cual generó un mayor efecto de mezcla completa dentro del RAAS, favoreciendo el contacto entre microorganismos anaerobios y sustrato. A pesar de que el RAAS₄₀ tuvo un Q más alto (0.28 L/d) lo que pudo generar un mejor efecto de mezcla, el TRH del reactor (40 días) fue insuficiente para la biodegradación del sustrato. En el resto de los RAAS, los fenómenos de estratificación de la cama de lodos pudieron limitar el contacto entre bacterias y alimento, limitando la degradación de la fracción soluble del sustrato y generado ER_{DQOS} bajas.

Se realizaron las MEE-3D para 24 muestras semanales de influente y efluente de los cinco RAAS. En la **Figura 44** se muestran las MEE-3D (semana del 9 al 13 de abril de 2018) y su evolución a medida que aumenta el TRH. Es necesario señalar que las MEE-3D obtenidas en cada una de las muestras semanales evaluadas (24 en total) son similares entre sí. Para todos los casos, los picos

observados en las matrices fueron identificados comparando sus propiedades fluorescentes ($\lambda_{exc}/\lambda_{emi}/IF$).

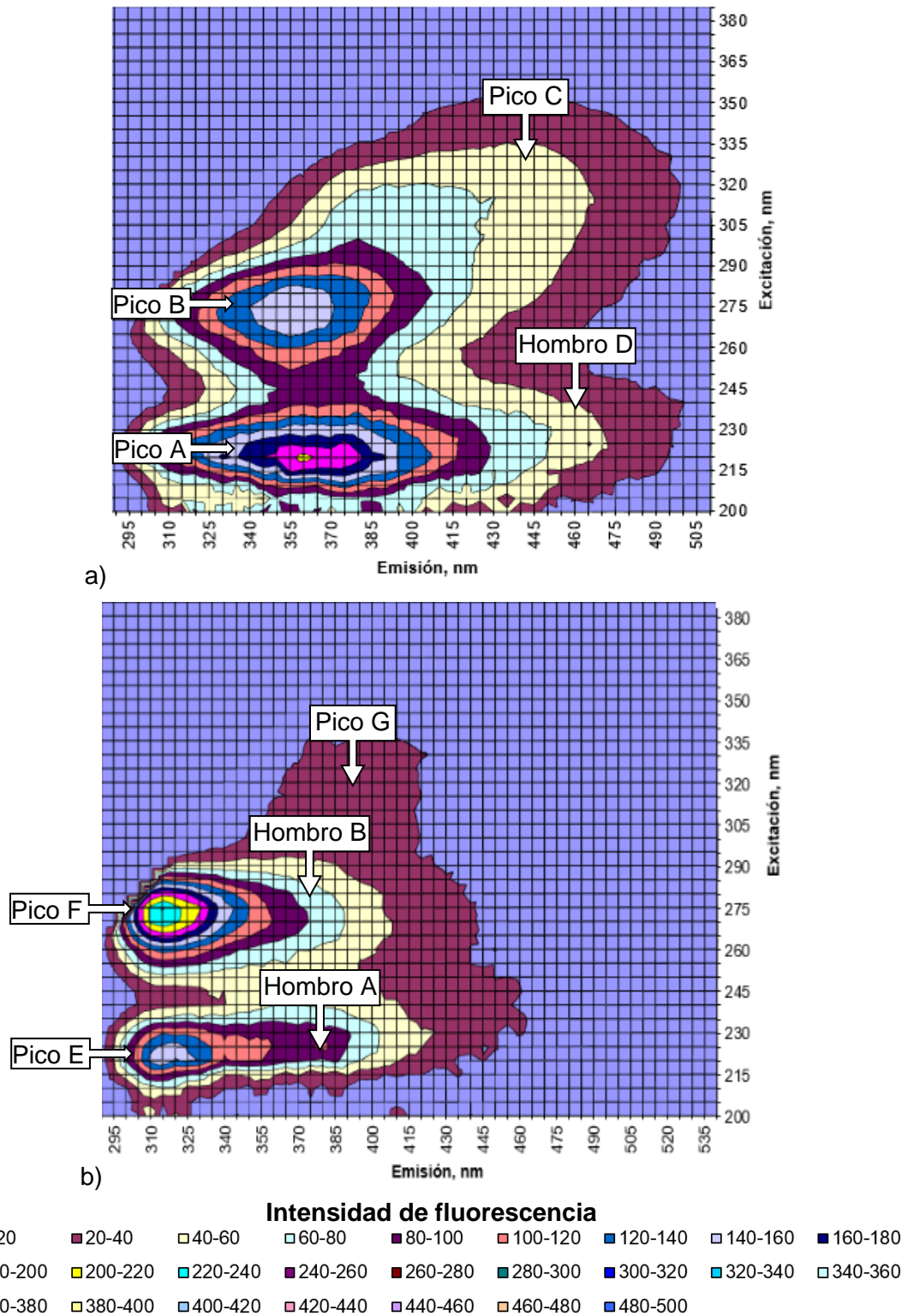
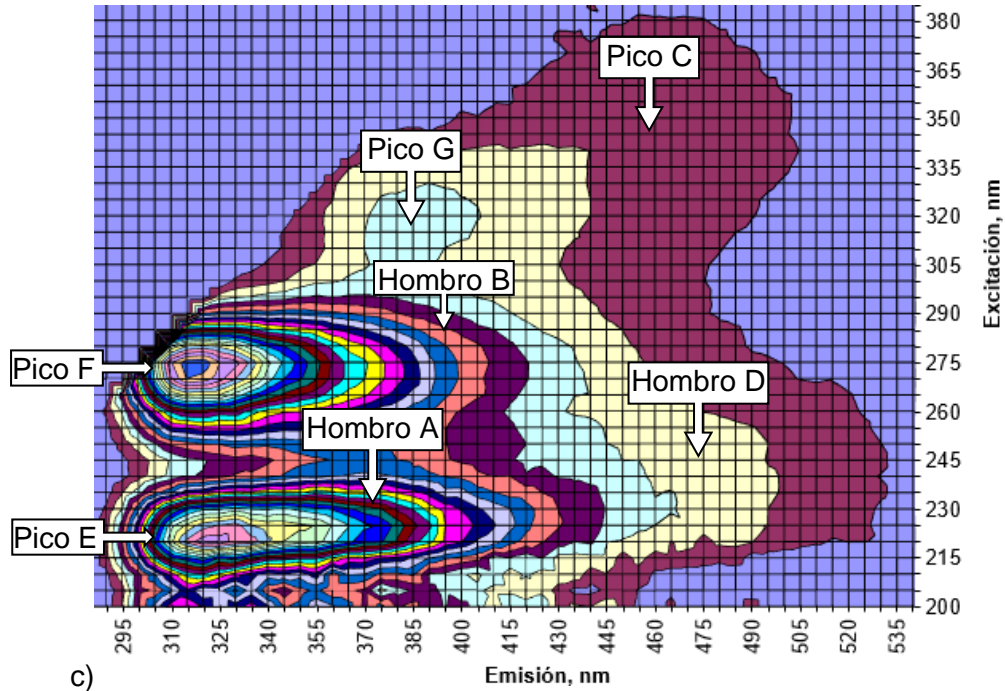
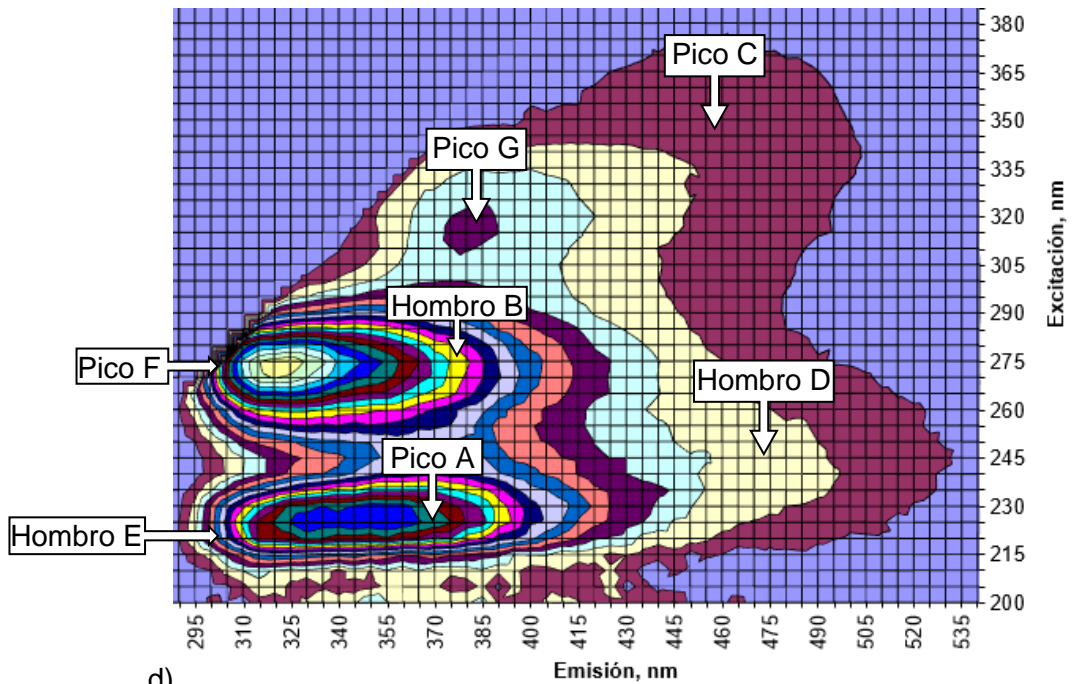


