

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

OPCIÓN I.- TESIS

TRABAJO PROFESIONAL

**“Diseño, construcción, arranque y
estabilización de un Reactor Anaerobio
Multitubular (RAM)”.**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS
EN INGENIERÍA QUÍMICA**

PRESENTA:

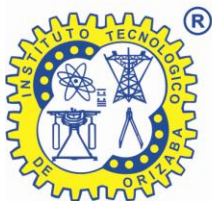
I.Q. Ana Patricia Juárez García

DIRECTOR DE TESIS:

M.I. Norma Alejandra Vallejo Cantú

CODIRECTOR DE TESIS:

Dr. Alejandro Alvarado Lassman





FECHA: 14/06/2016
DEPENDENCIA: POSGRADO
ASUNTO: Autorización de Impresión
OPCIÓN: I


C. ANA PATRICIA JUÁREZ GARCÍA
CANDIDATO A GRADO DE MAESTRO EN:
CIENCIAS EN INGENIERIA QUIMICA

De acuerdo con el Reglamento de Titulación vigente de los Centros de Enseñanza Técnica Superior, dependiente de la Dirección General de Institutos Tecnológicos de la Secretaría de Educación Pública y habiendo cumplido con todas las indicaciones que la Comisión Revisora le hizo respecto a su Trabajo Profesional titulado:

"DISEÑO, CONSTRUCCIÓN, ARRANQUE Y ESTABILIZACIÓN DE UN REACTOR ANAEROBIO MULTITUBULAR (RAM) " .

Comunico a Usted que este Departamento concede su autorización para que proceda a la impresión del mismo.

A T E N T A M E N T E


M.C. MA. ELENA GARCÍA REYES
JEFE DE LA DIV. DE ESTUDIOS DE POSGRADO



ggc





FECHA : 08/06/2016

ASUNTO: Revisión de Trabajo Escrito

C. M.C. MA. ELENA GARCÍA REYES
JEFE DE LA DIVISION DE ESTUDIOS
DE POSGRADO E INVESTIGACION.
P R E S E N T E

Los que suscriben, miembros del jurado, han realizado la revisión de la Tesis del (la) C. :

ANA PATRICIA JUÁREZ GARCÍA

la cual lleva el título de:

"DISEÑO, CONSTRUCCIÓN, ARRANQUE Y ESTABILIZACIÓN DE UN REACTOR ANAEROBIO MULTITUBULAR (RAM)" .

Y concluyen que se acepta.

A T E N T A M E N T E

PRESIDENTE : M.I. NORMA ALEJANDRA VALLEJO CANTU

SECRETARIO : DR. ALEJANDRO ALVARADO LASSMAN

VOCAL : M.C. MARIA ELENA GARCIA REYES

VOCAL SUP. : DR. GALO RAFAEL URREA GARCIA

FIRMA
FIRMA
FIRMA
FIRMA

EGRESADO(A) DE LA MAESTRIA EN CIENCIAS EN INGENIERIA QUIMICA

OPCION: I Tesis



DEDICATORIAS

A mi madre:

Por brindarme siempre su apoyo incondicional y en los momentos más difíciles alentarme a seguir adelante, gracias a ti he llegado a esta meta.

A mis abuelos:

Rosa y Ubaldo, por quererme y apoyarme siempre, esto también se lo debo a ustedes que son como unos padres para mí.

A mi familia:

En especial a mis tíos Alejandro y Silverio que me ayudaron de diversas maneras en la realización de esta tesis. Gracias por su apoyo y cariño.

A mis amigos:

Que siempre estuvieron pendientes de mí y me dieron ánimos para continuar.

A mis compañeros de laboratorio:

Emilio, José Luis y Ulises por brindarme su ayuda en el tiempo que convivimos en el laboratorio.

A Marisol y Miriam les agradezco que me apoyaran en la parte final de mi experimentación.

A Erick S. Rosas Mendoza por apoyarme y motivarme en el desarrollo de esta tesis, así como el tiempo y paciencia que siempre me brinda. Gracias.

RECONOCIMIENTOS

A mis asesores de tesis:

M.I.Q. Norma Alejandra Vallejo Cantú y Dr. Alejandro Alvarado Lassman por brindarme su confianza y apoyo para el desarrollo de este proyecto.

A mis revisores de tesis:

M.C. María Elena García Reyes y Dr. Galo Rafael Urrea García por sus comentarios y sugerencias, los cuales enriquecieron este trabajo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT):

Por haberme otorgado la beca con No. 373953, para la realización de mis estudios de maestría.

RESUMEN

Diseño, construcción, arranque y estabilización de un Reactor Anaerobio Multitubular (RAM)

Elaborado por: I.Q. Ana Patricia Juárez García

Dirigida por: M.I.Q. Norma Alejandra Vallejo Cantú

Dr. Alejandro Alvarado Lassman

El tratamiento de efluentes industriales que involucran grandes volúmenes y una carga orgánica elevada, siguen siendo un problema sin una solución total. Se han propuesto reactores anaerobios de segunda generación que han atendido en parte el problema, sin embargo es necesario desarrollar nuevas tecnologías utilizando reactores de alta carga que a su vez puedan tratar mayores volúmenes en espacios reducidos. Los reactores de lecho fluidizado inverso resultan una alternativa atractiva, sin embargo su escalamiento requiere de mejoras que lo hagan competitivo.

En este trabajo se diseñó, construyó, arrancó y estabilizó un Reactor Anaerobio Multitubular (RAM) a nivel laboratorio para lograr mayor estabilidad que en el sistema de lecho fluidizado inverso convencional. A su vez se realizaron pruebas hidrodinámicas con diferentes configuraciones y volúmenes de soporte (sin colonizar y colonizado), evaluándose los aspectos hidrodinámicos de velocidad descendencial y expansión del lecho para el análisis de su funcionamiento. Los resultados preliminares indican que la configuración en multitubular presenta ventajas con respecto a la configuración tradicional, mientras que las pruebas hidrodinámicas presentan buena estabilidad al utilizar un 30% de soporte y un lecho semifluidizado inverso. Durante la operación en continuo por 51 días del RAM con jugo de manzana (sustrato simple estandarizado), Cva de 2.3 gDQO/L*d, pH de 7.5 y TRH de 24 h, se alcanzó una remoción de DQOs de 16% y con adición de nutrientes del 26%, en ambas no se pudo obtener una salida con pH neutro, lo cual puede ser un factor importante para que el reactor no haya alcanzado mayores porcentajes de remoción de materia orgánica.

ABSTRACT

Design, construction, start-up and stabilization of an Anaerobic Reactor Multitubular (ARM)

By: I.Q. Ana Patricia Juárez García

Advisor(s): M.I.Q. Norma Alejandra Vallejo Cantú

Dr. Alejandro Alvarado Lassman

Treatment of industrial effluents that involve large volumes and high organic loads remains a problem without a total solution. The issue was attended in part with third generation anaerobic reactors, however it is necessary to develop new technologies using high loading reactors which can treat higher volumes in reduced spaces. The inverse fluidized bed reactors are an attractive alternative, but in order to achieve an efficient scale up, improvements that make it competitive are required.

In this work, an Anaerobic Reactor Multitubular (ARM) was designed, constructed, started and stabilized at laboratory scale to achieve greater stability than in conventional inverse fluidized bed system. In turn were carried out hydrodynamic tests with different configurations and volumes of support (without colonizing and colonized), evaluating hydrodynamic aspects of descensional velocity and bed expansion for the analysis of its operation. Preliminary results indicate that the multitubular configuration has advantages over the traditional configuration, while the hydrodynamic tests show good stability when using 30% support and inverse semi fluidized bed. During the continuous operation for 51 days of RAM with apple juice (standardized substrate), ORL 2.3 gCOD/L*d, pH 7.5 and ARM of 24 h a removal of CODs of 16% has been reached and with addition of nutrient from 26%, both could not obtain an output of the effluent with neutral pH, which can be an important factor for not having reached higher percentages of organic matter removal.

ÍNDICE

	Pág.
Lista de figuras	IV
Lista de tablas	VI
Nomenclatura	VII
Introducción	1
Objetivos	3
CAPÍTULO 1. FUNDAMENTOS TEÓRICOS	5
1.1 Digestión anaerobia	5
1.1.1 Etapas de la digestión anaerobia	5
1.1.1.1 Hidrólisis	6
1.1.1.2 Acidogénesis	7
1.1.1.3 Acetogénesis	7
1.1.1.4 Metanogénesis	8
1.1.2 Ventajas y desventajas de la digestión anaerobia	9
1.1.3 Parámetros operacionales del proceso de la digestión anaerobia	10
1.2 Biopelícula	12
1.2.1 Etapas de formación de la biopelícula	14
1.2.2 Influencia de las condiciones hidrodinámicas	16
1.2.2.1 Espesor	17
1.2.2.2 Densidad	17
1.2.2.3 Geometría	18
1.2.2.4 Porosidad	19
1.3 Sustratos estandarizados	19
1.3.1 Macronutrientes y micronutrientes	20
1.4 Clasificación de los reactores	21
1.4.1 Reactores de primera generación	22
1.4.2 Reactores de segunda generación	22
1.4.3 Reactores de tercera generación	23
1.4.3.1 Reactor de Lecho Fluidizado Inverso (RLFI)	24

1.5 Soportes para reactores tipo lecho fluidizado	26
1.5.1 Soporte extensosphere	27
1.6 El fenómeno de fluidización	28
1.6.1 Fluidización en presencia de biomasa	29
1.7 Parámetros de diseño para los Reactores de Lecho Fluidizado Inverso	29
1.8 Reactores Multitubulares	30
CAPÍTULO 2. MATERIALES Y MÉTODOS	33
2.1 Diseño del Reactor Anaerobio Multitubular (RAM)	33
2.2 Construcción del RAM	35
2.2.1 Primera etapa	35
2.2.2 Segunda etapa	38
2.3 Montaje e instalación del RAM	38
2.4 Pruebas para el análisis del funcionamiento del RAM	39
2.4.1 Pruebas hidrodinámicas (primera etapa)	40
2.4.2 Pruebas hidrodinámicas (segunda etapa)	42
2.4.2.1 Expansión con diferentes configuraciones	42
2.4.2.2 Expansión con soporte colonizado	43
2.5 Obtención del inóculo	43
2.6 Preparación del sustrato	44
2.7 Inoculación y arranque del RAM	45
2.8 Operación y estabilización del RAM	47
2.8.1 Medición de pH	48
2.8.2 Determinación de Sólidos Suspendidos Totales y Volátiles	48
2.8.3 Determinación de Demanda Química de Oxígeno (DQO)	48
2.8.4 Determinación de Materia Volátil Adherida (MVA)	49
2.9 Adición de nutrientes al sustrato	49
CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	51
3.1 Diseño y construcción del Reactor Anaerobio Multitubular (RAM)	51
3.1.1 Primera etapa	51
3.1.2 Segunda etapa	52

3.2 Pruebas para el análisis del funcionamiento del RAM	53
3.2.1 Pruebas hidrodinámicas (primera etapa)	53
3.2.2 Pruebas hidrodinámicas (segunda etapa)	55
3.2.2.1 Expansión con diferentes configuraciones	55
3.2.2.2 Expansión con soporte colonizado	57
3.3 Inoculación y arranque del RAM	59
3.4 Monitoreo y seguimiento del RAM	59
3.4.1 Carga Volumétrica Aplicada (Cva)	61
3.4.2 Monitoreo de pH	61
3.4.3 Monitoreo de la Demanda Química de Oxígeno (DQO)	64
3.4.4 Remoción de DQO	64
3.4.5 Monitoreo de SST y SSV	66
3.4.6 Remoción de SST y SSV	68
3.4.7 Producción de biogás	68
3.4.8 Adición de nutrientes	70
Conclusiones y recomendaciones	75
Referencias bibliográficas	79

LISTA DE FIGURAS

	Pág.	
Figura 1.1	Esquema general del proceso de digestión anaerobia	6
Figura 1.2	Soporte colonizado (40X)	13
Figura 1.3	Etapas del proceso de formación de la biopelícula	15
Figura 1.4	Sistemas de primera generación	22
Figura 1.5	Sistemas de segunda generación	23
Figura 1.6	Sistemas de tercera generación	24
Figura 1.7	Esquema de un Reactor de Lecho Fluidizado	25
Figura 1.8	Micrografía óptica de soporte extensphere	28
Figura 2.1	Diagrama de la metodología general	33
Figura 2.2	Esquema del RAM	36
Figura 2.3	Tanque de almacenamiento	37
Figura 2.4	Tanque de distribución	37
Figura 2.5	Bomba (marca Aquasub)	37
Figura 2.6	Accesorios del RAM	38
Figura 2.7	Carcasa RAM	39
Figura 2.8	Extensphere [®]	40
Figura 2.9	Extensphere [®] lavado	40
Figura 2.10	Extensphere [®] dentro de los RLFI	41
Figura 2.11	Placa difusora de flujo	43
Figura 2.12	Lecho fijo	43
Figura 2.13	Placa perforada	43
Figura 2.14	Soporte colonizado	44
Figura 2.15	Sustrato simple estandarizado	44
Figura 2.16	Inoculación del RAM	45
Figura 2.17	Placa difusora modificada	46
Figura 2.18	Tapa modificada	46
Figura 2.19	Mangueras en placa difusora	46
Figura 2.20	Esquema del RAM modificado para su arranque	47

Figura 3.1	Reactor Anaerobio Multitubular (RAM) primera etapa	51
Figura 3.2	Reactor Anaerobio Multitubular (RAM) segunda etapa	52
Figura 3.3	Expansión del 30% de soporte	54
Figura 3.4	Expansión del 30% de soporte con las tres configuraciones	56
Figura 3.5	Expansión del 30% de soporte colonizado y sin colonizar	58
Figura 3.6	Reactor Anaerobio Multitubular en operación	60
Figura 3.7	Cva aplicada al RAM durante su operación	61
Figura 3.8	Monitoreo del pH	62
Figura 3.9	Soporte flotando en el tanque de almacenamiento	63
Figura 3.10	Monitoreo de la DQO _T y DQOs	64
Figura 3.11	Gráfica comparativa del porcentaje de remoción de DQO _T y DQOs	65
Figura 3.12	Monitoreo de SST en la entrada y salida del RAM	67
Figura 3.13	Monitoreo de SSV en la entrada y salida del RAM	67
Figura 3.14	Gráfica comparativa del porcentaje de remoción de SST y SSV	68
Figura 3.15	Comparación del porcentaje de remoción de SST y SSV	69
Figura 3.16	Producción de biogás	69
Figura 3.17	Captación de biogás	69
Figura 3.18	Monitoreo de la DQO _T y DQOs con la adición de nutrientes	70
Figura 3.19	Porcentaje de remoción de DQO _T y DQOs con la adición de nutrientes	71
Figura 3.20	Monitoreo de pH con adición de nutrientes	72
Figura 3.21	Vista microscópica del soporte colonizado del RAM (40X)	73

LISTA DE TABLAS

	Pág.	
Tabla 1.1	Ventajas y desventajas de los RLFI	25
Tabla 1.2	Revistas científicas consultadas	31
Tabla 2.1	Porcentaje del volumen total del RAM	35
Tabla 2.2	Porcentaje del volumen de trabajo del RAM	35
Tabla 2.3	Características de los RLFI (primera etapa)	36
Tabla 2.4	Características de los RLFI (segunda etapa)	38
Tabla 2.5	Propiedades físicas del Extendosphere [®]	40
Tabla 2.6	Volúmenes de soporte (primera etapa)	41
Tabla 2.7	Flujos utilizados en las pruebas hidrodinámicas	41
Tabla 2.8	Volúmenes de soporte (segunda etapa)	42
Tabla 2.9	Composición del sustrato simple estandarizado	45
Tabla 2.10	Parámetros monitoreados durante la operación del RAM	48
Tabla 2.11	Nutrientes adiciones al sustrato	49
Tabla 3.1	Condiciones hidrodinámicas experimentales	53
Tabla 3.2	Expansión del lecho (30% de soporte)	54
Tabla 3.3	Expansión del lecho (30% de soporte) sin placas	55
Tabla 3.4	Expansión del lecho (30% de soporte) con lecho fijo	55
Tabla 3.5	Expansión del lecho (30% de soporte) con lecho semifluidizado	55
Tabla 3.6	Expansión del lecho (30% de soporte) con soporte colonizado	57
Tabla 3.7	Condiciones de operación del RAM	59
Tabla 3.8	Trabajos que emplearon como sustrato jugo de fruta/verdura	60

NOMENCLATURA

Abreviatura	Significado	Unidad
DQO	Demanda Química de Oxígeno	g/L
DQO _T	Demanda Química de Oxígeno Total	g/L
DQO _S	Demanda Química de Oxígeno Soluble	g/L
SST	Sólidos Suspendidos Totales	g/L
SSV	Sólidos Suspendidos Volátiles	g/L
pH	Potencial hidrógeno	-
Cva	Carga volumétrica aplicada	gDQO/L*d
TRH	Tiempo de Residencia Hidráulico	d
MVA	Materia Volátil Adherida	g biomasa/mL de soporte
T	Temperatura	°C
RLFI	Reactor de Lecho Fluidizado Inverso	-
RAM	Reactor Anaerobio Multitubular	-
AGV's	Ácidos Grasos Volátiles	-

INTRODUCCIÓN

Desde la antigüedad el problema de la contaminación ambiental ha sido múltiple, presentándose en formas muy diversas a través de efectos directos o indirectos que dañan seriamente la atmósfera, suelo, agua y seres vivos. Esto ha sido provocado en su totalidad o en parte por la acción humana. Por otro lado, el agotamiento de los combustibles fósiles y el aumento de las emisiones de gases de efecto invernadero han dado lugar a una demanda urgente de energía limpia [Chong et al., 2012].

Los tratamientos biológicos aerobios y anaerobios constituyen dos grandes alternativas para la depuración de aguas residuales y residuos orgánicos biodegradables. Sin embargo, el tratamiento anaerobio resulta mucho más favorable económicamente por el hecho de no requerir aireación, y por la generación de biogás (metano y dióxido de carbono), que se puede utilizar como energía alternativa, lo que permite en muchos casos la autosuficiencia de las plantas de tratamiento [Cervantes-Zepeda et al., 2011].

Los sistemas convencionales de tratamiento anaerobio ofrecen excelentes eficiencias de remoción, sin embargo no reúnen los criterios necesarios para la sustentabilidad de las inversiones en México y países en vías de desarrollo, donde los recursos de capital y mano de obra calificada son limitados. Por ello surge la necesidad de adoptar modernas tecnologías de tratamiento capaces de remover los principales contaminantes, con bajos costo de construcción, mantenimiento, económicamente factibles y autosostenibles.

Actualmente los Reactores de Lecho Fluidizado Inverso (RLFI) son mayormente empleados para el tratamiento biológico anaerobio, por ser un sistema capaz de trabajar a altas cargas volumétricas, en espacios reducidos, en menor tiempo y con menores requerimientos energéticos en comparación con otros sistemas [Sokoł et al., 2008]. Sin embargo, a nivel industrial aún no pueden ser utilizados, debido a que

los grandes volúmenes de aguas residuales, provocan que las dimensiones de los reactores aumenten considerablemente. Conforme el tamaño de un RLFi incrementa se dificulta mantener un flujo adecuado para lograr una expansión homogénea del lecho sin pérdida del material de soporte en el efluente. También se requerirían más bombas y de mayor potencia para tener una buena fluidización, lo que incrementaría el costo de capital y energético.

Por lo anterior, el objetivo de este trabajo de investigación es diseñar y construir un Reactor Anaerobio Multitubular (RAM) a escala laboratorio para lograr mayor estabilidad que en el sistema de lecho fluidizado inverso convencional. Después se realiza un estudio hidrodinámico utilizando diferentes configuraciones y volúmenes de soporte, evaluándose los aspectos hidrodinámicos de velocidad descendencial y expansión del lecho para el análisis de su funcionamiento. Finalmente el RAM se arranca y opera en modo continuo hasta su estabilización empleando como sustrato simple estandarizado jugo de manzana.

OBJETIVO GENERAL

Desarrollar un sistema de tratamiento anaerobio multitubular para lograr mayor estabilidad que en el sistema de lecho fluidizado inverso.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Diseño y construcción de un reactor anaerobio multitubular a escala laboratorio.
- Análisis del funcionamiento del reactor anaerobio multitubular.
- Arranque y estabilización del reactor anaerobio multitubular con un sustrato simple estandarizado.

CAPÍTULO 1

FUNDAMENTOS TEÓRICOS

CAPÍTULO 1 FUNDAMENTOS TEÓRICOS

1.1 Digestión anaerobia

La digestión anaerobia es un proceso biológico en el que la materia orgánica, en ausencia de oxígeno y mediante la acción de un grupo de bacterias específicas, se descompone en “biogás” (mezcla gaseosa de metano (50 a 70 %) y dióxido de carbono (30 a 50 %) con pequeñas proporciones de otros componentes; nitrógeno, oxígeno, hidrógeno, sulfuro de hidrógeno) y un efluente estabilizado. (Lorenzo *et al.*, 2005). La composición o riqueza del biogás depende del sustrato digerido y del funcionamiento del proceso, el cual es considerado una fuente de energía renovable debido al contenido de metano, por lo que es susceptible de un aprovechamiento energético mediante su combustión y/o generación de energía eléctrica.

La digestión anaerobia es un proceso ampliamente conocido y posee una extensa aplicabilidad, esto se debe a que pueden tratarse un gran número de residuos:

- Aguas residuales municipales e industriales
- Residuos agrícolas y ganaderos
- Lodos residuales de plantas de tratamiento
- Residuos industriales orgánicos (Castells *et al.*, 2012).

1.1.1 Etapas de la digestión anaerobia

La vía de degradación anaerobia de la materia orgánica es un proceso escalonado en serie y reacciones paralelas, muy complejo tanto por el número de reacciones bioquímicas que tienen lugar, como por la cantidad de grupos de bacterias involucradas en ellas, se conforma por cuatro etapas: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis (Kothari *et al.*, 2014). En la figura 1.1 se muestra esquemáticamente las distintas etapas del proceso de digestión anaerobia, así como los productos intermedios generados.

La digestión anaerobia se lleva a cabo eficientemente si las tasas de degradación de todas las etapas son iguales. Si la primera etapa es inhibida entonces los sustratos para las etapas posteriores serán limitados y la producción de metano disminuirá.

