

**EVALUACIÓN DEL POTENCIAL BIOQUÍMICO DE METANO DEL AGUA
RESIDUAL DE LA UPB SECCIONAL BUCARAMANGA, VARIANDO LAS
CONDICIONES INICIALES DE PH Y MATERIA ORGÁNICA.**

**KAREN TATIANA CÁCERES CÁCERES
ALEJANDRO RINCÓN PEREZ**

**UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA
ESCUELA DE INGENIERÍAS
FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL
BUCARAMANGA
2018**

**EVALUACIÓN DEL POTENCIAL BIOQUÍMICO DE METANO DEL AGUA
RESIDUAL DE LA UPB SECCIONAL BUCARAMANGA, VARIANDO LAS
CONDICIONES INICIALES DE PH Y MATERIA ORGÁNICA.**

**KAREN TATIANA CÁCERES CÁCERES
ALEJANDRO RINCÓN PEREZ**

**Trabajo de grado presentado para optar por el título de
INGENIERO AMBIENTAL**

**Director
PhD. Alexandra Cerón Vivas
Profesora Facultad de Ingeniería Ambiental
Universidad Pontificia Bolivariana**

**UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA
ESCUELA DE INGENIERÍAS
FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL
BUCARAMANGA
2018**

NOTA DE ACEPTACIÓN

Presidente del jurado

Jurado Calificador

Jurado Calificador

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos, en primera instancia a Dios, por la vida, la naturaleza, sus bendiciones y por ser el Guía en nuestro camino.

A nuestras familias por sus enseñanzas, confianza, dedicación y apoyo incondicional para alcanzar nuestros sueños y metas más altas.

A nuestros amigos y compañeros de estudio, por su ánimo y experiencias vividas en esta bella etapa académica.

A nuestra directora de trabajo de grado, Alexandra Cerón Vivas, por su acompañamiento, asesoramiento y colaboración durante la elaboración del presente proyecto, de igual manera a Alvaro Cajigas, por sus consejos y colaboración.

A Diego Blanco, Jonathan Duitama, Naidu Villamizar, Doña Felisa y por último, pero no menos importante Don Alcides, quienes estuvieron dispuestos a colaborarnos en todo lo que necesitáramos.

TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN.....	1
1 OBJETIVOS	3
1.1 OBJETIVO GENERAL.....	3
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	3
2 MARCO DE REFERENCIA	4
2.1 ANTECEDENTES	4
2.2 MARCO TEÓRICO.....	6
2.2.1 Digestión Anaerobia (DA).....	6
2.2.2 Parámetros ambientales y de control en la Digestión Anaerobia	11
2.2.3 Potencial Bioquímico de Metano (PBM)	15
2.2.4 Modelo de Gompertz	16
3 METODOLOGÍA.....	18
3.1 CARACTERIZACIÓN SUSTRATO	18
3.2 CARACTERIZACIÓN DEL CO-SUSTRATO.....	18
3.3 CARACTERIZACIÓN INÓCULO	19
3.3.1 Caracterización fisicoquímica	19
3.3.2 Actividad Hidrolítica y Acidogénica	19
3.3.3 Actividad Metanogénica Específica (AME)	22
3.4 DISEÑO EXPERIMENTAL	24
3.5 POTENCIAL BIOQUÍMICO DE METANO (PBM).....	25
4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	26
4.1 CARACTERIZACIÓN DEL SUSTRATO	26
4.2 CARACTERIZACIÓN DEL CO-SUSTRATO.....	27
4.3 CARACTERIZACIÓN DEL INÓCULO	28
4.3.1 Caracterización fisicoquímica	28
4.3.2 Actividad Hidrolítica (AH).....	29
4.3.3 Actividad Acidogénica (AA)	30
4.3.4 Actividad Metanogénica Especifica (AME).....	30
4.4 Influencia de la relación carbono/nitrógeno y de pH en la producción de metano	
32	

4.4.1	Influencia del pH en la producción de metano	33
4.4.2	Influencia de la relación C/N en la producción de metano	37
4.4.3	Influencia del pH y la relación C/N sobre el potencial bioquímico de metano 40	
5	CONCLUSIONES	43
	RECOMENDACIONES	44
	BIBLIOGRAFÍA	45
	ANEXOS	54

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Métodos de caracterización del sustrato	18
Tabla 2. Métodos de caracterización del co-sustrato	19
Tabla 3. Métodos caracterización del inóculo	19
Tabla 4. Soluciones adicionadas	20
Tabla 5. Diseño experimental	24
Tabla 6. Características fisicoquímicas del sustrato.....	26
Tabla 7. Características fisicoquímicas del inóculo.....	28
Tabla 8. Parámetros Modelo de Gompertz	31
Tabla 9. Parámetros del Modelo de Gompertz del PBM	36
Tabla 10. Comparación de resultados de PBM.....	41
Tabla 11. Curva de calibración para la determinación de DQO.....	54
Tabla 12. Curva de calibración para la determinación de AT	55
Tabla 13. Curva de calibración para la determinación de AR.....	56
Tabla 14. Consumo de Glucosa en la AA	57
Tabla 15. Consumo de Almidón en la AH	57
Tabla 16. Datos de presión (hPa) de la prueba de AME	58
Tabla 17. Concentraciones de DQO y NTK del agua residual.....	60
Tabla 18. Datos pH de los ensayos	60
Tabla 19. Análisis de varianza	60

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Etapas de la digestión anaerobia	8
Figura 2. Sistema OxiTop AN6	23
Figura 3. Sistema OxiTop AN12	25
Figura 4. Consumo de almidón en el tiempo.....	29
Figura 5. Consumo de glucosa Vs tiempo	30
Figura 6. Volumen acumulado de Metano a CE.....	31
Figura 7. Influencia del pH sobre la producción de metano (mL CH ₄): (A) C/N 4.8; (B) C/N 8.2; (C) C/N 14.2.....	33
Figura 8. Variación del porcentaje de remoción en las diferentes condiciones de pH y CN	35
Figura 9. Influencia de la relación C/N sobre la producción de metano (mL CH ₄): (A) pH 9.0±0.5; (B) pH 7.5± 0.1; (C) pH 6.9±0.1.....	38
Figura 10. Sistema de recirculación de lodos.....	39
Figura 11. Valores de PBM cada relación C/N y pH.....	40
Figura 12. Curva de calibración para la determinación de DQO	54
Figura 13. Curva de calibración para la determinación de AT.....	55
Figura 14. Curva de Calibración para la determinación de AR.....	56

LISTA DE ANEXOS

Anexo A. Curva de calibración para determinar DQO	54
Anexo B. Curva de calibración para prueba de AT	55
Anexo C. Preparación del reactivo DNS y su curva de calibración	55
Anexo D. Consumo de sustrato en AH y AA	57
Anexo E. Datos de presión de la prueba de AME	57
Anexo F. Datos de DQO y NTK del agua residual	60
Anexo G. Datos de pH inicial y final promedio de cada prueba.....	60
Anexo H. Resultados ANOVA.....	60

RESUMEN GENERAL DE TRABAJO DE GRADO

TITULO: EVALUACIÓN DEL POTENCIAL BIOQUÍMICO DE METANO DEL AGUA RESIDUAL DE LA UPB SECCIONAL BUCARAMANGA, VARIANDO LAS CONDICIONES INICIALES DE PH Y MATERIA ORGÁNICA

AUTOR(ES): Karen Tatiana Cáceres Cáceres
Alejandro Rincón Pérez

PROGRAMA: Facultad de Ingeniería Ambiental

DIRECTOR(A): Alexandra Cerón Vivas

RESUMEN

El Potencial Bioquímico de Metano (PBM) se utiliza comúnmente para evaluar la biodegradabilidad anaeróbica de un sustrato orgánico. El objetivo de este estudio fue investigar la influencia del pH y la relación C/N sobre la producción de metano del agua residual generada en la Universidad Pontificia Bolivariana Seccional Bucaramanga, por medio de un diseño factorial 32, evaluando valores de pH de 6.9 ± 0.1 , 7.5 ± 0.05 y 9.0 ± 0.5 y relaciones C/N de 4.9 ± 0.2 , 8.2 ± 0.18 y 14.2 ± 0.17 . Las pruebas de PBM se realizaron con un inóculo granulado, el cual presentó una actividad hidrolítica de 2.79 gDQO/gSSV, actividad acidogénica de 2.80 gDQO/gSSV y actividad metanogénica de 0.14 gDQO/gSSV. Los resultados experimentales de los ensayos de PBM indicaron que, a medida que aumentó la relación C/N, se incrementó la producción de metano. El máximo PBM fue de 318 mL CH₄/gSSV con pH inicial de 7.5 y relación C/N de 8.2 ± 0.18 . Durante las pruebas se observó un posible efecto inhibitor con el valor de pH inicial de 6.9.

PALABRAS CLAVE:

Metano, PBM, inóculo, relación carbono nitrógeno, pH

V° B° DIRECTOR DE TRABAJO DE GRADO

GENERAL SUMMARY OF WORK OF GRADE

TITLE: EVALUATION OF THE BIOCHEMICAL POTENTIAL OF METHANE OF RESIDUAL WATER OF THE UPB SECTIONAL BUCARAMANGA, VARYING THE INITIAL CONDITIONS OF PH AND ORGANIC MATTER

AUTHOR(S): Karen Tatiana Cáceres Cáceres
Alejandro Rincón Pérez

FACULTY: Facultad de Ingeniería Ambiental

DIRECTOR: Alexandra Cerón Vivas

ABSTRACT

The Biochemical Methane Potential (BMP) is commonly used to evaluate the anaerobic biodegradability of an organic substrate. The aim of this study was to investigate the influence of pH and the C/N ratio on the wastewater methane production, using a 32 factorial design, pH evaluated were of 6.9 ± 0.1 , 7.5 ± 0.05 and 9.0 ± 0.5 and C / N ratios of 4.9 ± 0.2 , 8.2 ± 0.18 and 14.2 ± 0.17 . The BMP tests were performed with a granulated sludge, which showed a hydrolysis activity of 2.79 gCOD / gVSS, acidogenic activity of 2.80 gCOD / gVSS and methanogenic activity of 0.14 gCOD / gVSS. The experimental results of the BMP trials indicated that when the C/N ratio increased, methane production was higher. The maximum BMP was 318mL CH₄/gVSS with initial pH conditions of 7.5 and a C / N ratio of 8.2 ± 0.18 . During the tests a possible inhibitory effect was made with the tests carried out at initial pH of 6.9.

KEYWORDS:

methane, BPM, inocule, ratio C/N, pH

V° B° DIRECTOR OF GRADUATE WORK

INTRODUCCIÓN

El crecimiento demográfico, la urbanización, la agricultura y la industria, ha aumentado significativamente el consumo global del agua y por lo tanto, la cantidad de aguas residuales (AR) generadas (Hidalgo Santana and Mejía Alvarez, 2010). Los gobiernos y la comunidad no han valorado la importancia del tratamiento de aguas residuales, permitiendo una disposición indiscriminada en los cuerpos de agua. Cuando las AR llegan a ríos o lagos, sin ningún tratamiento o desinfección, se provoca la desaparición de la vegetación natural, así como la muerte de peces y demás animales acuáticos. Por otra parte, la descarga directa a cuerpos de agua de las AR, limita el uso del recurso para diferentes fines productivos como el riego, la pesca, la agricultura, el consumo (agua potable) y recreación de contacto (Peña et al., 2013).

Latino América posee una de las regiones más biodiversas del mundo, en ella se encuentra un tercio de las fuentes hídricas mundiales, las cuales se encuentran en peligro, debido a que un 70% de las aguas residuales, provenientes de las ciudades, no reciben ningún tipo de tratamiento. Lo anterior tiene como consecuencia la disminución de la diversidad ecológica, deterioro de los cuerpos de agua y enfermedades como el cólera, la hepatitis, la disentería, gastroenterocolitis, etc., haciendo necesario un mejoramiento de la descontaminación de las AR (Larios et al., 2015).

El tratamiento anaerobio nace como alternativa para descontaminar AR en los años 70, mejorando diferentes aspectos técnicos como el tiempo de retención, requerimiento de espacio, costos y la operación de las plantas de tratamiento de AR (Díaz-Báez et al., 2002).

Desde entonces se han realizado diversos estudios sobre los parámetros que pueden beneficiar o no el rendimiento de la degradación; variables como la relación sustrato-inóculo (S/I), pH, relación carbono nitrógeno (C/N), agitación, temperatura, tipo de sustrato, entre otros.

Koch et al.,(2017) afirman que la influencia de estos parámetros depende del sustrato o el inóculo con el que se trabaje, ya que diferentes inóculos pueden funcionar o no con ciertos sustratos. Teniendo en cuenta lo anterior, es importante realizar estudios donde se evalué la influencia de los parámetros ya mencionados.

Este estudio pretende investigar la influencia del pH y la relación carbono nitrógeno (C/N) en el Potencial Bioquímico de Metano (PBM) del agua residual de la Universidad Pontificia Bolivariana (UPB), y así mejorar su degradabilidad. Para esto, se realizaron pruebas de PBM y se combinaron variables, utilizando un modelo estadístico 3^2 donde se usaron 3 valores distintos de pH y 3 valores de la relación (C/N) y de esta forma encontrar las condiciones operacionales óptimas para los reactores anaerobios de la UPB.

1 OBJETIVOS

1.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el potencial bioquímico de metano del agua residual de la UPB seccional Bucaramanga, variando las condiciones iniciales de pH y materia orgánica.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar las características fisicoquímicas del sustrato e inóculo utilizados en las pruebas de digestión anaerobia.

Evaluar la influencia de la relación C/N sobre la producción de metano del agua residual.

Analizar la influencia del pH inicial en la producción de metano del agua residual

2 MARCO DE REFERENCIA

2.1 ANTECEDENTES

La Universidad Pontificia Bolivariana (UPB) cuenta con un sistema de tratamiento de agua residual anaerobio-aerobio construido y llevado a funcionamiento hace más de 20 años. La planta de tratamiento de aguas residuales de la UPB (PTAR-UPB) se ubica en la parte más baja del proceso de manejo de aguas servidas, específicamente en la zona suroccidental del campus universitario.

Inicialmente, la PTAR-UPB contaba con un Reactor Anaerobio de flujo a Pistón (RAP), el cual presentaba eficiencias de remoción de materia orgánica del 60%. Debido al aumento de la oferta académica, se incrementó la población universitaria y por ende el caudal y las cargas de nutrientes del agua residual, lo que llevó a la puesta en marcha del RAP número dos.

En la última década se han realizado varios estudios por parte de la Facultad de Ingeniería Ambiental en la que se evalúan las eficiencias de cada proceso y plantean mejoras en el tren de tratamiento del agua residual.

Entre estas investigaciones se encuentran las realizadas por Camacho y Ordoñez (2008), quienes obtuvieron datos de eficiencias de remoción de materia orgánica del RAP del 65% con relaciones C/N de 4.3 y hasta del 88% al finalizar el tren de tratamiento. De igual manera, Pérez (2011) reportó eficiencias de remoción en los reactores anaerobios, en cuanto a Demanda Química de Oxígeno (DQO) y Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO_5), de 42.96% y 78.96%, respectivamente. Adicionalmente, el afluente presentaba valores de pH superiores a 8.5 unidades y altas concentraciones de Nitrógeno Total Kjeldahl (NTK), alrededor de 187 mg/L.

En el 2013, Baez y Cely (2013) evaluaron la eficiencia del sistema existente (PTAR-UPB) y la adaptación de un sistema terciario de lodos activados. En este estudio, los RAP presentaron porcentajes de remoción del 69% al 78%.

Mantilla y Torres (2017), realizaron un diagnóstico del AR de la UPB, donde reportan resultados de concentraciones promedio de DQO y NTK en el afluente de la PTAR-UPB de 551.25 y 158.2 mg/L, respectivamente, con relaciones C/N de 3.6.

Actualmente, la PTAR-UPB se encuentra dividida en tres etapas y trata un caudal promedio 0.548L/s, proveniente de baños, laboratorios, cafeterías y lavado de las instalaciones físicas, con valores de NTK de 118 ± 26 mg/L, DQO de 529.58 ± 75 mg/L, DBO de 272.18 ± 4 mg/L, Alcalinidad Total de 241.43 ± 54 mg/L y pH de 9 ± 0.5 .

Para tratar el AR, la planta cuenta con tratamiento preliminar para remover sólidos y grasas, tratamiento secundario con dos reactores anaerobios y tratamiento terciario biológico, descritos a continuación:

Tratamiento preliminar: El sistema está conformado por una sección de cribas, para retener sólidos que puedan interferir en los procesos posteriores y un sistema de trampa de grasas-desarenador, encargado de separar las grasas y aceites provenientes principalmente de las cafeterías y restaurantes. Posteriormente, se encuentra un tanque de regulación de caudales, junto con un sistema de bombeo que lleva a una cámara de distribución de caudales.

Tratamiento secundario: Integrado por dos reactores anaerobios de flujo a pistón (RAP), los cuales tienen un volumen útil de 22m^3 y cuentan con válvulas de purga que ayudan a liberar la saturación de lodos. En esta fase se presenta la mayor remoción de carga orgánica de la PTAR-UPB.

Tratamiento terciario: Se divide en dos zonas, la primera consiste en un canal de 20m de longitud con aireación intermitente; en la segunda sección, los canales presentan caídas para mejorar la aireación del agua y están cubiertos por plantas acuáticas flotantes, llamadas comúnmente buchón de agua (*Eichhornia crassipes*). En el recorrido que realiza el agua por el canal se presenta sedimentación de partículas, las cuales se van acumulando en los canales, en especial en el segundo sector donde se encuentran las plantas acuáticas, este lodo es retirado cada 3 o 5 días. La finalidad de esta etapa es la remoción de nutrientes (nitrógeno y fósforo) y un pequeño porcentaje de la materia orgánica restante del tratamiento anterior.