Figura 44. MEE-3D de: a) influente de los RAAS; y b) efluente del RAAS₄₀



c)



d)

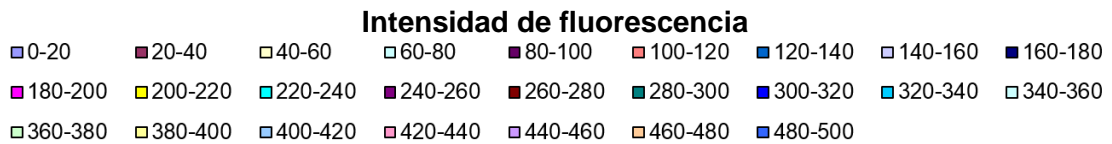


Figura 45. Continuación... MEE-3D de: c) efluente del RAAS₆₀; y d) efluente del RAAS₈₀

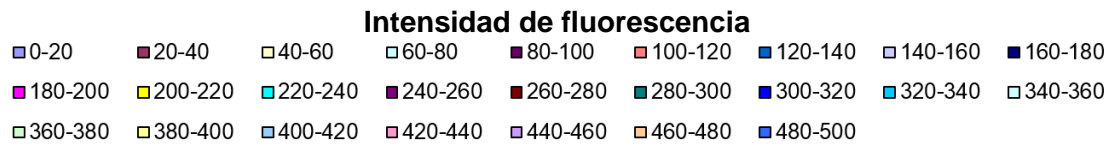
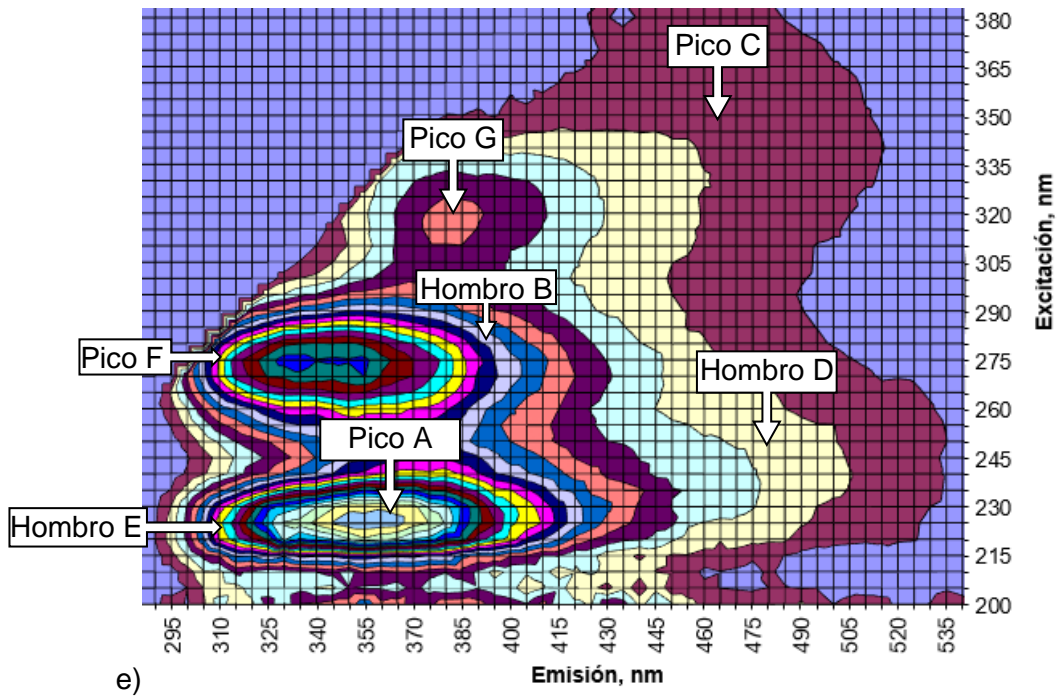
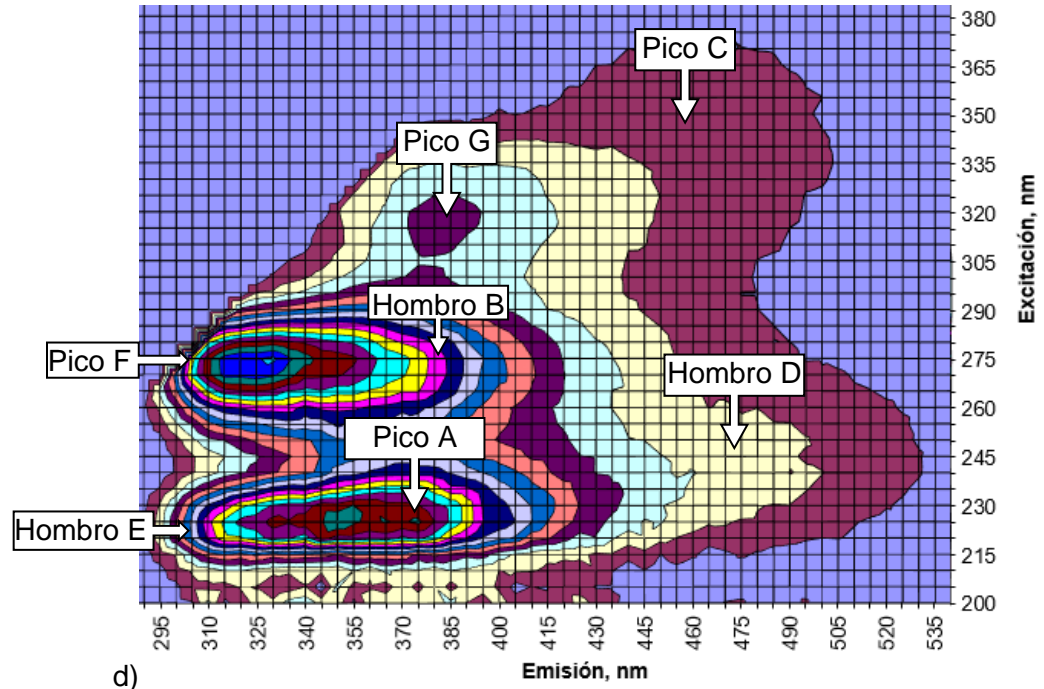


Figura 45. Continuación... MEE-3D de: e) efluente del RAAS₁₀₀; y f) efluente del RAAS₁₂₀

Por otro lado, en la **Tabla 30** se muestran las propiedades fluorescentes ($\lambda_{exc}/\lambda_{emi}/IF$) de cada uno de los picos, sus valores promedio y desviaciones estándar (D.E.). El número de muestras “n” indica el número de muestras donde se apreció la presencia de cada pico.