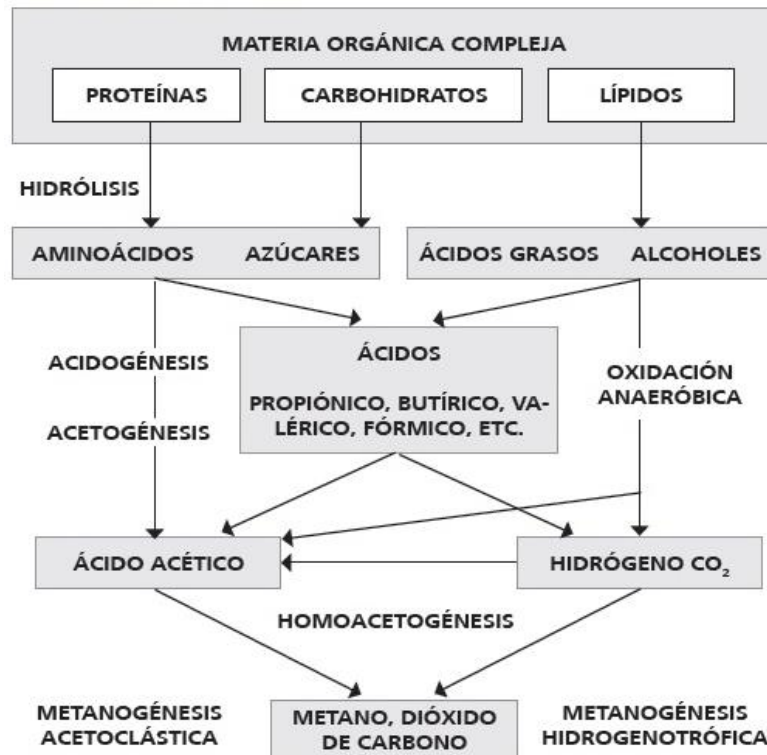


Figura 1.1 Esquema general del proceso de digestión anaerobia (Pavlostathis y Giraldo-Gómez, 1991)

1.1.1.1 Hidrólisis

Es el primer paso necesario para la degradación anaerobia, consiste en el rompimiento enzimático de compuestos de alto peso molecular, como polímeros y lípidos, que pueden servir como fuente de energía y carbono a los microorganismos, al ser transformados en monosacáridos, ácidos grasos y aminoácidos, entre otros. (Lorenzo, 2005). La hidrólisis es relativamente lenta y por lo tanto puede ser considerada una etapa limitante de la velocidad del proceso de digestión anaerobia, especialmente durante el tratamiento de residuos con alto contenido de sólidos.

El grado de hidrólisis y la velocidad del proceso depende de muchos factores, entre otros del pH, la temperatura, la concentración de biomasa hidrolítica, el tipo de materia orgánica particulada (Pavlostathis y Giraldo-Gómez, 1991), y del tamaño de partícula. Angelidaki *et al.*, (1999) consideran que la tasa de hidrólisis de carbohidratos y proteínas está limitada por la concentración total de ácidos grasos volátiles.

1.1.1.2 Acidogénesis

La acidogénesis es la segunda fase del proceso, también llamada fermentación, en ella son degradados los sustratos solubles de bajo peso molecular como aminoácidos y azúcares, obtenidos en la etapa anterior (hidrólisis) que pueden degradarse sin un aceptor o donador de electrón externo; se transforman en ácidos grasos de cadena corta (ácidos grasos volátiles), esto es, ácido acético, propiónico, butírico y valérico, principalmente (Galí *et al.*, 2009). Las bacterias asociadas a este proceso se denominan acidogénicas, y son de tipo facultativa y anaerobia estrictas; colectivamente se denominan “bacterias formadoras de ácidos”.

Debido a que la acidogénesis puede ocurrir en ausencia de un aceptor de electrón y a que los rendimientos de energía libre son mayores, las reacciones pueden ocurrir en presencia de altas concentraciones de H₂ o formiato con mayor rendimiento de biomasa.

1.1.1.3 Acetogénesis

En la tercera etapa, conocida como acetogénesis, mientras que algunos productos de la acidogénesis pueden ser metabolizados directamente por los organismos metanogénicos (H₂ y acetato), otros (valerato, butirato, propionato, algunos aminoácidos, etc.) necesitan ser transformados en productos más sencillos, acetato e hidrógeno, a través de las bacterias acetogénicas.

Como principales productos se obtiene ácido acético, hidrógeno y dióxido de carbono. El metabolismo acetogénico es muy dependiente de las contrataciones de estos productos. Como ejemplos de bacterias acetogénicas, cabe mencionar *Syntrophobacter wolinni* que descompone el ácido propiónico o *Syntrophomonas wolfei* que descompone el butírico. En el grupo de bacterias acetogénicas se incluyen las homoacetogénicas, capaces de producir ácido acético a partir de hidrógeno a los géneros *Acetobacterium*, *Acetoanaerobium*, *Acetogenium*, *Clostridium* o *Eubacterium* (Castells, 2012).

1.1.1.4 Metanogénesis

La metanogénesis es la última fase de la digestión anaerobia, los compuestos como el ácido acético, hidrógeno y dióxido de carbono son transformados, en compuestos finales simples, mayoritariamente metano y dióxido de carbono. La producción de metano es realizada por dos tipos principales de microorganismos: los que degradan el ácido acético (bacterias metanogénicas acetoclásicas) y los que consumen hidrógeno (metanogénicas hidrogenófilas) para producir metano y dióxido de carbono (Appels *et al.*, 2008).

La principal vía de formación del metano es la primera, con alrededor del 70% del metano producido, de forma general. A pesar de ser esa la vía más importante, solo microorganismos de los géneros *Methanosarcina* y *Methanotherix* son capaces de producir metano a partir de acético. Otros géneros a los que pertenecen microorganismos metanogénicos, es este caso hidrogenófilos, son *Methanobacterium*, *Methanococos*, *Methanobrevibacter* o *Methanogenium*, entre otros. Muchos compuestos se han descrito como inhibidores de la metanogénesis, entre los más conocidos están: nitrógeno amoniacal, ácidos grasos de cadena larga, ácidos grasos volátiles, algunos cationes, etc. No todos resultan igualmente inhibidos por los mismos compuestos.

1.1.2 Ventajas y desventajas de la digestión anaerobia

Las principales ventajas que hacen que la digestión anaerobia sea considerada como una tecnología consolidada, son las siguientes:

- Alta producción de biogás compuesto fundamentalmente por CH₄ y CO₂, el cual es empleado como una fuente de energía renovable.
- Alta capacidad para el tratamiento de sustratos degradables con elevada concentración.
- Baja producción de lodos (5 a 10 veces menos que los procesos aerobios).
- Potencial para la producción de metabolitos intermedios (hidrógeno y ácidos grasos volátiles).
- Bajos requerimientos de energía, al no emplear equipo de aireación, generando un ahorro económico, así como de consumo energético.
- Reducción significativa de malos olores.
- Las cantidades de nutrientes (nitrógeno, fósforo, entre otros) requeridas por los microorganismos presentes son relativamente bajas con las que se adicionan en la digestión aerobia.
- Eliminación de microorganismos patógenos (Olsson *et al.*, 2005 citado en Hernández y Delgadillo, 2011).

Por lo contrario las desventajas que se pueden presentar:

- Proceso más lento que la digestión aerobia.
- Sistema de operación compleja por ser muy sensible a los tóxicos, bajas temperaturas y cambios bruscos de temperatura (Mass y Medrano, 2013).
- Lento proceso de arranque y por ello largos periodos para la estabilización, algunos autores aún lo manejan como una considerable desventaja, aunque investigaciones de Alvarado-Lassman *et al.*, (2010) han demostrado que

gracias a ciertas estrategias, como el uso de soportes colonizados y la adición de nutrientes, ayudan a disminuir considerablemente el tiempo de arranque y estabilización.

1.1.3 Parámetros operacionales del proceso de la digestión anaerobia

Siendo la digestión anaerobia un proceso bioquímico complejo, es necesario mantener las condiciones óptimas que permitan la realización tanto de las reacciones químicas dentro de la matriz líquida del reactor, como las reacciones bioquímicas intracelulares que dan vida a los microorganismos en juego. Existen múltiples factores que influyen en el proceso de la digestión anaerobia, entre las más importantes encontramos:

Temperatura. La temperatura es uno de los parámetros más importantes que influyen en la digestión anaerobia, ya que no sólo influye en la actividad de enzimas y co-enzimas, sino que también influye en el rendimiento de metano y la calidad del efluente. Por lo general, las bacterias anaerobias pueden crecer en condiciones psicrófilas (10-30 °C), mesófilas (30-40 °C) y termófilas (50-60 °C). El rendimiento de la digestión anaerobia sin embargo incrementa con un aumento de la temperatura, haciendo hincapié en las ventajas de la operación termófila con sus mayores tasas metabólicas, tasas de crecimiento específica más alta, y las tasas más altas de la destrucción de patógenos junto con una mayor producción de biogás (Zhang *et al.*, 2014). A temperaturas más altas la velocidad de la digestión es más rápida, y por lo tanto se requieren tiempos de retención más cortos y volúmenes de reactor más pequeños son necesarios para el tratamiento de la misma cantidad de residuos.

El efecto de la temperatura en la primera etapa del proceso de la digestión (hidrólisis y acidogénesis) no es muy significativo. La segunda y tercera etapas de descomposición sólo puede ser realizada por ciertos microorganismos especializados (bacterias acetogénicas y metanogénicas) y por lo tanto, estos son

mucho más sensibles hacia cambios de temperatura. Sin embargo, una característica importante de bacterias anaerobias es que su velocidad de desintegración es muy baja a temperaturas inferiores a 15 °C.

pH. El proceso de digestión anaerobia se limita a un intervalo de pH relativamente estrecho desde aproximadamente 6,0 a 8,5; un valor de pH fuera de este rango puede conducir a un desequilibrio. Cada uno de los grupos microbianos implicados en la degradación anaerobia tiene un pH óptimo y puede crecer en un intervalo de pH específico. Los metanógenos y acetógenos tienen un pH óptimo aproximado de 7, mientras que agentes acidógenos tienen menor pH óptimo, alrededor de 6. Hay muchos factores que influyen en el pH. Especialmente ácidos orgánicos y dióxido de carbono contribuirán a un pH más bajo, mientras que el amoníaco contribuirá a un aumento de pH. Otros compuestos que contribuyen a la capacidad de amortiguación son sulfuro de hidrógeno y fosfato (Angelidaki *et al.*, 2003).

Nutrientes. Las bacterias en el proceso de digestión anaerobia requiere micronutrientes y oligoelementos tales como nitrógeno, fósforo, azufre, potasio, calcio, magnesio, hierro, níquel, cobalto, zinc, manganeso y cobre para un crecimiento óptimo (Zhang, 2014). Aunque se necesitan estos elementos en muy bajas concentraciones, la falta de estos nutrientes tiene un efecto adverso en el crecimiento y el rendimiento microbiano. Bacterias que forman metano tienen relativamente altas concentraciones internas de hierro, níquel y cobalto.

Tiempo de residencia hidráulico. Es el tiempo que el sustrato permanece en el reactor, sometido a la acción de los microorganismos. Hay un tiempo de retención mínimo, por debajo del cual no es posible el proceso. Cuanto mayor sea el tiempo de retención mayor producción de biogás por unidad de materia orgánica introducida, y mayor grado de eliminación de materia orgánica se obtendrá, la producción diaria disminuirá una vez superado el óptimo. Es, por tanto, fundamental determinar el tiempo de retención óptimo.

Ausencia de sustancias tóxicas. Las formas no ionizadas de los ácidos grasos volátiles, así como el amoníaco libre o el ácido sulfhídrico son inhibidores de importancia de las bacterias metanogénicas. Estos compuestos presentan una inhibición de tipo reversible. Los metales pesados también son inhibidores, o tóxicos a altas concentraciones. La aclimatación de las poblaciones bacterianas juega un papel importante en el momento de definir concentraciones críticas, así como el efecto sinérgico o antagónico que la presencia de una sustancia puede tener sobre la actividad tóxica de otra. Las concentraciones a partir de las cuales el amoníaco libre es un inhibidor no están definidas nítidamente. Así, mientras unos autores proponen el valor de 200 mg N/L, otros proponen el de 700 mg N/L. Las diferencias que se encuentran sobre este valor en la bibliografía son debidas a aclimatación de las bacterias y al hecho que la concentración de amoníaco libre depende del pH y la temperatura (Castells, 2012).

1.2 Biopelícula

Podemos hablar de una biopelícula como “una comunidad de microorganismos embebidos en una matriz polimérica orgánica y adheridos a una superficie”. Por lo tanto, una biopelícula está compuesta por tres partes principales: 1) microorganismos, 2) una matriz polimérica, y 3) una superficie que actúa como medio de soporte. Si una de estas partes se elimina, la biopelícula no se desarrolla (Lewandowski *et al.*, 1999).

Las biopelículas (Figura 1.2) son ampliamente utilizadas en la biotecnología ambiental porque los reactores de biopelículas pueden funcionar a altas concentraciones de biomasa para el tratamiento de los grandes volúmenes de soluciones acuosas diluidas que son típicos de residuos industriales y municipales sin la necesidad de la separación de la biomasa y el efluente tratado (Nicolella *et al.*, 2000).

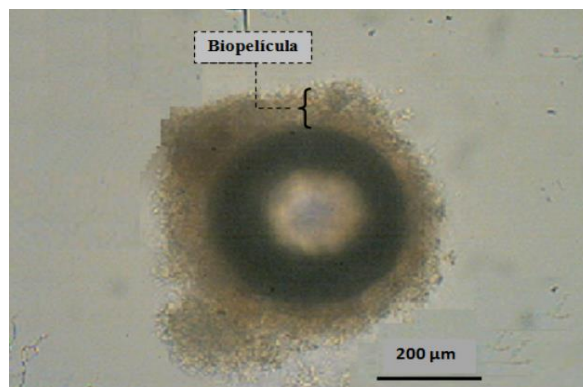


Figura 1.2 Soporte colonizado (40X): en el interior se observa la esfera del soporte extendosphere y alrededor la biopelícula (Alvarado-Lassman *et al.*, 2013)

Los sistemas de biopelícula tienen varias ventajas incluyendo la capacidad de contar con una población microbiana muy variada a distintas profundidades de la biopelícula y en la cual se pueden degradar una variedad de sustratos orgánicos. La biopelícula se forma a partir de la adsorción de los microorganismos en el soporte, continuando así con el crecimiento de los microorganismos, la producción de polímeros extracelulares (PEC), y la captura de otras células microbianas de la fase acuosa.

La estructura química y la fisiología de las biopelículas varían de acuerdo con la naturaleza de las especies que la conforman y del medio ambiente donde se encuentra. Las biopelículas ofrecen a los microorganismos beneficios tales como protección contra agentes dañinos y cambios drásticos en el medio ambiente, y contra los depredadores (González-Brambila y López-Insunza, 2008).

Los principales tipos de reactores que son aplicables para la formación de las biopelículas son el Manto de Lodos de Flujo Ascendente (USB), Biopelícula de Lecho Fluidizado (BFB), Manto de Lodo Granular Expandido (EGSB), Suspensión de Transporte Aéreo de Biopelículas (BAS), Circulación Interna (IC) y Lecho Fluidizado Inverso (RLFI). En USB, BFB y reactores EGSB, las partículas se mantienen fluidizando por un flujo de líquido hacia arriba. En los reactores de BAS, una suspensión se obtiene mediante el bombeo de aire en el sistema, y en reactores de

IC, el gas producido en el sistema impulsa la circulación y mezcla del líquido y los sólidos en un reactor de transporte aéreo similares (Nicoletta, 2000).

Los procesos de desarrollo y desprendimiento de biomasa constituyen un componente fundamental en el funcionamiento de los reactores trifásicos de lecho fluidizado. Un balance apropiado entre dichos procesos permite no sólo mantener un contenido óptimo de microorganismos en el sistema, sino también es condición necesaria para sostener el reactor en operación continua (Trinet *et al.*, 1991). La mayor eficiencia en la remoción de sustratos depende en gran medida de la obtención de la cantidad adecuada de biopelícula adherida al material de soporte. Conforme se incrementa la cantidad de microorganismos, mayor es la tasa de remoción del sustrato de acuerdo con la ecuación de Monod, pero existe un nivel crítico en el que la difusión de sustrato, nutrientes u oxígeno puede ser un factor limitante que afecta la tasa de biodegradación. La máxima tasa de remoción de sustrato ocurre justo antes de que el proceso de difusión se vea limitado (Saucedo *et al.*, 2007).

1.2.1 Etapas de formación de la biopelícula

La formación de una biopelícula está determinada por procesos biológicos, físicos y químicos. En la mayor parte de la literatura, esta formación se representa sobre superficies a través de una serie de etapas (Figura 1.3) que se describen en detalle a continuación:

1. **Adhesión reversible.** El crecimiento bacteriano en superficies depende de la interacción entre varios factores de la superficie bacteriana y del sustrato, además del medio ambiente que los rodea. Tras el acondicionamiento de la superficie ocurre la deposición y adhesión reversible de las células bacterianas. Ese fenómeno ocurre pasivamente por movimiento browniano y simple sedimentación o por movimiento activo de bacterias flageladas lo que

permite el establecimiento de interacciones físicas y electrostáticas entre la superficie bacteriana y el sustrato.

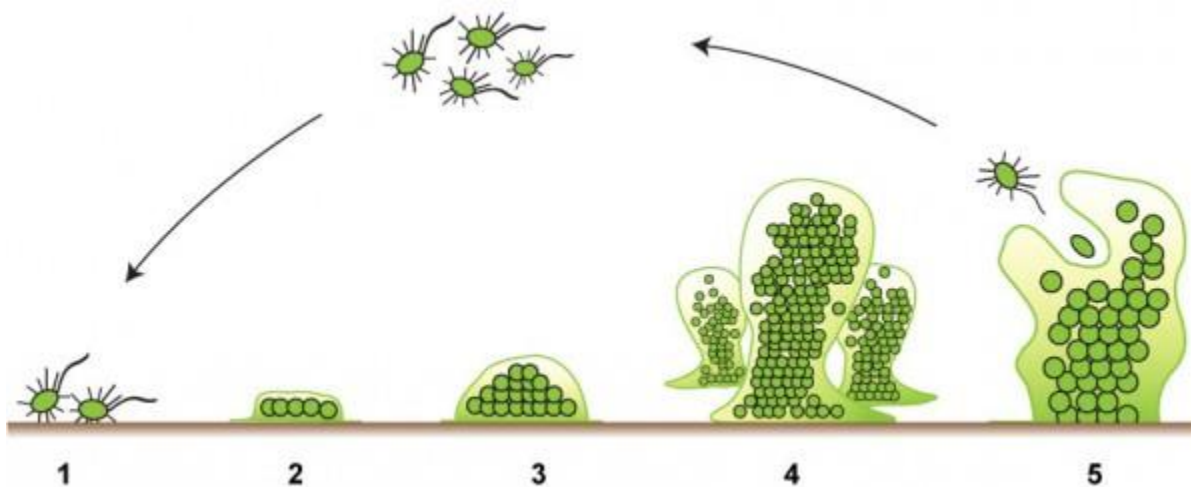


Figura 1.3 Etapas del proceso de formación de la biopelícula

- 2. Adhesión irreversible.** Esta etapa consiste en la adhesión irreversible de las bacterias por producción de sustancias poliméricas extracelulares (SPE) y debido a la estimulación de proteínas receptoras de la pared bacteriana se lleva a cabo el desarrollo de puentes célula-a-célula que las unen unas a las otras, lo que estabiliza la estructura formada en un proceso denominado maduración.
- 3. Formación de microcolonias.** Esta fase es conocida como colonización de la superficie, en el las bacterias adheridas crecen formando microcolonias que son consideradas las unidades fundamentales de una biopelícula (Lindsay y Holy, 2006).
- 4. Desarrollo de estructuras tridimensionales y maduración de la biopelícula.** La maduración de la biopelícula corresponde al crecimiento tridimensional y definición de una arquitectura por las interacciones entre las bacterias adheridas.

5. Dispersión de células. Una vez que la biopelícula ha madurado, tiene lugar la dispersión de células a otras regiones. Inicialmente se pensó que ese proceso era pasivo y dependiente de las fuerzas de arrastre del medio, pero estudios recientes sugieren que la dispersión es un proceso activo y estrictamente regulado por las células adheridas. Asimismo, condiciones ambientales interfieren en la dispersión de la biopelícula entre esas se incluyen la disponibilidad de nutrientes, niveles de oxígeno, pH y presencia de determinados compuestos químicos (Lindsay y Holy, 2006).

1.2.2 Influencia de las condiciones hidrodinámicas

Las condiciones de flujo en el reactor modifican las propiedades físicas de la biopelícula, por consiguiente afectan su estabilidad y el transporte de masa. Si se tienen altas velocidades de flujo (con una misma concentración de sustrato), se tienen biopelículas delgadas y compactas. Conforme se obtiene un incremento en la turbulencia, aumentan la densidad de la biopelícula, su rigidez y su estabilidad mecánica, dando como resultado mayor resistencia al desprendimiento. Esto se puede interpretar como una respuesta biológica en la que las bacterias refuerzan la matriz extracelular para protegerse de las agresivas condiciones hidrodinámicas. Como consecuencia, se tiene un incremento en la resistencia a la difusión y disminuciones en la transferencia de masa y en la tasa de reacción. Por otro lado, las velocidades bajas favorecen la formación de biopelículas gruesas con una mayor cantidad de biomasa activa, concentrada en las capas exteriores, que consumen grandes cantidades de sustrato (Trinet, 1991). Sin embargo, son menos resistentes a los esfuerzos mecánicos, por lo que sus capas superficiales pueden ser afectadas fácilmente por las fuerzas cortantes del agua. Esto significa que la mayor parte de la biomasa activa (la de las zonas exteriores) puede ser eliminada durante el proceso de desprendimiento. A pesar de esto, las biopelículas parecen ser menos susceptibles a la carencia de sustrato en ciertos periodos que otras formas de crecimiento microbiano.

1.2.2.1 Espesor

En los reactores de biopelícula, el control del espesor es reconocido como uno de los parámetros de control más importantes en el desempeño y de la eficiencia del proceso ya que puede ser un factor limitante en la capacidad de operación. Sin embargo, el control del espesor de la biopelícula es difícil y resulta un factor crítico en la optimización de este tipo de sistemas (Nicolella, 2000). Las condiciones de flujo constituyen un parámetro que influye en el espesor. Para una misma carga orgánica, al incrementar el número de Reynolds disminuye el espesor de la biopelícula debido al incremento de las fuerzas cortantes. También se ha visto que, en biopelículas que “crecieron” en flujo laminar, el espesor será significativamente mayor cuando se tienen cargas orgánicas altas mientras que en flujo turbulento el espesor de la biopelícula no se modifica significativamente al variar la carga orgánica. Esto significa que en flujo laminar la carga orgánica va a influir más en el espesor de la biopelícula mientras que en flujo turbulento influirá más el número de Reynolds.

Una película delgada, activa y estable, ofrece más ventajas para el tratamiento del agua residual ya que permite un mejor intercambio de nutrientes. Sin embargo, las biopelículas profundas permitirían llevar a cabo una combinación de metabolismos aerobios y anaerobios que puede darle una mayor eficiencia al sistema. El espesor de la biopelícula es uno de los parámetros que controla la forma y los perfiles de difusión (Beyenal y Lewandowsky, 2000).