Tratamiento de subproductos: Los tratamientos descritos anteriormente generan subproductos como lodo anaerobio de los RAP, lodo aerobio del sistema de lodos activados y plantas acuáticas, los cuales tienen un tratamiento. Los lodos anaerobios son purgados cada 6 meses y llevados a un lecho de secado por 4 a 5 horas, posteriormente son mezclados con residuos orgánicos provenientes de las cafeterías de la universidad, para su posterior uso como abono orgánico. En el tratamiento terciario, se recircula lodo aerobio producido en la zona de plantas acuáticas hacia el inicio de la sección del canal que tiene aireación intermitente, cada 3 o 5 cinco días y las plantas acuáticas (buchón de agua) de gran tamaño son extraídas aproximadamente cada 20 días, ya que no aportan a la remoción de nutrientes, estas son trituradas y mezcladas con los lodos de los reactores después del secado.

2.2 MARCO TEÓRICO

2.2.1 Digestión Anaerobia (DA)

La digestión anaerobia es un proceso en el que se descompone la materia orgánica en ausencia de oxígeno por la acción de un consorcio de microorganismos y como se resultado final se obtiene el biogás (metano, 60-70%; dióxido de carbono, 30-40%) (Martínez and Camacho, 2004).

La DA se da en cuatro etapas como se ilustra en la Figura 1. En la primera, los polímeros complejos son transformados en monómeros o ácidos grasos por intervención de las bacterias hidrolíticas, luego por medio de bacterias acidogénicas, los monómeros se convierten en productos intermedios como ácido propiónico, butírico y valérico, estos productos por medio de la acetogénesis forman ácido acético y por ultimo las bacterias metanogénicas lo transforman en metano y dióxido de carbono (González-Sánchez et al., 2015).

2.2.1.1 Hidrólisis

Se define como la degradación anaeróbica de los compuestos orgánicos complejos (proteínas, lípidos, celulosa y hemicelulosa) por medio de enzimas extracelulares, producidas por los microorganismos hidrolíticos. Los compuestos complejos son transformados en otros más sencillos como aminoácidos, azúcares y ácidos grasos de cadena larga (PNUD, 2011).

La hidrólisis es importante en el proceso de DA debido a que las bacterias hidrolíticas consumen el oxígeno disuelto y gaseoso que puede estar en el medio y aportan el sustrato para las etapas posteriores (materia orgánica soluble) (Sikora, 1979).

Esta etapa depende de la composición del sustrato, pH y concentración de sólidos, ya que en la mayoría de los casos estos contienen compuestos orgánicos complejos (PNUD, 2011).

Actividad Hidrolítica (AH)

La actividad hidrolítica mide la capacidad de los microorganismos de degradar polímeros complejos, por eso el sustrato utilizado para la prueba es almidón, y se cuantifica según la velocidad de consumo del sustrato (Porrier, 2005).

Esta puede ser el factor limitante del proceso, dependiendo de las características del sustrato, ya que puede retardar su arranque y la disponibilidad de fuentes de carbono para microorganismos de etapas posteriores (Alzate, 2015).

Diferentes autores sugieren la aplicación de modelos cinéticos de primer orden como la ecuación de Monod, ecuación de grado de difusión, entre otros. El modelo de Monod se ajusta a esta etapa de la DA (Gualtero and Angulo, 2016).

El ensayo se realiza en condiciones óptimas descritas a continuación (Carrascal and Pardo, 2016):

- ❖ Concentración de sustrato de 1.5g DQO/L
- ❖ Concentración de inóculo mayor a 0.5sSSV/L
- ❖ Exceso de nutrientes
- ❖ Condiciones anaerobias

La actividad se relaciona con la concentración de sustrato mediante la ecuación 1 (Soto, M Méndez, R Lema, 1993).

$$Ac = \left(\frac{1}{X_0}\right) \left(\frac{-ds}{dt}\right) \quad (Ec 1)$$

Donde:

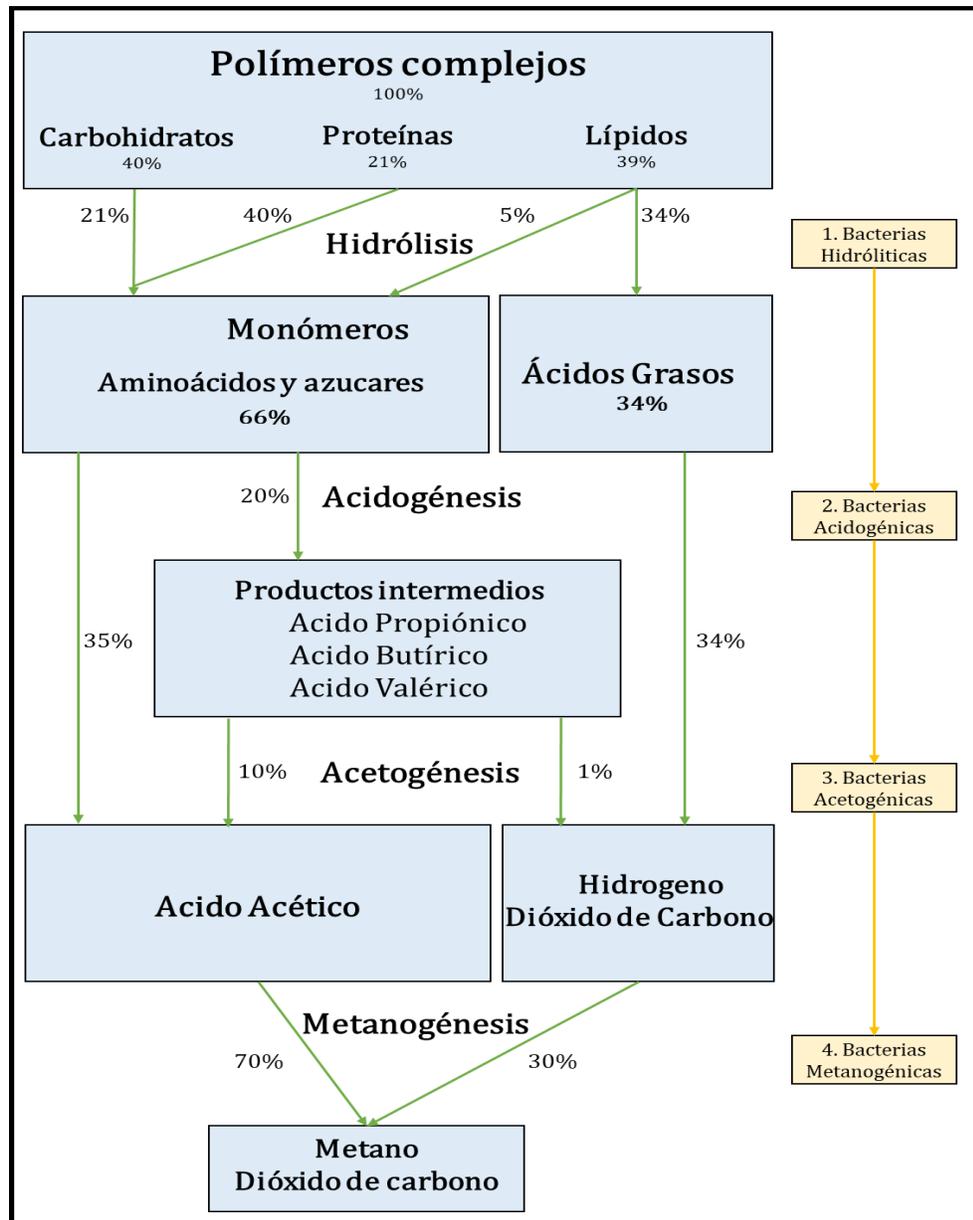
Ac = la actividad hidrolítica (expresada en consumo específico del sustrato) (gDQO/gSSV.d)

X_0 = Concentración microbiana inicial (gSSV/L)

S = Concentración limitante de sustrato (gDQO/L)

t =tiempo (d)

Figura 1. Etapas de la digestión anaerobia



Adaptado de: Ortiz (2011)

2.2.1.2 Acidogénesis

Luego de la transformación de los compuestos complejos a monómeros, entran a actuar las bacterias fermentativas o acidogénicas, las cuales al igual que en la hidrólisis, pueden

ser facultativas o anaerobias. Los sustratos simples pasan por un proceso de glucólisis, el cual en ausencia de oxígeno depende de la concentración de hidrógeno (H₂) para producir ácido acético (principal precursor en la producción de metano), ácido propiónico, ácido butírico, ácido valérico y CO₂ (Orozco, 2014).

Actividad Acidogénica (AA)

La AA aunque no es un factor limitante en la producción de gas metano, su determinación es importante para diferentes tratamientos o procesos. En materia de estudio, es útil para evaluar el comportamiento de los microorganismos presentes en el proceso de digestión anaerobia (Palomino et al., 2016).

El principal sustrato para la determinación de AA es la glucosa, el cual es considerado como el principal compuesto de la DA de los carbohidratos complejos (Palomino et al., 2016).

Los montajes de AA deben tener en cuenta lo siguiente: concentración del sustrato de 1.5g/L, la cantidad de inóculo que se recomienda es de 0.225gSSV/L para cultivos de bacterias y para lodos anaerobios una concentración mínima de 0.5gSSV/L (Soto, M Méndez, R Lema, 1993). Este proceso se apega al modelo cinético de Monod de primer orden.

El cálculo de esta actividad se hace mediante la ecuación 2.

$$Ac = \left(\frac{-ds/dt}{X_0} \right) \quad (Ec 2)$$

Donde:

Ac = LA actividad acidogénica (gDQO/gSSV.d)

X_0 = Concentración microbiana inicial (gSSV/L)

S = Concentración limitante del sustrato (gDQO/L)

t = Tiempo (d)

2.2.1.3 Acetogénesis

Cuando se llega a esta etapa del proceso, las bacterias acidogénicas ya han extraído todo el alimento proveniente de la biomasa del sustrato, ellas excretan sus propios productos (ácidos grasos sencillos) y las bacterias acetogénicas se encargan de convertirlos en productos más sencillos, ácido acético, hidrógeno, y dióxido de carbono, para su posterior

metanogénesis (Mosquera and Martinez, 2012). El ácido acético producido es el responsable del 70% del metano generado (Khan et al., 2016; Parra Orobio et al., 2014).

2.2.1.4 Metanogénesis

En esta última etapa, las bacterias metanogénicas acetoclásticas e hidrogenofílicas, ambas del dominio *Archaea*, se encargan de transformar el acetato para las primeras e hidrógeno y ácido fórmico para las segundas, en metano. Las acetoclásticas se les considera las principales productoras de metano (70% de la producción de metano), las hidrogenofílicas se encargan del restante 30% de la producción, reduciendo el dióxido de carbono, fase conocida como metanogénesis hidrogenotrófica (Almeida et al., 2011).

Actividad Metanogénica Específica (AME)

La AME puede definirse como la máxima capacidad de producción de metano por un grupo de microorganismos anaerobios, realizada en condiciones controladas de laboratorio que permita la máxima actividad bioquímica de conversión del sustrato orgánico a metano (Chernicharo, 2007). Las unidades en las que se expresa son mg DQO/g SSV·d, o ml CH₄/g SSV·d.

Esta prueba puede ser utilizada para: la estimación de la capacidad de las bacterias metanogénicas en la producción de CH₄, servir como indicador en el arranque de un reactor anaerobio, cuantificar las poblaciones de bacterias metanogénicas, evaluar el comportamiento de la biomasa bajo el efecto de compuestos potencialmente inhibidores, determinar toxicidad relativa de los compuestos químicos de los efluentes y determinar la degradabilidad de diferentes sustancias (Aquino et al., 2007).

Para medir la AME existen diferentes protocolos que varían parámetros como: concentración del inóculo y sustrato, cantidad de nutrientes, temperatura de incubación, tipo de sustrato (Soto, M Méndez, R Lema, 1993).

Se deben tener en cuenta las siguientes condiciones de operación para su montaje:

- ❖ Concentración inicial del sustrato: el sustrato utilizado en la AME es una mezcla de ácidos grasos Volátiles (Ácido acético, propiónico y butírico), la cual es añadida de manera que la concentración final se encuentra entre 0.2 y 0.05 g/L, respectivamente.

- ❖ Cantidad de inóculo: La concentración mínima de inóculo debe ser de 0.8gSSV/L
- ❖ Periodo de medición
- ❖ Nutrientes

El cálculo de AME se puede realizar utilizando la Ecuación 2, de acuerdo al consumo del sustrato y la Ecuación 3, si se considera la producción de metano.

$$Ac = \left(\frac{-dV_{CH_4}/dt}{X_0 V_r f_1} \right) \quad (Ec\ 3)$$

Donde:

Ac = Actividad metanogénica (gDQO_{CH₄}/gSSV.d)

V_{CH_4} = Producción de metano acumulada (ml)

X_0 = Concentración limitante de sustrato (gDQO/L)

t = Tiempo (d)

V_r = Volumen útil del reactor (L)

f_1 = Factor de conversión (DQO/mlCH₄)

2.2.2 Parámetros ambientales y de control en la Digestión Anaerobia

2.2.2.1 Temperatura

Los ensayos de digestión anaerobia se realizan en dos rangos, mesófilico y termófilico, con temperaturas óptimas de 37°C y 55°C, respectivamente (Holliger et al., 2016); sin embargo, la operación en el rango mesófilico representa ventajas debido a la reducción del requerimiento energético y una menor sensibilidad a las cargas choque o sustancias tóxicas como el amonio y ácidos grasos de cadena larga. Un aumento de la temperatura, implica aumento de la velocidad de crecimiento de los microorganismos y con ello la producción de metano en el proceso (Fernández Rodríguez et al., 2012; Herrera and Niño, 2013).

2.2.2.2 pH

El pH es una importante variable de diagnóstico de los sistemas anaerobios. Afecta la actividad enzimática de la microbiota, debido al cambio de estado de los grupos ionizable de las enzimas (Campos, 2001; Khan et al., 2016). Cada grupo de microorganismos involucrado en la DA presenta un rango de pH óptimo para su crecimiento, donde los microorganismos acidogénicos trabajan en pH alrededor de 6.0 unidades y los

microorganismos acetogénicos y metanogénicos en un rango de 6.5 a 8.2, estos últimos presentan requerimientos más estrictos y pueden ser inhibidos temporalmente en ambientes ácidos (Ortiz, 2011).

El pH influye en los equilibrios químicos de NH_3 , H_2S y Ácidos Grasos Volátiles (AGV's), los cuales a ciertas concentraciones inhiben la actividad de los microorganismos. El NH_3 es inhibidor a pH mayor que 7 y el H_2S y los AGV son tóxicos a pH menor a 6. (Díaz-Baez et al., 2002).

2.2.2.3 Alcalinidad

La alcalinidad es la capacidad de neutralizar ácidos. En la digestión anaerobia es necesario mantener la capacidad buffer para neutralizar el exceso de iones de hidrógeno libre y prevenir la caída de pH, por la acumulación elevada de AGV's (Field, 1987). Hollieger et al. (2016) recomiendan utilizar bicarbonato de sodio, el cual proporciona suficiente alcalinidad al sistema para garantizar la neutralización de los AGV's y así evitar problemas de acidificación.

Cajigas et al.,(2005) recomiendan utilizar los indicadores de alcalinidad para el control del proceso anaerobio, por lo que es necesario la determinación de parámetros asociados como pH, AGV's, alcalinidad total (AT) y bicarbonática (AB). Los índices que tienen en cuenta estos parámetros son:

- ❖ Índice buffer o tampón (IB): es la relación entre la alcalinidad generada por los AGV's y la alcalinidad total, por lo general, valores entre 0.2 y 0.3 muestran un buen funcionamiento del reactor, valores menores a 0.2 indican subalimentación y mayores a 0.35, principios de acidificación del sistema (Pérez and Torres, 2008).
- ❖ Índice α : relación entre la alcalinidad bicarbonática y la alcalinidad total, se sugiere valores superiores a 0,5 durante el arranque y valores de 0.7 en condiciones estables (Gualtero and Angulo, 2016).
- ❖ Índice AI/AP: relación entre la alcalinidad debida a los AGV's y la alcalinidad bicarbonática; valores superiores a 0.3 indican disturbios en el proceso (Pérez and Torres, 2008; Rodrigues et al., 2014).

Durante cierto tiempo, las sustancias que ejercen un poder tampón impiden la caída del pH. Solamente cuando toda la alcalinidad del medio no es suficiente para la neutralización de los ácidos volátiles, ocurrirá la caída del pH. Por ello, es importante evaluar

simultáneamente los parámetros de pH, alcalinidad y ácidos grasos volátiles durante el proceso de digestión anaerobia.

2.2.2.4 Agitación

La agitación adecuada en los digestores anaerobios favorece la homogeneidad del residuo a tratar y el contacto entre bacterias y el sustrato, evita la formación de capas superficiales y zonas muertas, la sedimentación de sólidos en el fondo, eliminación de metabolitos producidos por las bacterias metanogénicas y la liberación de gas desde la fase líquida a la fase gaseosa (Buendía, 2008). La velocidad de agitación puede influir en el desarrollo del proceso, donde es necesario un equilibrio entre una buena homogenización y la formación de agregados bacterianos (Campos, 2001). Por lo anterior, Silva y Chernicharo (2010) y Parra et al. (2014) recomiendan que debería utilizarse agitación de tipo orbital o intermitente. Además, Ortiz (2011) encontró que la producción de metano se reduce cuando se realiza agitación magnética continua y recomienda realizar los ensayos de metanogénesis con agitación manual intermitente.