Tabla 30. Propiedades fluorescentes promedio del influente y efluentes de los cinco RAAS

		Pico A			Pico B			Pico C			Pico D			Pico E			Pico F			Pico G			
		λ_{exc} nm	λ_{emi} nm	IF	λ_{exc} nm	λ_{emi} nm	IF	λ_{exc} nm	λ_{emi} nm	IF	λ_{exc} nm	λ_{emi} nm	IF	λ_{exc} nm	λ_{emi} nm	IF	λ_{exc} nm	λ_{emi} nm	IF	λ_{exc} nm	λ_{emi} nm	IF	
Influente	Prom.	219.0	350.7	221.8	276.3	355.0	156.0	325.0	435.3	31.6	228.1	463.1	30.3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	D.E.	5.9	7.8	190.7	8.2	4.9	189.1	9.6	12.9	11.7	3.3	3.8	10.2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	n	24	24	24	24	24	24	13	13	13	13	13	13	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ef. RAAS ₄₀	Prom.	ND	ND	ND	ND	ND	ND	343.0	471.3	24.6	229.3	471.5	60.6	219.1	329.0	324.5	277.1	327.8	285.8	318.8	396.4	44.6	
	D.E.	ND	ND	ND	ND	ND	ND	7.0	8.1	12.5	8.6	8.2	43.1	3.9	17.4	191.8	5.7	15.6	190.6	3.6	18.1	18.4	
	n	ND	ND	ND	ND	ND	ND	23	23	23	23	23	23	23	23	23	24	24	24	20	20	20	
Ef. RAAS ₆₀	Prom.	ND	ND	ND	ND	ND	ND	342.5	471.1	42.3	228.1	470.9	89.9	220.0	340.7	486.8	275.4	337.3	361.4	317.9	392.5	68.7	
	D.E.	ND	ND	ND	ND	ND	ND	6.9	9.6	13.3	7.5	9.6	31.6	3.3	20.5	188.0	1.4	20.0	229.8	2.5	12.2	13.6	
	n	ND	ND	ND	ND	ND	ND	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	19	19	19	
Ef. RAAS ₈₀	Prom.	ND	ND	ND	ND	ND	ND	342.9	473.9	33.4	227.9	473.5	72.2	219.6	341.7	479.3	275.0	332.3	319.3	318.9	390.2	67.0	
	D.E.	ND	ND	ND	ND	ND	ND	7.2	4.4	13.1	7.6	3.5	27.6	5.1	16.2	214.6	4.7	16.4	184.5	3.7	12.5	34.6	
	n	ND	ND	ND	ND	ND	ND	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	23	23	23	
Ef. RAAS ₁₀₀	Prom.	ND	ND	ND	ND	ND	ND	345.2	474.7	33.4	227.9	473.4	75.2	220.0	338.9	472.8	274.8	331.8	285.2	318.1	389.0	69.1	
	D.E.	ND	ND	ND	ND	ND	ND	8.4	4.4	14.4	6.9	3.5	31.9	3.6	16.4	150.9	1.0	14.9	89.5	3.2	12.6	35.8	
	n	ND	ND	ND	ND	ND	ND	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	
Ef. RAAS ₁₂₀	Prom.	ND	ND	ND	ND	ND	ND	345.7	473.1	44.8	225.9	472.2	100.9	220.0	346.4	607.6	274.6	341.8	312.7	320.2	390.3	99.5	
	D.E.	ND	ND	ND	ND	ND	ND	8.2	4.5	13.3	6.7	5.0	28.1	3.9	17.6	157.5	2.0	17.3	79.2	4.1	16.8	44.3	
	n	ND	ND	ND	ND	ND	ND	23	23	23	23	23	23	24	24	24	24	24	24	23	23	23	

ND – No detectado

En el influente [**Figura 44a**] se observa la presencia de tres picos bien definidos. El pico A (220/359) y el pico B (275/353.5) tienen virtualmente la misma λ_{emi} . Por su localización en la MEE-3D, se puede afirmar que los dos picos están asociados al aminoácido triptófano (Luo et al., 2013; Guo et al., 2012; Chen et al., 2003; Coble, 1996). Al tratarse de las muestras del influente, estos picos pueden atribuirse principalmente a las proteínas animales y vegetales presentes en la fracción soluble del sustrato ROC en la CoD2.

Por otro lado, el pico C del influente (320/440), con una IF relativamente baja, se atribuye principalmente a ácidos húmicos (Luo et al., 2013) los cuales pudieron ser aportados por la fracción soluble del sustrato LBP en la CoD2. El hombro D que se puede observar en la MEE-3D del influente (230/460) se atribuye a los ácidos fúlvicos (Chen et al., 2003). Se puede observar por los datos de la **Tabla 30** que los picos A y B aparecieron en las 24 muestras analizadas, mientras que los picos C y D aparecieron únicamente en 13 muestras.

En lo que respecta a las MEE-3D de los efluentes de los RAAS [**Figura 44b), c), d), e) y f)**], se observa en todos ellos la presencia de los picos E (220/315) y F (275/315.5). Los picos E y F se atribuyen al aminoácido tirosina (Guo et al., 2012; Chen et al., 2003; Coble, 1996). Sin embargo, la presencia del hombro A y hombro B, correspondientes al aminoácido triptófano, indica la superposición de picos, lo que disminuye la definición de cada fluoróforo. Dado que en el influente no se observa la presencia del aminoácido tirosina, se puede asumir que los picos E y F corresponden a compuestos de tipo tirosina provenientes de los PMS (Chen et al., 2003) que aparecieron en los efluentes después de la CoD de LBP y ROC.

Al observar los datos de la **Tabla 30**, se puede observar que la IF del pico E se incrementa de 324.5 en RAAS₄₀ a 607.6 en RAAS₁₂₀. Esto es indicativo de un aumento en la liberación de PMS al medio, posiblemente ocasionado por los TRH largos (Cao et al., 2019). Se puede observar también que la λ_{emi} se incrementó gradualmente y la localización del pico se desplazó 17.4 nm hacia la derecha (de una λ_{emi} de 329 nm a 346.4 nm). Este comportamiento sugiere que la concentración del aminoácido triptófano (pico A) se incrementó a medida que aumentó el TRH, por lo que el pico se desplazó a λ_{emi} más altas.

El pico F también se desplazó 14 nm a la derecha, de una λ_{emi} de 327.8 nm a 341.8 nm. Nuevamente, este desplazamiento sugiere que, a la par de la liberación de tirosina al medio, también se incrementó la liberación de triptófano, posiblemente de origen microbiano (Chen et al., 2003). La IF del pico F varía entre valores máximo y mínimo de 285.2 y 361.4, respectivamente. Las variaciones en la IF de este pico no siguen una tendencia clara,

probablemente debido a la sobreposición con el pico B, lo cual impidió definir cada uno de ellos.

En lo que respecta al pico G (317.9-320.2/389-396.4) mostrado en la **Figura 44** y la **Tabla 30**, este no se encuentra reportado en la literatura. En esta investigación se pudo observar que este pico no se encuentra en la muestra del influente, pero comienza a aparecer en las muestras de efluentes desde el primer RAAS (RAAS₄₀). También se puede observar que este pico aumenta su IF gradualmente a medida que aumenta el TRH (de 44.6 en RAAS₄₀ a 99.5 en RAAS₁₂₀).