1.2.2.2 Densidad

La densidad de la biopelícula estará en función de la densidad de las células, los exopolímeros, el sustrato, la cantidad de agua y los productos residuales del metabolismo celular. Las biopelículas no tienen características físicas uniformes. Al analizar su estructura en secciones horizontales, Okabe *et al.*, (1998) observaron que la biopelícula es más densa en la parte profunda. La densidad es mayor cuando se

aplican cargas orgánicas bajas. La densidad también aumenta con la turbulencia. Así, se pueden distinguir dos tipos de bacterias a distintas profundidades en una biopelícula: las activas y las inactivas para los fines del proceso. Las primeras son aquellas que se encuentran en la parte superior y pueden obtener los nutrientes que requieren por difusión (Garzón-Zúñiga y González-Martínez, 1996). Las bacterias menos activas se encuentran en la capa más profunda de la biopelícula y son las responsables del grosor. A pesar de ser definidos como microorganismos inactivos, se considera que en las capas profundas también hay actividad metabólica, ya que se presentan procesos de biodegradación ácida, oxidación de la materia orgánica y reducción de los iones nitrito y nitrato formados en la capa aerobia.

1.2.2.3 Geometría

Tradicionalmente se pensaba que las biopelículas eran estructuras planas, homogéneas e independientes del ambiente complejo y dinámico en el cual crecen. También se pensaba que la difusión era el mecanismo predominante en el transporte de masa y que los perfiles de sustrato y la profundidad de penetración estaban basados únicamente en el espesor de la biopelícula sin importar la microestructura interna. Recientemente se ha visto que existe una considerable heterogeneidad estructural relacionada con la profundidad y las condiciones ambientales a las que están sujetas las biopelículas. Las biopelículas están formadas por una red de biomasa filamentosa que a menudo presenta forma de panal, misma que ayuda al transporte de masa hacia las células de las capas inferiores y que, además, la vuelve más resistente a las fuerzas cortantes ocasionadas por el flujo del agua (Okabe, 1998).

La estructura de la biopelícula, a su vez, influye en los mecanismos y velocidad de transporte en el interior de la biopelícula (Beyenal y Lewandowski, 2000). En cinéticas limitadas por la concentración de sustrato se forman biopelículas lisas en las que decrece la rugosidad después de cubrirse la superficie del medio de soporte.

Cuando hay suficiente sustrato, las bacterias proliferan en colonias circulares y la biomasa se desarrolla de manera radial; este régimen se puede llamar de expansión isotrópica de la biopelícula. Conforme crece la biopelícula pueden ocurrir dos cosas: si el sustrato no está limitado, las colonias se desarrollarán hasta formar una biopelícula continua, pero si hay carencia de sustrato, el crecimiento de la biopelícula será preferentemente perpendicular a la superficie del medio de soporte y las colonias proliferarán con forma filamentosa.

1.2.2.4 Porosidad

La porosidad indica la irregularidad volumétrica de la estructura de la biopelícula. Al analizar la estructura de la biopelícula en cortes verticales, se ha observado claramente que existen canales de agua que conectan la parte profunda con la fase líquida. Por otro lado, se ha visto que una misma biopelícula, después de tres semanas de crecimiento, se vuelve más densa y algunos espacios intersticiales se van llenando; sin embargo, siguen existiendo aberturas hasta el fondo de la biopelícula. Su porosidad decrece durante el periodo de expansión isotrópica. La porosidad varía entre el 84 y 93% en las capas superficiales y de 67 a 68% en las capas más profundas de la biopelícula (Bishop, 1997).

1.3 Sustratos estandarizados

El crecimiento microbiano está influenciado tanto por aspectos nutricionales como por físicos. Los factores físicos incluyen: la concentración de iones hidrógeno (pH), la temperatura, concentración oxígeno, la humedad y la presión hidrostática y osmótica. Por otro lado, los factores nutricionales incluyen: la disponibilidad de carbono, nitrógeno, azufre, fósforo y otros minerales y en algunos casos vitaminas.

Los microorganismos en la fase de crecimiento, hacen reproducciones de sí mismos que requieren los elementos que se encuentran en su composición química, por lo

que es necesario darles los nutrientes y elementos químicos en una forma accesible desde el punto de vista metabólico. También requieren de energía para sintetizar macromoléculas y para retener a los gradientes químicos esenciales través de sus membranas (Alvarado-Lassman *et al.*, 2013).

Para superar las deficiencias nutricionales, un amplio espectro de productos de suplementación mineral comerciales están disponibles en el mercado, dirigiéndose más o menos las necesidades específicas de elementos traza (Ortner *et al.*, 2014). Sin embargo, la adición de nutrientes traza también implica el riesgo de una sobredosis de metales pesados, de esta manera causando efectos tóxicos sobre el consorcio microbiano de la digestión anaeróbica.

1.3.1 Macronutrientes y micronutrientes

Las sustancias que son necesarias para el metabolismo de los microorganismos de acuerdo con las cantidades relativas requeridas por los mismos, se dividen de manera general en macronutrientes y micronutrientes. Los macronutrientes o nutrientes son: Carbono (C), Hidrógeno (H), Oxígeno (O), Nitrógeno (N), Azufre (S) y Fósforo (P). Los micronutrientes u oligoelementos son elementos químicos requeridos para la vida de los organismos en muy pequeñas cantidades, se trata de elementos esenciales también llamados elementos traza: Hierro (Fe), Níquel (Ni), Magnesio (Mg), Calcio (Ca), Sodio (Na), Bario (Ba), Molibdeno (Mo), Selenio (Se) y Cobalto (Co) (Wall *et al.*, 2014).

La adición de micronutrientes se basa en los requerimientos nutricionales que poseen las bacterias metanogénicas debido a que posiblemente, estos elementos no se encuentren presentes o en las cantidades adecuadas en el sustrato empleado. Se considera la inclusión de vitaminas, ya que estimulan el crecimiento de las bacterias metanogénicas. La presencia de iones libres de metales es otro aspecto importante a tener en cuenta (Demirel y Scherer, 2011).

Las bacterias metanogénicas tienen requerimientos especiales en cuanto a elementos metálicos y a algunos cationes; en particular, todos los metanógenos requieren Níquel, Cobalto y Hierro para su crecimiento y algunos tienen un gran requerimiento de Sodio. Otro aspecto importante es el requerimiento de una fuente de Hidrógeno por parte de los metanógenos para llevar a cabo reacciones redox; esto repercute directamente en la cantidad de biogás producido.

Por lo que las cantidades necesarias de nutrientes son esenciales para el buen funcionamiento y la estabilidad dentro de un biorreactor (Cresson *et al.*, 2006), una limitación en los metales traza esenciales puede significar un decremento en la producción de metano y además un aumento en la inestabilidad del sistema.

Alvarado-Lassmann *et al.*, (2013) estudiaron la influencia de los nutrientes y oligoelementos en un reactor de lecho fluidizado inverso (RLFI). El sustrato utilizado fue zumo de manzana comercial diluido, el cual es un sustrato rico en hidratos de carbono con un contenido de materia orgánica de 110 g DQO/L. La ausencia de sólidos en el zumo de manzana permitió la formación de una biopelícula homogénea. El reactor se hizo funcionar en modo continuo por un período de 170 días con un TRH de 24 h. Determinaron que la adición de nutrientes y oligoelementos al reactor era esencial para reducir la puesta en marcha y el tiempo de estabilización, ya que en la fase inicial sin ellos la eficiencia del reactor sólo alcanzó el 36% de eliminación de la DQO a pesar del hecho de que el valor de pH se mantuvo estable y cerca de la neutralidad. Una vez tomada la adición de nutrientes y elementos traza la remoción de DQO aumentó bruscamente alcanzando valores de 90% en sólo 30 días.

1.4 Clasificación de los reactores

Actualmente, la evolución de la tecnología anaerobia ha dado lugar a tres generaciones de reactores, las cuales se caracterizan porque en cada generación se reduce el tiempo de retención hidráulico (TRH) y mejora el contacto entre la biomasa

y la materia orgánica, lo cual significa menores volúmenes de reactor, costos más bajos, sistemas más estables y de más fácil operación (Díaz-Báez *et al.*, 2002).

1.4.1 Reactores de primera generación

Fueron los primeros que se desarrollaron y corresponde a aquellos donde la biomasa se encuentra en suspensión, es decir, los microorganismos flotan sin estar fijos a ninguna superficie, existe un mínimo contacto con el sustrato. Estas condiciones de operación dan lugar a que la eficiencia en la remoción de la materia orgánica sea baja con producciones de biogás, algunos de ellos son: fosa séptica, tanque Imhoff, lagunas anaerobias, digestores de tipo rural, entre otros (Figura 1.4).

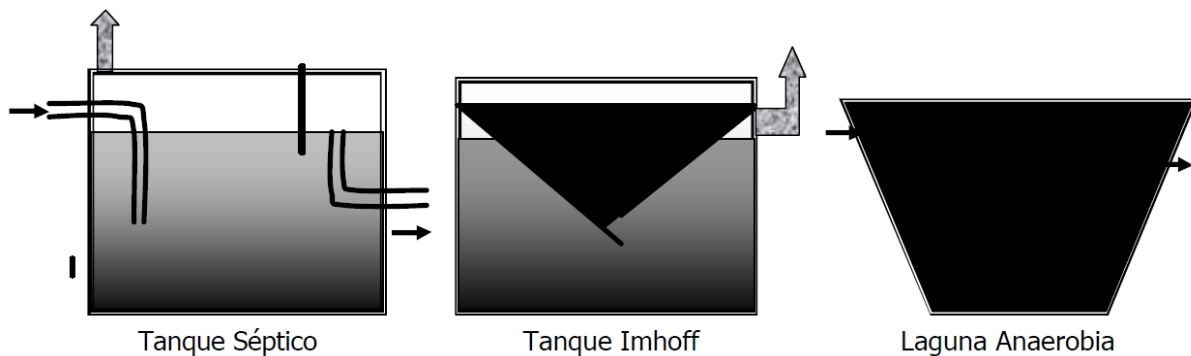


Figura 1.4 Sistemas de primera generación

1.4.2 Reactores de segunda generación

Los reactores de segunda generación tienen como característica fundamental que los microorganismos son retenidos en el reactor, ya sea por medio de un soporte en el cual se adhieren en forma de biopelícula, o bien, por las propiedades de sedimentación que poseen.

En estos sistemas se logran menores tiempos de retención hidráulica de 0.5 a 3 días, lo que da como resultado volúmenes de reactor menores, mayor estabilidad y

facilidad en su operación. Los dos mecanismos más aplicados son a) inmovilización del lodo por adhesión a material sólido - Filtros anaerobios de flujo ascendente y descendente; b) separación líquido-sólido del efluente, con el retorno de los sólidos separados al reactor - UASB, el cual usa un sedimentador interno (Figura 1.5).

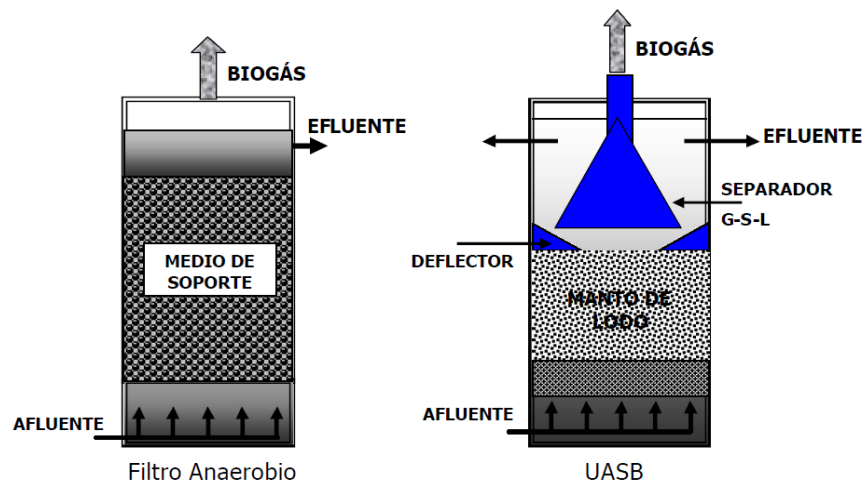


Figura 1.5 Sistemas de segunda generación

1.4.3 Reactores de tercera generación

Es la más reciente generación de reactores anaerobios, al igual que los de segunda generación tienen los microorganismos en forma de biopelícula adheridos a un soporte, pero este se expande o fluidifica con altas velocidades de flujo. Utilizan una corriente de recirculación para provocar un flujo ascendente y fluidificar el lecho de partículas de soporte que puede ser de arena, material plástico, cerámica y otros tipos de materiales.

Ejemplos de estos sistemas (Figura 1.6), son los reactores de lecho fluidizado (LF) de flujo ascendente o descendente (inverso), lecho de lodos granular expandido (EGSB), reactor de biopelícula en suspensión por una corriente de aire (BAS) y reactor de circulación interna (IC) (Nicolella, 2000).

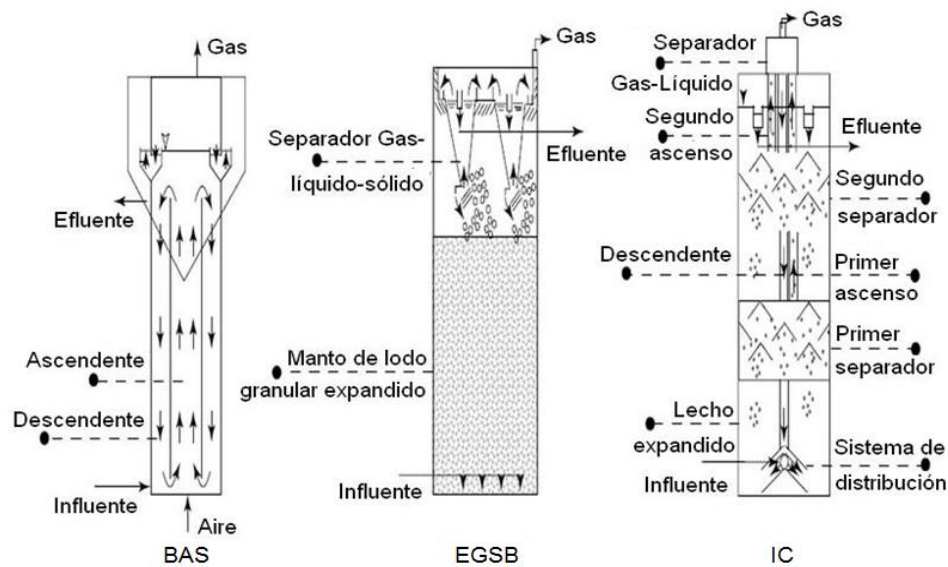


Figura 1.6 Sistemas de tercera generación (Nicolella, 2000).

1.4.3.1 Reactor de Lecho Fluidizado Inverso (RLFI)

Los Reactores de Lecho Fluidizado son reactores trifásicos gas-líquido-sólido, formados por un lecho de partículas de pequeño tamaño sobre las que se mantiene adherida la biomasa y a través del cual circula un fluido con una velocidad lo suficientemente elevada como para provocar la fluidización del lecho, tal y como muestra el esquema de la Figura 1.7. Para lograr estas altas velocidades de flujo, suele ser necesario recircular parte del efluente. En estos reactores, la mayor parte de la biomasa se encuentra adherida, siendo muy pequeña la fracción que se encuentra en suspensión (Chun-Sheng *et al.*, 2006).

Los Reactores de Lecho Fluidizado Inverso utilizan partículas de soporte con una densidad específica más baja que la del líquido, estas partículas son fluidizadas hacia abajo. La fluidización inversa ha recibido mucha menor atención que la fluidización normal, ya que la mayoría de estudios científicos que se han llevado a cabo sobre este tema son orientados solo a la parte hidrodinámica.

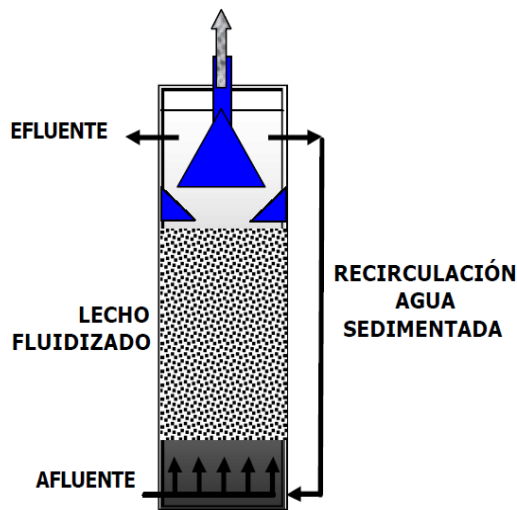


Figura 1.7 Esquema de un Reactor de Lecho Fluidizado

En la Tabla 1.1 se muestran las grandes ventajas que presentan los RLF así como algunos inconvenientes.

Tabla 1.1 Ventajas y desventajas de los RLF

VENTAJAS	DESVENTAJAS
<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Capacidad para tratar altas cargas orgánicas. <input type="checkbox"/> Tiempos de residencia hidráulica cortos (inferiores a 12 h). <input type="checkbox"/> Alcanza rendimientos de depuración superiores al 80%. <input type="checkbox"/> Movilidad de las partículas sólidas. <input type="checkbox"/> Se pueden alcanzar concentraciones muy elevadas de microorganismos. <input type="checkbox"/> La operación es relativamente estable. <input type="checkbox"/> No requiere de grandes espacios para la instalación del reactor. 	<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Requiere de largos periodos de arranque. <input type="checkbox"/> Dificultad en la medición del lecho expandido (dinámica).

1.5 Soportes para reactores tipo lecho fluidizado

El propósito de los medios de soporte o empaque es el de proporcionar un medio sólido y estable para la formación de la biopelícula. Cuando se opera con lechos fluidizados, el aspecto fundamental a considerar, dado el modo de operación de estas tecnologías, es el tamaño de partícula del soporte. Estas partículas, además, deben ser inertes a las sustancias en contacto con él, de manera que no inhiba el crecimiento de la biopelícula, ni que sea atacado por las sustancias presentes a tratar. También deben tener forma y tamaño uniforme para obtener la fluidización uniforme del lecho en toda la longitud del digestor. Otro parámetro a tener muy en cuenta es el coste del soporte (Gorris *et al.*, 1989). Algunas de las propiedades físico-químicas del soporte cambian cuando se adhiere a él la biomasa, lo que hace que los Reactores Anaerobios de Lecho Fluidizado (RALF) sean de difícil control. Existen diferentes tipos de soportes entre los cuales se encuentran la arcilla, biolita, material volcánico, puzolana, bentonita, sepiolita, carbón activado, cerámica, resinas sintéticas, espuma de vidrio, polietileno y extensosphere (Winkler, 1995).

El soporte de un lecho fluidizado debe de reunir las siguientes características:

- **Densidad.** Densidades de soporte muy altas están directamente relacionadas con un elevado consumo energético. Para minimizar los requerimientos de velocidad de fluidización, conviene trabajar con densidades bajas, pero teniendo en cuenta que densidades muy bajas pueden dificultar el control del sistema.
- **Tamaño.** Partículas pequeñas ofrecen más superficie para la adhesión de microorganismos con menores costes energéticos. En la práctica, los diámetros recomendados se mueven en el intervalo 0.1-0.5 mm. Tamaños inferiores conducen a la formación de biopelículas excesivamente pequeñas y difícilmente manipulables.

- **Geometría.** Debe tenderse a partículas esféricas.
- **Dureza.** Las partículas de relleno deben ser lo suficientemente resistentes como para soportar la abrasión física, ya que al estar en continuo movimiento sufren constantes colisiones con las otras partículas y con las paredes del propio reactor (Balaguer *et al.*, 1997).
- **Rugosidad y área superficial.** El soporte debe proporcionar una superficie irregular que proteja a la biomasa de la abrasión, además de una superficie específica máxima para la colonización bacteriana. Son especialmente adecuados los materiales porosos con estructura interna también porosa por la gran superficie útil que ofrecen.
- **Inercia química y capacidad de adsorción.** La naturaleza del material puede favorecer la adhesión de algún tipo de moléculas que promueva el proceso de adsorción posterior de los microorganismos. La velocidad de colonización difiere para los diferentes soportes, por ello la naturaleza del material influye decisivamente en el periodo de puesta en marcha. En resumen, se debe elegir un soporte que permita un rápido arranque, en el que se desarrolle una biopelícula de gran estabilidad, que resulte económico tanto en sí mismo como en los costes de operación a los que da lugar y que presente elevada resistencia al ataque físico, químico y biológico.

1.5.1 Soporte extensphere

El soporte extensphere (Figura 1.8) está hecho de pequeñas partículas de sílice, con una burbuja de aire en el interior, con una densidad de 0.7 g/cm^3 , diámetro promedio de $169 \text{ }\mu\text{m}$, tamaño de partícula promedio de $100\text{-}400 \text{ }\mu\text{m}$ y área superficial de $0.0355 \text{ m}^2/\text{g}$ (Alvarado-Lassman, 2008).

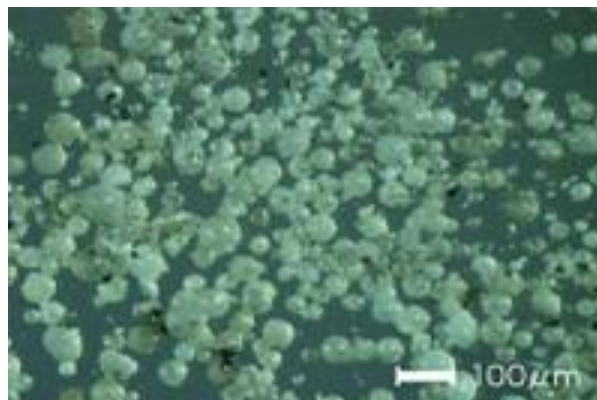


Figura 1.8 Micrografía óptica de soporte extensosphere

1.6 El fenómeno de la fluidización

El fenómeno de fluidización se da a partir del flujo de un fluido (líquido, gas o ambos) a través de un lecho compuesto por partículas sólidas, a medida que el flujo se incrementa las partículas son elevadas levemente y dejan de estar en permanente contacto unas con otras, logrando un efecto final de mezcla donde se favorece el contacto entre las fases presentes, generando en el sistema reaccionante alta conversión y eficiencia.

Las principales ventajas de la fluidización consisten en que el sólido está vigorosamente agitado por el fluido que circula a través del lecho, y la mezcla de los sólidos asegura que no existen prácticamente gradientes de temperatura en el lecho aún con reacciones fuertemente exotérmicas o endotérmicas. El movimiento de los sólidos también da lugar a elevadas velocidades de transmisión de calor hacia la pared o los tubos de refrigeración sumergidos en el lecho. Además de esto, debido al comportamiento fluidizado de las partículas sólidas, los reactores de lecho fluidizado presentan un mezclado más uniforme que el reactor de lecho fijo. Los gradientes de concentración axial y radial se disminuyen permitiendo un mejor contacto entre el líquido y sólido mejorando la eficiencia en los procesos de degradación (Levin y Gealt, 1997).

En el caso del Lecho Fluidizado Inverso la fase continua es líquida, la generación de biogás en la digestión anaerobia produce un flujo de gas a contracorriente del flujo del líquido. La fase gaseosa no es responsable de la fluidización pero modifica las condiciones hidrodinámicas del reactor. La formación de biogás no provoca una reducción inicial del soporte por el contrario provoca una expansión suplementaria del lecho. La oposición del flujo líquido al gaseoso mejora la mezcla de la fase líquida mientras crea turbulencias suplementarias en el lecho.