2.2.2.5 Nutrientes

Los microorganismos responsables de la DA presentan una baja necesidad de nutrientes, sin embargo, requieren de una fuente de carbono y energía además de nutrientes minerales para su óptimo desarrollo, en los que se encuentra: carbono, nitrógeno, azufre, fósforo, hierro, cobalto, níquel, molibdeno, selenio entre otros (Cendales Ladino, 2011; Gualtero and Angulo, 2016).

2.2.2.6 Inhibidores del proceso

La DA puede ser inhibida por muchas sustancias, las cuales influyen en el crecimiento de la biomasa del sistema y en la producción de metano. Estas sustancias pueden ser subproductos de la actividad metabólica de los microorganismos o pueden formar parte del afluente. A continuación, se describen los compuestos más comunes con problemas de toxicidad en la DA.

❖ Nitrógeno Amoniacal: Durante el proceso anaerobio, el nitrógeno orgánico es hidrolizado dando lugar a formas amoniacales. El nitrógeno total amoniacal se compone principalmente de amoniaco libre y amonio, en un sistema de DA. Debido a su gran capacidad de penetración de las membranas celulares, el amoniaco libre es el inhibidor dominante, la concentración de este compuesto está relacionada con el pH del medio (Dai

et al., 2017). Adicionalmente, la cantidad de amoníaco libre depende de la concentración de sustrato, de la relación C/N y la temperatura (Ortiz, 2011).

Ácidos grasos volátiles: Los ácidos grasos son los productos intermedios de la etapa de acidogénesis. El aumento de su concentración está relacionado una desestabilización del proceso y, por ende, una disminución en la producción de biogás (Campos, 2001). Ahring et al. (1995) concluyeron que concentraciones de ácidos grasos volátiles por debajo de 50 mM, equivalente a 3000 mg de ácido acético/L, no producen ninguna disminución de la producción de metano. Son los ácidos propiónico y valérico los primeros que afectan al proceso, mientras que el butírico y el acético han de acumularse por encima de 100 mM para afectar a la tasa de producción de metano.

- ❖ Ácidos grasos de cadena larga: Las grasas neutras (triglicéridos) son hidrolizadas a ácidos grasos de cadena larga. Los límites de concentración de inhibición no están muy claros en la bibliografía; dependen del tipo de ácido graso presente (Campos, 2001).

- ❖ El efecto inhibitorio de los ácidos grasos de cadena larga provoca un aumento de la duración de la fase de letargo en ensayos discontinuos (Campos, 2001; Hanaki et al., 1981).

- ❖ Sulfatos y sulfuros: Esta inhibición presenta dos etapas, la primera debida a la competencia por el sustrato entre los microorganismos metanogénicos y los sulfato-reductores y la segunda por la presencia de sulfuros solubles, por la reducción del sulfato. El resultado de este comportamiento determinará la proporción de sulfhídrico y metano en el biogás producido.

- ❖ También se pueden encontrar como inhibidores del proceso de la DA: cationes y metales pesados, que para algunos casos de aguas residuales industriales, elevadas concentraciones llevan a la ineficacia del proceso. Codina et al. (1998) encontraron que el rendimiento de metano disminuía por presencia de metales pesados en orden decreciente de inhibición: Zn>Cr>Cu>Cd>Ni>Pb, entre rangos de 50 a 1000mg/L.

2.2.2.7 Relación Carbono- Nitrógeno (C/N)

La relación C/N presenta efectos en la producción de metano, de los cuales hay pocos estudios en aguas residuales. Diferentes autores como Piatek et al. y Dai et al., (2016) encontraron que la co-digestión entre lodo y diferentes sustratos genera impactos sinérgicos, ya que, logra equilibrar la relación C/N, cambiando de esta forma los procesos de hidrolisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis.

De igual manera, la co-digestión permite el consumo de sustratos ricos en nitrógeno lo que lleva a evitar la inhibición debida a una alta concentración de amoníaco, el suministro de otros nutrientes y el aumento de la capacidad de amortiguación (Piatek et al., 2016).

La relación C/N óptima varía dependiendo del tipo de sustrato que se quiera estudiar (Chen et al., 2010). Yen y Brune (2007) desarrollaron una co-digestión de lodo de algas y papel usado, donde el primero presentaba una baja relación C/N, la cual fue balanceada con diferentes adiciones de papel como principal aportante de carbono, obteniendo una relación óptima de C/N de 20-25/1, con una producción máxima de metano de 1607mL/L para una concentración inicial de 5gSV/L. Chen et al. (2010) estudiaron diferentes relaciones C/N para la co-digestión de *S. alterniflora* (gramínea) y heces de vaca, obteniendo un aumento del 7 al 44% en el rendimiento de metano en comparación con el obtenido de la digestión pura de la gramínea, al adicionar 25% de SV de heces de vaca por litro y obtener una relación C/N de 19.11/1. Romano y Zhang (2008), recomiendan una relación 15/1 para la co-digestión del jugo de cebolla y lodo aerobio.

Para alcanzar el mayor rendimiento en la degradación de un sustrato, se debe estudiar su relación C/N óptima, pues esta varía dependiendo de la fuente de los nutrientes necesarios, reflejado en los estudios de co-digestión anteriores.

2.2.3 Potencial Bioquímico de Metano (PBM)

El PBM tiene como finalidad determinar la biodegradabilidad final y el rendimiento de la conversión de metano de sustratos orgánicos. El ensayo se hace utilizando reactores tipo batch en el laboratorio, para medir el volumen de CH₄ producido, a partir de una cantidad de sustrato, condiciones experimentales y operacionales definidas. Es decir, ayuda a medir la cantidad de metano producido en un periodo de tiempo, de un sustrato determinado. Se expresa en mL CH₄/g S_{Vsustrato}, aunque también se expresa con base en la cantidad de sustrato (L CH₄/kg sustrato), el volumen de sustrato (L CH₄/ L sustrato) o la DQO adicionada (L CH₄/kg DQO) (Hansen et al., 2004)

Existen tres métodos para la medición de biogás en las pruebas del PBM: volumétricas, manométricas y por cromatografía de gases. En el primero se mide el aumento de volumen a presión constante; en el segundo, la variación de la presión a volumen constante y en el

tercero, la concentración en la muestra de metano por cromatografía de gases (Hansen et al., 2004). El método manométrico tiene por objetivo medir la presión ejercida por el biogás dentro del reactor, esta presión es medida por medio de sensores o membranas transmisoras de presión las cuales están asociadas al reactor (Ortiz, 2011).

Siendo posible la cuantificación de biogás, autores como Owen et al. (1979) desarrollaron la primera metodología o protocolo para el ensayo de Potencial Bioquímico de Metano (PBM) bajo condiciones operacionales definidas durante 30 días, analizando el acondicionamiento alcalino sobre el valor del PBM de materiales orgánicos.

Parra et al., (2015) determinaron la influencia del sustrato e inóculo sobre la producción de metano, por medio de análisis del PBM, variando la relación de estos entre 0.25 a 9 gSVsustrato*gSVinóculo. En este estudio la concentración 0.25 gSVsustrato*gSVinóculo evidenció una producción más alta de biogás, con un índice de biodegradabilidad del 73.12%; para las relaciones mayores a 2 gSVsustrato*gSVinóculo el proceso se desestabiliza por la acumulación de AGV's.

No solo se han estudiado parámetros operacionales para evaluar el PBM, también se han analizado modelos matemáticos para predecir el comportamiento del biogás durante el ensayo de PBM, como el modelo de Gompertz. Este modelo, en un principio fue creado con el fin de emular el comportamiento de los consorcios microbianos, desde su fase de latencia hasta su fase estacionaria, luego se observó que el aumento del biogás durante el PBM es similar al que presentan los microorganismos y se descubrió que con ayuda del modelo de Gompertz se podían estudiar el comportamiento de biogás de algunos sustratos (Siciliano, 2010).

2.2.4 Modelo de Gompertz

Gompertz es un modelo de regresión no lineal (Ecuación 4), que permite deducir el comportamiento de las fases de la digestión anaerobia, predice el comportamiento de la biomasa dentro de un bioreactor bajo condiciones ambientales determinadas, identifica parámetros importantes como la máxima producción de metano y la fase de letargo. La fase de letargo hace énfasis en el tiempo de adaptación de los microorganismos al sustrato y su relación con la fase de producción del biogás.

Para la aplicación de este modelo es necesaria información obtenida durante los días de la fase de DA como el tiempo transcurrido y la variación de volumen durante dicho tiempo (Parra, 2014).

$$V_t = P_{m\acute{a}x} * \exp\left(-\exp\left(\frac{R_{m\acute{a}x} * e}{P_{m\acute{a}x}}\right) * \lambda - t + 1\right) \quad (Ec\ 4)$$

Donde:

V_t : Producción de metano obtenido en un tiempo t

$P_{m\acute{a}x}$: Producción de metano acumulado al final de la prueba (mL)

$R_{m\acute{a}x}$: Máxima tasa de producción de metano (mL·d⁻¹)

λ : duración de la fase de letargo (d)

e: constante matemática (2.71828)

3 METODOLOGÍA

Las pruebas de este ensayo fueron llevadas a cabo en el Laboratorio de Aguas Residuales de la UPB seccional Bucaramanga. El primer ensayo realizado fue la caracterización del inóculo, a excepción de la actividad metanogénica cuyo proceso se llevó a cabo durante 30 días, seguido de la caracterización del sustrato. Por último, se realizaron los ensayos del PBM teniendo en cuenta las variables de pH y relación carbono nitrógeno.

3.1 CARACTERIZACIÓN SUSTRATO

Para la caracterización de sustrato se obtuvieron 7 muestras puntuales, las cuales fueron obtenidas posterior al cribado de la PTAR-UPB, antes de cualquier tratamiento adicional. Las muestras se analizaron en el Laboratorio de Aguas Residuales de la UPB de acuerdo los métodos estándar (APHA, 2012) como se observa en la tabla 1.

Tabla 1. Métodos de caracterización del sustrato

SUSTRATO	
Físicas	
Parámetro	Método
Sólidos Totales (ST)	Método 2540B
Sólidos Volátiles (SV)	Método 2540E
Sólidos Suspendidos Totales (SST)	Método 2540D
Sólidos Suspendidos Volátiles (SSV)	Método 2540E
Temperatura	
Químicas	
Nitrógeno Total	Nitrógeno Total Kjendahl
Nitrógeno amoniacal	Método 4500-NH ₃ C
Ortofosfatos	Método 4500-P E
DBO total y filtrada	Método 5210B
DQO total y filtrada	Método 5220D (Anexo A)
Alcalinidad Total	Método 2320B
Alcalinidad Bicarbonática	Jenkins, S et al.(1983)
pH	Método 4500 H+

Fuente: Autores

3.2 CARACTERIZACIÓN DEL CO-SUSTRATO

El co-sustrato fue un lodo aerobio floculento obtenido de la PTAR-UPB específicamente en los canales del sistema terciario y se le realizó una caracterización según los métodos estándar (APHA, 2012) como se muestra en la tabla 2.

Tabla 2. Métodos de caracterización del co-sustrato

CO-SUSTRATO	
Físicas	
Parámetro	Método
Sólidos Totales (ST) Sólidos Volátiles (SV)	Método 2540B Método 2540 E
Químicas	
pH DQO total	Método 4500 H+ Método 5220D

Fuente: Autores

3.3 CARACTERIZACIÓN INÓCULO

3.3.1 Caracterización fisicoquímica

El inóculo usado durante el ensayo fue un lodo granular obtenido de un reactor anaerobio de flujo ascendente, más conocido por sus siglas en inglés UASB, de una empresa que trata los vertimientos de agua azucarada generados por los derrames de jarabe o cambio de sabor en el proceso de producción.

El lodo fue mantenido a temperatura ambiente en el Laboratorio de Aguas Residuales de la Universidad Pontificia Bolivariana. Al igual que con el sustrato se realizó una caracterización física y química según los métodos estándar como se observa en la tabla 3. Adicionalmente, se determinó la actividad acidogénica, hidrolítica y metanogénica del inóculo.

3.3.2 Actividad Hidrolítica y Acidogénica

Para la prueba de actividad hidrolítica (AH) y actividad acidogénica (AA) se emplearon botellas ámbar de 150mL con un volumen útil de 100 mL, en las cuales se adicionó sustrato (almidón o glucosa según la prueba), inóculo, macronutrientes, elementos trazas, extracto de levadura y solución de bicarbonato.

Las soluciones se prepararon con las concentraciones propuestas por Field (1987), descritas en la tabla 4 y se ajustó el pH entre 7-7.5. En cada botella se adicionaron 0.1 mL de macronutrientes, 0,1mL de elementos traza, 0.02gr de extracto de levadura y 1.5mL de solución tampón de bicarbonato NaHCO_3 .

Tabla 3. Métodos caracterización del inóculo

INÓCULO	
Físicas	
Parámetro	Método
Sólidos Totales (ST)	Método 2540B
Sólidos Volátiles (SV)	Método 2540 E
Sólidos Suspendidos Totales (SST)	Método 2540 D
Sólidos Suspendidos Volátiles (SSV)	Método 2540 E
Químicas	
pH	Método 4500 H+
Alcalinidad Total	Método 2320B
Alcalinidad Bicarbonática	Jenkins, S et al.(1983)
Ácidos Grasos Volátiles (AGV's)	Método Titrimétrico
Procesos	
Actividad Hidrolítica	
Actividad Acidogénica	
Actividad Metanogénica Específica	

Fuente: Autores

Tabla 4. Soluciones adicionadas

Solución	Reactivo	Concentración (g/L)
Macro nutrientes	NH ₄ Cl	170
	(KH) ₂ PO ₄	37
	CaCl ₂ 2H ₂ O	8
	Mg(SO) ₄ 7H ₂ O	11.56
Traza de elementos	Fe(Cl) ₃ 6H ₂ O	2.71
	CuCl ₂ 6H ₂ O	2
	ZnSO ₄ 7H ₂ O	0.11
	H ₃ BO ₃	0.05
	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ 4H ₂ O	0.09
	Na ₂ SeO ₃ 5H ₂ O	0.01
	EDTA	1
	HCl	1 mL
Resazurin	0.5	
Bicarbonato	NaHCO ₃	10
Extracto de levadura		0.2

Fuente: Field (1987), modificado por autores.

Una vez agregadas las soluciones en cada una de las botellas, se inocularon con el lodo a una concentración de 1.5 gSSV/L y la cantidad adicionada se determinó con la Ecuación 5.

$$V_1 = \frac{V_2 * C_2}{C_1} \quad (Ec 5)$$

Donde:

V_1 : Volumen de lodo a adicionar (mL)

V_2 : Volumen útil de la botella (mL)

C_1 : Concentración de SSV del lodo (mg/L)

C_2 : Concentración de SSV dentro de la botella (mg/L)

El inóculo se preparó depositándolo en tubos falcón con agua destilada. Se centrifugó durante 15 minutos a una velocidad de 6000rpm, se descartó el sobrenadante de las muestras y aforó con agua destilada resuspendiendo las partículas. Este proceso se realizó 3 veces antes de utilizar el lodo anaerobio, garantizando que la concentración utilizada corresponda a SS (Porrier, 2005).

Para la AH se agregó a la botella 15mL de almidón, garantizando una concentración de 1.5g/L partiendo de una solución de 10g/L. Se recomienda el uso de almidón soluble, ya que es un polisacárido que emula los compuestos orgánicos complejos que se pueden encontrar en el agua residual (Poirrier, 2005; Soto et al., 1993).

En la prueba de AA se utilizó como sustrato la glucosa, debido a que es el principal compuesto intermedio de la DA de los carbohidratos complejos. Se agregó 15mL de glucosa en cada botella, partiendo de una solución de 10g/L y asegurando dentro de la botella una concentración de 1.5g/L (Soto et al., 1993).

Las botellas se llevaron a la incubadora (OxiTop® systems TS 606/2-i) y se programó a una temperatura de 37°C, manteniendo las condiciones necesarias de la DA (Boullagui et al., 2004). Se tomaron muestras cada dos horas durante un periodo de 2 días y cada 6 horas hasta finalizar la prueba. Una vez obtenidas las muestras durante la prueba, se procedió a medir las concentraciones de azúcares totales y azúcares reductores.

La concentración de glucosa fue obtenida a partir del consumo de azúcares reductores (Ar) y la de almidón calculada a partir de la diferencia entre azúcares totales (At) y Ar, las concentraciones de Ar fueron obtenidas con el método colorimétrico del ácido dinitrosalicílico (Miller, 1953) y las de At con el método colorimétrico de Dubois et al.(1956) (Ver Anexo B y C). Para el cálculo de AH y AA, se halló el valor de la pendiente máxima de consumo/producción de sustrato y aplicando la Ecuación 6.

$$A = P * FC * \frac{V_{inoculo}}{gSSV_{inoculo}} * 24 \quad (\text{Ec } 6)$$

Donde:

A: Actividad (gDQO/gSSV.d)

P: Pendiente (g/L.h.)

FC: Factor de conversión (gDQO/g Glucosa) [1.067]

$V_{inoculo}$: Volumen agregado de inóculo

$gSSV$: Masa agregada de inóculo

3.3.3 Actividad Metanogénica Específica (AME)

La actividad metanogénica específica fue evaluada utilizando una solución de ácidos grasos volátiles (AGV's) compuesta por ácido acético (2g/L), ácido propiónico (0.5 g/L) y ácido butírico (0.5 g/L) como sustrato; se agregó 12 mL de esta solución asegurando una concentración final de 4 gDQO/L en cada reactor (Field, 1987; López, D Fuenzalida, D Vera, I Rojas, K Vidal, 2015). Para esta prueba, la concentración del inóculo fue de 1.5 gSSV/L y se utilizó agitación manual tres veces al día (Ortiz, 2011; Wang et al., 2017), utilizando botellas ámbar de volumen útil de 400 mL, con cabezales OxiTop®; la producción de metano fue calculada por medio de la diferencia de presiones registradas por estos.

