

“Año del Centenario de la Promulgación de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos”

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

OPCION I.- TESIS

TRABAJO PROFESIONAL

“Estudio de un reactor de lecho semifluidizado inverso con configuración en paralelo, para la producción de bioenergéticos utilizando como sustrato lactosuero de una industria quesera”

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

PRESENTA:

I.Q. María Dolores Beltrán Toral

DIRECTOR DE TESIS:

M.I. Norma Alejandra Vallejo Cantú

CO-DIRECTOR DE TESIS:

Dr. Alejandro Alvarado Lassman



ORIZABA, VERACRUZ, MÉXICO

OCTUBRE 2017

"Año del Centenario de la Promulgación de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos"

FECHA: 30/10/2017
DEPENDENCIA: POSGRADO
ASUNTO: Autorización de Impresión
OPCIÓN: I

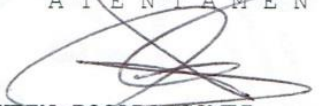
C. MARIA DOLORES BELTRAN TORAL
CANDIDATO A GRADO DE MAESTRO EN:
CIENCIAS EN INGENIERIA QUIMICA

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:

"ESTUDIO DE UN REACTOR DE LECHO SEMIFLUIDIZADO INVERSO CON CONFIGURACION EN PARALELO, PARA LA PRODUCCION DE BIOENERGETICOS UTILIZANDO COMO SUSTRATO LACTOSUERO DE UNA INDUSTRIA QUESERA".

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



RUBEN POSADA GOMEZ
JEFE DE LA DIV. DE ESTUDIOS DE POSGRADO

C.A. TITULACIÓN



**SECRETARIA DE
EDUCACIÓN PÚBLICA
INSTITUTO
TECNOLÓGICO
DE ORIZABA**

ggc



"Año del Centenario de la Promulgación de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos"

FECHA : 17/10/2017

ASUNTO: Revisión de Trabajo Escrito

C. RUBEN POSADA GOMEZ
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. :

MARIA DOLORES BELTRAN TORAL

la cual lleva el título de:

"ESTUDIO DE UN REACTOR DE LECHO SEMIFLUIDIZADO INVERSO CON CONFIGURACION EN PARALELO, PARA LA PRODUCCION DE BIOENERGETICOS UTILIZANDO COMO SUSTRATO LACTOSUERO DE UNA INDUSTRIA QUESERA".

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.I. ADRIAN REYES BENITEZ

VOCAL SUP. : DRA. ROSALIA CERECERO ENRIQUEZ



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

OPCION: I Tesis



DEDICATORIAS

A Dios

A Dios por haberme dado la oportunidad de cumplir uno de mis más grandes sueños y por haber estado conmigo durante todo ese tiempo. Cada paso que di sin duda alguna tú estuviste ahí para apoyarme y animarme a continuar.

A mis abuelos

A mis abuelos Ascensión y Félix porque son los mejores abuelos del mundo, mis ángeles guardianes, ya que su amor, paciencia, consejos y cuidados me ayudaron a tener sueños tan grandes y a luchar por hacerlos realidad. Muchas gracias por todo.

A mi familia

A mi papá Fabián y mis hermanas y hermanos: Rocío, Luz, Salvador, Martín y Leonel que siempre me dieron su amor y apoyo incondicional en cualquier aspecto. Los amo con todo mi corazón.

A mis compañeros y amigos

Viridiana y Rodrigo gracias por su valioso apoyo en la primera parte de la experimentación de este proyecto ya que con ello se hizo posible el alcance de los objetivos de manera exitosa. A Erick S. Rosas por las asesorías y apoyo brindado durante mi estancia en el laboratorio. A Sergio, Denisse y óscar gracias por haberme brindado su apoyo y amistad.

RECONOCIMIENTOS

A mis asesores de tesis

A mis asesores de tesis M.I Norma A. Vallejo Cantú y Dr. Alejandro Alvarado Lassman porque me dieron la oportunidad de formar parte de su equipo de trabajo y como tal me apoyaron, corrigieron y orientaron con paciencia, dedicación y amabilidad. Les tengo una profunda admiración y agradecimiento por el invaluable trabajo que realizan y la manera en que lo hacen.