1.6.1 Fluidización en presencia de biomasa

La formación de una biopelícula alrededor de las partículas en un lecho fluidizado provoca una modificación de su tamaño pero también de su densidad. Además, la densidad de la biopelícula parece depender en gran medida del tipo de soporte y de la velocidad de fluidización. Una de las características importantes de los lechos fluidizados biológicos es que el tamaño de las biopartículas no es uniforme debido a las diferencias de tamaño de las biopelículas. Eso implica a menudo un fenómeno de estratificación, es decir de selección axial según el tamaño de las biopartículas. En el caso del lecho inverso, las partículas más colonizadas tienen una densidad superior (porque la biopelícula pesa más) y van a tender a decantar y ubicarse en la parte inferior del lecho (Sokoł *et al.*, 1998).

1.7 Parámetros de diseño para los Reactores de Lecho Fluidizado Inverso

Para realizar el diseño de un equipo se deben establecer cuáles son los parámetros más importantes y tener conocimiento sobre la relación que tienen con otras variables, en otros casos es necesario disponer de valores recomendados para el diseño de acuerdo a la heurística.

Dado el número de variables que intervienen en los parámetros de diseño de un Reactor de Lecho Fluidizado, Iza *et al.*, (1991) recomienda los siguientes pasos en el diseño de estos reactores:

- Selección del material soporte y de sus características físicas (tamaño, forma, densidad, dureza, área específica y rugosidad) y químicas (carácter inerte, propiedades de adsorción).
- Elección de la expansión y cálculo de la velocidad superficial del líquido.
- Dimensionado del lecho (diámetro-altura) y de los sistemas de bombeo.
- Evaluación de los efectos causados por el crecimiento de la biopelícula.
- Efecto de la producción de biogás.

1.8 Reactores Multitubulares

Los reactores multitubulares son ampliamente utilizados en la industria química y de refinación. Su diseño consta básicamente de tubos en paralelo inmersos en un fluido de enfriamiento donde llevan a cabo la reacción, proporcionando así un área de transferencia de calor muy grande para facilitar el control de la temperatura de reacción (García, 1999).

Dentro de las tecnologías de tratamiento anaerobio en aguas residuales actualmente no se tienen antecedentes en el estado del arte sobre algún tipo de Reactor Multitubular, en la Tabla 1.2 se muestran algunos ejemplos de revistas científicas que fueron consultadas en búsqueda de información.

Tabla 1.2 Revistas científicas consultadas

Revista	Factor de Impacto
Bioresource Technology	4.494
Water Environment Research	0.865
Biotechnology and Bioengineering	4.126
Water Research	5.528
Water Science and Technology	1.106
Critical Reviews in Environmental Control	3.468
Chemical Engineering Journal	4.321
Renewable and Sustainable Energy Reviews	5.901

CAPÍTULO 2

MATERIALES Y MÉTODOS

CAPÍTULO 2 MATERIALES Y MÉTODOS

En este capítulo se describe la metodología que permitió desarrollar el presente trabajo de investigación, la cual se muestra de forma general en un diagrama de bloques en la Figura 2.1.

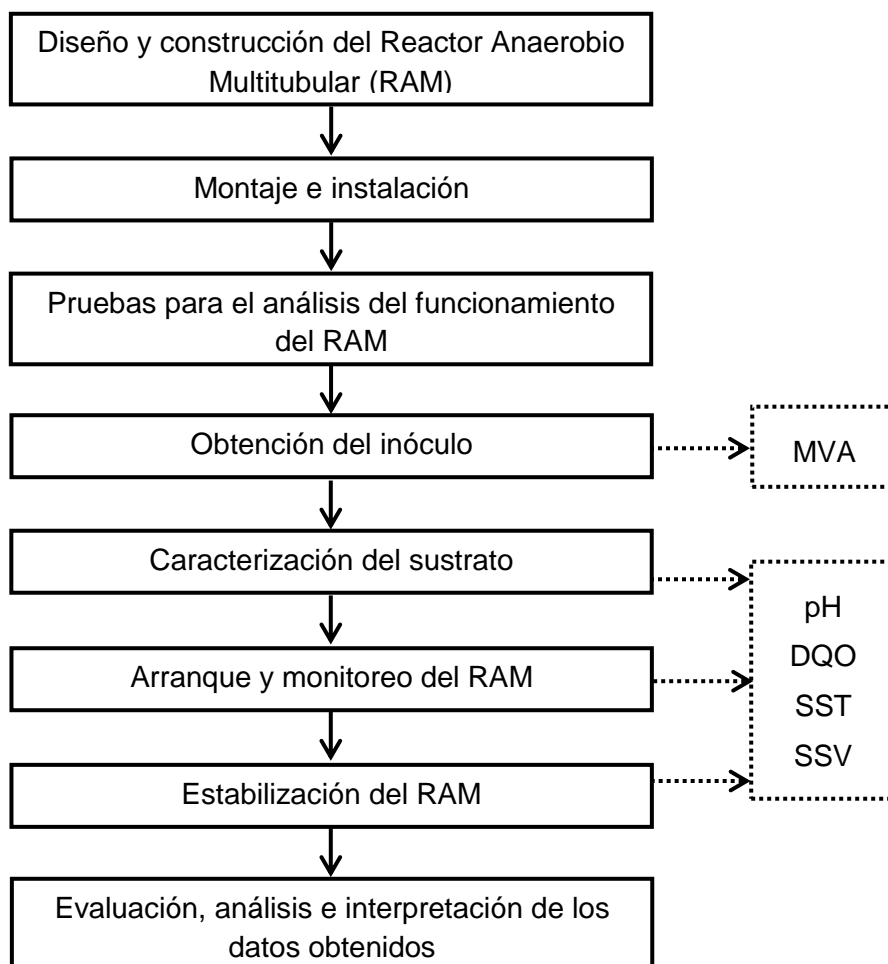


Figura 2.1 Diagrama de la metodología general

2.1 Diseño del Reactor Anaerobio Multitubular (RAM)

El RAM fue diseñado a escala laboratorio mediante una configuración de tres lechos fluidizados inversos en paralelo. Este número fue seleccionado tomando en cuenta que se debe mantener un porcentaje adecuado de material de soporte (entre 10-

40%), que el material debe mantenerse fluidizado y por último que el soporte no salga por la parte inferior del reactor. Otros de los factores que se consideraron en el diseño y construcción del reactor, se tomaron de la literatura y de experiencias previas [Alvarado-Lassman, 2013; Alvarado, L. A., 2012; Lastre, P. J., 2012; Alvarado-Lassman, 2008; Lozano, M. V., 2005] como:

- Se tomó como tiempo de residencia hidráulico (THR) 1 día, lo cual permitió tener una mayor factibilidad en el seguimiento de las variables del proceso a nivel laboratorio.

$$TRH = \frac{V_R}{Q} \quad (2.1)$$

- El caudal de diseño para la alimentación se determinó teniendo en cuenta la disponibilidad de una bomba peristáltica en el Laboratorio de Ingeniería Ambiental I, la cual tiene como caudal mínimo de trabajo 72 mL/min, se partió de este caudal y posteriormente se disminuyó de acuerdo a las necesidades de arranque del reactor.
- El caudal de diseño para la recirculación se determinó teniendo en cuenta la disponibilidad de una bomba para pecera con altura máxima de 0.90 m, la cual tiene como caudal mínimo de trabajo 312 mL/min.
- El diseño del reactor puede hacerse en forma rectangular o cilíndrica, siendo la cilíndrica la que proporciona mayores ventajas hidrodinámicas como por ejemplo, la menor posibilidad de formación de zonas muertas.
- Aguilar, (2014) reportó en su trabajo de investigación que la concentración del sustrato simple estandarizado (jugo de manzana) es de 110 gDQO₅/L, este valor se tomó como base de cálculo para el diseño.

- Porcentaje del volumen total y del volumen de trabajo del reactor (Tabla 2.1 y 2.2).

Tabla 2.1 Porcentaje del volumen total del RAM

Volumen	%
Trabajo	85
Cámara de biogás	15
Total del reactor	100

Tabla 2.2 Porcentaje del volumen de trabajo del RAM

Volumen	%
Inóculo	30
Útil	70
Trabajo	100

- Dimensionado del lecho (diámetro-altura) y selección de la expansión.
- Material de soporte que en este caso es Extendsphere[®] debido a que tiene una densidad inferior al agua y a que su forma esférica permite una expansión más homogénea del lecho.
- Evaluación de los efectos causados por el crecimiento de la biopelícula y producción de biogás.

2.2 Construcción del RAM

2.2.1 Primera etapa

Se realizó la construcción del RAM, el cual está conformado por 3 tubos de acrílico con longitud de 21 cm y diámetro nominal de 4.5 cm (con 3 mm de espesor), capacidad de 333 mL, sellados por la parte superior con una tapa desmontable fabricada con nylamid, en la Figura 2.2 se puede observar un esquema. Cada tubo de acrílico funcionó como un Reactor de Lecho Fluidizado Inverso (RLFI), estos en

conjunto conforman la estructura básica del reactor cuyas características específicas se observan en la Tabla 2.3.

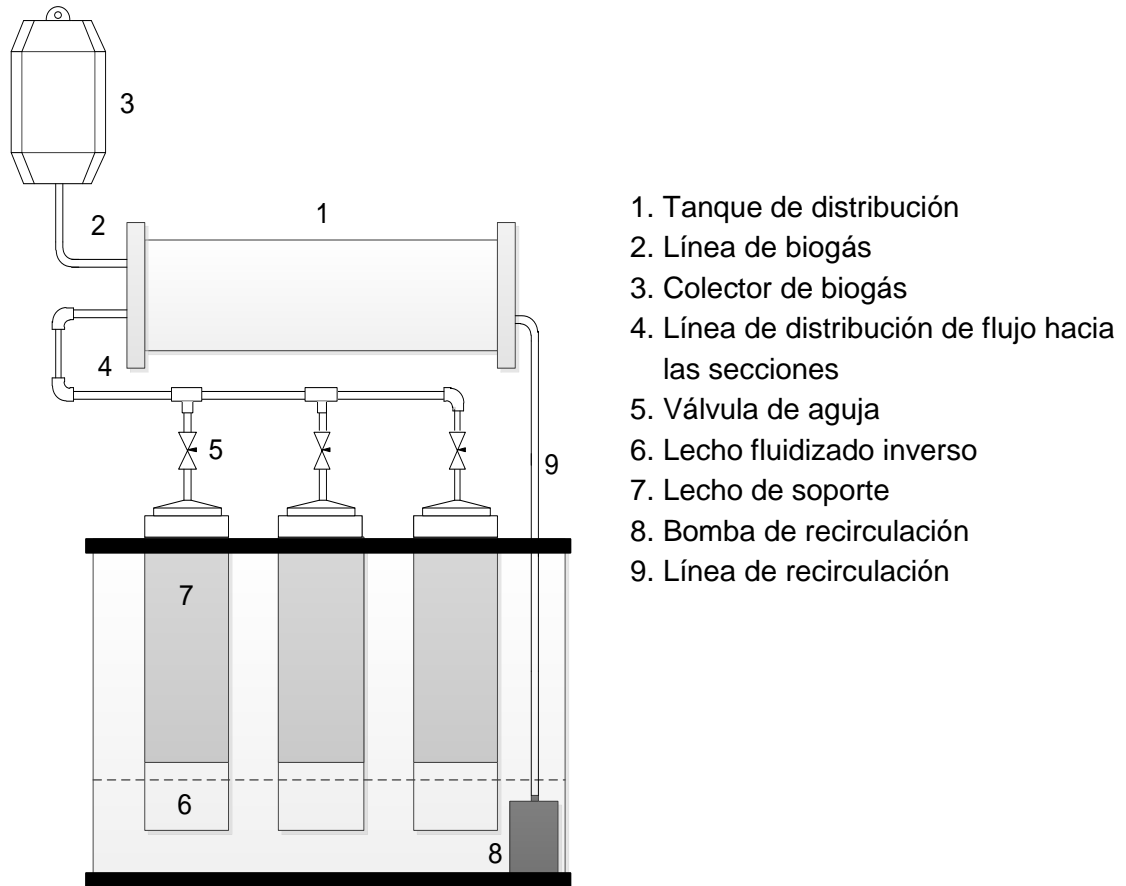


Figura 2.2 Esquema del RAM

Tabla 2.3 Características de los RLFI (primera etapa)

Diámetro externo	5.1 cm
Diámetro interno	4.5 cm
Altura total	21 cm
% para cámara de biogás	15% (3 cm)
Altura útil	18 cm
Volumen útil total	286 mL
Volumen de soporte sin colonizar	86 mL (5.4 cm de altura)
Volumen útil del reactor	184 mL

Los RLFi están dentro de un tanque de almacenamiento de vidrio de 30 cm de largo por 15 cm de ancho y 22 cm de alto (con 3 mm de espesor), capacidad de 10 L (Figura 2.3). Un tubo de acrílico con longitud de 27 cm, diámetro nominal de 7 cm (con 4 mm de espesor) y capacidad de 1 L, sellado por ambos lados con una tapa fija fabricada de nylamid, funciona como un tanque de distribución (Figura 2.4). Las tapas de nylamid tienen 3 perforaciones alrededor en donde atraviesan 3 espárragos de acero, asegurados con tuercas con el fin de hacer un cierre hermético en el tanque y evitar fuga de biogás o sustrato. También cuenta con entradas para la alimentación, recirculación así como la salida para la captación de biogás.



Figura 2.3 Tanque de almacenamiento

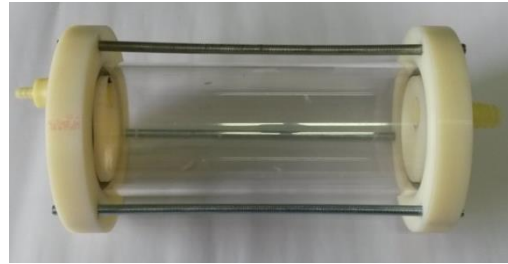


Figura 2.4 Tanque de distribución

Para la recirculación del efluente se empleó una bomba Aquasub con capacidad de 450 L/h y altura máxima de 0.90 m (Figura 2.5). La captación de biogás se realizó en una bolsa de PVC con capacidad de 1 L.



Figura 2.5 Bomba (marca Aquasub)

Los accesorios como codos, niples y tees son de PVC de 1/2" de la marca spears[®], algunos adaptadores para las conexiones de nylamid, válvulas de aguja de 1/8" de latón marca Parker[®] (Figura 2.6) y mangueras de plástico.

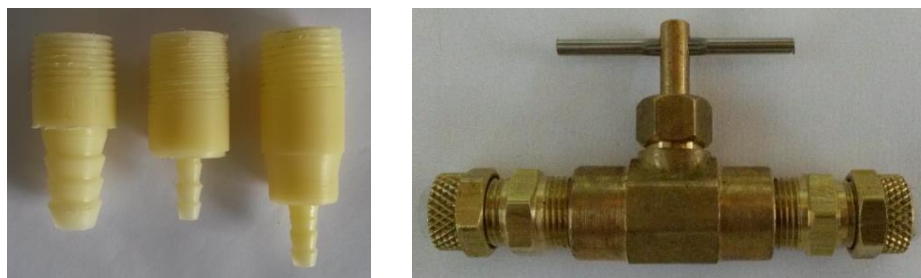


Figura 2.6 Accesorios del RAM: adaptadores y válvula de agua

2.2.2 Segunda etapa

Se incrementó la relación altura diámetro de 21/5 a 60/5 de los tubos de acrílico (RLFI), las características específicas se observan en la Tabla 2.4. Las dimensiones del tanque de almacenamiento también se modificaron a 30 cm de largo por 15 cm de ancho y 72 cm de alto (con 3 mm de espesor), capacidad de 32.4 L.

Tabla 2.4 Características de los RLFI (segunda etapa)

Diámetro externo	5.1 cm
Diámetro interno	4.5 cm
Altura total	60 cm
% para cámara de biogás	15% (9 cm)
Altura útil	51 cm
Volumen útil total	811 mL
Volumen de soporte sin colonizar	239 mL (15 cm de altura)
Volumen útil del reactor	540 mL

2.3 Montaje e instalación del RAM

Para montar el RAM se diseñó y construyó una carcasa de material de PVC (Figura 2.7), el tanque de distribución así como la bolsa de captación de biogás van en la parte superior y el sistema multitubular en la parte de abajo.



Figura 2.7 Carcasa RAM

El Reactor Anaerobio Multitubular se instaló en el Instituto Tecnológico de Orizaba, en el laboratorio de Ingeniería Ambiental I.

2.4 Pruebas para el análisis del funcionamiento del RAM

Las características de fluidización y la expansión del lecho son parámetros hidrodinámicos importantes que deben ser considerados para el buen desempeño de los reactores de lecho fluidizado inverso.

El material de soporte utilizado fue Extendsphere[®] (Figura 2.8), son pequeñas partículas de sílice con una burbuja de aire en el interior el cual presenta características que se muestran en la Tabla 2.5. Este soporte fue seleccionado porque tiene una densidad inferior al agua y su forma esférica permite una expansión más homogénea del lecho. El soporte fue lavado con agua para eliminar las impurezas que contenía (Figura 2.9).

Tabla 2.5 Propiedades físicas del Extendsphere[®] (Alvarado-Lassman *et al.*, 2008)

Parámetro	Valor
Densidad (g/cm ³)	0.7
Diámetro promedio (μm)	169
Tamaño de partícula promedio (μm)	100-400
Área superficial (m ² /g)	0.0355

Figura 2.8 Extendsphere[®]Figura 2.9 Extendsphere[®] lavado

2.4.1 Pruebas hidrodinámicas (primera etapa)

Una vez instaladas las mangueras, válvulas y bomba en el reactor, se debe verificar que no existan fugas en las conexiones, para poder realizar las pruebas hidrodinámicas con soporte sin colonizar.

Los porcentajes de soporte fueron seleccionados en base a trabajos previos del grupo de investigación y de autores. Nicolella *et al.*, (2000) determinaron que la altura mínima del lecho no puede ser mayor del 50% de la altura total del reactor. Alvarado-Lassman *et al.*, (2008) realizaron diversas pruebas hidrodinámicas usando como material de soporte Extendsphere[®] y polietileno, sugirieron utilizar un 25% del volumen útil del reactor para soporte y velocidades menores a 6 m/h para fluidizarlo.

Las pruebas se realizaron con 10, 20, 30 y 40% de soporte (Figura 2.10) en base al volumen útil (286 mL) de los RLFI (Tabla 2.6).

Tabla 2.6 Volúmenes de soporte (primera etapa)

% volumen	mL Extendsphere	cm de lecho
10	29	1.8
20	57	3.6
30	86	5.4
40	118	7.2



Figura 2.10 Extendsphere® dentro de los RLFI (20, 30 y 40% volumen de soporte de izquierda a derecha)

Se colocó el soporte en los RLFI y se esperó aproximadamente unos 20 min a que el lecho se compactará, después se hicieron pasar diferentes flujos de agua a través del mismo por la parte superior de menor a mayor, esperando entre cada uno por lo menos 20 minutos para apreciar la máxima compactación y tomar mediciones correctas del lecho expandido. Para regular el flujo se utilizó una válvula de aguja de 1/8" marca Parker®, en base al número de vueltas a la aguja se determinó la velocidad y el flujo (Tabla 2.7).

Tabla 2.7 Flujos utilizados en las pruebas hidrodinámicas

Velocidad	Flujo (mL/min)
1	16
2	34
3	100
4	126
5	144
6	232
7	288
8	328

El cálculo del % de expansión se realizó con la ecuación 2.2.

$$\% \text{ de expansión} = \frac{H_{\text{lecho}} - H_0}{H_0} * 100 \quad (2.2)$$

Donde: H_0 es la altura inicial del lecho y H_{lecho} es la altura del lecho expandido.

2.4.2 Pruebas hidrodinámicas (segunda etapa)

Se llevó a cabo el mismo procedimiento que en la primera etapa, con 25, 30 y 35% de soporte en base al volumen útil (811 mL) de los RLFI (Tabla 2.8).

Tabla 2.8 Volúmenes de soporte (segunda etapa)

% volumen	mL Extendosphere	cm de lecho
25	206	13
30	239	15
35	286	18

2.4.2.1 Expansión con diferentes configuraciones

En base a los resultados obtenidos de las primeras pruebas hidrodinámicas y con la finalidad de mejorar la distribución del flujo, expansión del lecho y disminuir la pérdida de soporte, se realizaron pruebas con otras dos configuraciones; lecho fijo y lecho semifluidizado, únicamente con un 30% de soporte sin colonizar.

Una placa difusora de flujo (Figura 2.11) soporta en la parte superior del lecho fluidizado el lecho fijo que se compone de 28 tubos de polietileno corrugado de 3 cm de largo y 5 mm de diámetro (Figura 2.12), estos fueron tratados con esmalte acrílico color gris para favorecer el desarrollo y adherencia microbiana.

El lecho semifluidizado se forma restringiendo la expansión del lecho fluidizado por medio de una placa perforada (Figura 2.13) que se ubica en la parte inferior del lecho. De esta manera en una parte del lecho, se forma un lecho fijo con la partículas

cuya expansión está siendo restringida y en la otra se tiene un lecho fluidizado con las partículas que si pueden expandirse. Es decir, que un lecho semifluidizado tradicional está compuesto de un lecho fijo y un lecho fluidizado (Chern *et al.*, 1981).



Figura 2.11 Placa difusora de flujo



Figura 2.12 Lecho fijo



Figura 2.13 Placa perforada

2.4.2.2 Expansión con soporte colonizado

Se realizaron pruebas hidrodinámicas con soporte colonizado que se tomó del RLFI de la planta piloto del Instituto Tecnológico de Orizaba (ITO). La prueba de expansión se llevó a cabo con un 30% de soporte colonizado (239 mL) y utilizando un lecho semifluidizado inverso.

2.5 Obtención del inóculo

El inóculo que se empleó para el arranque del RAM fue soporte colonizado del RLFI (Figura 2.14) que se encuentra en la planta piloto del Instituto Tecnológico de

Orizaba. Este reactor es alimentado con Residuos Sólidos Orgánicos Municipales (RSOM) que en su mayoría son frutas y verduras. Debido a que el inóculo inicialmente estaba en límites inferiores de colonización, durante un mes se alimentó y recirculo el RLFi de manera constante, y se monitoreo con pruebas de Materia Volátil Adherida (MVA) periódicamente, esto se realizó con la finalidad de que se desarrollara una buena biopelícula que ayudara a la inoculación del RAM.



Figura 2.14 Soporte colonizado

2.6 Preparación del sustrato

El sustrato simple estandarizado (Figura 2.15) que se empleó para la alimentación del RAM fue jugo de manzana comercial, este se utilizó en el trabajo de investigación de Aguilar, (2014). Es un sustrato rico en hidratos de carbono (Tabla 2.9) con un contenido de materia orgánica de 110 gDQO₅/L, el cual dio como resultado biopelículas homogéneas y libres de presencia de partículas sólidas que dañaran a la misma.