Para la prueba de AME, inicialmente se adicionó agua destilada hasta la mitad del volumen útil de las botellas, luego se agregaron los 12 mL de la solución de AGV's, seguido de 1mL/L de las soluciones de macronutrientes, elementos traza y bicarbonato de sodio, posterior a eso se añadió 0.2g/L de extracto de levadura, siguiendo las concentraciones especificadas en la tabla 4. Por último, se adicionó el volumen de lodo calculado a partir de la ecuación 5.

Con el fin de garantizar las condiciones óptimas de la DA se ajustó el pH entre 7-7.5, se aforó y burbujé con nitrógeno gaseoso por 3 minutos cada botella (Koch et al., 2015a). Se adicionaron 3 perlas de NaOH, que captan el CO₂ que se forman durante la DA, en los cartuchos de goma de la botella como se muestra en la Figura 2, garantizando que la

medición tomada corresponda solamente a la cantidad de metano producido. Finalmente se incubó a 37°C según recomendaciones de Boullagui et al. (2004) por 30 días (Koch et al., 2015a).

Figura 2. Sistema OxiTop AN6



Fuente: Autores

El volumen de metano neto generado se calculó a partir del cambio de presión tomado cada 6 horas durante toda la prueba, restando lo generado por el blanco, aplicando la Ecuación 7 recomendada por Strömberg(2014).

$$V_{CH_4CE} = \frac{Vl * P * T_{CE}}{P_{CE} * T_e} \quad (\text{Ec } 7)$$

V_{CH_4CE} : Volumen de CH_4 a condiciones estándar (L)

P : Presión registrada en el equipo OxiTop (atm)

Vl : Volumen libre del reactor (L)

T_e : Temperatura del experimento (K)

T_{CE} : Temperatura a condiciones estándar (K)

P_{CE} : Presión a condiciones estándar (atm)

A partir de los resultados obtenidos durante el monitoreo, se determina la AME utilizando la ecuación 8, obteniendo la pendiente máxima de producción aplicando el modelo de Gompertz.

$$AME = \frac{P}{FC*V*SSV} \quad (\text{Ec } 8)$$

Donde:

AME: Actividad metanogénica específica (gDQO/gSSV*d)

P: Pendiente máxima de producción de metano (mL/d)

FC: Factor de conversión a DQO (mL CH₄/gDQO)

V: Volumen de inóculo agregado (L)

SSV: Concentración de sólidos suspendidos volátiles del inóculo (g/L)

3.4 DISEÑO EXPERIMENTAL

Para evaluar la influencia del pH y la relación C/N en la producción de metano, se dejó fija la concentración de inóculo (1.5 gSSV/L) al igual que la relación S/I. Para variar el pH, se utilizó ácido clorhídrico 0.1N, puesto que el agua residual tiene un pH básico comprendido entre 8.5 y 9.3; en el caso de la relación C/N se varió por medio de la adición del co-sustrato o lodo aerobio, proveniente del tratamiento terciario de la PTAR-UPB. En la Tabla 5 se presenta un esquema de las variaciones realizadas.

El diseño factorial utilizado fue 3², en el cual los factores estudiados fueron el pH y la relación C/N inicial del agua residual, con 3 niveles establecidos, esto, para lograr el análisis de los efectos de cada factor de interés, de manera simultánea, como se muestra en la Tabla 5.

Tabla 5. Diseño experimental

pH CN	pH₁ (9.0±0.5)	pH₂ (7.5±0.05)	pH₃ (6.9±0.1)
CN₁ (4.9±0.2)	CN ₁ pH ₁	CN ₁ pH ₂	CN ₁ pH ₃
CN₂ (8.2±0.18)	CN ₂ pH ₁	CN ₂ pH ₂	CN ₂ pH ₃
CN₃ (14.2±0.17)	CN ₃ pH ₁	CN ₃ pH ₂	CN ₃ pH ₃

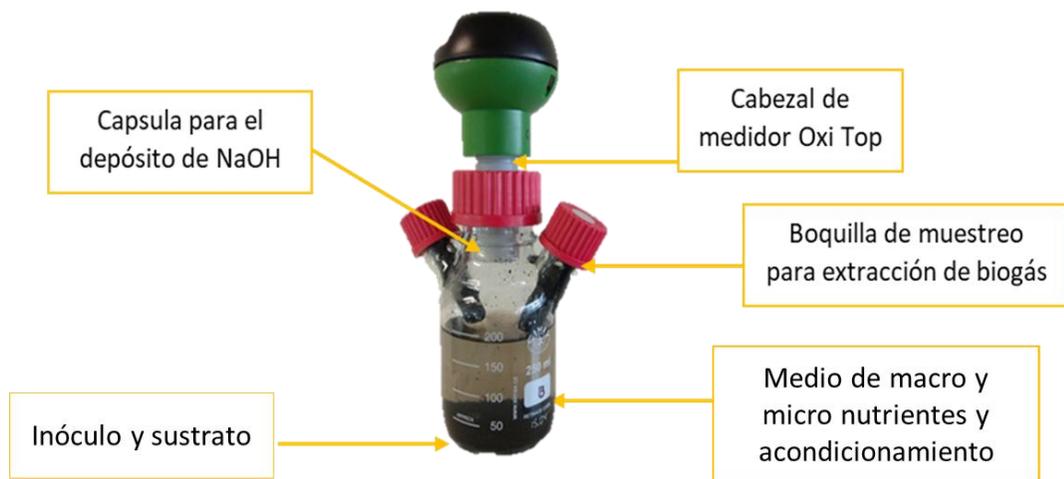
Fuente: Autores

Para el análisis estadístico se realizó un análisis de modelo lineal general univariado ANOVA, para explorar la interacción y la significancia de los niveles y factores en las variables de respuesta.

3.5 POTENCIAL BIOQUÍMICO DE METANO (PBM)

Las pruebas de PBM se llevaron a cabo con el sistema OxiTop, que fue diseñado especialmente para anaerobiosis. El equipo consta de 12 botellas de vidrio, cada una de 250 mL con un volumen de trabajo de 200mL (Figura 3), se siguió la metodología planteada para AME, exceptuando el sustrato utilizado, para el cual se utilizó el afluyente y el lodo aerobio de la planta de tratamiento de aguas residuales (PTAR) de la UPB, con una relación S/l de 0.4 gDQO/gSSV (Hobbs et al., 2017; Ortiz, 2011). Cada experimento se realizó por duplicado con una duración de 27 días, junto con su respectivo control negativo (inóculos en presencia de agua destilada).

Figura 3. Sistema OxiTop AN12



Fuente: Autores

El cálculo del PBM se realiza con el volumen de metano producido y la masa de sólidos volátiles del sustrato al inicio de la prueba (Ecuación 9).

$$PBM = \frac{V_{CH_4}}{gSV} \quad (\text{Ec 9})$$

Finalmente, para cada unidad experimental se midió al finalizar la prueba: pH, alcalinidad (total y bicarbonática) y DQO (total y filtrada).

El volumen de metano experimental se calculó con la Ecuación 7 y la producción neta de metano, se determinó restando lo producido por el blanco a lo generado por cada unidad experimental. Por último, se utilizó el modelo de Gompertz empleando la Ecuación 4, para determinar la producción máxima teórica de metano.

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 CARACTERIZACIÓN DEL SUSTRATO

El sustrato analizado fue recolectado de la planta de tratamiento de agua residual de la Universidad Pontificia Bolivariana. Los resultados de la caracterización física y química se muestran en la tabla 6.

Tabla 6. Características fisicoquímicas del sustrato

Parámetro	Unidad	Valor
Sólidos Totales	g/L	1.298
Sólidos Volátiles	g/L	0.588
Sólidos Suspendidos Totales	g/L	0.142
Sólidos Suspendidos Volátiles	g/L	0.138
DQO Total	mg/L O ₂	529.58
DQO Filtrada	mg/L O ₂	493.36
DBO Total	mg/L O ₂	272.18
DBO Filtrada	mg/L O ₂	248.15
DQO/DBO ₅		1.95
Temperatura	°C	21.5
Conductividad	µs/cm	1032
pH	Unidades de pH	9.03
Alcalinidad Total	mg CaCO ₃ /L	241.43
Alcalinidad Bicarbonata	mg CaCO ₃ /L	191.00
Nitrógeno Total Kjeldahl (NTK)	mg/L NTK	118.08
Nitrógeno Amoniacal	mg/L N-NH ₃	73.27
Ortofosfatos	mg/L P-PO ₄	8.60

Fuente: Autores

El pH promedio para este sustrato fue de 9.03 unidades, el cual puede ser inhibitorio en el proceso de anaerobiosis, ya que para una correcta DA este valor debe estar dentro de un rango de 7 y 7.5 unidades (Díaz-Baez et al., 2002). El aumento del valor del pH del agua

residual de la UPB puede estar relacionado con un alto contenido de urea y el uso de detergentes alcalinos (Bull et al., 1964).

El agua residual de la PTAR-UPB, tiene concentraciones de Nitrógeno Total Kjeldahl (NTK) promedio de 118.08 mg/L NTK, a estas concentraciones de nitrógeno el proceso de DA no se ve afectado. Por otro lado las concentraciones de nitrógeno amoniacal se encuentran entre 50 y 200 mg/L N-NH₃ provocando un efecto beneficioso sobre la DA, ya que contribuye con los nutrientes necesarios para el crecimiento de los microorganismos estimulando su reproducción (Rajagopal et al., 2013).

La relación DQO/ DBO₅ es de 1.95, según Cisterna y Peña (2009) el valor de la relación al ser inferior a 2.5 dice que el sustrato analizado es biodegradable por procesos biológicos como fangos activos, lechos bacterianos o por medio de anaerobiosis.

Con la DQO total y el nitrógeno Total Kjeldahl se calculó la relación carbono nitrógeno C/N del agua residual de la UPB, dando como resultado 4.9. La relación C/N óptima para la digestión anaerobia, varía dependiendo del tipo de sustrato que se utilice. Yen y Brune (2007) realizaron experimentos donde aumentaba la relación C/N utilizando como fuente de carbono papel usado. En el presente estudio se utilizó como fuente de carbono lodo aerobio proveniente del sistema terciario de la PTAR-UPB, con el fin de mejorar las remociones de DQO del reactor anaerobio.

4.2 CARACTERIZACIÓN DEL CO-SUSTRATO

El lodo aerobio presentó concentraciones de ST y SV de 85.47 y 29.47 g/L, respectivamente, con un valor de relación SV/ST de 0.34. Gualtero y Angulo (2016) obtuvieron una relación de 0.48 para un lodo floculento proveniente de una PTAR con tratamiento primario avanzado, valores típicos de lodos provenientes de plantas de tratamiento que tratan aguas residuales domésticas (Parra et al., 2014).

Se eligió el lodo aerobio como fuente de carbono por su alta concentración de DQO y su baja concentración de NTK: 40000 mg/L O₂ y 180.2 mg/L NTK, respectivamente, con una relación C/N de 220, inferior a la reportada por Liu et al. (2016), quienes utilizaron un lodo floculento como fuente de carbono suplementaria para la desnitrificación de aguas residuales y obtuvieron una relación C/N de 322.

4.3 CARACTERIZACIÓN DEL INÓCULO

4.3.1 Caracterización fisicoquímica

Las características fisicoquímicas del lodo granular anaerobio se presentan en la Tabla 7.

Tabla 7. Características fisicoquímicas del inóculo.

Parámetro	Unidad	Valor
Sólidos Totales	g/L	39.28
Sólidos Volátiles	g/L	35.27
Sólidos Suspendidos Totales	g/L	24.49
Sólidos Suspendidos Volátiles	g/L	22.07
Relación SSV/SST		0.90
DQO	g/L	55.02
pH	Unidades de pH	7.33
Alcalinidad Total	mg CaCO ₃ /L	1650.0
Alcalinidad Bicarbonatica	mg CaCO ₃ /L	916.67
Ácidos Grasos Volátiles	mg/L	371.0

Fuente: Autores

El valor de la Relación SSV/SST del lodo anaerobio muestra un buen comportamiento de potencial de bacterias activas útiles, para la degradación efectiva de la materia orgánica compleja. El valor típico de esta relación para un tratamiento biológico es de un 0.7. En esta investigación la relación alcanzó un valor de 0.9, lo que sugiere aceptable retención de biomasa dentro del reactor y sedimentación de agregados bacterianos que garantiza un desempeño eficiente de los reactores utilizados (Castro et al., 2008).

Según Herrera y Niño (2013) el pH para garantizar una buena digestión anaerobia debe estar entre 6.8-7.5, el lodo anaerobio tiene un pH de 7.33 unidades, mostrando que el inóculo está dentro del rango de pH óptimo para la DA.

La alcalinidad del inóculo fue de 1.6 g CaCO₃/L. Según Pascual et al. (2011), un lodo anaerobio tiene una capacidad buffer cuando su alcalinidad es superior o igual a 1.5 g CaCO₃/L, por lo tanto, el inóculo tiene la capacidad de evitar la acidificación y garantizará un buen comportamiento dentro del biodigestor.

Con la alcalinidad total y la alcalinidad debida a los ácidos grasos volátiles del inóculo, se calculó el índice IB (alcalinidad debida a los ácidos grasos volátiles/ alcalinidad total), el cual

se encuentra en 0.22 por encima del valor mínimo de 0.2 lo que indica que el inóculo cuenta con una buena capacidad buffer (Díaz-Báez et al., 2002).

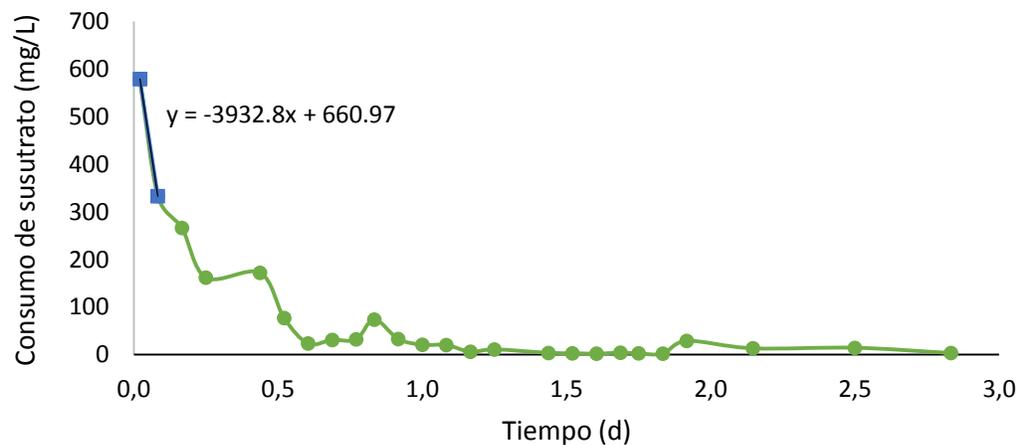
Teniendo en cuenta la SSV/SST, el pH, el índice IB, y a la alcalinidad total del lodo anaerobio que se utilizó en este estudio, se puede decir que el lodo cuenta con las condiciones necesarias para realizar un buen proceso de degradación anaerobia. Con el fin de predecir el comportamiento del lodo en cuanto a la adaptabilidad, producción de AGV's y generación de metano se realizaron las pruebas de actividad hidrolítica, acidogénica y metanogénica.

4.3.2 Actividad Hidrolítica (AH)

En la Figura 4 se muestra la cinética de consumo de almidón, sustrato utilizado para la prueba de AH, la cual se realizó determinando la resta entre la concentración de azúcares totales y reductores durante 3 días.

El consumo máximo de almidón se evidencia en las primeras cuatro horas, el cual no fue continuo en las siguientes ocho horas. A la hora doce, el consumo del sustrato tomó un comportamiento estable, lo que refleja una estabilidad de la AH (Quintero, 2012). Ver Anexo D

Figura 4. Consumo de almidón en el tiempo



Fuente: Autores

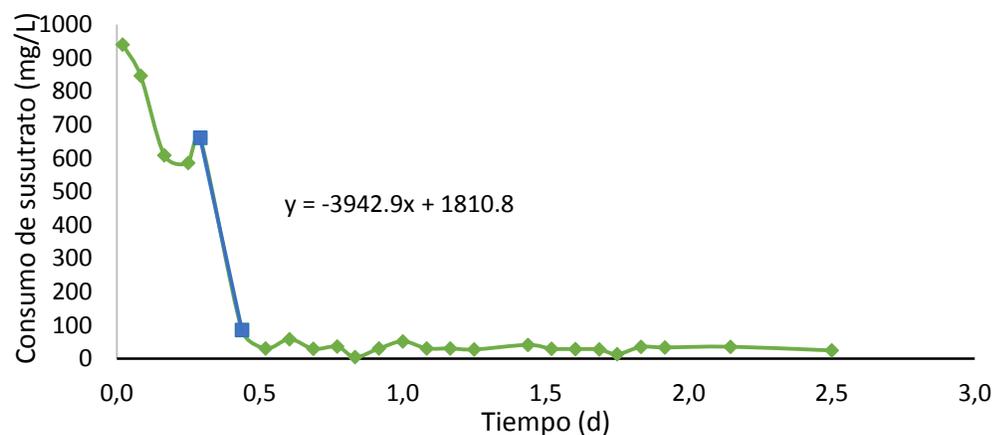
La tasa máxima de consumo/producción hallada fue de 3.93 g glucosa/L.d representada en la Figura 4 con color azul, obteniendo un valor de AH de 2.79 gDQO/gSSV.d, similar al reportado por Regueiro et al.,(2012), quienes utilizaron como inóculo lodos provenientes de

digestores anaerobios de una industria de bebidas azucaradas y obtuvieron una AH de 2.18 gDQO/gSSV·d . Igualmente, Porrier (2005) registra valores entre 2.12 y 3.8 g DQO/gSSV·d, para inóculos de un UASB de una industria papelera.