En la investigación de Qu et al. (2017), se encontró un pico similar al pico G de esta investigación. Los autores ubicaron un fluoróforo similar al que denominaron componente C (325nm/395nm) y lo identificaron como una sustancia húmica producto del metabolismo de un microorganismo de origen marino (Singh et al., 2010). También se ha reportado como un componente no-húmico de materia fácilmente biodegradable producido por microorganismos (Yamashita y Jaffé, 2008), o como un componente de tipo proteico o de tipo aminoácido (Hua et al., 2007; Kowalczyk et al., 2009).

Zheng et al. (2014) identificó el componente dos (ácido fúlvico) con un pico de fluorescencia localizado en la $\lambda_{exc}/\lambda_{emi}$ de 290/388 nm, en las muestras de un digestato líquido, producto de la DA de 29 tipos de residuos biodegradables sólidos. Si bien las $\lambda_{exc}/\lambda_{emi}$ son ligeramente diferentes a las del pico G (318.8/391.7) de la presente investigación, se podría tratar de un compuesto de tipo ácido fúlvico. Se ha reportado previamente que los fluoróforos que aparecen en la región de $\lambda_{exc}>280$ nm y $\lambda_{emi}>380$ nm se atribuyen a la presencia de ácidos fúlvicos (Antizar-Ladislao et al., 2006) o húmicos (Chen et al., 2003).

En otra investigación, para confirmar si el fluoróforo β ($\lambda_{exc}/\lambda_{emi}$ de 340-350/400-450) correspondía a la presencia de ácidos fúlvicos en el digestato (producto de la digestión de residuos sólidos municipales), se analizó el estándar de ácidos fúlvicos del Río Suwanee, confirmando la presencia de compuestos de tipo ácido fúlvico (Baddi et al., 2013). Otros trabajos previos reportan la presencia de un distintivo e intenso pico de fluorescencia a $\lambda_{exc}/\lambda_{emi}$ de 320-340/ 400-440, atribuido a los grupos alifáticos y aromáticos en la MOD de lixiviados de tiraderos de basura, comúnmente etiquetados como tipo ácido fúlvico (Baker y Curry, 2004, Zheng et al., 2007 y Huo et al., 2008, citados en Baddi et al., 2013).

Como se puede observar en los párrafos anteriores, el origen del fluoróforo identificado como pico G en esta investigación es incierto, pues se ha reportado como ácido húmico, ácido fúlvico y como sustancia de origen proteico. La investigación sobre su origen debe

ser estudiada a fondo para identificar el origen de este fluoróforo. El hecho de que el pico G no aparezca en la muestra del influente, pero sí en las muestras de los efluentes de los RAAS, es un indicio de que este componente podría ser atribuido a los PSM de los microorganismos anaerobios. Además, el incremento en su IF a medida que aumenta el TRH en cada RAAS, podría ser indicio de cierto grado de humificación, lo que sugiere que el compuesto encontrado puede ser un ácido húmico.

CONCLUSIONES

Con base en los resultados expuestos en este documento, se puede observar que los objetivos fueron alcanzados y se ha llegado a las siguientes conclusiones:

- La hipótesis inicial se acepta, pero con el conocimiento de que el R_{CH_4} incrementó menos del 20% mientras que el volumen se incrementó 300% entre el RAAS₄₀ y el RAAS₁₂₀.
- No se observaron diferencias estadísticas significativas en los parámetros de R_{BG} , R_{CH_4} , ER_{ST} y ER_{SV} por influencia del TRH y la COV_{apl} en los rangos evaluados (40 – 120 días y 0.53 – 1.65 g-SV_{agr}/L.d, respectivamente).
- La baja temperatura (20 °C) y el pH ácido del influente (< 6) no tuvieron efectos adversos sobre el desempeño de los RAAS. Sin embargo, la presencia del D-limoneno en las cáscaras de naranja pudo actuar como microbicida en el medio, lo que llevó a la falla de los digestores.
- Los RAAS con TRH cortos (< 80 días) se comportaron como reactores de mezcla completa. Esto es relevante pues se puede desarrollar tecnología de bajo costo, de fácil instalación, de operación sencilla y que no requiere de mantenimiento complejo ni aplicaciones tecnológicas costosas.
- Hasta el momento previo de la acidificación de los RAAS, los parámetros del desempeño de los reactores demostraron que se pueden obtener ER_{ST} , ER_{SV} , R_{BG} y R_{CH_4} similares a los obtenidos en digestores operados en rangos de temperatura superiores (mesófilicas o termofílicas). Esto sugiere una ganancia neta de energía mayor en un reactor operado a baja temperatura al no requerir calentamiento.
- Aun cuando las ER_{ST} , ER_{SV} y ER_{DQOS} están dentro de los rangos reportados en la literatura, dependerá de la disposición final del digestato si se requiere o no la aplicación de tratamiento terciarios para poder disponer del residuo.
- Con las pruebas del PBM se observó que el R_{CH_4} más alto correspondió a la CoD2 (35% LBP / 65% ROC). La CoD no mejoró la relación C/N; sin embargo, el sustrato LBP tuvo un efecto buffer en la CoD, lo que impidió la acidificación del medio.
- Los modelos cinéticos utilizados en esta investigación (MMG y MPO) fueron adecuados para predecir el PBM_{exp} con coeficientes R^2 superiores a 0.90.

- Las constantes cinéticas de los modelos empleados en la predicción del PBM_{exp} son menores a las reportadas en la literatura, probablemente por la baja temperatura de operación, lo cual ralentiza la biodegradación de la materia orgánica.
- La evaluación por EF del influente y efluente de los RAAS indica la presencia de material de tipo proteico (aminoácidos triptófano y tirosina), tanto del sustrato (proteínas animales y vegetales) como de origen microbiano (PMS). Los resultados del análisis de fluorescencia permiten establecer una perspectiva de la dinámica de los microorganismos anaerobios dentro de cada RAAS.

RECOMENDACIONES

Con base en los resultados obtenidos en esta investigación, se hacen las siguientes recomendaciones:

- Se debe incrementar el número de réplicas del PBM para obtener repetibilidad de los resultados tal como se recomienda en la bibliografía consultada.
- Se recomienda evaluar el funcionamiento de los RAAS en rangos de TRH menores a 40 días para evaluar el desempeño de los RAAS a altas COV_{apl} .
- Se sugiere operar los RAAS a TRH constante (preferentemente corto) con variación de la COV_{apl} . De esta manera se puede descartar el efecto del tiempo de contacto entre bacterias y sustrato sobre las variables de desempeño del reactor.
- Es recomendable analizar la calidad del digestato en cuanto al contenido de patógenos para evaluar si cumple con la normatividad mexicana.
- Se debe analizar la posibilidad de tratamientos adicionales para el digestato de los reactores anaerobios, en función de los resultados que arroje la caracterización de este.
- Se recomienda hacer un análisis de costos de los materiales utilizados para la elaboración de los RAAS, con la finalidad de realizar un análisis de costo-beneficio en función del R_{CH_4} y así evaluar la factibilidad de su implementación en una vivienda convencional.