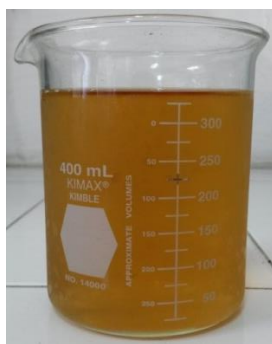


Figura 2.15 Sustrato simple estandarizado

Tabla 2.9 Composición del sustrato simple estandarizado

Sustancia	Concentración (g/mL)
Proteínas	0
Grasas (lípidos)	0
Carbohidratos (hidratos de carbono)	23
Azúcares	23
Fibra dietética menos de	1
Sodio	0.007

Al jugo de manzana comercial se le determinó el contenido de materia orgánica en términos de DQO_T y DQO_S , dando como resultado un contenido de 124 $gDQO_T/L$ y 117 $gDQO_S/L$. El jugo de manzana tiene un pH de 3.5 que al ser diluido para la alimentación del RAM aumentaba a 6.6 y posteriormente se ajustaba a un pH de 7.5 agregando bicarbonato de sodio.

2.7 Inoculación y arranque del RAM

Se extrajeron 717 mL de soporte colonizado del RLF1 de la planta piloto del Instituto Tecnológico de Orizaba. Para inocular el RAM se depositaron en cada tubo de acrílico 239 mL del soporte colonizado (Figura 2.16), posteriormente fue sellado completamente para evitar pérdida de sustrato o fuga de biogás. El arranque se inició después de la inoculación, el reactor se alimentó de manera continua con un flujo de 17 mL/min con TRH de 24 h y Cva inicial de 3 $gDQO/L*d$.



Figura 2.16 Inoculación del RAM

Al tanque de almacenamiento se le realizó una perforación de 1/8" (a la altura donde inicia el lecho fluidizado) y se colocó un adaptador para la salida del efluente del reactor. Para la alimentación del influente se utilizó una bomba peristáltica de velocidad variable marca Masterflex Cole-Parmer®.

Durante los primeros días del arranque del reactor se observó que los lechos fluidizados bajaban de su nivel, esto fue causado por el biogás que al no encontrar una salida en la parte superior comenzaba a acumularse en los tubos de acrílico empujando los lechos hacia abajo, por tal motivo se realizaron algunas modificaciones en el RAM. En las placas difusoras de flujo se hicieron más aberturas (Figura 2.17) y se colocaron mangueras (Figura 2.19), a las tapas de los tubos de acrílico se les hizo un orificio y colocó un adaptador (Figura 2.18), todo lo anterior con la finalidad de mejorar la salida y captación del biogás. En la Figura 2.20 se puede observar un esquema del RAM modificado para su arranque y operación.



Figura 2.17 Placa difusora modificada



Figura 2.18 Tapa modificada



Figura 2.19 Manguera en placa difusora (fuera y dentro del tubo)

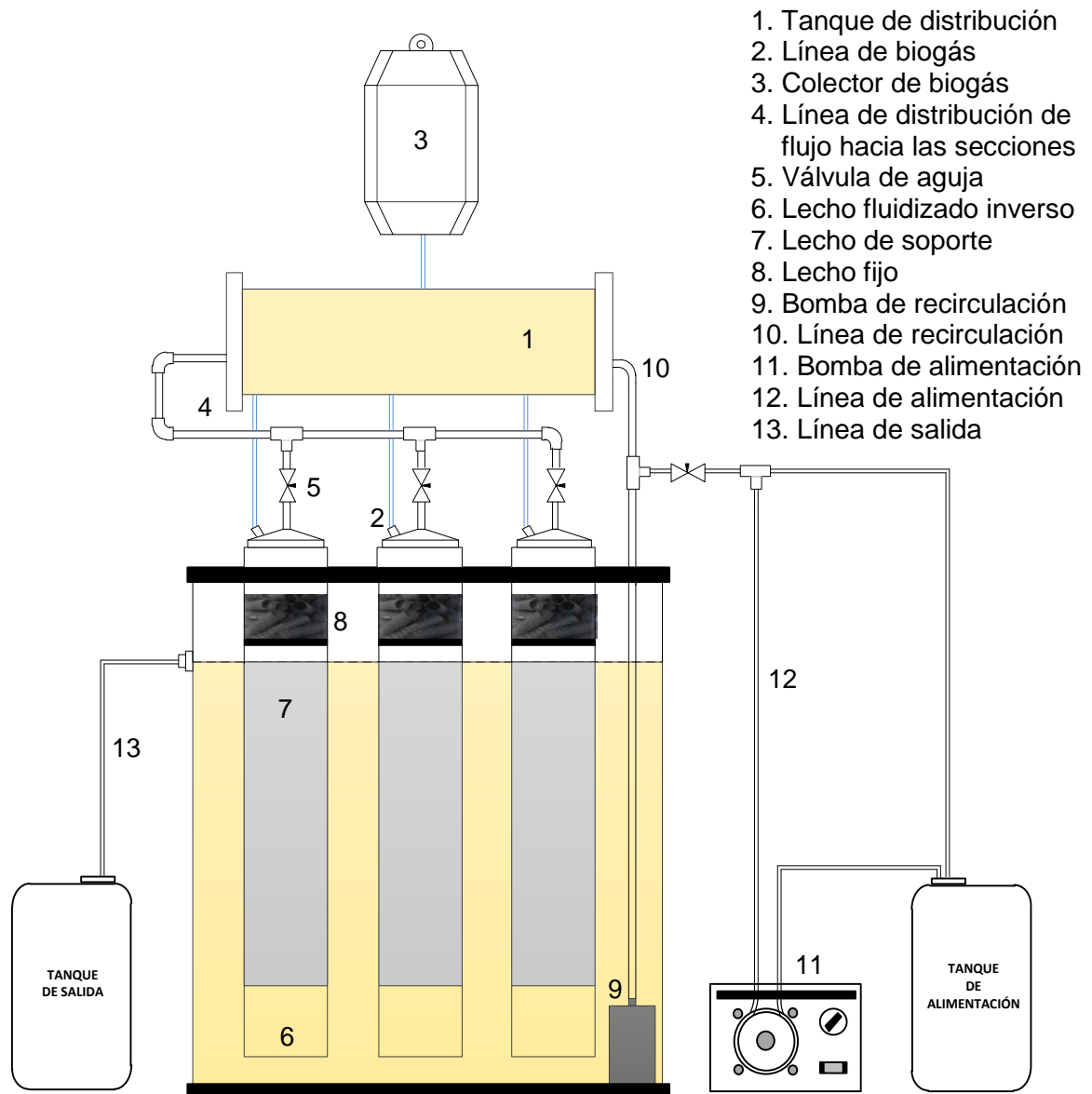


Figura 2.20 Esquema del RAM modificado para su arranque

2.8 Operación y estabilización del RAM

Durante el periodo de arranque, operación y estabilización del RAM se realizó un monitoreo de los parámetros mostrados en la Tabla 2.10.

Tabla 2.10 Parámetros monitoreados durante la operación del RAM

Físicos	Unidad
pH	-
Sólidos Suspendidos Totales (SST)	g/L
Sólidos Suspendidos Volátiles (SSV)	g/L
Químicos	Unidad
Demanda Química de Oxígeno Total (DQO _T)	g/L
Demanda Química de Oxígeno Soluble (DQO _S)	g/L

2.8.1 Medición de pH

La determinación de pH se realizó con un potenciómetro marca ORION modelo 250A siguiendo el método Potenciométrico 4500-H B de la Standard Methods.

2.8.2 Determinación de Sólidos Suspendidos Totales y Volátiles

Los Sólidos Suspendidos Totales (SST) y Volátiles (SSV) se determinaron por el método gravimétrico según la norma NMX-AA-034-SCFI-2001, para la eliminación de humedad se utilizó una estufa marca Riossa modelo H-33 y para la calcinación una mufla marca Felisa modelo FE-340. Los crisoles y cantidad de muestra se pesaron en una balanza analítica digital marca Ohaus Adventurer.

2.8.3 Determinación de Demanda Química de Oxígeno (DQO)

La Demanda Química de Oxígeno Total y Soluble se realizó por el Micrométodo Colorimétrico 5220 D Standard Methods, para suministrar el calor de reacción se utilizó una placa digestora (COD Reactor) marca HACH, un espectrofotómetro ODYSSEY DR2500 marca HACH para leer la transmitancia de las muestras y una pipeta automática Eppendorf Research para tomar las alícuotas. Para la DQO soluble se centrifugó la muestra en una centrífuga marca HERMLE Z 383.

2.8.4 Determinación de Materia Volátil Adherida (MVA)

La determinación de MVA al soporte del reactor se realizó por gravimetría. Se tomó una muestra de 3 mL con una jeringa, después de que se separara el agua se determinó visualmente el volumen real de soporte que contenía la muestra, posteriormente se depositó en un sobre de aluminio a peso constante para llevarlo a la estufa a 105° C por 24 horas y al finalizar a la mufla por 2 horas a 550° C. Con esta determinación se obtuvo la cantidad de sólidos volátiles (SV) adheridos al medio de soporte, el resultado se reportó en g de biomasa/mL de soporte.

2.9 Adición de nutrientes al sustrato

Debido a que el sustrato simple estandarizado (jugo de manzana comercial) no ofrece todos los nutrientes que necesita el consorcio bacteriano para desarrollar biopelículas y observar un buen rendimiento del reactor, se adicionaron en la alimentación sales minerales y oligoelementos en las concentraciones que se muestran en la Tabla 2.12 como Aguilar, (2014) sugiere en su trabajo de investigación.

Tabla 2.11 Nutrientes adicionados al sustrato

Componente	Sustancia	Concentración (mg/L)
Macronutrientes	Bicarbonato de Sodio	1200
	Fosfato Monobásico de Potasio	1500
	Fosfato Dibásico de Potasio	900
	Cloruro de Amonio	125
	Sulfato de Magnesio	30
Micronutrientes	Cloruro de Potasio	0.5
	Cloruro de Cobalto	0.1
	Cloruro Ferroso	0.5
	Cloruro de Calcio	0.5

CAPÍTULO 3

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CAPÍTULO 3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el presente capítulo se presentan y discuten los resultados obtenidos durante el desarrollo de la metodología experimental mencionada en el capítulo 2.

3.1 Diseño y construcción del Reactor Anaerobio Multitubular (RAM)

3.1.1 Primera etapa

Se diseñó y construyó el Reactor Anaerobio Multitubular (RAM) a escala laboratorio como se muestra en la Figura 3.1, en base a las consideraciones mencionadas en la sección 2.1 y 2.2 del capítulo anterior. El RAM se encuentra en el Laboratorio de Ingeniería Ambiental I del Instituto Tecnológico de Orizaba.

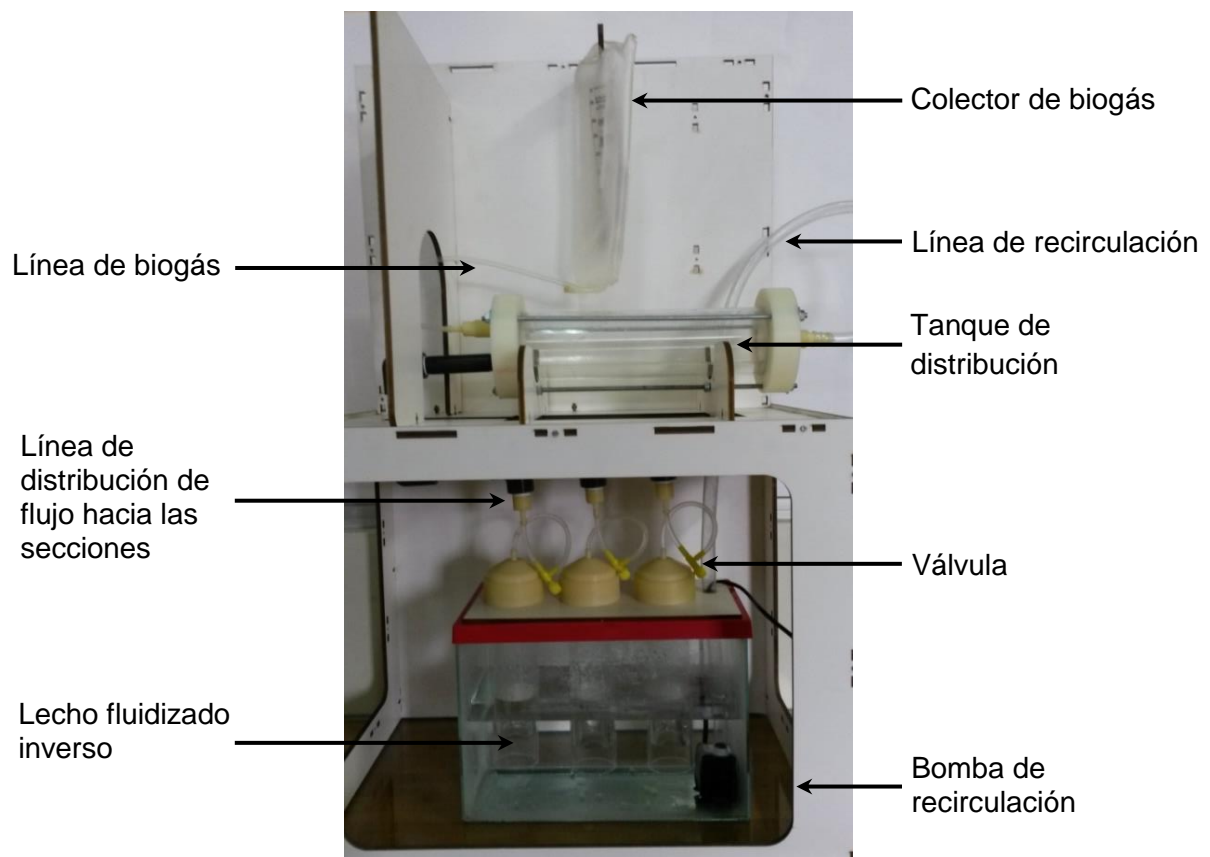


Figura 3.1 Reactor Anaerobio Multitubular (RAM) primera etapa

3.2.2 Segunda etapa

En la primera etapa de este proyecto de investigación se probó el funcionamiento del RAM y se detectaron ciertas oportunidades de mejora para el control y distribución del flujo en las tres secciones. Por tal motivo en la segunda etapa se incrementó la relación altura diámetro de 21/5 a 60/5 de los RLFI (tubos de acrílico), para lograr una mejor expansión del lecho y disminuir la pérdida de soporte, en la Figura 3.2 se muestra una imagen del RAM con esta modificación.

Únicamente se incrementó la altura de los RLFI, porque al aumentar el diámetro del reactor existe un incremento en el área transversal, lo que implica una mayor cantidad de partículas cuyo peso debe ser superado por la velocidad mínima de fluidización. Por esto, al aumentar el diámetro es consecuente que se necesite una mayor velocidad mínima de fluidización (Florez y Posada, 2007).



Figura 3.2 Reactor Anaerobio Multitubular (RAM) segunda etapa

3.2 Pruebas para el análisis del funcionamiento del RAM

Se realizaron pruebas hidrodinámicas de expansión del lecho fluidizado con tres configuraciones diferentes, con soporte limpio y colonizado, con la finalidad de establecer la mejor configuración para el arranque y operación del reactor, así como la expansión adecuada del lecho para evitar pérdidas de soporte.

3.2.1 Pruebas hidrodinámicas (primera etapa)

Los resultados de las diferentes pruebas hidrodinámicas que se desarrollaron con soporte sin colonizar se muestran en la Tabla 3.1, todos los experimentos fueron realizados por triplicado.

Al utilizar 10 y 20% de soporte con altas velocidades ocurrió una ligera expansión, que al transcurso de 30 min, el lecho nuevamente se compactó. En el caso del 40% de soporte y velocidades más altas de 5.43 m/h causó pérdidas considerables de soporte. Con 30 % de soporte y velocidades mayores a 4.75 m/h y menores a 10.86 m/h, se observó una adecuada y gradual expansión del lecho.

Tabla 3.1 Condiciones hidrodinámicas experimentales

Cantidad de soporte (%)	Velocidad descendional (m/h)							
	0.60	1.28	3.77	4.75	5.43	8.75	10.86	12.37
10	x	x	x	x	x	x	x	x
20	x	x	x	x	x	x	x	x
30	x	x	x	✓	✓	✓	✓	-
40	x	x	x	x	-	-	-	-

✓ Expansión, x Sin expansión, - Excede expansión

Teniendo en cuenta la velocidad descendional y la expansión del lecho, una cantidad de soporte igual al 30% del volumen de trabajo del reactor presenta buena estabilidad. La expansión relativa del lecho (30% de soporte) se muestra en la Tabla

3.2, esta se define por la relación de la altura del lecho estático a la altura de la columna (H/H_0).

Tabla 3.2 Expansión del lecho (30% de soporte)

Velocidad	Velocidad descensional (m/h)	Lecho (cm)	% de expansión del lecho
1	0.60	5.4	30
2	1.28	5.4	30
3	3.77	5.4	30
4	4.75	11	61
5	5.43	14	77
6	8.75	16	88
7	10.86	18	100

En la Figura 3.3 se observa el perfil de la expansión relativa del 30% de soporte de Extendosphere[®] contra la velocidad descensional. Conforme la velocidad aumenta gradualmente la expansión del lecho también, alcanzando hasta un 100% de la expansión.

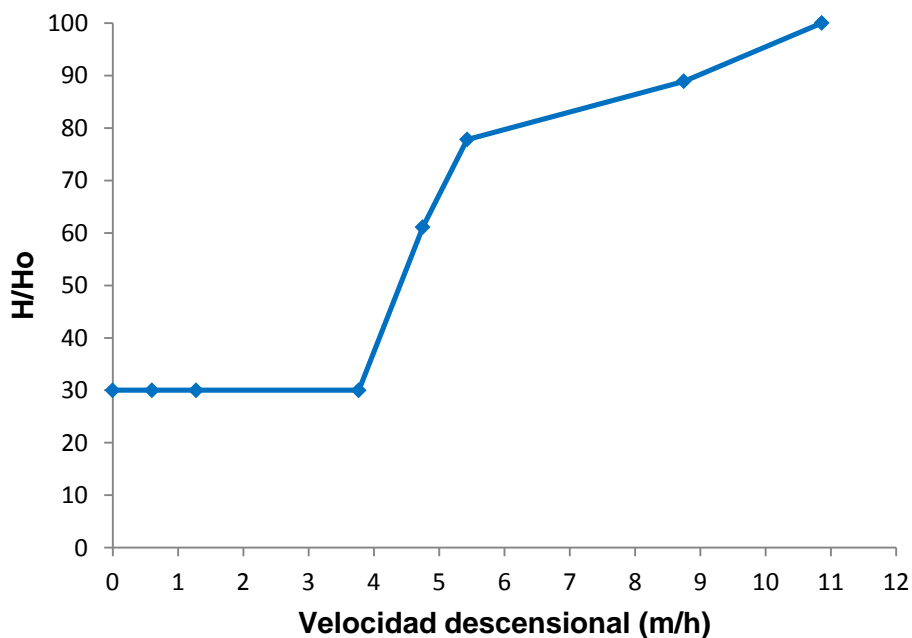


Figura 3.3 Expansión del 30% de soporte

3.2.2 Pruebas hidrodinámicas (segunda etapa)

3.2.2.1 Expansión con diferentes configuraciones

Se realizaron pruebas hidrodinámicas con tres configuraciones; sin placas, lecho fijo y lecho semifluidizado, únicamente con un 30% de soporte sin colonizar. Los resultados obtenidos de la expansión del lecho se muestran en las Tablas 3.3, 3.4 y 3.5. Todos los experimentos fueron realizados por triplicado.

Tabla 3.3 Expansión del lecho (30% de soporte) sin placas

Velocidad	Velocidad descensional (m/h)	Lecho (cm)	% de expansión
1	0.60	15	30.00
2	1.28	15	30.00
3	3.77	16	31.37
4	4.75	17	33.33
5	5.43	20	39.22
6	8.75	24	47.06
7	10.86	51	100.00

Tabla 3.4 Expansión del lecho (30% de soporte) con lecho fijo

Velocidad	Velocidad descensional (m/h)	Lecho (cm)	% de expansión
1	0.60	15	30.00
2	1.28	15	30.00
3	3.77	20	39.22
4	4.75	26	50.98
5	5.43	29	56.86
6	8.75	51	100.00

Tabla 3.5 Expansión del lecho (30% de soporte) con lecho semifluidizado

Velocidad	Velocidad descensional (m/h)	Lecho (cm)	% de expansión
1	0.60	17.5	34.31
2	1.28	19	37.25
3	3.77	28	54.90
4	4.75	30	58.82
5	5.43	37	72.55
6	8.75	50	98.04

Cuando al lecho fluidizado no se le colocó ninguna placa, el % de expansión fue solamente del 47%, con velocidades entre 0.60 m/h y 8.75 m/h sin tener pérdida de soporte. El lecho fijo mejoró la distribución del flujo, se obtuvo un % de expansión del 57%, con velocidades entre 0.60 m/h y 5.43 m/h sin pérdida de soporte. Con el lecho semifluidizado se obtuvo la mejor distribución del flujo, la expansión fue adecuada y gradual hasta llegar a un 98%, con velocidades entre 0.60 m/h y 8.75 m/h. En la Figura 3.4 se observa el perfil de la expansión relativa del 30% de soporte contra la velocidad descendencial de las tres configuraciones que se emplearon.

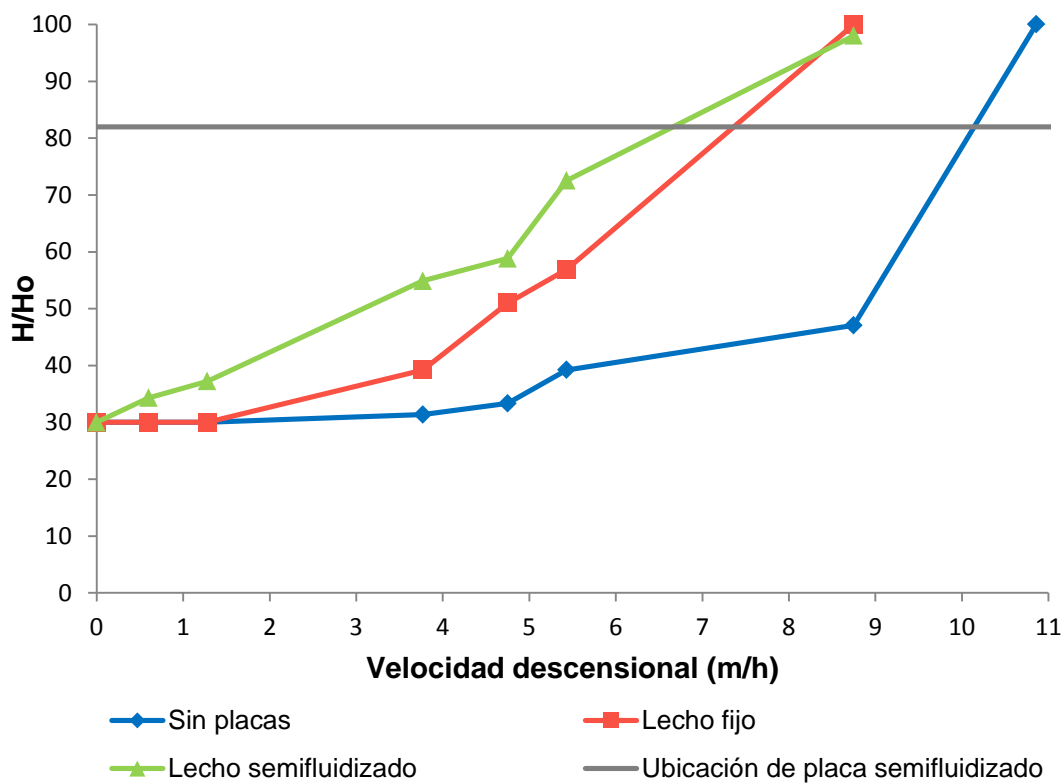


Figura 3.4 Expansión del 30% de soporte con las tres configuraciones

La expansión mínima se observa en todas las configuraciones para las velocidades inferiores a 1.28 m/h, debido a la aglomeración de partículas y a velocidades superiores de 1.28 m/h incrementa gradualmente la expansión. Una velocidad de 5.43 m/h se puede establecer para una expansión del lecho adecuada, con un requerimiento mínimo de energía para el Extendsphere®.