4.3.3 Actividad Acidogénica (AA)

Para la prueba de AA se utilizó como sustrato una solución de glucosa. El seguimiento de esta prueba se realizó evaluando el consumo de glucosa, donde su máximo gasto representado de color azul en la Figura 5 se da entre las 7 y 12 horas, con una tasa de 3.94 g glucosa/L·d, dando como resultado una AA de 2.80 gDQO/gSSV·d (Ver Anexo D).

Figura 5. Consumo de glucosa Vs tiempo



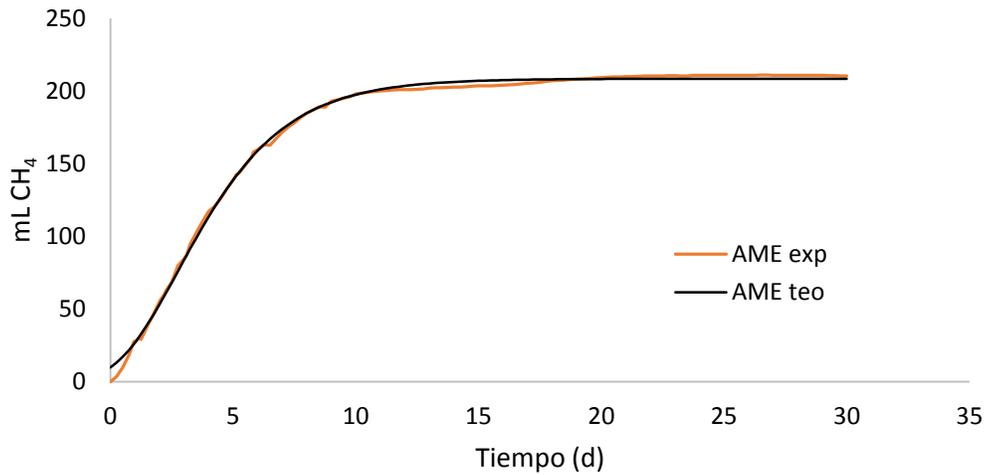
Fuente: Autores

A diferencia de AH, el máximo consumo no se da en las primeras horas, evidenciando una fase de latencia. Posterior a la hora 12 se presentan concentraciones bajas de glucosa, lo que garantiza una mayor producción de AGV's, favoreciendo así, la producción de metano (Gualtero and Angulo, 2016)

4.3.4 Actividad Metanogénica Especifica (AME)

En la Figura 6, se presenta la producción de metano obtenida de la solución de AGV's, utilizada como sustrato para la prueba de AME, a condiciones estándar (1 atm; 273 K). Ver Anexo E.

Figura 6. Volumen acumulado de Metano a CE



Fuente: Autores

La AME se halló con ayuda del modelo de Gompertz, por medio del cual se obtuvo una pendiente de 32.1 mL /d, un periodo de latencia que se presentó en un rango de 6 a 10 horas y una producción máxima de metano entre 176.06 y 240.86 mL/gSSV (Tabla 8). La AME se determinó con la ecuación 8, obteniendo un valor de 0.14 gDQOCH₄/gSSV.d.

Tabla 8. Parámetros Modelo de Gompertz

Parámetro	Unidades	Valor	Desviación estándar
Producción máxima	mL	208.46	±32.4
Pendiente máxima	mLd ⁻¹	32.1	±2.59
Fase de letargo	d	0.3073	±0.14

Fuente: Autores

La Figura 6 evidencia el comportamiento de los microorganismos en este proceso, donde al inicio se presenta una adaptación al sustrato y el posterior consumo de este, hasta lograr la estabilidad. A partir de los datos se obtiene que el 66.5% de metano se produjo en los primeros 5 días, comprobando una degradación rápida.

Los valores de AME obtenidos en este estudio, difieren de los valores reportados por Díaz-Báez et al. (2002) para lodos de características granulares, los cuales se encuentran entre 0.5-1.5 g DQOCH₄/g SV·d. Sin embargo, en estudios realizados por Schneiders et al.

(2013) y Torres et al. (2004), los valores reportados de AME fueron de 0.17gDQOCH₄/gSSV·d y 0.14gDQOCH₄/gSSV·d, para lodos provenientes de un UASB de una industria alimenticia y de una porcícola, respectivamente. De igual manera, Regueiro et al. (2012) reportaron AME de 0.1 a 0.38 gDQOCH₄/gSSV·d para lodos derivados de 6 reactores anaerobios a gran escala que trataban diferentes residuos.

Soto, Méndez y Lema (1993) establece que la actividad metanogénica es generalmente más baja que la AH y AA, cuando se consideran sustratos solubles, al igual que depende de características del lodo granular, el tipo de sustrato, las condiciones ambientales y el procedimiento de la prueba. Puñal et al. (1999) obtuvieron valores de AME de 0.13 a 0.19 gDQO/gSSV utilizando como sustrato solución de ácidos grasos volátiles (2 g/L de ácido acético, 0.5 g/L de ácido propiónico y 0.5g/L de ácido butírico) con un inóculo proveniente de un reactor híbrido UASB-UAF.

Las actividades microbianas rigen las velocidades de reacción de cada etapa de la DA, por esto es necesario tener un equilibrio entre estas. Al comparar las actividades del inóculo, se pudo reflejar que la AH y AA presentan valores cercanos, demostrando un equilibrio entre el consumo y producción de sustratos en estas, por ser bacterias del mismo grupo microbiano (fermentadores primarios)(Alzate, 2015). Por el contrario, la AME tiene un valor inferior, debido a que la producción de AGV es más rápida que la tasa de conversión de AGV a CH₄ (Sandoval et al., 2009). Por lo tanto, se espera que el inóculo pueda degradar los compuestos del agua residual en estudio.

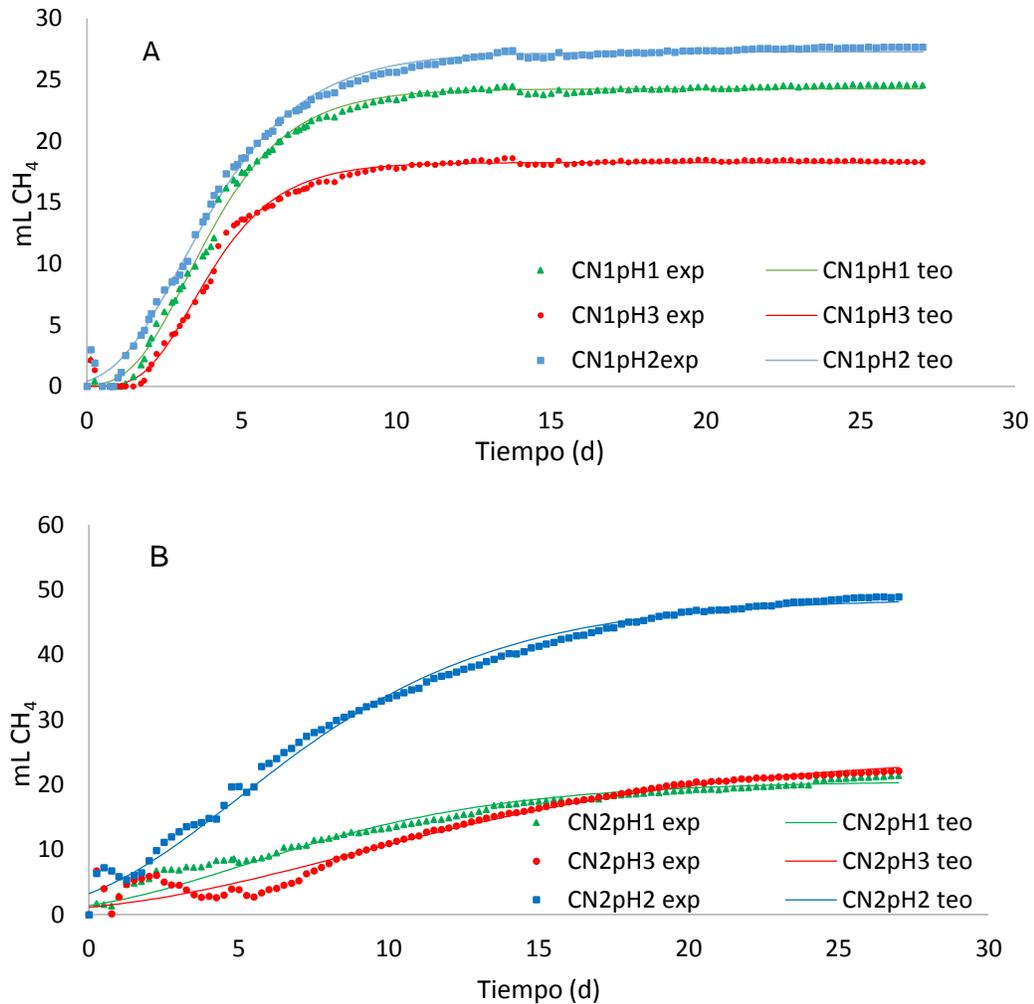
4.4 Influencia de la relación carbono/nitrógeno y de pH en la producción de metano

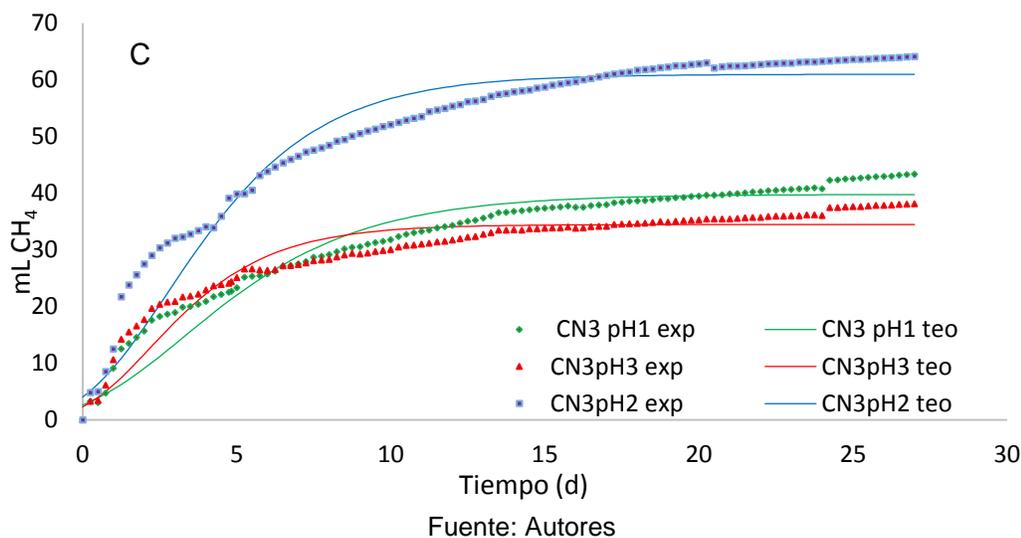
La prueba de PBM es un enfoque comúnmente aplicado para evaluar el rendimiento de metano de un sustrato determinado. Este estudio está direccionado en la determinación de la influencia del pH y la relación DQO y nitrógeno (C/N) sobre la producción de metano. Los resultados del presente están enfocados en parámetros como la eficiencia en términos de porcentaje de remoción de la DQO del sustrato y la producción máxima de metano.

4.4.1 Influencia del pH en la producción de metano

En la Figura 7 se presentan los datos experimentales de producción de metano, así como los teóricos obtenidos con el modelo de Gompertz, para los diferentes valores de pH inicial evaluados.

Figura 7. Influencia del pH sobre la producción de metano (mL CH₄): (A) C/N 4.8; (B) C/N 8.2; (C) C/N 14.2.





De acuerdo a los resultados, los mayores volúmenes de metano fueron producidos cuando los digestores estaban en la condición de pH₂ (7.5 ± 0.05) con producciones de 27.25, 48.98 y 61.02 mL de CH₄ para CN₁pH₂, CN₂pH₂ y CN₃pH₂ respectivamente. Los resultados están acordes con lo reportado por Koch et al. (2015a), quienes afirman que para valores de pH entre 7-7.5, la DA se favorece.

Al final del experimento todos los reactores mostraron un aumento del pH a 9.26 ± 0.25 unidades (Anexo G). Autores como Pérez y Torres (2008) explican que esta subida del pH es debida a que los AGV's fueron consumidos y los carbonatos producidos durante el proceso aumentan el pH. Para confirmar el consumo de ácidos grasos volátiles se calculó el índice de alcalinidad AI/AP, el cual arrojó un valor inferior a 0.2 en todas las botellas lo que indica que no se acumularon los AGV's (Puñal et al., 2000).

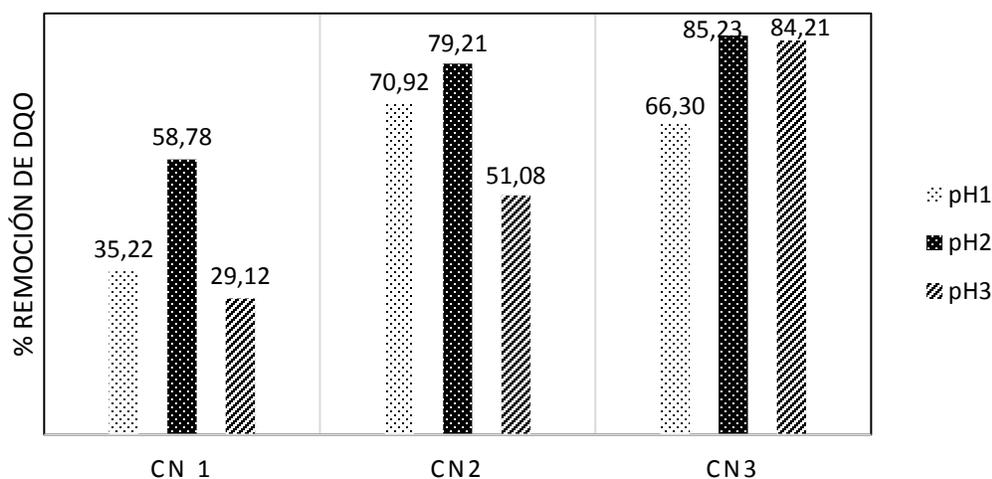
Al analizar la alcalinidad debida a los AGV's (A-AGV's), se observó que a un pH de 9.0 ± 0.5 se tienen valores de 150 mgCaCO₃/L para CN₃pH₁, 125 mgCaCO₃/L para CN₂pH₁ y 157 mgCaCO₃/L para CN₁pH₁, indicando un menor consumo de AGV's en la condición pH₁. Por el contrario, para CN₃pH₂ y CN₂pH₂ se presentaron los índices más bajos de A-AGV's: 45 y 60 mgCaCO₃/L, respectivamente, demostrando que si hubo buen consumo de AGV's.

El índice IB hallado al finalizar la prueba, presentó valores inferiores a 0.1, lo que representa una subalimentación, mostrando así el consumo de materia orgánica en los reactores

(Gualtero and Angulo, 2016). Los valores más bajos de este índice se registraron en CN₃, lo cual se ve reflejado en los porcentajes de remoción más altos para C/N de 14.2.

En la Figura 8, se puede observar cómo influye el pH en las remociones presentadas en cada relación C/N. Las mejores remociones fueron 84.21% y 85.23% y se lograron en la condición CN₃, específicamente cuando están a pH₃ y pH₂, respectivamente. No obstante, en la Figura 7 se aprecia que la producción de metano no es proporcional a los porcentajes de remoción para CN₃pH₃ y CN₃pH₂, obteniendo producciones más altas en CN₃pH₂. No está clara la razón de esta diferencia en producción de metano y las similitudes en la remoción de DQO. Posiblemente esto se debió a que en los reactores en la condición CH₃pH₃ se tuvo una inhibición de las bacterias metanogénicas, debida al pH de 6.9±0.1 y la materia orgánica, en vez de convertirse en metano, se convirtió en CO₂, el cual es absorbido por las perlas de NaOH y no aumenta el nivel de presión en el reactor.

Figura 8. Variación del porcentaje de remoción en las diferentes condiciones de pH y CN



Fuente: Autores

Por otro lado, al comparar la producción de metano de CN₃pH₂ (61.02mL CH₄) con CN₃pH₁ (39.78mL CH₄) y el porcentaje de remoción obtenido en estas pruebas: 85.23% y 66.30%, respectivamente, se observa que la producción de metano y la remoción fue menor en CN₃pH₁, evidenciando que hay una inhibición en la condición pH₁ (pH de 9±0.5) y que los procesos anaerobios dentro del reactor fueron afectados (Ortiz, 2011).

De acuerdo a la Figura 8, para cada relación C/N, los porcentajes de remoción fueron más altos cuando el pH estaba en 7.5±0.05. Igualmente, la producción de metano (Figura 7) fue

mayor, en cada relación C/N, cuando el pH fue 7.5 ± 0.05 . De esta forma, queda claro que los procesos de la digestión anaerobia son optimizados en la condición de pH₂ y ratifica lo reportado por Jayaraj et al.(2014), quienes realizaron un estudio sobre el rendimiento del biogás, utilizando reactores discontinuos a escala laboratorio, manteniéndolos a pH 5, 6, 7, 8 y 9, a una temperatura mesofílica durante 30 días. Ellos obtuvieron producciones más altas de biogás en pH cercano a la neutralidad, al igual que el presente estudio.