REFERENCIAS

- Agyeman, F.O. y Tao, W. (2014). Anaerobic co-digestion of food waste and dairy manure: Effects of food waste particle size and organic loading rate. *Journal of Environmental Management*, 133, 268-274.
- Aichinger, P., Wadhawan, T., Kuprian, M., Higgins, M., Ebner, C., Fimml, C., ... y Wett, B. (2015). Synergistic co-digestion of solid-organic-waste and municipal-sewage-sludge: 1 plus 1 equals more than 2 in terms of biogas production and solids reduction. *Water Research*, 87, 416-423.
- Álvarez, R., Villca, S. y Lidén, G. (2006). Biogas production from llama and cow manure at high altitude. *Biomass Bioenergy*; 30: 66–75.
- Álvarez, R. y Lidén, G. (2008a). The effect of temperature variation on biomethanation at high altitude. *Bioresource Technology*; 99: 7278–84.
- Álvarez, R. y Lidén, G. (2008b). Anaerobic codigestion of aquatic flora and quinoa with manures from Bolivian Altiplano. *Waste Management*; 28:1933–40.
- Álvarez, R. y Lidén, G. (2008c). Semi-continuous codigestion of solid slaughter house waste, manure and fruit and vegetable waste. *Renewable Energy*; 33: 726–34.
- Álvarez, R. y Lidén, G. (2009). Low temperature anaerobic digestion of mixtures of llama, cow and sheep manure for improved methane production. *Biomass Bioenergy*; 33(3): 527–33.
- Angelidaki, I., Alves, M., Bolzonella, D., Borzacconi, L., Campos, J. L., Guwy, A. J., ... y Van Lier, J. B. (2009). Defining the biomethane potential (PBM) of solid organic wastes and energy crops: a proposed protocol for batch assays. *Water Science and Technology*, 59(5), 927-934.
- Antizar-Ladislao, B., Lopez-Real, J.M., y Beck, A.J. (2006). Investigation of organic matter dynamics during in-vessel composting of aged coal-tar contaminated soil by fluorescence excitation-emission spectroscopy. *Chemosphere*, 64, 839.
- APHA (2012). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 22^a edición. Nueva York, EUA.
- Appels, L., Assche, A.V., Willems, K., Degreève, J., Impe, J.V., y Dewil, R. (2011). Peracetic acid oxidation as an alternative pre-treatment for the anaerobic digestion of waste activated sludge. *Bioresource Technology*, 102, 4124–4130.
- Appels, L., Baeyens, J., Degreève, J., y Dewil, R. (2008). Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge. *Progress in energy and combustion science*, 34(6), 755-781.
- Baddi, G.A., Antizar-Ladislao, B., Alcuta, A., Mazeas, L., Li, T., Duquennoi, C., Redon, E. y Bouchez, T. (2013). Municipal Solid Waste Stabilization Efficiency Using Fluorescence Excitation-Emission Spectroscopy. *Environmental Engineering Science*, 30(5), 232-240.
- Baker, A., y Curry, M. (2004). Fluorescence of leachates from three contrasting landfills. *Water Research*, 38, 2605.
- Bilgili, M. S., Demir, A., y Varank, G. (2009). Evaluation and modeling of biochemical methane potential (PBM) of landfilled solid waste: A pilot scale study. *Bioresource Technology*, 100, 4976-4980.
- Borja, R., y Banks, C. J. (1994). Kinetics of an upflow anaerobic sludge blanket reactor treating ice-cream wastewater. *Environmental technology*, 15(3), 219-232.

Borja, R., González, E., Raposo, F., Millán, F., y Martín, A. (2002). Kinetic analysis of the psychrophilic anaerobic digestion of wastewater derived from the production of proteins from extracted sunflower flour. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(16), 4628-4633.

Cao, S., Sun, F., Lu, D., y Zhou, Y. (2019). Characterization of the refractory dissolved organic matters (rDOM) in sludge alkaline fermentation liquid driven denitrification: Effect of HRT on their fate and transformation. *Water Research*, 159, 135-144.

Chen, W., Westerhoff, P., Leenheer, J.A. y Booksh, K. (2003). Fluorescence excitation–emission matrix regional integration to quantify spectra for dissolved organic matter, *Environmental Science and Technology*, 37, 5701–5710.

Chen, Y., Cheng, J. J., y Creamer, K. S. (2008). Inhibition of anaerobic digestion process: a review. *Bioresource Technology*, 99(10), 4044-4064.

Coble, P.G. (1996). Characterization of marine and terrestrial DOM in seawater using excitation–emission matrix spectroscopy. *Marine Chemistry*, 51, 325–346.

Coelho, N.M.G., Droste, R.L. y Kennedy, K.J. (2011). Evaluation of continuous mesophilic, thermophilic and temperature phased anaerobic digestion of microwaved activated sludge. *Water Research*; 45: 2822–34.

Crites, R. W., Middlebrooks, E. J., y Bastian, R. K. (2014). *Natural wastewater treatment systems*. CRC Press

Determann, S., Lobbes, J.M., Reuter, R. y Rullkötter, J. (1998). Ultraviolet fluorescence excitation and emission spectroscopy of marine algae and bacteria. *Marine Chemistry*, 62(1–2), 137–156.

Di Maria, F., Micale, C., y Contini, S. (2016). Energetic and environmental sustainability of the co-digestion of sludge with bio-waste in a life cycle perspective. *Applied Energy*, 171, 67-76.

Elkins, K.M. y Nelson, D.J. (2001). Fluorescence and FT-IR spectroscopic studies of Suwannee river fulvic acid complexation with aluminium, terbium and calcium. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 87(1–2): 81–96.

El-Mashad, H. M., Zeeman, G., Van Loon, W. K. P., Bot, G. P. A. y Lettinga, G. (2004). Effect of temperature and temperature fluctuation on thermophilic anaerobic digestion of cattle manure. *Bioresource Technology*, 95(2), 191-201.

EPA, U. E. (2001). Method 1684 Total, fixed, and volatile solids in water, solids, and biosolids, report EPA-821-R-01-015. Washington, DC.

Esparza-Soto, M. (2008). Uso de la fluorescencia en 3-D para la identificación y caracterización de materia orgánica en agua residual doméstica y agua superficial. [Diapositivas de Power Point]. CIRA, UAEMex

Esparza-Soto, M., Núñez-Hernández, S., y Fall, C. (2011a). Spectrometric characterization of effluent organic matter of a sequencing batch reactor operated at three sludge retention times. *Water Research*, 45(19), 6555-6563.

Esparza-Soto, M., Solís-Morelos, C., y Hernández-Torres, J. J. (2011b). Anaerobic treatment of a medium strength industrial wastewater at low temperature and short hydraulic retention time: a pilot-scale experience. *Water Science and Technology*, 64, 1629-1635.

Esparza-Soto, M., Arzate-Archundia, O., Solís-Morelos, C., y Fall, C. (2013). Treatment of a chocolate industry wastewater in a pilot-scale low-temperature UASB reactor operated at short hydraulic and sludge retention time. *Water Science and Technology*, 67, 1353-1361.

Espinosa, L. G. M., & Remis, R. R. (2013). Utilización de biosólidos para la recuperación energética en México. *Producción+ Limpia*, 7(2), 74-94.

Ferrer, I., Garfí, M., Uggetti, E., Ferrer-Martí, L., Calderón, A. y Velo, E. (2011). Biogas production in low-cost household digesters at the Peruvian Andes. *Biomass Bioenergy*; 35: 1668–74.

Fitamo, T., Boldrin, A., Boe, K., Angelidaki, I., y Scheutz, C. (2016). Co-digestion of food and garden waste with mixed sludge from wastewater treatment in continuously stirred tank reactors. *Bioresource Technology*, 206, 245-254.

Forgács, G., Pourbafrani, M., Niklasson, C., Taherzadeh, M. J., y Hováth, I. S. (2012). Methane production from citrus wastes: process development and cost estimation. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 87(2), 250-255.

Gao, S., Huang, Y., Yang, L., Wang, H., Zhao, M., Xu, Z., ...y Ruan, W. (2015). Evaluation the anaerobic digestion performance of solid residual kitchen waste by NaHCO₃ buffering. *Energy Conversion and Management*, 93, 166-174.

Garfí, M., Ferrer-Martí, L., Villegas, V. y Ferrer, I. (2011). Psychrophilic anaerobic digestion of guinea pig manure in low-cost tubular digesters at high altitude. *Bioresource Technology*; 102: 6356–9.

Garfí, M., Martí-Herrero, J., Garwood, A., y Ferrer, I. (2016). Household anaerobic digesters for biogas production in Latin America: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 60, 599-614.