Domínguez-Hernández *et al.*, (2015) recomiendan instalar placas de semifluidizado porque ayudan a detener el soporte dentro del reactor aun cuando el flujo se eleve, hay que analizar correctamente el tamaño y tipo de apertura en la placa ya que si este es demasiado pequeño se taponeara con soporte y biomasa, si es demasiado grande no retendrá efectivamente el soporte. En base a lo anterior y los resultados obtenido en las pruebas de expansión del lecho, se recomienda para el arranque y operación utilizar un lecho semifluidizado inverso.

3.2.2.2 Expansión con soporte colonizado

De acuerdo con Schreyer y Coughlin, (1999) a medida que se realiza la colonización del medio de soporte se observa estratificación del lecho, lo que ocasiona un incremento de la densidad del soporte de manera dinámica, esto implica variaciones en la expansión utilizando el mismo flujo de alimentación. Por ello antes de arrancar el reactor, se realizaron pruebas hidrodinámicas con un 30% de soporte colonizado y un lecho semifluidizado. Los resultados obtenidos de la expansión del lecho se muestran en las Tablas 3.6. Todos los experimentos se realizaron por triplicado.

Tabla 3.6 Expansión del lecho (30% de soporte) con soporte colonizado

Velocidad	Velocidad descendional (m/h)	Lecho (cm)	% de expansión
1	0.60	18	35.29
2	1.28	19	37.25
3	3.77	21	41.18
4	4.75	33	64.71
5	5.43	40	78.43
6	8.75	51	100.00

Utilizando soporte colonizado se observó una adecuada, gradual y más rápida expansión del lecho que llego hasta un 100%, con velocidades entre 0.60 m/h y 8.75 m/h. En la Figura 3.5 se muestra una gráfica comparativa entre la expansión del lecho sin colonizar y colonizado.

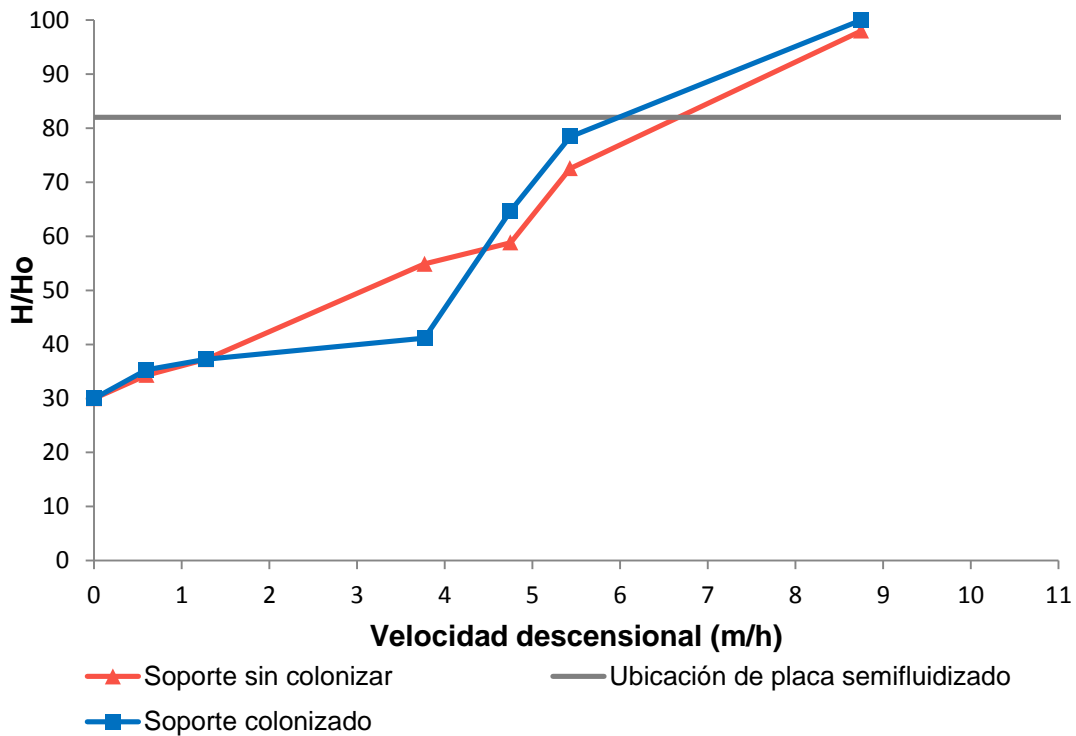


Figura 3.5. Comparación entre la expansión del soporte colonizado y sin colonizar

En ambos casos se observa que la velocidad mínima de fluidización es de 1.28 m/h, a partir de esa velocidad comienza gradualmente a incrementarse la expansión del lecho, una fluidización de buena calidad se consigue cuando el lecho está libre de irregularidades y de canalizaciones. De igual forma para ambos casos a una velocidad de 5.43 m/h se puede establecer una expansión del lecho adecuada, con un requerimiento mínimo de energía para el Extendsphere[®].

Con una velocidad descendencial de 3.77 m/h, el soporte sin colonizar obtuvo un 54% de expansión del lecho mientras que el soporte colonizado un 41%. Sin embargo, a partir de velocidades superiores de 4.75 m/h el soporte colonizado obtuvo mayores porcentajes de expansión que el soporte sin colonizar.

3.3 Inoculación y arranque del RAM

Se ha demostrado que al iniciar la operación de un reactor biológico con un inóculo previamente colonizado, los tiempos de arranque y estabilización disminuyen (Alvarado-Lassman *et al.*, 2010). Siguiendo esta estrategia, el RAM se inoculó con 717 mL de soporte colonizado proveniente del RLFI de la planta piloto del Instituto Tecnológico de Orizaba, este contiene 0.0148 gSV/mL soporte.

Para el arranque del RAM se alimentaron 25.5 L de sustrato, en base al volumen total del reactor (volumen útil del tanque de almacenamiento), con un TRH de 24 h y Cva inicial de 3 gDQO/L*d.

3.4 Monitoreo y seguimiento del RAM

El proceso de la digestión anaerobia requiere ser controlado y monitoreado debido a que existen diferentes factores ambientales que afectan la acción de los microorganismos, como la temperatura, el pH y los nutrientes (Bres *et al.*, 2004). De acuerdo con Boe *et al.*, (2010) el monitoreo y control pueden ser las principales estrategias para la estabilización del proceso y por tanto la eficiente conversión del sustrato en la digestión anaerobia. Para el monitoreo del RAM se utilizaron los parámetros que se presentaron en la sección 2.8 del capítulo anterior. El reactor operó en continuo durante 51 días (41 días sin adición de nutrientes y 10 con adición de nutrientes), utilizando la configuración de lecho fijo, en la Figura 3.6 se muestra una imagen y las condiciones de operación a detalle en la Tabla 3.7.

Tabla 3.7 Condiciones de operación del RAM

Sustrato	Jugo de manzana comercial diluido
Temperatura	Ambiente
pH	7.5
Cva	2.5 gDQO/L*d
THR	24 h
Volumen de alimentación	24 L
Velocidad de alimentación	17 mL/min

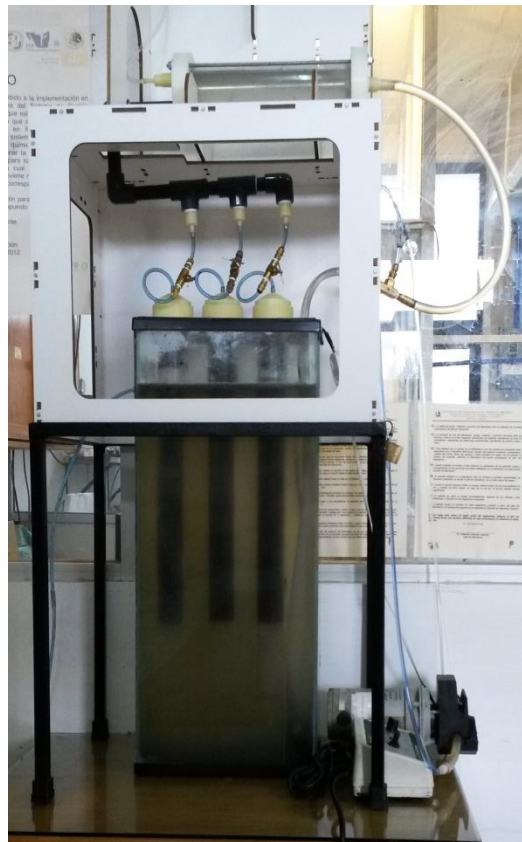


Figura 3.6 Reactor Anaerobio Multitubular en operación

En base a los porcentajes de remoción de DQO (con adición y sin adición de nutrientes), este trabajo de investigación es comparado con el de Aguilar, (2014), en él se operó un RLF1 empleando como sustrato jugo de manzana comercial diluido. No existen más antecedentes de trabajos con similares condiciones de operación, por lo que se consultaron trabajos donde se utilizaron como sustrato jugo de fruta o verdura, estos se muestran en la Tabla 3.8.

Tabla 3.8 Trabajos que emplearon como sustrato jugo de fruta/verdura

Sustrato empleado	Tipo de reactor	Autor/Año	País
Jugo de cebolla	AMBR	Romano y Zhang, (2008)	Estados Unidos
Jugo de frutas	UASR	El-Kamah <i>et al.</i> , (2010)	Egipto
Jugo de patata	UASB EGSB	Fang <i>et al.</i> , (2011)	Dinamarca

3.4.1 Carga Volumétrica Aplicada (Cva)

Kim *et al.*, (2011) mencionan que para la alimentación de un reactor se debe iniciar con cargas bajas y Alvarado-Lassman *et al.*, (2008) recomiendan iniciar la alimentación con cargas menores a 10 gDQO/L*d, por lo anterior el RAM fue alimentado con una Cva inicial de 3 gDQO/L*d durante los primeros 6 días de operación del reactor. La Cva presentó ligeras oscilaciones durante su monitoreo debido al ajuste diario de las diluciones para la alimentación del reactor con la carga establecida. A partir del día 7 la Cva promedio fue de 2.3 gDQO/L*d y se mantuvo así hasta el último día de operación, lo anterior se puede observar en la Figura 3.7.

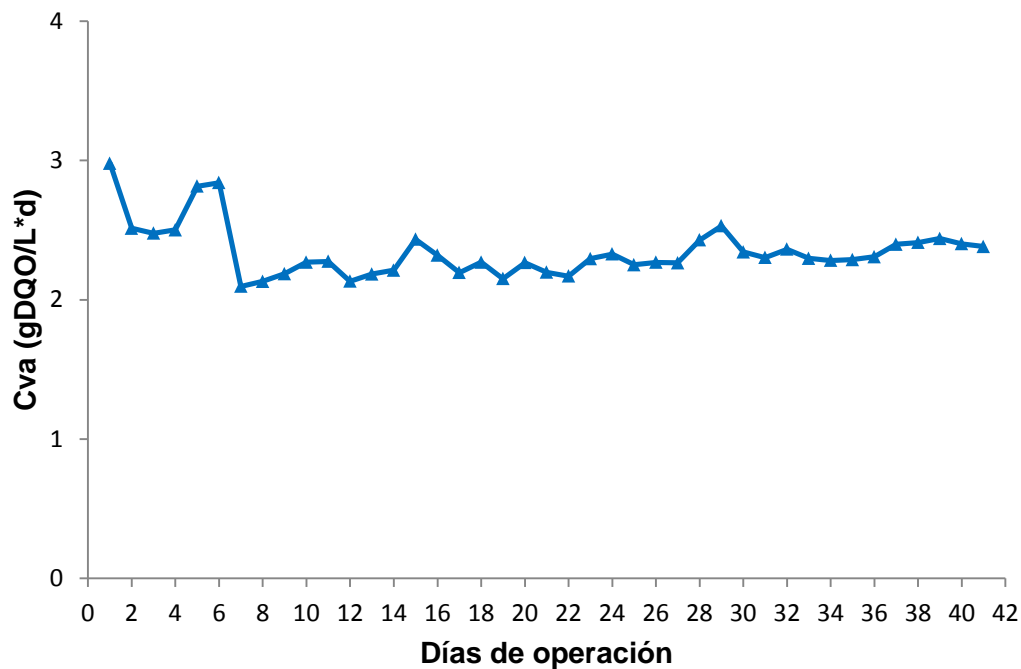


Figura 3.7 Cva aplicada al RAM durante su operación

3.4.2 Monitoreo del pH

El pH es uno de los factores físicos más importantes a considerar para el buen desempeño de un reactor anaerobio, esto debido a que las bacterias anaerobias necesitan diferentes intervalos de pH para su crecimiento, un rango de pH entre 6.5-7.2 es favorable para el crecimiento de bacterias metanogénicas (Zhao *et al.*, 2008),

siendo el pH neutro el ideal. El jugo de manzana comercial tiene un pH ácido de 3.5 que al ser diluido para la alimentación del reactor aumentaba a 6.6, para proporcionar una mejor capacidad amortiguadora (alcalinidad), se añadió bicarbonato de sodio hasta ajustar el pH a un valor de 7 y así no crear un desequilibrio en el reactor.

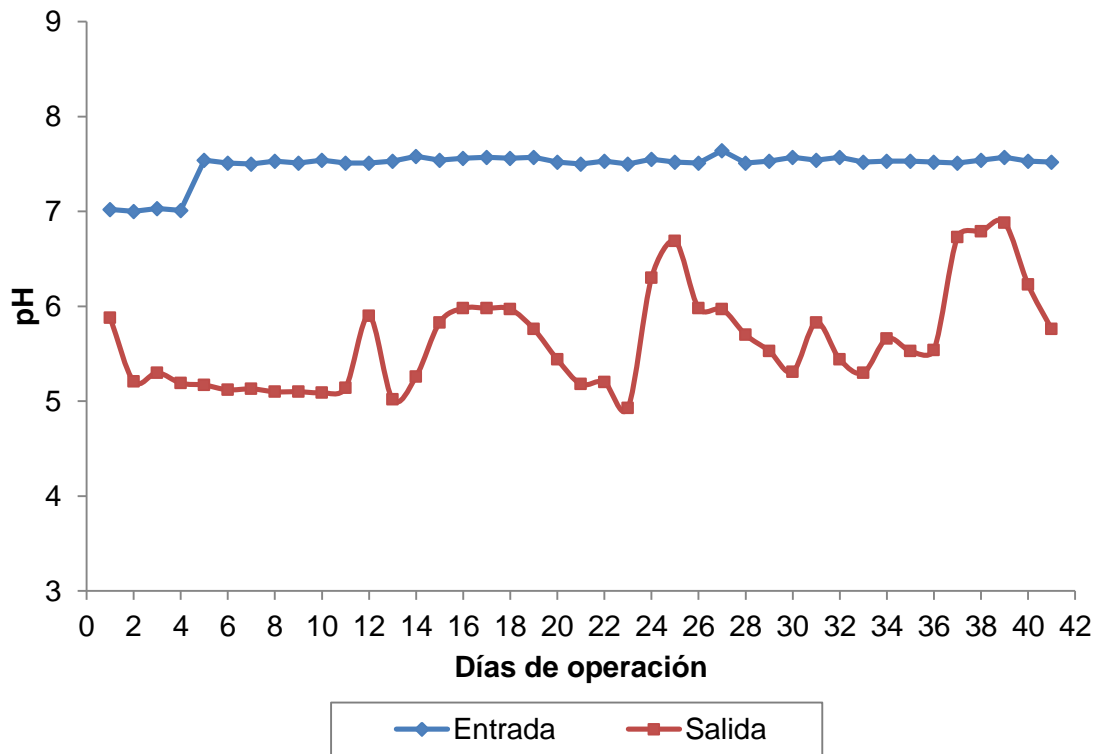


Figura 3.8 Monitoreo del pH

Como se observa en la Figura 3.8 se mantuvo un pH de 7 los primeros 4 días de operación del RAM, sin embargo desde el primer día el pH de salida mostró valores ácidos que continuaban disminuyendo, por tal motivo el pH de alimentación se aumentó a 7.5 esperando que la capacidad amortiguadora aumentara y por consiguiente el pH de salida. A pesar de que el pH de alimentación se mantuvo constante desde el día 5 hasta el último en que se operó el reactor, el pH de salida permaneció oscilando en valores ácidos de 5.1 a 5.9, como el reactor mostraba porcentajes de remoción de DQO, SST, SSV y producción de biogás, únicamente se

monitoreo que el pH no disminuyera de 5 porque los niveles bajos de pH pueden causar inhibición bacteriana. Solo 5 días la salida mostro valores de pH entre 6.3 y 6.8, tal vez este aumento se consiguió porque en esos días la recirculación del reactor se incrementó para obtener una mayor expansión del lecho y ayudar al contacto de las bacterias con el sustrato, pero no se pudo mantener en esas condiciones porque el soporte se salió de los tubos y quedo flotando en el tanque de almacenamiento como se muestra en la Figura 3.9, esto debe evitarse para no tener pérdidas de soporte colonizado.



Figura 3.9 Soporte flotando en el tanque de almacenamiento

El valor del pH en el reactor no sólo determina la producción de biogás sino también su composición. Una de las consecuencias de que se produzca un descenso del pH a valores inferiores de 6 es que el biogás generado es muy pobre en metano y por consiguiente, tiene menores cualidades energéticas. Debido a que la metanogénesis se considera la etapa limitante del proceso, es necesario mantener el pH del sistema cercano a la neutralidad (Varnero, 2011). De acuerdo con Purser *et al.*, (2008) las bacterias al trabajar en pH superiores a 8 tienden a producir AGV's (Ácidos Grasos Volátiles) de mayor concentración, ellos observaron que al someter a valores de pH máximo se produce gran cantidad de AGV's a diferencia de trabajar con pH en el rango de la metanogénesis para degradar la materia orgánica fácilmente, por esa razón el pH de alimentación no se aumentó más de 7.5.

3.4.3 Monitoreo de la Demanda Química de Oxígeno (DQO)

El sustrato alimentado al RAM tuvo una DQO total promedio de 2400 mg/L mientras que la del efluente fue de hasta 2100 mg/L, respecto a la DQO soluble se presentaron concentraciones en la alimentación que oscilaron entre 2300 mg/L y en el efluente de 2000 mg/L, lo anterior se muestra en la Figura 3.10. Cabe mencionar que durante este monitoreo las condiciones de Cva y pH, se mantuvieron constantes como se muestran en las secciones anteriores de este capítulo.

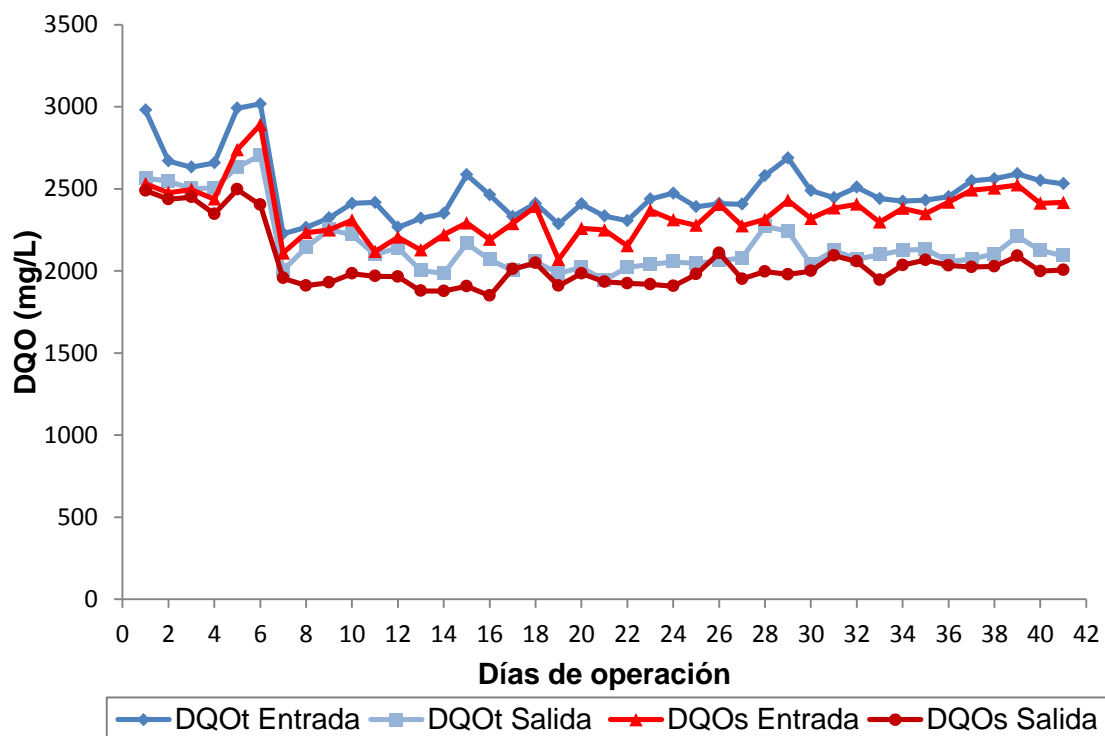


Figura 3.10 Monitoreo de la DQO_T y DQO_S

3.4.4 Remoción de DQO

La remoción de materia orgánica es otro de los objetivos principales de los reactores anaerobios, está nos indica que efectivamente se está llevando a cabo el proceso de degradación dentro del reactor, el cual se logra a través de la actividad metabólica de las bacterias que conforman la biopelícula. Para evaluar la remoción de

contaminantes del sustrato, se pueden llevar a cabo determinaciones de diversos parámetros tales como la DQO, Sólidos Totales y Volátiles, Turbidez, Carbono Orgánico Total (COT), entre otros.

Los resultados del porcentaje de remoción en el RAM, se pueden observar en la Figura 3.11. Como regla general, se asume que un 10 % de la materia orgánica removida (DQO) durante el proceso anaerobio se utiliza para la síntesis de biomasa (Varnero, 2011).