De acuerdo a la tabla 9, el pH presenta una influencia directa con la producción máxima (Pmax) y la mayor tasa de producción de metano, corroborando la favorabilidad del pH₂, con valores de 4.53, 4.05 y 8.11 mL/día para CN₁pH₂, CN₂pH₂ y CN₃pH₂, respectivamente. Este comportamiento no se evidencia de igual forma para el periodo de latencia de la digestión anaerobia en los reactores, donde los mayores valores se presentan en la relación CN₁ sin influir el pH.

Tabla 9. Parámetros del Modelo de Gompertz del PBM

	Pmax (mL)	Rmax (mL/día)	λ (día)
CN₁pH₁	24.251	4.905	1.469
CN₁pH₂	27.246	4.531	0.991
CN₁pH₃	18.270	4.204	1.867
CN₂pH₁	20.574	1.489	0.00
CN₂pH₂	48.980	4.046	0.00
CN₂pH₃	24.668	1.204	1.052
CN₃pH₁	39.778	4.237	0.00
CN₃pH₂	61.019	8.114	0.00
CN₃pH₃	34.469	5.594	0.00

Fuente: Autores

Para establecer la influencia del pH dentro de la producción de metano se aplicó un ANOVA (ver Anexo H). De acuerdo a los resultados, se presentaron diferencias significativas ($p < 0.01$) en el pH inicial y la relación C/N de las pruebas de PBM, mas no fue significativa la interacción entre estos factores en la producción de metano

4.4.2 Influencia de la relación C/N en la producción de metano

Para el crecimiento de las bacterias son necesarios nutrientes básicos, los cuales dependen de la concentración de materia orgánica del agua residual (Díaz-Báez et al., 2002), dentro de estos nutrientes se han estudiado principalmente los compuestos nitrogenados, puesto que el nitrógeno puede potenciar o inhibir el crecimiento microbiano (Procházka et al., 2012).

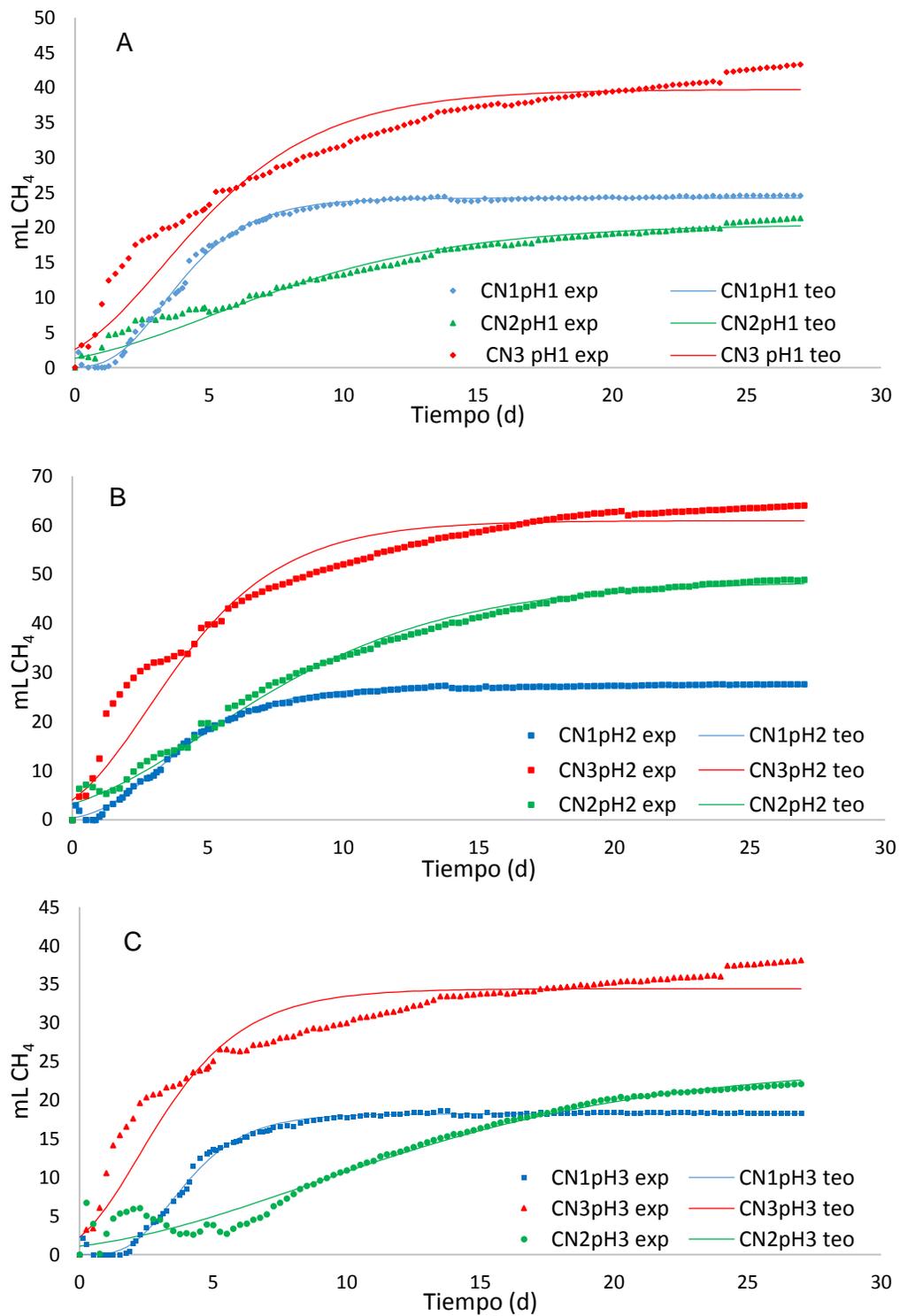
La Figura 9 se presenta los datos experimentales de producción de metano, así como los teóricos obtenidos con el modelo de Gompertz, para los diferentes valores de relación C/N inicial evaluados. Las relaciones C/N que se trabajaron presentan concentraciones de NTK entre 127.9 y 119.4 mg/L, concentraciones óptimas para la digestión anaerobia (Rajagopal et al., 2013).

De acuerdo a los resultados, la generación de metano mejoró cambiando el pH y aumentando la relación C/N a rangos de operación más adecuados según la literatura. En la Figura 9 se puede observar que la generación máxima de metano se da a valores de pH de 7.5, incrementando de forma directa con la relación C/N.

La variación de la relación de C/N también afectó los tiempos de las etapas de la DA. En la Figura 7, se observa que los ensayos de CN_1 , alcanzaron en menor tiempo la fase estacionaria, a pesar que presentaron un periodo de latencia de 1.47, 0.99 y 1.87 días según tabla 9, para CN_1pH_1 , CN_1pH_2 y CN_1pH_3 , respectivamente; esta fase de latencia refleja la adaptación del lodo al sustrato.

De igual manera, el tiempo necesario para alcanzar la producción máxima de metano varió dependiendo de la relación C/N, donde CN_2 necesitó mayor tiempo. Dai et al. (2016), modificaron la proporción C/N de 9/1 a 17/1 con ayuda del Perennial Ryegrass (planta usada como co-sustrato), y notaron que al aumentar la relación C/N se aumentaba el tiempo de digestión de la producción máxima de biogás, debido a la adaptación y difícil degradación de los componentes de la planta.

Figura 9. Influencia de la relación C/N sobre la producción de metano (mL CH₄): (A) pH 9.0±0.5; (B) pH 7.5± 0.1; (C) pH 6.9±0.1.



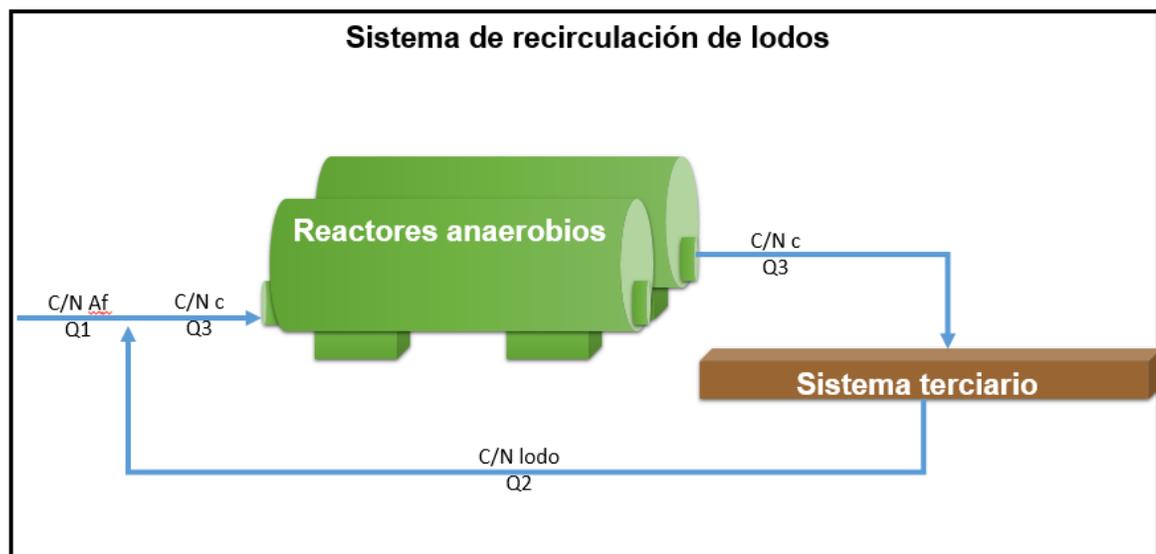
Fuente: Autores

El impacto de la relación C/N en la DA de aguas residuales, no está ampliamente estudiado. Wang et al. (2012) indica que los beneficios de la codigestión radican en equilibrar la relación C/N en la mezcla de co-sustrato, así como los macro y micro nutrientes, el pH, las sustancias inhibitoras y la materia seca. Koch et al. (2017), también plantearon que es necesario realizar más estudios sobre la co-digestión de diferentes sustratos, para equilibrar la relación C/N y lograr un mejor rendimiento del biogás.

Los resultados sugieren que las condiciones óptimas para la producción máxima de metano fueron a pH inicial de 7.5 ± 0.05 y relación C/N de 14.2 ± 0.17 . En estas condiciones, la producción máxima fue de 61 mL CH₄. Teniendo en cuenta lo anterior, se pueden realizar ajustes en la operación de la PTAR-UPB, recirculando lodo aerobio del sistema terciario, como se muestra en la Figura 10, para incrementar la relación C/N y así aumentar los porcentajes de remoción de DQO.

Para obtener una relación CN₃ equivalente a 14.2, se calculó el caudal de recirculación del lodo aerobio por medio de un balance de masas, para el cual se tuvieron en cuenta datos como el caudal de entrada a la planta Q1 de 0.548 L/s, la relación C/N Af con la que llega el agua a la planta de 4.57 y la relación C/N del lodo aerobio de 220, obteniendo un caudal de 0.025 L/s de recirculación del lodo aerobio. Ver Figura 10.

Figura 10. Sistema de recirculación de lodos

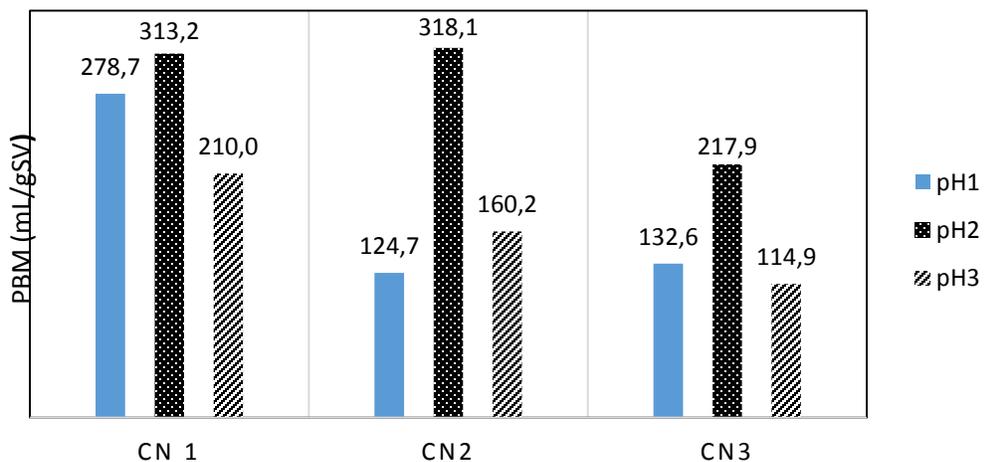


Fuente: Autores

4.4.3 Influencia del pH y la relación C/N sobre el potencial bioquímico de metano

En el ámbito internacional, el estudio del PBM ha sido utilizado para determinar la eficiencia energética de diferentes residuos o sustratos, correlacionando la producción de metano. Los valores de PBM para los diferentes valores de relación C/N y pH son reportados en la Figura 11.

Figura 11. Valores de PBM cada relación C/N y pH



Fuente: Autores

En la figura 11 se observa la influencia del pH sobre el PBM cuando se encuentra en pH₁ y pH₃, ya que presentan valores bajos de PBM con respecto a los de la condición pH₂ en las tres condiciones de C/N.

El resultados de PBM más bajo en pH₂ se encuentran en CN₃ (217.9mL /gSV), esto es debido a la fuente de carbono utilizada para aumentar la relación C/N de los reactores, ya que al utilizar el lodo aerobio se aumenta el contenido de SV de 0.58 g/L correspondiente a CN₁ a 1.08 g/L en CN₂ y 1.99g/L en CN₃, y con el aumento de SV el valor del PBM disminuye haciendo que el sustrato pierda eficiencia energética (Kang and Weiland, 1993).

A pesar de que el mejor resultado del PBM se encuentra en CN₂ se debe observar las remociones de DQO antes de elegir una condición de operación, debido a que el valor de PBM es influenciado por el contenido de SV y no tiene en cuenta la fracción de materia

orgánica que se convierte en CO₂, lo que se puede observar en las figuras 8 y 11 donde las remociones altas se encuentran en CN₃.

El máximo valor de PBM fue de 318mL CH₄/gSSV con pH inicial de 7.5 y relación C/N de 8.2±0.18, con un porcentaje de remoción de DQO de 79.21, siendo una opción viable para mejorar el tratamiento anaerobio de los RAP de la PTAR-UPB; sin embargo, la condición CN₃pH₂, aunque presenta un bajo PBM tiene un porcentaje de remoción de 85.23% y producción de metano de 61.02 mLCH₄. En estas 2 condiciones las remociones de DQO se encuentra en un rango aceptable para la PTAR-UPB, sin embargo la tasa de producción de metano de CN₃pH₂ (8.11 mL CH₄/día) duplica a la de CN₂pH₂ haciendo de la primera una solución eficiente para la planta de tratamiento de la UPB.

Estos resultados están de acuerdo a varios estudios, en los cuales se ha utilizado otros sustratos para mejorar las condiciones de los procesos anaerobios y el PBM. Toyama et al.(2018), encontraron que un posible co-sustrato puede ser la lenteja de agua (LA), descubriendo que con diferentes especies de LA podrían influir sobre el PBM de distintos tipos de aguas residuales, manifestando valores más altos a los presentados en este estudio. En la tabla 10 se presentan los resultados de PBM obtenidos para aguas residuales y usando como co-sustato LA.

Tabla 10. Comparación de resultados de PBM

Tipo de agua	PBM mL de CH ₄ /gSV
Aguas residuales municipales	340
	334
	333
	343
Aguas residuales porcinas	361
	337
	340
	358
Aguas residuales de un reactor anaerobio	413
	375
	370
	408

Fuente: Toyama et al.,(2018)

O'Sullivan et al.,(2010) proponen utilizar Buchón de agua y Cabomba para codigestión anaerobia, obteniendo valores de PBM de 267 y 221 L Biogas/KgSV, respectivamente. Por otro lado Koch et al., (2015b) realizaron un estudio evaluando la codigestión con desperdicios alimenticios junto con lodos provenientes de una planta de tratamiento de aguas residuales del Alemania, determinando si las proporciones de mezclas influían en la producción de metano y en la tasa de producción de metano obteniendo valores entre 300 y 350 mLCH₄ /g SV. Los estudios mencionados en el presente párrafo afirman que para optimizar los procesos de la DA es necesario la utilización de un co-sustrato, el cual puede ser un subproducto de la misma PTAR, como son los lodos generados o las plantas acuáticas cosechadas.

5 CONCLUSIONES

El inóculo caracterizado tiene las condiciones necesarias para un tratamiento de digestión anaerobia con una relación de SV/ST de 0.9, actividad hidrolítica de 2.79 gDQO/SSV·d, actividad acidogénica de 2.80 gDQO/SSV·d y actividad metanogénica de 0.14 gDQOCH₄/SSV demostrando que el lodo se puede adaptar con facilidad al sustrato y producir los suficientes AGV's para la producción de metano.

La adición de fuente de carbono causó la eliminación de la fase de retraso en todas las condiciones evaluadas, exceptuando CN₂pH₃. Además, la producción de metano se inhibió cuando el pH se encontró en las condiciones pH₁ y pH₃, pHs alcalinos y ácidos respectivamente y se ve favorecida en pHs neutros.

Las condiciones óptimas para mejorar la producción de metano y el porcentaje de remoción de DQO del agua residual de la PTAR-UPB, se pueden lograr si se disminuye el pH de 9.0±0.05 a un pH neutro de 7.5 y aumentando la relación C/N de 4.3 a 14.2, mediante la recirculación del lodo aerobio del sistema terciario.