Gibson, A. M., Bratchell, N., y Roberts, T. A. (1987). The effect of sodium chloride and temperature on the rate and extent of growth of Clostridium botulinum type A in pasteurized pork slurry. *Journal of Applied Bacteriology*, 62(6), 479–490.

Gou, C., Yang, Z., Huang, J., Wang, H., Xu, H., & Wang, L. (2014). Effects of temperature and organic loading rate on the performance and microbial community of anaerobic co-digestion of waste activated sludge and food waste. *Chemosphere*, 105, 146-151.

Grobicki, A., y Stuckey, D. C. (1991). Performance of the anaerobic baffled reactor under steady-state and shock loading conditions. *Biotechnology and bioengineering*, 37(4), 344-355.

Güngör-Demirci, G., y Demirel, G. N. (2004). Effect of initial COD concentration, nutrient addition, temperature and microbial acclimation on anaerobic treatability of broiler and cattle manure. *Bioresource Technology*, 93(2), 109-117.

Guo, J., Dong, R., Clemens, J., y Wang, W. (2013). Kinetics evaluation of a semi-continuously fed anaerobic digester treating pig manure at two mesophilic temperatures. *Water research*, 47(15), 5743-5750.

Guo, J., Wang, W., Liu, X., Lian, S., y Zheng, L. (2014). Effects of thermal pre-treatment on anaerobic co-digestion of municipal biowastes at high organic loading rate. *Chemosphere* 101, 66-70.

Guo, X., He, X., Zhang, H., Deng, Y., Chen, L. y Jiang, J. (2012). Characterization of dissolved organic matter extracted from fermentation effluent of swine manure slurry using spectroscopy techniques and parallel factor analysis (PARAFAC). *Microchemical Journal*, 102, 115-122.

Hassan, M., Ding, W., Shi, Z., y Zhao, S. (2016). Methane enhancement through co-digestion of chicken manure and thermo-oxidative cleaved wheat straw with waste activated sludge: A C/N optimization case. *Bioresource Technology*, 211, 534-541.

Hassan, M., Ding, W., Umar, M. y Rasool, G. (2017). Batch and semi-continuous anaerobic co-digestion of goose manure with alkali solubilized wheat straw: A case of carbon to nitrogen ratio and organic loading rate regression optimization. *Bioresource Technology*, 230, 24-32.

Holliger, C., Alves, M., Andrade, D., Angelidaki, I., Astals, S., Baier, U., ... y Ebertseder, F. (2016). Towards a standardization of biomethane potential tests. *Water Science and Technology*, 74(11), 2515-2522.

Hua, B., Dolan, F., McGhee, C., Clevenger, T.E., Deng, B. (2007). Water-source characterization with fluorescence EEM spectroscopy: PARAFAC analysis. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 87(2), 135–147.

Hudson, N., Baker, A., y Reynolds, D. (2007). Fluorescence analysis of dissolved organic matter in natural, waste and polluted waters-a review. *River Research and Applications*, 23(6), 631-649.

Huo, S.L., Xi, B.D., Yu, H.C., Fan, S.L., Sing, J. y Liu, H.L. (2008). A laboratory simulation of in situ leachate treatment in semi-aerobic bioreactor landfill. *Water SA*. 34, 133.

Jang, H. M., Kim, M. S., Ha, J. H., y Park, J. M. (2015). Reactor performance and methanogenic archaea species in thermophilic anaerobic co-digestion of waste activated sludge mixed with food wastewater. *Chemical Engineering Journal*, 276, 20-28.

Jha, A. K., Li, J., Ban, Q., Zhang, L., y Zhao, B. (2012). Dry anaerobic digestion of cow dung for methane production: Effect of mixing. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 15(23), 1111.

Jha, A. K., Li, J. Z., Zhang, L. G., Ban, Q. Y., y Jin, Y. (2013). Comparison between wet and dry anaerobic digestions of cow dung under mesophilic and thermophilic conditions. *Advances in Water Resource and Protection*, 1(2), 28-38.

Kafle, G. K., Kim, S. H., y Sung, K. I. (2013). Ensiling of fish industry waste for biogas production: A lab scale evaluation of biochemical methane potential (PBM) and kinetics. *Bioresource Technology*, 127, 326-336.

Kafle, C. K., y Chen, L. (2016). Comparison on batch anaerobic digestion of five different livestock manures and prediction of biochemical methane potential (PBM) using different statistical models. *Waste Management*, 48, 492-502.

Kawai, M., Nagao, N., Tajima, N., Niwa, C., Matsuyama, T., y Toda, T. (2014). The effect of the labile organic fraction in food waste and the substrate/inoculum ratio on anaerobic digestion for a reliable methane yield. *Bioresource Technology*, 157, 174-180.

Kazmierczak, M. (2012). Sewage sludge stabilization indicators in aerobic digestion—a review. *Annals of Warsaw University of Life Sciences-SGGW. Land Reclamation*, 44(2), 101-109.

Kim, H.W., Nam, J.Y., Shin, H.S. (2011). A comparison study on the high-rate co-digestion of sewage sludge and food waste using a temperature-phased anaerobic sequencing batch reactor system. *Bioresource Technology* 102, 7272–7279.

Kim, J. K., Oh, B. R., Chun, Y. N., y Kim, S. W. (2006). Effects of temperature and hydraulic retention time on anaerobic digestion of food waste. *Journal of Bioscience and bioengineering*, 102(4), 328-332.

Koch, K., Plabst, M., Schmidt, A., Helmreich, B., y Drewes, J. E. (2016). Co-digestion of foodwaste in a municipal wastewater treatment plant: Comparison of batch tests and full-scale experiences. *Waste Management*, 47, 28-33.

Kong, X., Wei, Y., Xu, S., Liu, J., Li, H., Liu, Y., y Yu, S. (2016). Inhibiting excessive acidification using zero-valent iron in anaerobic digestion of food waste at high organic load rates. *Bioresource Technology*, 211, 65-71.

Kowalczyk, P., Cooper, W.J., Durako, M.J., Kahn, A.E., y Gonsior, M. (2009). Characterization of dissolved organic matter fluorescence in the South Atlantic Bight with use of PARAFAC model: interannual variability. *Marine Chemistry*, 113(3–4), 182–196.

Kusch, S., Oechsner, H., y Jungbluth, T. (2008). Biogas production with horse dung in solid-phase digestion systems. *Bioresource Technology*, 99(5), 1280-1292.

Labatut, R. A., Angenent, L. T., y Scott, N. R. (2011). Biochemical methane potential and biodegradability of complex organic substrates. *Bioresource Technology*, 102(3), 2255-2264.

Lafitte-Trouqué, S. y Forster, C. F. (2000). Dual anaerobic co-digestion of sewage sludge and confectionery waste. *Bioresource Technology*, 71, 77-82.

Lafitte-Trouqué, S. y Forster, C. F. (2002). The use of ultrasound and γ -irradiation as pre-treatments for the anaerobic digestion of waste activated sludge at mesophilic and thermophilic temperatures. *Bioresource Technology*, 84(2), 113-118.

Lansing, S., Martin, J., Botero, R., Nogueira da Silva, T. y Dias da Silva, E. (2010). Methane production in low-cost, unheated, plug-flow digesters treating swine manure and used cooking grease. *Bioresource Technology*; 101: 4362–70.

Latif, M.A., Mehta, C.M. y Batstone, D.J. (2017). Influence of low pH on continuous anaerobic digestion of waste activated sludge. *Water Research*, 113, 42-49.

Lesteur, M., Preys, S., Boulanger, A., Latrille, E., y Treguer, R. (2013). Fast Prediction of Biochemical Methane Potential (BMP) of Organic Waste by Near Infrared Spectroscopy. *Picking up good vibrations*, 453.

Lettinga, G., Rebac, S., y Zeeman, G. (2001). Challenge of psychrophilic anaerobic wastewater treatment. *Trends in Biotechnology*. 19, 363-370.