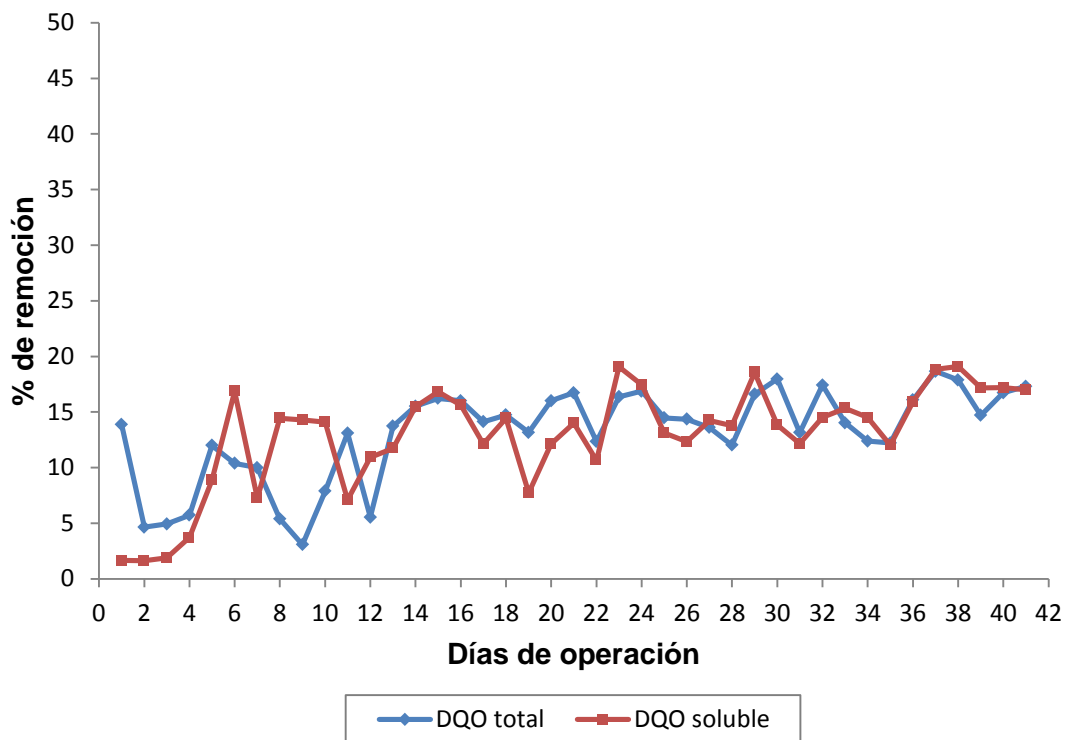


Figura 3.11 Gráfica comparativa del porcentaje de remoción de DQO_T y DQO_S

En el primer día de operación del reactor se observaron remociones del 14% de DQO_T y del 2% de DQO_S , en los días siguientes la remoción de DQO_T cayó hasta un 4%, esto se puede asociar al proceso natural de aclimatización de las bacterias al nuevo sustrato, después de 6 días de operación los porcentajes de remoción comenzaron a incrementar.

El comportamiento de ambas remociones de DQO durante el monitoreo del reactor se mantuvieron en un promedio de 16%. Siendo los días 23 y 38 de operación los que mostraron los valores más altos de remoción de DQO_S y para la DQO_T en el día 37 se obtuvo una remoción del 18%, a pesar de mantener las condiciones de pH, Cva y TRH estables no se lograron remociones mayores. Por lo anterior se decidió adicionar nutrientes a la alimentación del reactor como lo indica en su trabajo de investigación Aguilar, (2014).

Aguilar, (2014) empleo como sustrato jugo de manzana comercial diluido en un RLF, la ausencia de sólidos en el jugo de manzana permitió la formación de una biopelícula homogénea. El reactor se hizo funcionar en modo continuo por un período de 170 días con un TRH de 24 h. Del día 1 al 21 mantuvo una Cva de 3 gDQO/L*d y obtuvo una remoción de DQO de 38.5%, esto se debió a que la cantidad de biomasa disponible era poca. Del día 22 hasta el 80 disminuyó la Cva a 2.4 gDQOs/L*d y las remociones fueron de 49.0%, menciona que en esa etapa se presentaron variaciones en la temperatura de operación alcanzando valores de hasta 24°C y disminución del pH de salida hasta valores de 4.2, por lo que nuevamente realizó una disminución en la Cva. A partir del día 81 hasta el 150 manejó una Cva de 1.4 gDQOs/L*d, controló la temperatura a 33°C en promedio y mediante la adición de bicarbonato de sodio mantuvo valores de 7.2 en el pH, sin embargo solo llegó a remover el 37.5%, para aumentar los porcentajes de remoción adicionó a la alimentación del reactor nutrientes que corresponden a sales minerales y oligoelementos.

3.4.5 Monitoreo de SST y SSV

El sustrato alimentado al RAM tuvo una concentración de SST promedio de 2100 mg/L mientras que la del efluente fue de hasta 1500 mg/L (Figura 3.12), un alto contenido de SST puede provocar que la biopelícula sufra perturbaciones y deficiencias en su funcionamiento ya que los sólidos pueden ocasionar el

desprendimiento de la biopelícula (Gerardi, 2013 citado por González, 2015). La cantidad de SSV es menor en comparación con los SST, las concentraciones en la alimentación oscilaron entre 1700 mg/L y en el efluente de 1000 mg/L (Figura 3.13), la concentración de SSV disminuye debido a la estabilización y desarrollo de la biopelícula en el soporte.

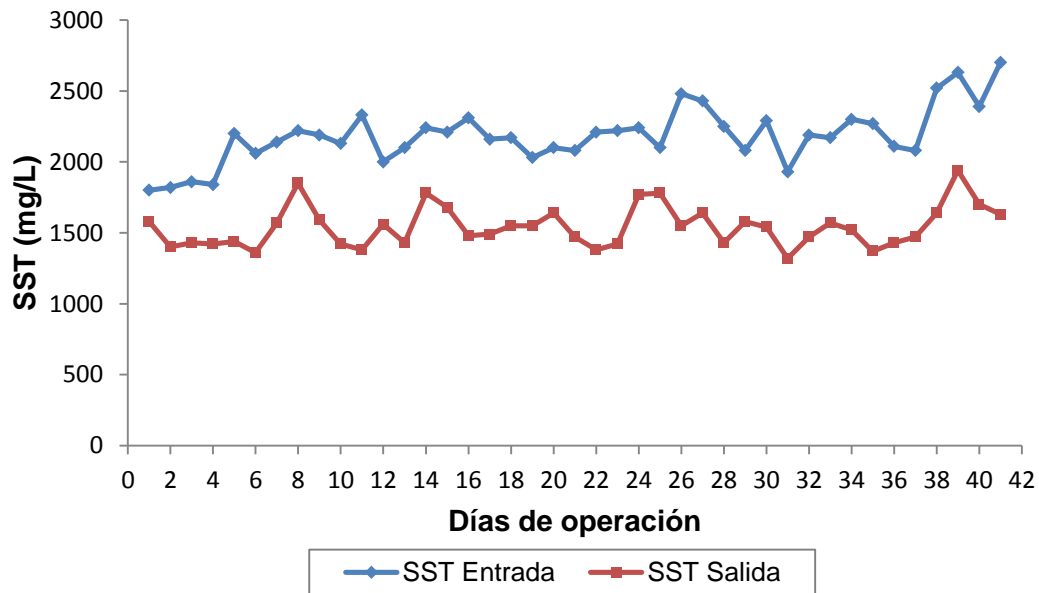


Figura 3.12 Monitoreo de SST en la entrada y salida del RAM

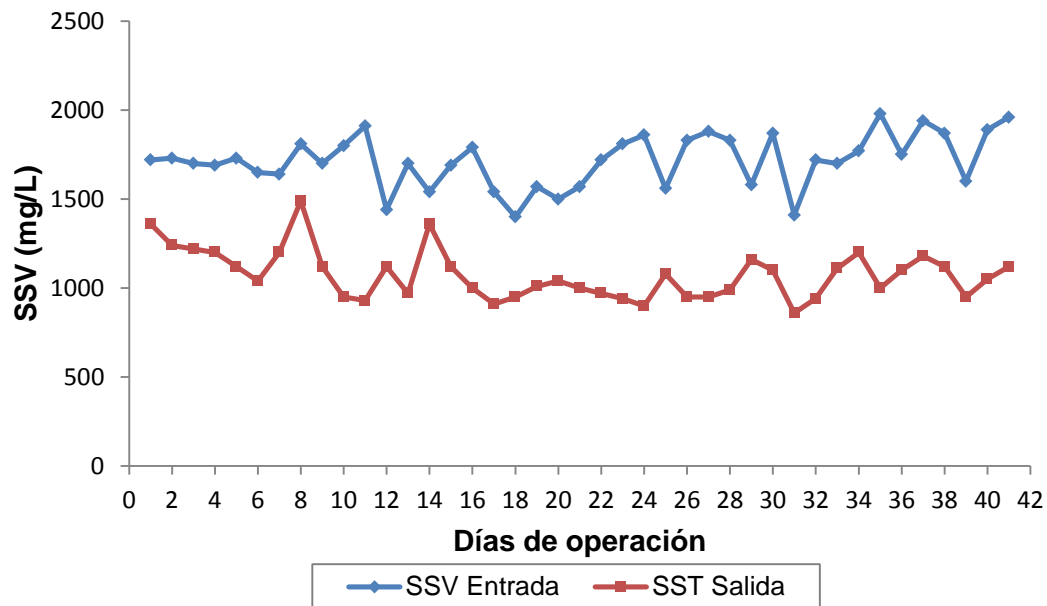


Figura 3.13 Monitoreo de SSV en la entrada y salida del RAM

3.4.6 Remoción de SST y SSV

Los porcentajes de remoción de SST y SSV fueron otros parámetros que se monitorearon y evaluaron durante la operación del RAM, los resultados se pueden observar en la Figura 3.14.

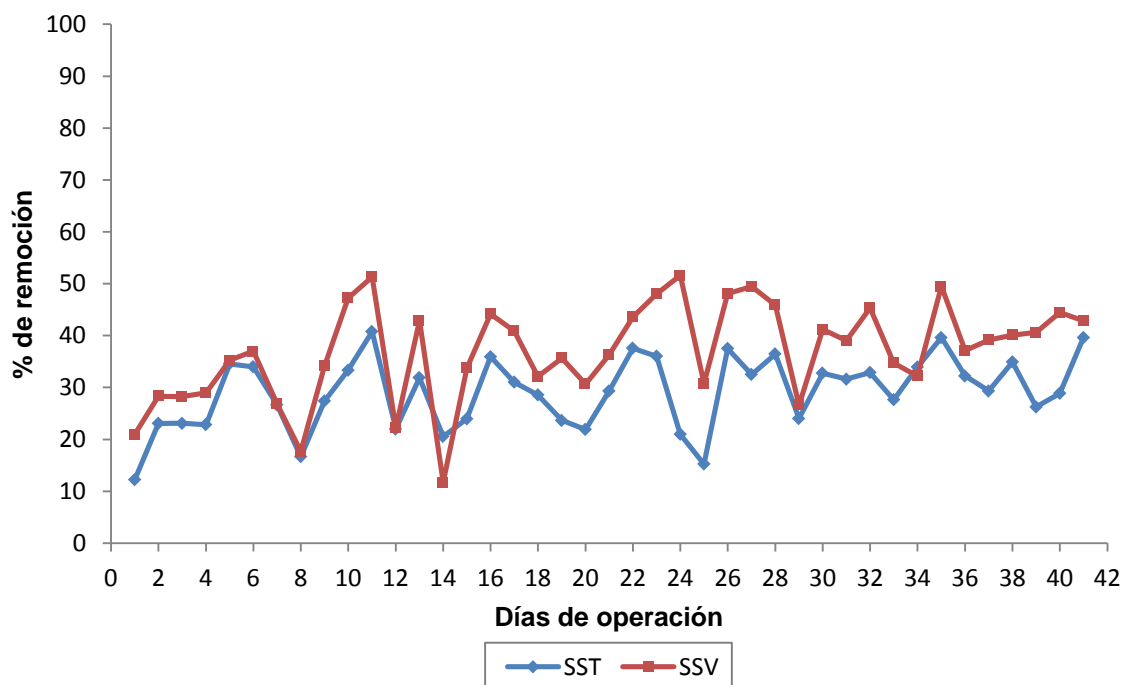


Figura 3.14 Gráfica comparativa del porcentaje de remoción de SST y SSV

El RAM presentó remociones de SST y SSV desde el día 1 de operación con valores de 12 y 20% respectivamente. Los SST mantuvieron una remoción promedio de 29% y los SSV de 36%. El día 11 fue el que mostró mayor porcentaje de remoción con 40% de SST y 51% de SSV.

3.4.7 Producción de biogás

El biogás es una mezcla gaseosa formada principalmente de metano y dióxido de carbono, pero también contiene diversas impurezas. La producción y composición

del biogás depende del material digerido y del funcionamiento del proceso. Cuando el biogás tiene un contenido de metano superior al 45% es inflamable (Zhang, 2014).

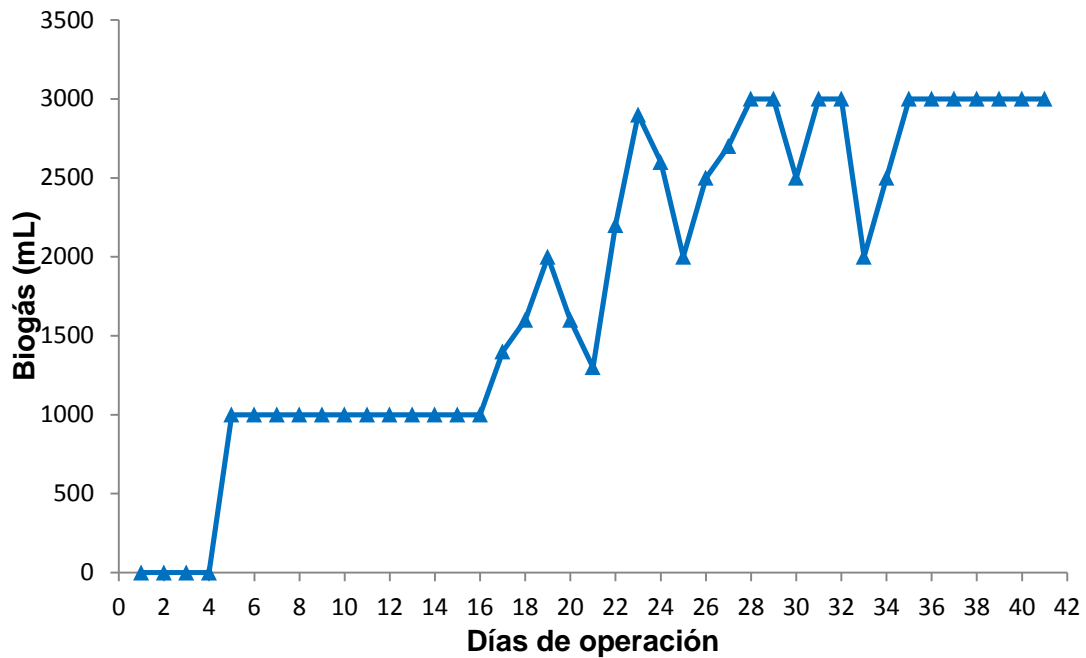


Figura 3.15 Comparación del porcentaje de remoción de SST y SSV



Figura 3.16 Producción de biogás



Figura 3.17 Captación de biogás

En la Figura 3.15 se observa que en los primeros 4 días de operación del RAM no hubo producción de biogás, esto se debió a que la bolsa de captación de biogás no se expandió, sin embargo en la Figura 3.16 se muestra que había actividad en

cuanto a la producción de biogás, ya que este empujaba al lecho fluidizado hacia abajo al no encontrar una salida en la parte superior del tubo. Por ello en el día 5 de operación se realizaron modificaciones en el RAM como se indica en la sección 2.7 del capítulo anterior, ese día la producción de biogás fue de 1 L (Figura 3.17) y se mantuvo constante hasta el día 16. A partir del día 17 se observa una gradual producción de biogás hasta el día 28, con una captación de 3 L.

3.4.8 Adición de nutrientes

Al igual que en todas las operaciones bioquímicas, se requieren macronutrientes y micronutrientes en el proceso anaerobio para la síntesis de nueva biomasa, en base a esto se realizó una adición de nutrientes a la alimentación del RAM por 10 días en las proporciones que se indican en la sección 2.9 del capítulo anterior.

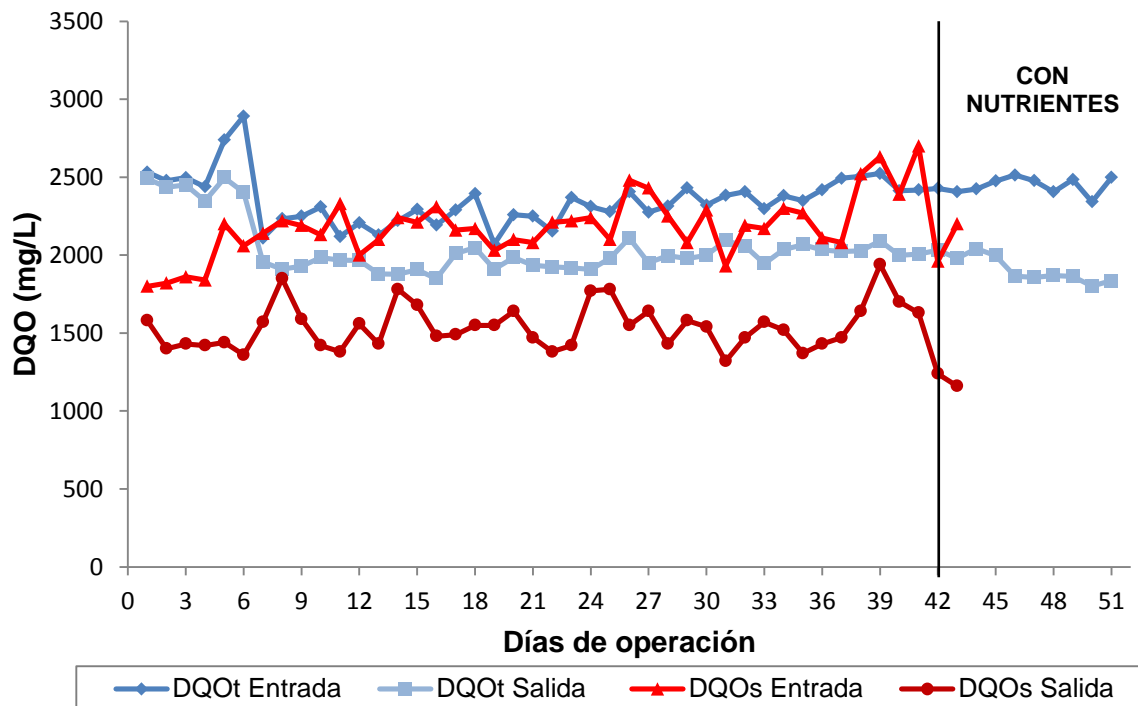


Figura 3.18 Monitoreo de la DQO_T y DQO_S con la adición de nutrientes

El sustrato alimentado al RAM con la adición de nutrientes tuvo una concentración de DQO total promedio de 2500 mg/L mientras que la salida tuvo concentraciones de 2000 mg/L, respecto a la DQO soluble las concentraciones en la alimentación oscilaron entre 2400 mg/L y en la salida de 1900 mg/L, lo anterior se muestra en la Figura 3.18. Las condiciones de operación fueron las mismas que sin la adición de nutrientes: Cva de 2.3 gDQO/L*d, pH de 7.5, TRH de 24 h y se mantuvieron constantes.

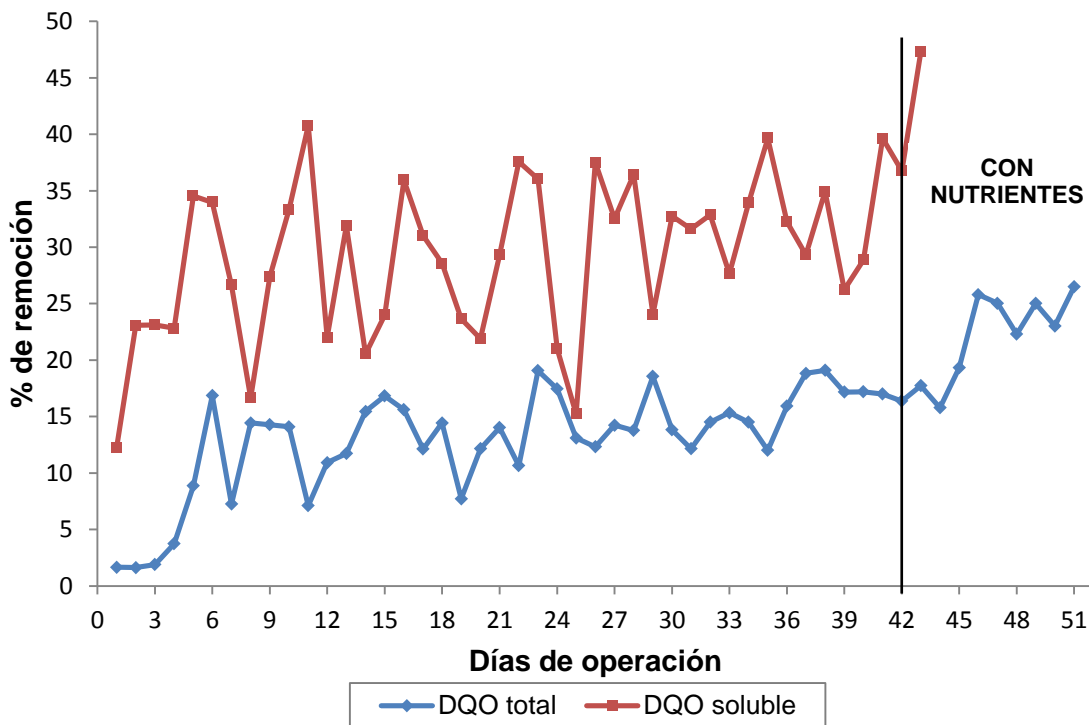


Figura 3.19 Porcentaje de remoción de DQO_T y DQO_S con la adición de nutrientes

En la Figura 3.19 se muestran los porcentajes de remoción de DQO_T y DQO_S con la adición de nutrientes, los primeros 6 días (del 42 al 47) se observaron remociones de DQO_T de 15-18% y de DQO_S de 15-19%, estos valores igual se obtuvieron sin la adición de nutrientes, pero es comprensible que las bacterias tomarán algunos días en asimilar la adición de nutrientes. En el día 7 (48) las remociones incrementaron y se mantuvieron estables hasta el último día de operación del reactor, la remoción de DQO_T llegó hasta un valor de 24% y la DQO_S a 26%, el aumento del porcentaje de

remoción fue de 8% y 10% respectivamente, es un valor significativo que asociado al incremento de la producción de biogás nos indica que efectivamente la adición de nutrientes mejora la remoción de materia orgánica.