La adición del lodo aerobio aumenta en gran medida el porcentaje de remoción de DQO aunque esto no se ve reflejado en los valores del PBM, pues estos, no tienen en cuenta el porcentaje de materia orgánica que se convierte en otros productos de la DA como el dióxido de carbono.

RECOMENDACIONES

Evaluar otros posibles co-sustratos generados en la institución, como residuos de cafetería o buchón de agua, que permitan el aporte de materia orgánica y la disminución de pH de forma simultánea.

Se deben analizar valores de la relación C/N entre 8 y 14 o más altas, para establecer el valor óptimo de este parámetro que maximice la producción de metano y la remoción de materia orgánica. Además, se debe estudiar la influencia de la relación C/N en la desnitrificación del agua residual.

Para que los valores de PBM sean comparables en las unidades experimentales, se recomienda iniciar las pruebas con la misma cantidad de sólidos volátiles.

Realizar un monitoreo continuo de parámetros como el pH, alcalinidad y ácidos grasos volátiles a lo largo de la prueba del PBM, para identificar problemas de subalimentación o acidificación de los reactores.

BIBLIOGRAFÍA

- Ahring, B.K., Sandberg, M., Angelidaki, I., 1995. Volatile fatty acids as indicators of process imbalance in anaerobic digestors. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 43, 559–565. <https://doi.org/10.1007/BF00218466>
- Almeida, A., Nafarrate-Rivera, E., Alvarado, A., A, C.-O., Luevanos, M.P.E., Oropeza, R., Balagurusamy, N., 2011. Expresión genética en la digestión anaerobia: un paso adelante en la comprensión de las interacciones tróficas de esta biotecnología. *Rev. Científica la Univ. Autónoma Coahuila* 3, 14–34.
- Alzate, M., 2015. Identificación de grupo tróficos presentes en el estiércol bovino usado para la digestión anaerobia de sobrantes alimenticios de restaurante. Universidad Industrial de Santander.
- APHA, 2012. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 22nd ed. American Public Health Association (APHA), Washington, DC.
- Aquino, S.F., Chernicharo, C. a. L., Foresti, E., Santos, M.D.L.F. Dos, Monteggia, L.O., 2007. Metodologias para determinação da atividade metanogênica específica (AME) em lodos anaeróbios. *Eng. Sanit. e Ambient.* 12, 192–201. <https://doi.org/10.1590/S1413-41522007000200010>
- Baez, L., Cely, K., 2013. Estudio para la adaptación del tratamiento terciario de la PTAR - UPB como un sistema de lodos activados 113.
- Boullagui, H., Haourari, O., Touhami, Y., 2004. Effect of temperature on the performance of an anaerobic tubular reactor treating fruit and vegetable waste. *Process Biochem.* 39, 2143–2148. <https://doi.org/10.1016/J.PROCBIO.2003.11.022>
- Buendia, I., 2008. Biotratabilidad anaerobia de aguas y residuos industriales.
- Bull, H.B., Breese, K., Ferguson, G.L., Swenson, C.A., 1964. The pH of urea solutions. *Arch. Biochem. Biophys.* 104, 297–304. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0003-9861\(64\)80017-5](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0003-9861(64)80017-5)
- Cajigas, A.A., Perez, A., Torres, P., 2005. Importancia del pH y la alcalinidad en el tratamiento anaerobio de las aguas residuales del proceso de extracción de almidón

- de yuca. *Csientia Tech.* 243–248. <https://doi.org/0122-1701>
- Camacho, J., Ordoñez, L., 2008. Evaluación de la eficiencia de un sistema de recuperación de aguas residuales con *Eichhornia crassipes*, para el postratamiento del efluente del reactor anaerobio a flujo pistón. 169.
- Campos, A.E., 2001. Optimización de la digestión anaerobia de purines de cerdo mediante codigestión con residuos orgánicos de la industria agroalimentaria. *Monogr. Actual.* 372.
<https://doi.org/http://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/8229/Tecp1de1.pdf?sequence=1>
- Carrascal, J.P.A., Pardo, L.V.A., 2016. Determinación del potencial bioquímico de metano de la *Chlorella vulgaris* a escala laboratorio.
- Castro, L., Fernández, N., Chávez, M., 2008. Diminution of the COD in formation waters using bacterial stocks [WWW Document]. URL http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0254-07702008000300006
- Cendales Ladino, 2011. Producción de biogás mediante la co-digestión anaeróbica de la mezcla de residuos cítricos y estiércol bovino para su utilización como fuente de energía renovable. *Chem. Eng. Trans.* 49, 385–390.
- Chen, G., Zheng, Z., Yang, S., Fang, C., Zou, X., Zhang, J., 2010. Improving conversion of *Spartina alterniflora* into biogas by co-digestion with cow feces. *Fuel Process. Technol.* 91, 1416–1421. <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2010.05.015>
- Chernicharo, C., 2007. Principios do tratamento biológico de águas residuárias. Universidad Federal de Minas Gerais. Univ. Fed. Minas Gerais. VOL V, Bra.
- Cisterna, P., Peña, D., 2009. Determinación de la relación DQO/DBO5 en aguas residuales de comunas con población menor a 25.000 habitantes en la VIII región. 1–18.
- Codina, J.C., Muñoz, M.A., Cazorla, F.M., Pérez-García, A., Moriñigo, M.A., De Vicente, A., 1998. The inhibition of methanogenic activity from anaerobic domestic sludges as a simple toxicity bioassay. *Water Res.* 32, 1338–1342. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(97\)00312-6](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(97)00312-6)

- Dai, X., Hu, C., Zhang, D., Dai, L., Duan, N., 2017. Impact of a high ammonia-ammonium-pH system on methane-producing archaea and sulfate-reducing bacteria in mesophilic anaerobic digestion. *Bioresour. Technol.* 245, 598–605. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.08.208>
- Dai, X., Li, X., Zhang, D., Chen, Y., Dai, L., 2016. Simultaneous enhancement of methane production and methane content in biogas from waste activated sludge and perennial ryegrass anaerobic co-digestion: The effects of pH and C/N ratio. *Bioresour. Technol.* 216, 323–330. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.05.100>
- Díaz-Báez, M.C., Vargas, S.L.E., Pérez, F.M., 2002. Digestión anaerobia: una aproximación a la tecnología 168. <https://doi.org/958-70-1-196-1>
- Dubois, M., Gilles, K., Hamilton, J., Rebers, P., Smith, F., 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28, 350–356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>
- Fernández Rodríguez, J., Pérez, M., Romero, L.I., 2012. Mesophilic anaerobic digestion of the organic fraction of municipal solid waste: Optimisation of the semicontinuous process. *Chem. Eng. J.* 193–194, 10–15. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2012.04.018>
- Field, J., 1987. Medición de Parámetros. Arranque y operación Sist. flujo ascendente con manto lodo. UASB. Man. del curso.
- González-Sánchez, M.E., Pérez-Fabiel, S., Wong-Villarreal, A., Bello-Mendoza, R., Yañez-Ocampo, G., 2015. Residuos agroindustriales con potencial para la producción de metano mediante la digestión anaerobia. *Rev. Argent. Microbiol.* 47, 229–235. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2015.05.003>
- Gualtero, S.J., Angulo, L.S., 2016. Evaluación de la mezcla de inóculos como estrategia de mejoramiento de la digestión anaerobia de residuos de alimentos.
- Hanaki, K., Matsuo, T., Nagase, M., 1981. Mechanism of inhibition caused by long-chain fatty acids in anaerobic digestion process, *Biotechnology and Bioengineering.* <https://doi.org/10.1002/bit.260230717>
- Hansen, T.L., Schmidt, J.E., Angelidaki, I., Marca, E., Jansen, J.L.C., Mosbæk, H., Christensen, T.H., 2004. Method for determination of methane potentials of solid

organic waste. Waste Manag. 24, 393–400.
<https://doi.org/10.1016/j.wasman.2003.09.009>

Herrera, D.M., Niño, D.A., 2013. Biogas production by anaerobic digestion of wastewater from palm oil mill industry. *Ciencia, Tecnol. y Futur.* 5, 73–84. <https://doi.org/ISSN0122-5383>

Hidalgo Santana, M., Mejía Alvarez, E., 2010. Diagnóstico de la contaminación por aguas residuales domésticas, cuenca baja de la quebrada La Macana, San Antonio de Prado. municipio de Medellín 68.

Hobbs, S., Landis, A., Rittmann, B., Young, M., Parameswaran, P., 2017. Enhancing anaerobic digestion of food waste through biochemical methane potential assays at different substrate: inoculum ratios. *Waste Manag.* <https://doi.org/10.1016/J.WASMAN.2017.06.029>

Holliger, C., Alves, M., Andrade, D., Angelidaki, I., Astals, S., Baier, U., Bougrier, C., Buffière, P., Carballa, M., De Wilde, V., Ebertseder, F., Fernández, B., Ficara, E., Fotidis, I., Frigon, J.C., De Lacroix, H.F., Ghasimi, D.S.M., Hack, G., Hartel, M., Heerenklage, J., Horvath, I.S., Jenicek, P., Koch, K., Krautwald, J., Lizasoain, J., Liu, J., Mosberger, L., Nistor, M., Oechsner, H., Oliveira, J.V., Paterson, M., Pauss, A., Pommier, S., Porqueddu, I., Raposo, F., Ribeiro, T., Pfund, F.R., Strömberg, S., Torrijos, M., Van Eekert, M., Van Lier, J., Wedwitschka, H., Wierinck, I., 2016. Towards a standardization of biomethane potential tests. *Water Sci. Technol.* 74, 2515–2522. <https://doi.org/10.2166/wst.2016.336>

Jayaraj, S., Deepanraj, B., Sivasubramanian, V., 2014. Study on the effect of pH on biogas production from food waste by anaerobic digestion. 9th Annu. Green Energy Conf. Tianjin China.

Jenkins, S.R., Morgan, J.M., Sawyer, C.L., 1983. Measuring Anaerobic Sludge Digestion and Growth by a Simple Alkalimetric Titration. *J. (Water Pollut. Control Fed.* 55, 448–453.

Kang, H., Weiland, P., 1993. Ultimate anaerobic biodegradability of some agro-industrial residues. *Bioresour. Technol.* 43, 107–111. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0960-8524\(93\)90168-B](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0960-8524(93)90168-B)

- Khan, M.A., Ngo, H.H., Guo, W.S., Liu, Y., Nghiem, L.D., Hai, F.I., Deng, L.J., Wang, J., Wu, Y., 2016. Optimization of process parameters for production of volatile fatty acid, biohydrogen and methane from anaerobic digestion. *Bioresour. Technol.* 219, 738–748. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.08.073>
- Koch, K., Bajón, Y., Drewes, J., 2015a. Influence of headspace flushing on methane production in Biochemical Methane Potential (BMP) tests. *Bioresour. Technol.* 186, 173–178. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2015.03.071>
- Koch, K., Helmreich, B., Drewes, J.E., 2015b. Co-digestion of food waste in municipal wastewater treatment plants: Effect of different mixtures on methane yield and hydrolysis rate constant. *Appl. Energy* 137, 250–255. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2014.10.025>
- Koch, K., Lippert, T., Drewes, J.E., 2017. The role of inoculum's origin on the methane yield of different substrates in biochemical methane potential (BMP) tests. *Bioresour. Technol.* 243, 457–463. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.06.142>
- Larios, M.F., Gonzáles, T.C., Morales, O.Y., 2015. Las aguas residuales y sus consecuencias en el Perú. *Rev. la Fac. Ing. la USIL* 2, 9–25.
- Liu, F., Tian, Y., Ding, Y., Li, Z., 2016. The use of fermentation liquid of wastewater primary sedimentation sludge as supplemental carbon source for denitrification based on enhanced anaerobic fermentation. *Bioresour. Technol.* 219, 6–13. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.07.030>
- López, D Fuenzalida, D Vera, I Rojas, K Vidal, G., 2015. Relationship between the removal of organic matter and the production of methane in subsurface flow constructed wetlands designed for wastewater treatment. *Ecol. Eng.* 83, 296–304. <https://doi.org/10.1016/J.ECOLENG.2015.06.037>
- Mantilla, A., Torres, D., 2017. Estudio de la presencia, ocurrencia y destino final, de un compuesto farmacéutico (acetaminofén) en una planta de tratamiento de agua residual institucional educativa.
- Martínez, A., Camacho, J.V., 2004. Termotecnia básica para ingenieros químicos, in: *Termotecnia Básica Para Ingenieros Químicos*. pp. 100–110.

- Miller, G.L., 1953. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Anal. Chem.* 31, 426–428.
- Mosquera, J., Martínez, B., 2012. Evaluación de la digestión anaerobia como alternativa de estabilización de biosólidos producidos en la planta de tratamiento de aguas residuales de la Universidad Tecnológica de Pereira. *Trabajo de Grado Tecnología Química* 104.
- O’Sullivan, C., Rounsefell, B., Grinham, A., Clarke, W., Udy, J., 2010. Anaerobic digestion of harvested aquatic weeds: Water hyacinth (*Eichhornia crassipes*), cabomba (*Cabomba Caroliniana*) and salvinia (*Salvinia molesta*). *Ecol. Eng.* 36, 1459–1468. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2010.06.027>
- Orozco, Á.J., 2014. *Bioingeniería de aguas residuales. Teoría y diseño*. Bogotá D.C.
- Ortiz, V., 2011. Puesta a punto de una metodología para la determinación de la actividad metanogénica específica (AME) de un fango anaerobio mediante el sistema OXITOP. Influencia de las principales variables experimentales. 112.
- Owen, W.F., Stuckey, D.C., Healy, J.B., Young, L.Y., McCargy, P.L., 1979. Bioassay for monitoring biochemical methane potential and anaerobic toxicity 13.
- Palomino, M.A., Ortigón, M.F., Rojas, T., Martínez, J., Valderrama, J., Barragán, R., Pérez, A., Luna, H., 2016. Evaluación del potencial acidogénico para producción de AGV de melaza de la industria azucarera como valorización de este subproducto. *Rev. ION* 29, 71–80. <https://doi.org/10.18273/revion.v29n1-2016006>
- Parra, A., Torres, P., Marmolejo, F., Cardenas, L., Vásquez, C., Torres, A., 2015. Efecto de la relación sustrato-inóculo sobre el potencial bioquímico de metano de biorresiduos de origen municipal. *Ing. Investig. y Tecnol.* 16, 515–526. <https://doi.org/10.1016/j.riit.2015.09.004>
- Parra, B.A., 2014. Producción de metano a partir de la digestión anaerobia de biorresiduos de origen municipal. Universidad del valle.
- Parra Orobio, B.A., Torres Lozada, P., Marmolejo Rebellon, L.F., 2014. Producción De Metano a Partir De La Digestión Anaerobia De Biorresiduos De Origen Municipal 79.
- Pascual, A., Ruiz, B., Gomez, P., Flotats, X., Fernández, B., 2011. Situación y potencial de

- generación de biogás. Estudio Técnico PER 2011-2020. Idae - Inst. para la Divers. y Ahorr. la Energía 100.
- Peña, M.E.D. La, Ducci, J., Zamora, V., 2013. Tratamiento de aguas residuales en México. Nota Técnica #IDB-TN-521 42. <https://doi.org/IDB-TN-521>
- Pérez, A., Torres, P., 2008. Indices de alcalinidad para el control del tratamiento anaerobio de aguas residuales fácilmente acidificables. Alkalinity indices Control Anaerob. Treat. readily acidifiable wastewaters. 10, 41–52.
- Perez, L.M., 2011. Estudio a escala laboratorio de la conversión de un tratamiento terciario a un sistema de lodos activados 1–115.
- Piatek, M., Lisowski, A., Kasprzycka, A., Lisowska, B., 2016. The dynamics of an anaerobic digestion of crop substrates with an unfavourable carbon to nitrogen ratio. Bioresour. Technol. 216, 607–612. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.05.122>
- PNUD, FAO, GEF, y M., 2011. Manual de Biogás. Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, Global Environment Facility. <https://doi.org/10.1073/pnas.0703993104>
- Poirrier, P., 2005. Hidrólisis y acidificación psicrófila de moléculas complejas en sistemas anaerobios. Universidad de Santiago de Compostela.
- Porrier, P., 2005. Hidrólisis y acidificación psicrófila de moléculas complejas en sistemas anaeróbios. Dep. Ing. Química 193.
- Procházka, J., Dolejš, P., MácA, J., Dohányos, M., 2012. Stability and inhibition of anaerobic processes caused by insufficiency or excess of ammonia nitrogen. Appl. Microbiol. Biotechnol. 93, 439–447. <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3625-4>
- Puñal, A., Méndez-Pampin, R.J., Lema, J.M., 1999. Characterization and comparison of biomasses from single- and multi-fed upflow anaerobic filters. Bioresour. Technol. 68, 293–300. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(98\)00147-3](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(98)00147-3)
- Puñal, A., Trevisan, M., Rozzi, A., Lema, J.M., 2000. Influence of C:N ratio on the start-up of up-flow anaerobic filter reactors. Water Res. 34, 2614–2619. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(00\)00161-5](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(00)00161-5)