Li, D., Liu, S., Mi, L., Li, Z., Yuan, Y., Yan, Z., y Liu, X., (2015). Effects of feedstock ratio and organic loading rate on the anaerobic mesophilic co-digestion of rice straw and cow manure. *Bioresource Technology*; 189, 319-326.

Li, C., Champagne, P. y Anderson, B.C. (2013). Effects of ultrasonic and thermo-chemical pre-treatments on methane production from fat, oil and grease (FOG) and synthetic kitchen waste (KW) in anaerobic co-digestion. *Bioresource Technology*, 130, 187-197.

Li, X., Dai, X., Takahashi, J., Li, N., Jin, J., Dai, L., y Dong, B. (2014). New insight into chemical changes of dissolved organic matter during anaerobic digestion of dewatered sewage sludge using EEM-PARAFAC and two-dimensional FTIR correlation spectroscopy. *Bioresource Technology*, 159, 412-420.

Li, Y., Park, S. Y., y Zhu, J. (2011). Solid-state anaerobic digestion for methane production from organic waste. *Renewable and sustainable energy reviews*, 15(1), 821-826.

Li, Y. Y., Sasaki, H., Yamashita, K., Seki, K., y Kamigochi, I. (2002). High-rate methane fermentation of lipid-rich food wastes by a high-solids co-digestion process. *Water Science and Technology*, 45(12), 143-150.

Luo, K., Yang, Q., Li, X., Chen, H., Liu, X., Yang, G., y Zeng, G. (2013). Novel insights into enzymatic-enhanced anaerobic digestion of waste activated sludge by three-dimensional excitation and emission matrix fluorescence spectroscopy. *Chemosphere*, 91, 579-585.

Lv, W., Schanbacher, F.L. y Yu, Z.T. (2010). Putting microbes to work in sequence: recent advances in temperature-phased anaerobic digestion processes. *Bioresource Technology*; 101, 9409–9414.

Martí-Herrero, J., Alvarez, R., Cespedes, R., Rojas, M.R., Conde, V., Aliaga, L., Balboa, M. y Danov, S. (2015). Cow, sheep and llama manure at psychrophilic anaerobic co-digestion with low cost tubular digesters in cold climate and high altitude. *Bioresource Technology*; 118: 238–46.

Martín, M. A., Siles, J. A., Chica, A. F., y Martín, A. (2010). Biomethanization of orange peel waste. *Bioresource Technology*, 101(23), 8993-8999.

Martínez-Estrada, M.T. y Moctezuma-González, C.L. (2006). Espectrofluorimetría. Métodos físico-químicos en biotecnología. Instituto de Biotecnología, UNAM.

Massé, D. I., y Saady, N. M. C. (2015). Psychrophilic dry anaerobic digestion of dairy cow feces: long-term operation. *Waste Management*, 36, 86-92.

Matheri, A. N., Belaid, M., Seodigeng, T., & Ngila, C. J. (2016). Modelling the kinetic of biogas production from co-digestion of pig waste and grass clippings. Proceedings of the World Congress on Engineering 2016 Vol II.

McInerney, M.J., Sieber, J.R. y Gunsalus, R.P. (2009). Syntrophy in anaerobic global carbon cycles. *Current Opinion in Biotechnology*. 20, 623-632.

McKeown, R.M., Hughes, D., Collins, G., Mahony, T., y O'Flaherty, V. (2012). Low-temperature anaerobic digestion for wastewater treatment. *Current Opinion in Biotechnology*. 23, 444-451.

Mehariya, S., Patel, A. K., Obulisamy, P. K., Punniyakotti, E., y Wong, J. W. (2018). Co-digestion of food waste and sewage sludge for methane production: Current status and perspective. *Bioresource Technology*, 265, 519-531.

Metcalf y Eddy. (2003). Wastewater engineering. Treatment and reuse. 4ª edición. McGraw-Hill. Nueva York, E.U.A.

Mizuki, E., Akao, T. y Saruwatari, T. (1990) Inhibitory effect of *Citrus unshu* peel on anaerobic digestion. *Biological Wastes*, 33(3), 161-168.

Mgana, S. M. (2003). Towards sustainable and robust on-site domestic wastewater treatment for all citizens. Doctoral Thesis, Wageningen University, Wageningen, The Netherlands.

Narihiro, T., Terada, T., Kikuchi, K., Iguchi, A., Ikeda, M., Yamauchi, T., Shiraishi, K., Kamagata, Y., Nakamura, K. y Sekiguchi, Y. (2009). Comparative analysis of bacterial and archaeal communities in methanogenic sludge granules from upflow anaerobic sludge blanket reactors treating various food-processing, high-strength organic wastewaters. *Microbes and Environments*; 24, 88-96.

Neves, L., Oliveira, R., Mota, M., y Alves, M. M. (2002). Anaerobic biodegradability of kitchen waste.

Nguyen, D.D., Chang, S.W., Cha, J.H., Jeong, S.Y., Yoon, Y.S., Lee, S.J., Tran, M.C. y Ngo, H.H. (2017). Dry semi-continuous anaerobic digestion of food waste in the mesophilic and thermophilic modes: New aspects of sustainable management and energy recovery in South Korea. *Energy Conversion and Management*, 135, 445-452.

Nielfa, A., Cano, R., y Fernández-Polanco, M. (2015). Theoretical methane production generated by the co-digestion of organic fraction municipal solid waste and biological sludge. *Biotechnology Reports*, 5, 14-21.

Owamah, H.I. e Izinyon, O.C. (2015). The effect of organic loading rates (OLRs) on the performances of food wastes and maize husks anaerobic co-digestion in continuous mode. *Sustainable Energy Technologies and Assessments*, 11, 71-76.

Pajączkowska, J., Sułkowska, A., Sułkowski, W. W., y Jędrzejczyk, M. (2003). Spectroscopic study of the humification process during sewage sludge treatment. *Journal of Molecular Structure*, 651, 141-149.