Como se mencionó anteriormente el jugo de manzana comercial tiene un pH ácido de 3.5 que al ser diluido para la alimentación y con la adición de nutrientes aumentaba a un pH de 6.9, por lo que aún necesitaba una mejor capacidad amortiguadora, así que la adición de bicarbonato de sodio se volvió a emplear para ajustar el pH a un valor de 7.5 y así no ocasionar un desequilibrio en el reactor.

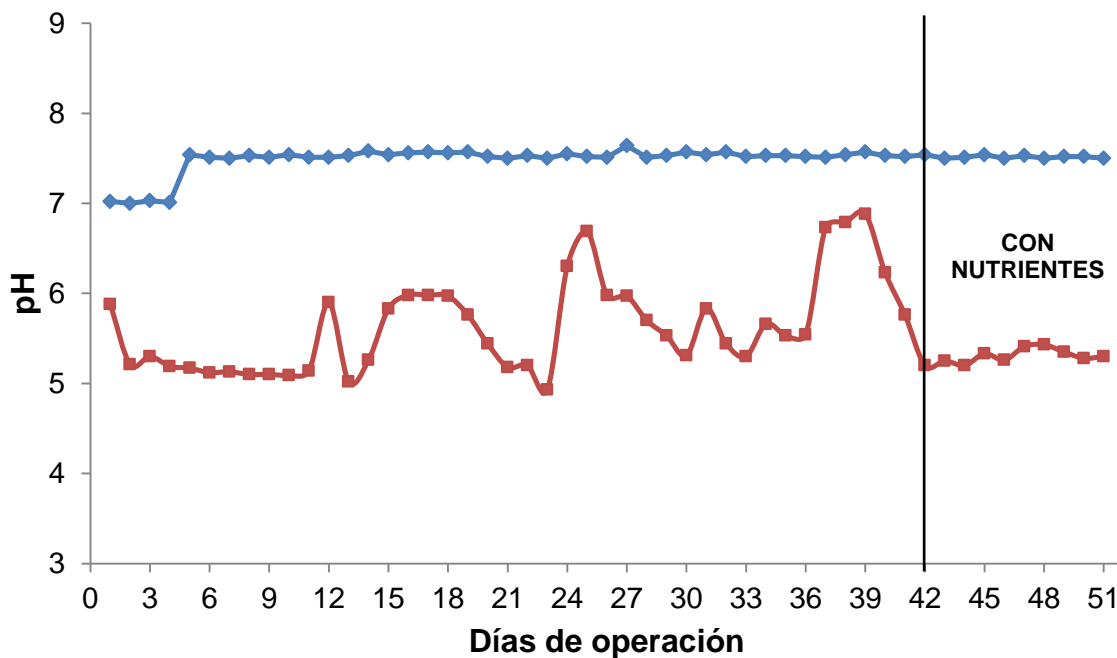


Figura 3.20 Monitoreo de pH con adición de nutrientes

El pH de alimentación se mantuvo constante nuevamente en 7.5, sin embargo los pH de salida fueron ácidos como en la etapa sin adición de nutrientes, se mantuvo en valores promedio de 5.3 hasta el último día en que se operó el reactor, pero si mostro un aumento en el porcentaje de remoción y la producción de biogás. Por lo que se esperarí que operándose bajo las mismas condiciones en un periodo más de

tiempo, el pH logre estabilizarse a valores neutros, de lo contrario se podrían realizar disminuciones en la Cva.

Al adicionar los nutrientes al sustrato de alimentación (jugo de manzana diluido) Aguilar, (2014) concluyó que la adición de nutrientes y oligoelementos al reactor era esencial para reducir la puesta en marcha y el tiempo de estabilización, ya que en la fase inicial sin ellos la eficiencia del reactor sólo alcanzó el 36% de eliminación de la DQO a pesar del hecho de que el valor de pH se mantuvo estable y cerca de la neutralidad. Una vez que se realizó la adición de nutrientes y elementos traza la remoción de DQO aumentó bruscamente alcanzando valores de 90% en sólo 30 días.

En el día 41 de operación (último sin adición de nutrientes) se realizó Materia Volátil Adherida (MVA) al soporte colonizado, dando como resultado 0.0286 gSV/mL soporte, en la Figura 3.21 se muestran imágenes vistas al microscopio del soporte. Comparado con el valor inicial que tenía el soporte cuando se inóculo el reactor (0.0148 gSV/mL soporte), se observa que si hubo un crecimiento en la biopelícula.

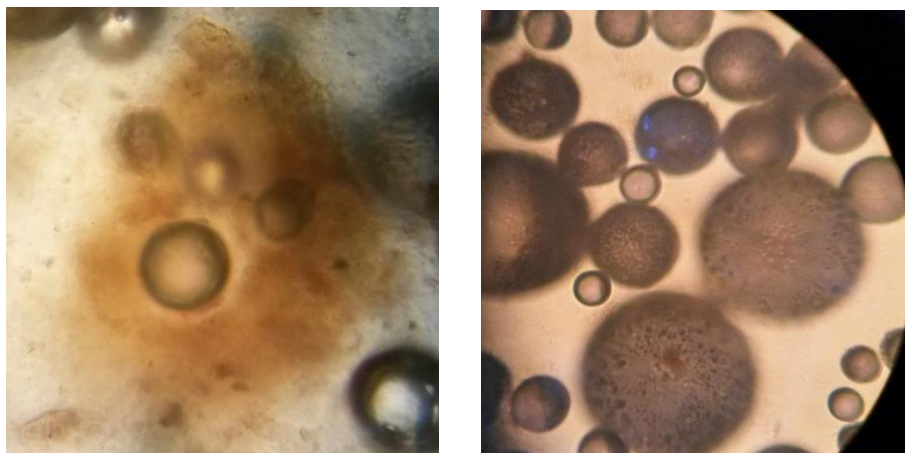


Figura 3.21 Vista microscópica del soporte colonizado del RAM (40X)

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

El Reactor Anaerobio Multitubular (RAM) a nivel laboratorio fue diseñado, construido e instalado en el Laboratorio de Ingeniería Ambiental I en el Instituto Tecnológico de Orizaba, siendo el primero en su tipo, este trabajo de investigación es una base para el desarrollo de nuevos proyectos que tengan como objetivo mejorar su diseño para tener un óptimo funcionamiento y en un futuro poder transferir esta tecnología a un nivel planta piloto e industrial.

Las pruebas hidrodinámicas que se realizaron con diferentes configuraciones y volúmenes de soporte (sin colonizar y colonizado), fueron de gran utilidad para la evaluación de aspectos hidrodinámicos como la velocidad descendencial y expansión del lecho. Durante su desarrollo se observó que para tener una fluidización de buena calidad el lecho debe estar libre de irregularidades y de canalizaciones, esto se logra con una adecuada distribución del flujo que se alimenta. Respecto a las pruebas hidrodinámicas, estas presentaron buena estabilidad al utilizar un 30% de soporte y un lecho semifluidizado inverso.

Durante la operación del RAM en continuo por 52 días con jugo de manzana, se mantuvo una Cva de 2.3 gDQO/L*d, pH de alimentación 7.5 y TRH de 24 h; bajo estas condiciones el RAM alcanzó una remoción de DQOs de 16% sin adición de nutrientes y del 26% con adición de nutrientes. En ambos casos no se obtuvo una salida con pH neutro, lo cual puede ser un factor importante para que el reactor no haya alcanzado mayores valores de remoción de materia orgánica; esto podría deberse a una acumulación de AGV's durante el proceso de la digestión anaerobia, otro factor que podría ser el causante de estos bajos porcentajes de remoción, es la relación que se tiene de sustrato-biomasa, para tratar un volumen de alimentación de 25.5 L, el RAM cuenta con 717 mL de soporte colonizado y este tiene 0.0286 g de biomasa/mL de soporte, el volumen de sustrato es mayor al de la biomasa, un volumen de 7.5 L de soporte colonizado sería adecuado para este sistema.

RECOMENDACIONES

En cuanto al diseño del RAM se sugiere realizar un control mucho más sofisticado para realizar la distribución de flujo en las tres secciones, ya que el flujo individual depende de la expansión del lecho que a su vez depende de la colonización de cada sección. Por lo anterior, se recomienda automatizar las válvulas en base al % de expansión del lecho y así hacer un sistema más confiable evitando pérdida de soporte colonizado. Para la captación de biogás se sugiere fabricar una bolsa de PVC de mayor capacidad.

Continuar la operación del RAM con el jugo de manzana, la adición de nutrientes y las condiciones de operación que en este trabajo de investigación se establecieron, para observar el máximo porcentaje de remoción y si el pH de salida logra aumentar a valores neutros, de ser positivos los resultados realizar aumentos de Cva, de lo contrario realizar una disminución de Cva.

Realizar un análisis cromatográfico del biogás obtenido para conocer su composición y el rendimiento de metano comúnmente expresado en $L_{CH_4}/gDQO$ removidos, el cual es un coeficiente que permite conocer el grado de conversión de materia orgánica removida que se convierte activamente en metano. Un reactor biológico estabilizado debe exhibir rendimientos de metano cercanos a $0.35 L_{CH_4}/gDQO$.

Durante la operación del RAM el reactor estuvo a temperatura ambiente, por lo que se recomienda colocarlo en un cuarto de temperatura controlada y observar su comportamiento, realizar SST y SSV a las muestras de entrada y salida con la adición de nutrientes.

En este trabajo se determinó que la mejor configuración para operar el RAM es la del lecho semifluidizado, ya que ayuda a restringir la expansión del lecho fluidizado, sin

embargo por cuestiones de logística no se pudieron implementar, por lo que se sugiere hacerlo.

Probar el desempeño del RAM con diversos sustratos con diferentes características fisicoquímicas, con el fin de observar el comportamiento del mismo y establecer conclusiones para futuras investigaciones con diferentes efluentes distintos al jugo de manzana.

Realizar un análisis de AGV's en las muestras del RAM, ya que la presencia de estos disminuye el pH y con ello la capacidad metanogénica de la biomasa, inhibiendo esta y produciendo un efluente con bajo pH, por tal motivo es importante mantenerlos estables durante el proceso.

Colocar dentro del RAM más tubos para una mayor cantidad de soporte colonizado que sea equivalente a la cantidad de sustrato a tratar y con ello poder obtener mejores porcentajes de remoción y producciones de biogás, de lo contrario otra opción sería reducir el volumen del efluente a tratar.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aguilar, M. Y. J. 2014. Estudio integral de digestión anaerobia en dos etapas para el tratamiento de la fracción soluble de residuos sólidos orgánicos municipales a nivel laboratorio. Tesis de Maestría. Instituto Tecnológico de Orizaba. México.

Alvarado, L. A. 2012. Diseño e implementación de un reactor de lecho fluidizado inverso (LFI) a escala piloto para el tratamiento de la fracción soluble de residuos sólidos municipales (RSM). Tesis de Maestría. Instituto Tecnológico de Orizaba. México.

Alvarado-Lassman, A., Rustrián, E., García-Alvarado, M. A., Rodríguez-Jiménez, G. C. y Houbron, E. 2008. Brewery wastewater treatment using anaerobic inverse fluidized bed reactors. *Bioresource Technology*. **99**(8): 3009-3015.

Alvarado-Lassman, A., Sandoval-Ramos, A., Flores-Altamirano, M. G., Vallejo-Cantú, N. A. y Méndez-Contreras, J. M. 2010. Strategies for the startup of methanogenic inverse fluidized-bed reactors using colonized particles. *Water Environment Research*. **85**(5): 387-391.

Alvarado-Lassman, A., Aguilar-Montor, Y. J., Méndez-Contreras, J. M., Martínez-Delgadillo, S. A. y Vallejo-Cantú, N. A. 2013. Efecto de la presencia de biopelícula en la distribución de tiempos de residencia en un reactor de lecho fluidizado inverso. *Memorias del XXXIV Encuentro Nacional y III Congreso Internacional de AMIDIQ*. 2361-2366.

Alvarado-Lassmann, A., Aguilar-Montor, Y. J., Vallejo-Cantú, N. A., Méndez-Contreras, J. M., Martínez-Sibaja, A. y Alvarado-Lassman, A. 2013. Influence of nutrients addition in the start-up and stabilization of an anaerobic biofilm reactor with

standardized commercial substrate. *International Journal of Latest Research in Science and Technology*. **2**(6): 53-57.

Angelidaki, I., Ellegaard, L. y Ahring, B. K. 1999. A comprehensive model of anaerobic bioconversion of complex substrates to biogas. *Biotechnology and Bioengineering*. **63**(3): 363-372.

Angelidaki, I., Ellegaard, L. y Ahring, K. B. 2003. Applications of the Anaerobic Biotechnology. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*. **82**: 1-32.

Appels, L., Baeyens, J., Degrève, J. y Dewil, R. 2008. Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge. *Progress in Energy and Combustion Science*. **34**(6): 755-781.

Balaguer, M.D., Vicent, M.T. y Paris J.M. 1997. Acomparision of different support materials in anaerobic fluidized bed reactors for the treatment of vinasse. *Environm. Tech*. **18**(1): 539-544.

Beyenal, H. y Lewandowski, Z. 2000. Combined effect of substrate concentration and flow velocity on effective diffusivity in biofilms. *Water research*. **34**(2): 528-538.

Bishop, P. L. 1997. Biofilm structure and kinetics. *Water Science and Technology*. **36**(1): 287-294.

Boe, K., Batstone, D. J., Steyer, J. P. y Angelidaki, I. 2010. State indicators for monitoring the anaerobic digestion process. *Water Research*. **44**(20): 5973-5980.

Bres, P. A., Beily, M. E., Rizzo, P. F., Giampaoli, O. y Crespo, D. C. 2010. Monitoreo de reactor anaerobico semi-continuo para el tratamiento de residuos de cereales. Parte I. *Avances en Energías Renovables y Medio Ambiente*. **14**: 29-36.

Castells, X. E., Campos, E. y Flotats, X. 2012. Procesos biológicos: la digestión anaerobia y el compostaje. Díaz de Santos. Madrid.

Cervantes-Zepeda, A. I., Cruz-Colín, M. R., Aguilar-Corona, R., Castilla-Hernández, P. y Meraz-Rodríguez, M. 2011. Caracterización fisicoquímica y microbiológica del agua tratada en un reactor UASB escala piloto. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. **10**(1): 67-77.

Chern, S. H., Muroyama, K., y Fan, L. S. 1983. Hydrodynamics of constrained inverse fluidization and semifluidization in a gas-liquid-solid system. *Chemical Engineering Science*. **38**(8): 1167-1174.

Chong, S., Kanti, S. T., Kayaalp, A. y Ming, A. H. 2012. The performance enhancements of upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors for domestic sludge treatment. *Water Research*. **46**(11): 3434-3470.

Chun-Sheng, W., Ju-Sheng, H. y Hsin-Hsien, C. 2006. Influence of internal biogas production on hydrodynamic behavior of anaerobic fluidized-bed reactors. *Water Research*. **46**(1): 126-136.

Cresson R., Carrere H., Delgenes J.P. y Bernet N. 2006. Biofilm formation during the start-up period of an anaerobic biofilm reactor-impact of nutrient complementation. *Biochemical Engineering Journal*. **30**: 55-62.

Demirel, B. y Scherer, P. 2011. Trace element requirements of agricultural biogas digesters during biological conversion of renewable biomass to methane. *Biomass and Bioenergy*. **35**(3): 992-998.

Díaz-Báez, M. C., Espitia, S. E. y Molina, F. 2002. Digestión anaerobia una aproximación a la tecnología. Editorial Universidad Nacional de Colombia, Instituto de Biotecnología. Colombia.

Domínguez-Hernández, E., Vallejo-Cantú, N.A., Alvarado-Lassman, A. y Méndez-Contreras, J.M. 2015. Estudio de la fluidización de un soporte limpio y colonizado en un Reactor de Lecho Semifluidizado Inverso (RLSFI). Coloquio de Investigación Multidisciplinaria. **3**(1): 761-767.

El-Kamah, H., Tawfik, A., Mahmoud, M. y Abdel-Halim, H. 2010. Treatment of high strength wastewater from fruit juice industry using integrated anaerobic/aerobic system. Desalination. **253**(1-3): 158-163.

Fang, C., Boe, K. y Angelidaki, I. 2011. Biogas production from potato-juice, a by-product from potato-starch processing, in upflow anaerobic sludge blanket (UASB) and expanded granular sludge bed (EGSB) reactors. Bioresource Technology. **102**(10): 5734-5741.

Florez, C. D. y Posada, N. J. 2007. Diseño conceptual de un reactor de lecho fluidizado a escala laboratorio para el tratamiento de aguas residuales. Tesis de Licenciatura. Universidad EAFIT. Colombia.

Galí, A., Benabdallah, T., Astals, S. y Mata-Alvarez, J. 2009. Modified version of ADM1 model for agro-waste application. Bioresource Technology. **100**(11): 2783-2790.

García, S. 1996. Simulación de un reactor catalítico industrial. Tesis de Maestría. Tecnológico de Monterrey. México.

Garzón-Zúñiga, M. A. y González-Martínez, S. 1996. Biological phosphate and nitrogen removal in a biofilm sequencing batch reactor. *Water Science and Technology*. **34**(1,2): 293-301.

González, P. R. (2015). Tratamiento anaerobio del efluente proveniente del proceso de una industria citrícola en un reactor híbrido. Tesis de Maestría. Instituto Tecnológico de Orizaba. México.

González-Brambila, M. y López-Insunza, F. 2008. Comportamiento de un reactor de biopelícula para tratamiento de agua residual a diferentes velocidades de flujo. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. **7**(3): 183-193.

Gorris, L.G.M., van Deursen, J.M.A., van der Drift, C. y Vogels, G.D. 1989. Biofilm development in laboratory methanogenic fluidized bed reactors. *Biotechnology and Bioengineering*. **33**: 687-693.

Hernández, M. S. y Delgadillo, L. R. M. 2011. Aplicación del modelo ADM1 en la digestión anaerobia de aguas residuales y desechos sólidos. *Tumbaga*. **6**: 29-42.

Iza, J., Colleran, E., Paris, J.M. y Wu, M. 1991. International workshop on anaerobic treatment technology for municipal and industrial wastewater: summary paper. *Wat. Sci. Tech*. **24**(8): 1-16.

Kim, H-W., Shin, H-S. y Namb, J-Y. 2011. A comparison study on the high-rate co-digestion of sewage sludge and food waste using a temperature-phased anaerobic sequencing batch reactor system. *Bioresource Technology*. **102**(15): 7272-7279.

Kothari, R., Pandey, A. K., Kumar, S., Tyagi, V. V. y Tyagi, S. K. 2014. Different aspects of dry anaerobic digestion for bio-energy: An overview. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. **39**: 174–195.

Lastre, P. J. 2012. Acoplamiento de las dos etapas de un sistema anaerobio (EGSB-LFI) a nivel planta piloto para el tratamiento de la fracción soluble de residuos sólidos orgánicos. Tesis de Maestría. Instituto Tecnológico de Orizaba. México.

Levin, M. A. y Gealt, M. A. 1997. Biotratamiento de residuos tóxicos y peligrosos. McGraw-Hill. España.

Lewandowski, Z., Webb, D., Hamilton, M. y Karkin, G. 1999. Quantifying biofilm structure. *Water Science and Technology*. **39**(7): 71-76.

Lindsay, D. y von Holy, A. 2006. Bacterial biofilms within the clinical setting: what healthcare professionals should know. *Journal of Hospital Infection*. **64**: 313-325.

Lorenzo, A. Y. y Obaya, A. M. 2005. La digestión anaerobia. Aspectos teóricos. Parte I. ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar. **39**(1): 35-48.

Lozano, M. V. 2005. Estudio hidrodinámico de un reactor de lecho fluidizado inverso. Tesis de Maestría. Instituto Tecnológico de Orizaba. México.

Mass, K. R. y Medrano, Y. 2013. Tratamiento de aguas residuales a partir de digestión anaerobia. *INGENIATOR*. **4**(6): 118-135.

Nicolella, C., van Loosdrecht, M. C. M. y Heijnen, J. J. 2000. Wastewater treatment with particulate biofilm reactors. *Journal of Biotechnology*. **80**(1): 1-33.

Okabe, S., Kuroda, H. y Watanabe, Y. 1998. Significance of biofilm structure on transport of inert particulates into biofilms. *Water Science and Technology*. **38**(8,9): 163-170.

Ortner, M., Rachbauer, L., Somitsch, W. y Fuchs, W. 2014. Can bioavailability of trace nutrients be measured in anaerobic digestion?. *Applied Energy*. **126**(1): 190-198.

Pavlostathis, S. G. y Giraldo-Gómez, E. 1991. Kinetics of anaerobic treatment: A critical review. *Critical Reviews in Environmental Control*. **21**(5,6): 411-490.

Purser, B. J., Thai, S. M., Fritz, T., Esteves, S. R., Dindale, R. M. y Guwy, A. J. 2014. An improved titration model reducing over estimation of total volatile fatty acids in anaerobic digestion of energy crop, animal slurry and food waste. *Water Research*. **61**: 162-170.

Romano, R. T. y Zhang, R. 2008. Co-digestion of onion juice and wastewater sludge using an anaerobic mixed biofilm reactor. *Bioresource Technology*. **99**(3): 631-637.

Saucedo, R. A., Manzanares, L. I., Nevárez, V. G., Bautista, R. G., Solís, F., Córdoba, L., Carrasco, J. y Andrade, C. 2007. Concentración de biopelícula y eficiencia de un reactor de lecho fluidizado empacado con dos nuevos materiales de soporte. *Revista Universidad Juárez Autónoma de Tabasco*. **23**(2): 91-101.

Schreyer, H. B. y Coughlin, R. W. 1999. Effects of stratification in a fluidized bed bioreactor during treatment of metalworking wastewater. *Biotechnology and bioengineering*. **63**(2): 129-140.

Sokoł, W., Ambaw, A. y Woldeyes, B. 2008. Biological wastewater treatment in the inverse fluidised bed reactor. *Chemical Engineering Journal*. **150**(1): 63-68.

Trinet, F., Heim, R., Amar, D. y Chang, H. 1991. Study of biofilm and fluidization of bioparticles in a three-phase liquid fluidized-bed reactor. *Water Science and Technology*. **23**: 1347-1354.

Wall, D. M., Allen, E., Straccialini, B., O’Kiely, P. y Murphy, J. D. 2014. The effect of trace element addition to mono-digestion of grass silage at high organic loading rates. *Bioresource Technology*. **172**(1): 349-355.

Winkler, A. M. 1995. Tratamiento biológico de aguas de desecho. Editorial Limusa. México, D.F.

Zhang, C., Su, H., Baeyens, J. y Tan, T. 2014. Reviewing the anaerobic digestion of food waste for biogas production. *Renewable and sustainable energy reviews*. **38**: 383–392.

Zhao, M. X., Yan, Q., Ruan, W. Q., Zou, H. y Xu, Y. 2008. The influence of Ph adjustment on biogas production from kitchen wastes by anaerobic fermentation. *Bioprocess Eng.* **6**(4): 45-9.