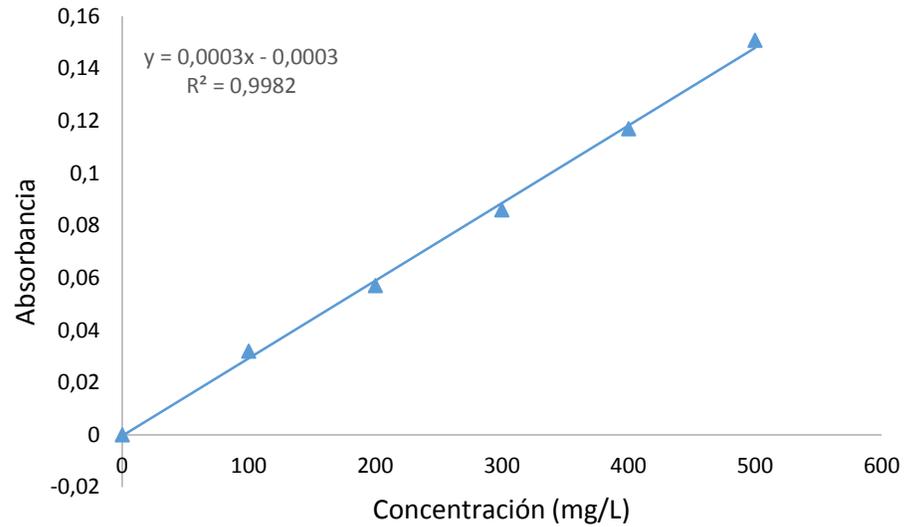
- Quintero, M., 2012. Estudio preliminar para la producción de biogas a partir de la digestión anaerobia de mucilago de café 1–59.
- Rajagopal, R., Mass, D.I., Singh, G., 2013. A critical review on inhibition of anaerobic digestion process by excess ammonia. *Bioresour. Technol.* 143, 632–641. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.06.030>
- Regueiro, L., Veiga, P., Figueroa, M., Alonso-Gutierrez, J., Stams, A.J.M., Lema, J.M., Carballa, M., 2012. Relationship between microbial activity and microbial community structure in six full-scale anaerobic digesters. *Microbiol. Res.* 167, 581–589. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2012.06.002>
- Rodrigues, L.S., Silva, I.J., Oliveira, P.R., Pinto, A.C.A., Lima, C.A., 2014. Influence of the Ratio IA/PA and Volatile Acids in the Monitoring of UASB Reactor in the Treating of Swine Waste Water. *J. water Resour. Prot.* 6, 526–531.
- Romano, R.T., Zhang, R., 2008. Co-digestion of onion juice and wastewater sludge using an anaerobic mixed biofilm reactor. *Bioresour. Technol.* 99, 631–637. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.12.043>
- Sandoval, C.J., Mendoza, M., Carreño, M., Castillo, E.F., 2009. Microbiological characterization and specific methanogenic activity of anaerobe sludges used in urban solid waste treatment. *Waste Manag.* 29, 704–711. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2008.06.021>
- Schneiders, D., Dias da Silva, J., Till, A., Lapa, K.R., Pinheiro, A., 2013. Atividade metanogênica específica (AME) de lodos industriais provenientes do tratamento biológico aeróbio e anaeróbio. *Rev. Ambient. e Agua* 8, 135–145. <https://doi.org/10.4136/1980-993X>
- Siciliano, M., 2010. Estudio de la vida útil de queso crema utilizando microbiología predictiva 1–180.
- Sikora, J., 1979. Manual de métodos creativos 189.
- Silva, S.Q., Chernicharo, C.A.L., 2010. Influence of incubation conditions on the specific methanogenic activity test 411–424. <https://doi.org/10.1007/s10532-009-9311-x>

- Soto, M Méndez, R Lema, J.M., 1993. Methanogenic and non-methanogenic activity tests. Theoretical basis and experimental set up. *Water Res.* 27, 1361–1376. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(93\)90224-6](https://doi.org/10.1016/0043-1354(93)90224-6)
- Soto, M., Méndez, R., Lema, J., 1993. Methanogenic and non-methanogenic activity tests. Theoretical basis and experimental set up. *Water Res.* 27, 1361–1376. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(93\)90224-6](https://doi.org/10.1016/0043-1354(93)90224-6)
- Strömberg, S., Nistor, M., Liu, J., 2014. Towards eliminating systematic errors caused by the experimental conditions in Biochemical Methane Potential (BMP) tests. *Waste Manag.* 34, 1939–1948. <https://doi.org/10.1016/J.WASMAN.2014.07.018>
- Torres, M.L., Villa, P.M., Escobedo, R., 2004. El comportamiento de reactores anaerobios de residuos sólidos a través de ensayos microbiológicos. *Rev. CENIC Ciencias Biológicas* 35, 179–183.
- Toyama, T., Hanaoka, T., Tanaka, Y., Morikawa, M., Mori, K., 2018. Comprehensive evaluation of nitrogen removal rate and biomass, ethanol, and methane production yields by combination of four major duckweeds and three types of wastewater effluent. *Bioresour. Technol.* 250, 464–473. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.11.054>
- Wang, B., Björn, A., Strömberg, S., Achu Nges, I., Nistor, M., Liu, J., 2017. Evaluating the influences of mixing strategies on the Biochemical Methane Potential test. *J. Environ. Manage.* 185, 54–59. <https://doi.org/10.1016/J.JENVMAN.2016.10.044>
- Wang, X., Yang, G., Feng, Y., Ren, G., Han, X., 2012. Optimizing feeding composition and carbon-nitrogen ratios for improved methane yield during anaerobic co-digestion of dairy, chicken manure and wheat straw. *Bioresour. Technol.* 120, 78–83. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.06.058>
- Yen, H.W., Brune, D.E., 2007. Anaerobic co-digestion of algal sludge and waste paper to produce methane. *Bioresour. Technol.* 98, 130–134. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.11.010>

ANEXOS

Anexo A. Curva de calibración para determinar DQO

Figura 12. Curva de calibración para la determinación de DQO



Fuente: Autores

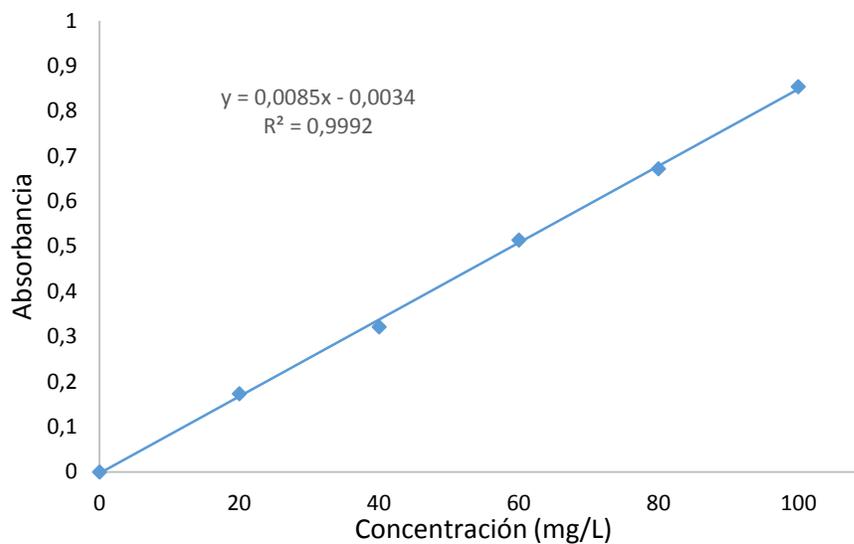
Tabla 11. Curva de calibración para la determinación de DQO

Concentración mg/L	Absorbancia
0	0
100	0.032
200	0.057
300	0.086
400	0.117
500	0.1508

Fuente: Autores

Anexo B. Curva de calibración para prueba de AT

Figura 13. Curva de calibración para la determinación de AT



Fuente: Autores

Tabla 12. Curva de calibración para la determinación de AT

Concentración mg/L	Absorbancia
0	0
20	0.173
40	0.321
60	0.514
80	0.672
100	0.854

Fuente: Autores

Anexo C. Preparación del reactivo DNS y su curva de calibración

Materiales y Reactivos

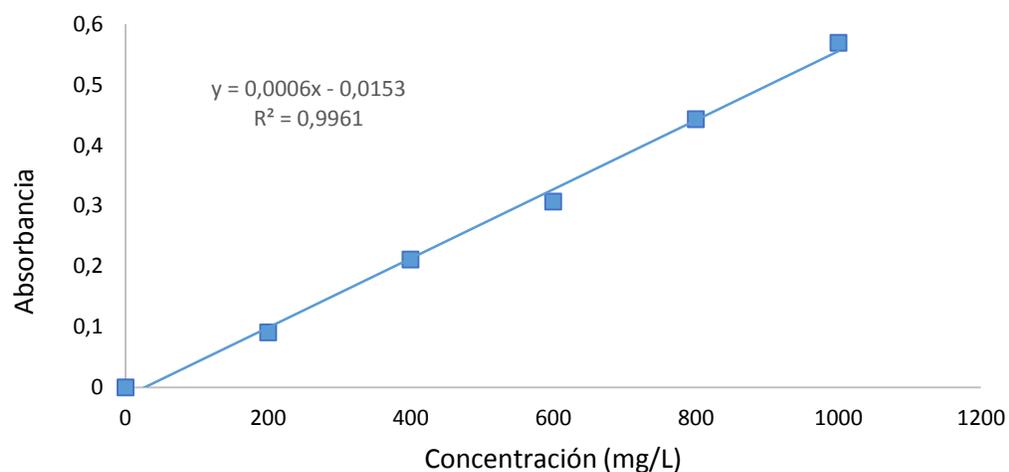
- ❖ 75 g de tartrato de sodio potasio
- ❖ 2,5 g de ácido Di-nitro-salicílico
- ❖ 4 g de NaOH
- ❖ Balón aforado de 250ml

Procedimiento

- I. Pesar los reactivos.
- II. Disolver lentamente el tartrato de sodio potasio y el NaOH en un vaso precipitado.
- III. Disolver el ácido Di-nitro-salicílico de forma gradual con un agitador magnético.
- IV. Agregarlo lentamente a la solución de tartrato con el NaOH y aforar a 250ml.
- V. Conservarlo en una botella ámbar envuelta en aluminio.

Curva de calibración

Figura 14. Curva de Calibración para la determinación de AR



Fuente: Autores

Tabla 13. Curva de calibración para la determinación de AR

Concentración mg/L	Absorbancia
0	0
200	0.091
400	0.211
600	0.307
800	0.443
1000	0.569

Fuente: Autores

Anexo D. Consumo de sustrato en AH y AA

Tabla 15. Consumo de Almidón en la AH

Hidrolítica			
Tiempo	AT	AR	Almidón
0.02	642	62.96	579.04
0.08	390.48	57.24	333.24
0.17	345.24	78.78	266.46
0.25	264.9	102.99	161.91
0.44	213.06	41	172.06
0.52	125.26	48.07	77.19
0.60	85.94	62.48	23.46
0.69	66.14	34.97	31.17
0.77	68.87	36.81	32.06
0.83	90.37	16.35	74.02
0.92	63.86	30.78	33.08
1.00	95.27	74.45	20.82
1.08	33.03	12.72	20.31
1.17	38.93	32.77	6.16
1.25	40.18	29.05	11.13
1.44	37.73	33.91	3.82
1.52	26.35	23.24	3.11
1.60	24.58	22.5	2.08
1.69	20.8	16.61	4.19
1.75	16.61	14.04	2.57
1.83	35.59	33.43	2.16
1.92	69.32	40.44	28.88
2.15	45.46	32.13	13.33
2.50	39.6	25.06	14.54
2.83	21.88	18.43	3.45

Fuente: Autores

Tabla 14. Consumo de Glucosa en la AA

Acidogenica	
Tiempo	AR
0.02	939.51
0.08	846.45
0.17	608.50
0.25	585.70
0.29	660.80
0.44	85.80
0.52	30.86
0.60	58.24
0.69	29.49
0.77	35.86
0.83	4.80
0.92	30.17
1.00	51.88
1.08	30.96
1.17	30.52
1.25	27.41
1.44	41.27
1.52	29.68
1.60	28.70
1.69	27.26
1.75	13.26
1.83	35.32
1.92	33.68
2.15	35.68
2.50	24.52
2.83	35.25

Fuente: Autores

Anexo E. Datos de presión de la prueba de AME

Tabla 16. Datos de presión (hPa) de la prueba de AME

TIEMPO (h)	Presion				TIEMPO (h)	Presion			
	BLANCO	1	2	3		BLANCO	1	2	3
6	70	108	109	108	174	1953	2356	2720	2207
12	91	204	208	194	180	1957	2389	2772	2235
18	106	319	331	303	186	1957	2427	2826	2263
23	119	440	456	419	192	1959	2461	2876	2287
24	126	440	456	419	198	1962	2488	2919	2305
28	132	480	497	458	204	1964	2509	2958	2321
30	159	505	522	452	210	1966	2509	2958	2321
36	180	599	651	593	216	1963	2560	3012	2356
42	198	708	779	716	222	1968	2572	3039	2357
48	216	815	902	831	228	1972	2590	3064	2363
50	220	842	928	871	234	1973	2603	3082	2369
52.35	228	875	965	907	240	1975	2639	3103	2389
54	235	909	1004	935	246	1976	2647	3114	2394
60	251	996	1101	1034	252	1977	2654	3123	2399
66	266	1096	1317	1139	258	1979	2661	3132	2404
72	279	1189	1331	1236	264	1980	2667	3139	2408
74.5	283	1220	1367	1266	270	1981	2673	3146	2412
78	293	1319	1458	1364	276	1983	2678	3153	2416
84	305	1419	1577	1460	282	1985	2682	3158	2419
90	315	1515	1687	1545	288	1988	2687	3164	2424
96	325	1604	1789	1622	294	1993	2691	3169	2427
102	359	1676	1868	1694	300	1995	2696	3174	2430
108	361	1745	1953	1744	306	1996	2701	3179	2434
114	360	1819	2045	1801	312	1996	2708	3187	2442
120	365	1890	2132	1856	318	1998	2711	3191	2445
123	367	1938	2190	1891	324	2000	2714	3195	2447
126	371	1956	2204	1913	330	2002	2717	3199	2450
132	381	2035	2287	1968	336	2003	2720	3202	2454
138	385	2105	2370	2012	342	2005	2722	3205	2457
140	388	2148	2425	2043	348	2007	2725	3208	2460
144	1932	2166	2449	2057	354	2005	2728	3211	2463
150	1941	2218	2519	2088	360	2006	2731	3214	2468
156	1946	2218	2519	2088	366	2007	2733	3217	2472
162	1949	2270	2586	2134	372	2008	2733	3217	2475
168	1948	2313	2656	2170	378	2010	2735	3220	2479
174	1953	2356	2720	2207	384	2011	2738	3224	2485

TIEMPO (h)	Presion				TIEMPO (h)	Presion			
	BLANCO	1	2	3		BLANCO	1	2	3
390	2013	2741	3227	2491	558	501	2705	3329	2636
396	2015	2744	3107	2498	564	502	2798	3331	2637
402	2016	2748	3236	2506	570	504	2813	3333	2639
408	2017	2751	3241	2515	576	504	2814	3333	2640
414	2018	2754	3245	2523	582	505	2815	3334	2640
420	2019	2758	3249	2531	588	505	2815	3335	2641
426	2020	2760	3253	2553	594	507	2816	3337	2643
432	2021	2763	3257	2560	600	507	2816	3337	2643
438	2022	2766	3261	2566	606	507	2817	3337	2643
444	2023	2768	3264	2572	612	509	2817	3339	2645
450	2023	2770	3269	2578	618	509	2818	3340	2645
456	2024	2773	3272	2583	624	510	2819	3341	2647
462	2024	2775	3277	2588	630	510	2819	3341	2646
468	2025	2778	3280	2591	636	500	2819	3331	2635
474	2025	2780	3283	2596	642	501	2819	3333	2637
480	2024	2782	3286	2599	648	500	2809	3332	2636
486	2025	2784	3290	2601	654	500	2808	3331	2635
492	2025	2786	3293	2605	660	500	2807	3331	2635
498	482	2785	3294	2607	666	501	2808	3333	2637
504	482	2788	3297	2609	672	501	2808	3333	2638
510	484	2789	3299	2612	678	500	2807	3333	2636
516	484	2790	3301	2613	684	501	2808	3334	2637
522	485	2792	3308	2616	690	501	2808	3334	2637
528	486	2793	3309	2617	696	500	2808	3332	2635
534	487	2794	3312	2619	702	501	2805	3332	2635
540	488	2795	3314	2620	708	502	2805	3332	2637
546	489	2797	3315	2621	714	504	2805	3332	2637
552	487	2798	3315	2620	720	503	2805	3332	2637

Fuente: Autores

Anexo F. Datos de DQO y NTK del agua residual

Tabla 17. Concentraciones de DQO y NTK del agua residual

DQO(mg/LO ₂)	NTK (mg/L NTK)	Relación C/N
512.81	107.8	4.76
582.56	115.92	5.03
584.00	123.2	4.74
636.21	169.4	3.76
415.48	103.6	4.01
478.17	82.88	5.77
497.86	123.76	4.02

Fuente: Autores

Anexo G. Datos de pH inicial y final promedio de cada prueba

Tabla 18. Datos pH de los ensayos

Condición	pH inicial	pH final
CN1pH1	9.0	9.46
CN1pH2	7.5	9.41
CN1pH3	6.9	9.40
CN2pH1	9.0	9.3
CN2pH2	7.5	8.9
CN2pH3	6.9	9.45
CN3pH1	9.0	9.24
CN3pH2	7.5	8.8
CN3pH3	6.9	9.43

Fuente: Autores

Anexo H. Resultados ANOVA

Tabla 19. Análisis de varianza

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
C/N	1460.622539	2	730.3112694	25.09601559	0.000208404	4.256494729
pH	1423.005433	2	711.5027166	24.4496888	0.000230175	4.256494729
Interacción	393.2116649	4	98.30291623	3.378027454	0.059776951	3.633088511
Dentro del grupo	261.906174	9	29.100686			
Total	3538.745811	17				

Fuente: Autores