- Park, J., Lee, B., Shin, W., Jo, S., y Jun, H. (2018). Psychrophilic methanogenesis of food waste in a bio-electrochemical anaerobic digester with rotating impeller electrode. *Journal of Cleaner Production*, 188, 556-567.
- Patel-Sorrentino, N., Mounier, S., Lucas, Y. y Benaim J.Y. (2004). Effects of UV-visible irradiation on natural organic matter from the Amazon basin. *Science of the Total Environment* 321(1-3): 231-239.
- Puyuelo, B., Ponsá, S., Gea, T., y Sánchez, A. (2011). Determining C/N ratios for typical organic wastes using biodegradable fractions. *Chemosphere*, 85(4), 653-659.
- Qu, H., Guo, X., Chen, Y., Dai, B., He, J., y Zhu, D. (2017). Characterization of Dissolved Organic Matter from Effluents in a Dry Anaerobic Digestion Process Using Spectroscopic Techniques and Multivariate Statistical Analysis. *Waste and Biomass Valorization*, 8, 793-802.
- Ramírez, M., Cuatutle, G., y Méndez, L. (2013). Ciencia y Desarrollo. Tratamiento de residuos sólidos orgánicos ¿estrategia sustentable? *Ciencia y Desarrollo/CONACYT*
- Rao, P. P., y Seenayya, G. (1994). Improvement of methanogenesis from cow dung and poultry litter waste digesters by addition of iron. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 10(2), 211-214.
- Raposo, F., Banks, C. J., Siegert, I., Heaven, S., y Borja, R. (2006). Influence of inoculum to substrate ratio on the biochemical methane potential of maize in batch tests. *Process Biochemistry*, 41(6), 1444-1450.
- Raposo, F., De la Rubia, M. A., Borja, R., Alaiz, M., Beltrán, J., Cavinato, C., ... y Jenicek, P. (2009). An interlaboratory study as useful tool for proficiency testing of chemical oxygen demand measurements using solid substrates and liquid samples with high suspended solid content. *Talanta*, 80(1), 329-337.
- Raposo, F., Fernández-Cegrí, V., De la Rubia, M. A., Borja, R., Béline, F., Cavinato, C., ... y Ganesh, R. (2011). Biochemical methane potential (BMP) of solid organic substrates: evaluation of anaerobic biodegradability using data from an international interlaboratory study. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 86(8), 1088-1098.
- Rincón, B., Borja, R., González, J. M., Portillo, M. C., y Sáiz-Jiménez, C. (2008). Influence of organic loading rate and hydraulic retention time on the performance, stability and microbial communities of one-stage anaerobic digestion of two-phase olive mill solid residue. *Biochemical Engineering Journal*, 40(2), 253-261.
- Rittmann, B., y McCarty, P. (2001). *Biotecnología del Medio Ambiente: Principios y aplicaciones*. McGraw-Hill/Interamericana de España. E.U.A.
- Rubio-Loza, L.A. y Noyola, A. (2010). Two-phase (acidogenic-methanogenic) anaerobic thermophilic/mesophilic digestion system for producing Class A biosolids from municipal sludge. *Bioresource Technology*, 101, 576-585.
- Saad, N. M. C., y Massé, D. I. (2015). Impact of organic loading rate on the performance of psychrophilic dry anaerobic digestion of dairy manure and wheat straw: long-term operation. *Bioresource technology*, 182, 50-57.
- Salminen, E. A., y Rintala, J. A. (2002). Semi-continuous anaerobic digestion of solid poultry slaughterhouse waste: effect of hydraulic retention time and loading. *Water Research*, 36(13), 3175-3182.
- Sánchez, E., Borja, R., Weiland, P., Travieso, L., y Martín, A. (2001). Effect of substrate concentration and temperature on the anaerobic digestion of piggery waste in a tropical climate. *Process Biochemistry*, 37, 483-9.
- Schäfer, W., Lehto, M., & Teye, F. (2006). Dry anaerobic digestion of organic residues on-farm - a feasibility study. *Agrifood Research Reports* 77.

- Shakeri Yekta, S., Gonsior, M., Schmitt-Kopplin, P., y Svensson, B.H. (2012). Characterization of dissolved organic matter in full scale continuous stirred tank biogas reactors using ultrahigh resolution mass spectrometry: a qualitative overview. *Environmental Science Technology*, 46(22), 12711–12719.
- Shanmugam, P., y Horan, N. J. (2009). Simple and rapid methods to evaluate methane potential and biomass yield for a range of mixed solid wastes. *Bioresource Technology*, 100(1), 471-474.
- Shyam, M. (2002). Agro-residue-based renewable energy technologies for rural development. *Energy for sustainable development*, 6(2), 37-42.
- Singh, S., D'Sa, E.J. y Swenson, E.M. (2010). Chromophoric dissolved organic matter (CDOM) variability in Barataria Basin using excitation–emission matrix (EEM) fluorescence and parallel factor analysis (PARAFAC). *Science Total Environment*, 408(16), 3211–3222.
- Somayaji, D., y Khanna, S. (1994). Biomethanation of rice and wheat straw. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 10(5), 521-523.
- Stams, A.J.M., Sousa, D.Z., Kleerebezem. R. y Plugge, C.M. (2012). Role of syntrophic microbial communities in high-rate methanogenic bioreactors. *Water Science and Technology*. 66, 352-62.
- Stedmon, C.A., Markager, S. y Bro, R. (2003). Tracing dissolved organic matter in aquatic environments using a new approach to fluorescence spectroscopy. *Marine Chemistry* 82(3–4), 239–254.
- Strömberg, S., Nistor, M. y Liu, J. (2014). Towards eliminating systematic errors caused by the experimental conditions in Biochemical Methane Potential (PBM) tests. *Waste Management*, 34(11), 1939-1948.
- Stronach, S. M.; Rudd, T.; Lester, J. N. *Anaerobic Digestion Processes in Industrial Wastewater Treatment*. Springer-Verlag: Berlin (Germany), 1986.
- Tandukar, M., y Pavlostathis, S. G. (2015). Co-digestion of municipal sludge and external organic wastes for enhanced biogas production under realistic plant constraints. *Water Research*, 87, 432-445.
- Tian, S., Lishman, L., y Murphy, K. L. (1994). Investigations into excess activated sludge accumulation at low temperatures. *Water research*, 28(3), 501-509.
- van Lier, J.B., Mahmoud, N., y Zeeman, G. (2008). Anaerobic wastewater treatment. *Biological Wastewater Treatment*.
- Veeken, A. y Hamelers, B. (1999). Effect of temperature on hydrolysis rates of selected biowaste components. *Bioresource Technology*; 69: 249–54.
- Vives, I., Grimalt, J. O., y Guitart, R. (2001). Los hidrocarburos aromáticos policíclicos y la salud humana. *Apuntes de Ciencia y Tecnología*, 3(2), 45-51.
- Wang, M., Sun, X., Li, P., Yin, L., Liu, D., Zhang, Y., Li, W. y Zheng, G. (2014). A novel alternate feeding mode for semi-continuous anaerobic co-digestion of food waste and chicken manure. *Bioresource Technology*, 164, 309-314.
- Wikandari, R., Nguyen, H., Millati, R., Niklasson, C., y Taherzadeh, M. J. (2015). Improvement of biogas production from orange peel waste by leaching of limonene. *BioMed research international*, 2015.
- Yamashita, Y. y Jaffé, R. (2008). Characterizing the interactions between trace metals and dissolved organic matter using excitation–emission matrix and parallel factor analysis. *Environmental Science and Technology*, 42(19), 7374–7379.

Yan, Z., Song, Z., Li, D., Yuan, Y., Liu, X., y Zheng, T. (2015). The effects of initial substrate concentration, C/N ratio, and temperature on solid-state anaerobic digestion from composting rice straw. *Bioresource Technology*; 177, 266-273.

Zamanzadeh, M., Hagen, L. H., Svensson, K., Linjordet, R., y Horn, S. J. (2016). Anaerobic digestion of food waste—Effect of recirculation and temperature on performance and microbiology. *Water Research*, 96, 246-254.

Zeng, S., Yuan, X., Shi, X., y Qiu, Y. (2010). Effect of inoculum/substrate ratio on methane yield and orthophosphate release from anaerobic digestion of *Microcystis* spp. *Journal of Hazardous Materials*, 178(1-3), 89-93.

Zhang, C., Su, H., y Tan, T. (2013). Batch and semi-continuous anaerobic digestion of food waste in a dual solid–liquid system. *Bioresource Technology*, 145, 10-16.

Zhang, C., Su, H., Baeyens, J., y Tan, T. (2014). Reviewing the anaerobic digestion of food waste for biogas production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 38, 383-392.

Zhang, J., Lv, C., Tong, J., Liu, J., Liu, J., Yu, D., ...y Wei, Y. (2016). Optimization and microbial community analysis of anaerobic co-digestion of food waste and sewage sludge based on microwave pretreatment. *Bioresource Technology*, 200, 253-261.

Zhang, L., Loh, K. C., & Zhang, J. (2019). Enhanced biogas production from anaerobic digestion of solid organic wastes: Current status and prospects. *Bioresource Technology Reports*, 5, 280-296.

Zheng, W., Lü, F., Phoungthong, K., y He, P. (2014). Relationship between anaerobic digestion of biodegradable solid waste and spectral characteristics of the derived liquid digestate. *Bioresource Technology*, 161, 69-77.

Zheng, Z., He, P.J., Shao, L.M. y Lee, D.J. (2007). Phthalic acid esters in dissolved fractions of landfill leachates. *Water Research*, 41, 4696.

Zwietering, M. H., Jongenburger, I., Rombouts, F. M., y Riet, K. van 'T. (1990). Modeling of the Bacterial Growth Curve. *Applied and Environmental Microbiology*, 56(6), 1875-1881.