A mis revisores de tesis

A mis revisores de tesis M.I.A Adrián Benitez Reyes y Dra. Rosalía Enríquez Cerecero porque con sus comentarios y sugerencias enriquecieron este trabajo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)

Por otorgarme la beca con número de registro 710105, que hizo posible la realización de este trabajo de investigación.

RESUMEN

“Estudio de un reactor de lecho semifluidizado inverso con configuración en paralelo, para la producción de bioenergéticos utilizando como sustrato lactosuero de una industria quesera”

Elaborado por: María Dolores Beltrán Toral

Dirigido por: Alejandro Alvarado Lassman

Norma A. Vallejo Cantú

El crecimiento que ha experimentado la industria láctea se debe a la gran demanda de los lácteos y sus derivados. Las industrias, microempresas y pequeños productores de queso ignoran el alto contenido de materia orgánica o no cuentan con los recursos necesarios para invertir en tecnologías para su aprovechamiento y lo terminan vertiendo en los drenajes, lo cual provoca daños a la salud y al medio ambiente. En este trabajo se realizó el escalamiento geométrico de un Reactor de Lecho Semifluidizado Inverso con Configuración en Paralelo (RLSICP), para la producción de biogás utilizando lactosuero. El reactor consta de tres RLSI, en su interior se colocó un material de soporte. Se efectuaron pruebas de expansión con soporte colonizado y no colonizado. Se caracterizó el lactosuero mediante el análisis fisicoquímico y bromatológico. Se establecieron condiciones de operación para el reactor: 30 % de soporte en base al volumen útil de cada reactor, Carga volumétrica aplicada (Cva) de 2.4, 5, 20 y 10 g DQO_T/L*d, Tiempo de Residencia Hidráulica (TRH) de 1.25 d, pH de 7.3 y adición de nutrientes.

El soporte colonizado presentó una fluidización ideal con una expansión relativa de 0.8 a velocidad de 3.8 cm/min. El lactosuero se catalogó como un contaminante potencial debido a la cantidad de materia orgánica. Con la Cva de 2.4 g DQO_T/L*d se presentaron los mejores resultados. Se obtuvo en promedio el 62.4 % de remoción de la DQO_T, 24 L biogás/d con un promedio de 47 % de metano.

ABSTRACT

"Study of an inverse semi-fluidized bed reactor with parallel configuration for the production of bioenergetics using cheese whey as substrate"

By: María Dolores Beltrán Toral

Advisor: M. I. Q Norma A. Vallejo Cantú

Dr. Alejandro Alvarado Lassman

The growth experienced by the dairy industry is due to the high demand of dairy products and their derivatives. Small-scale industries, micro-enterprises and small cheese-producing businesses ignore the high content of organic matter or do not have the resources to invest in technologies for their use and end up pouring into the drainage system, causing health and environmental damage. In this work the geometric scale up of an inverse Semi - Fluid Bed Reactor with Parallel Configuration (CPISBR) was used for the production of biogas using whey. The reactor consists of three *ISBR*, a support material was placed inside. Expansion tests were made with colonized and non-colonized support. The whey was characterized by physicochemical and bromatological analysis. The operating conditions were established for the reactor: 30% support in the base in the useful volume of each reactor, Organic Load Rate (OLR) of 2.4, 5, 20 and 10 g COD_T / L * d, Hydraulic Residual Time (HRT) of 1.25 d, pH of 7.3 and addition of nutrients.

The colonized support showed an ideal fluidization with a relative expansion of 0.8 at a rate of 3.8 cm / min. Cheese whey was classified as a potential contaminant due to the amount of organic matter. The best results were obtained with an OLR of 2.4 g DQOT / L * d Cva the best results were presented. An average of 62.4 % of the removal of the COD_T was obtained, 24 L biogas / d with an average of 47 % of methane.

ÍNDICE

	Pág
Lista de figuras.....	III
Lista de tablas.....	V
Nomenclatura.....	VI
Introducción.....	1
Objetivos.....	2
CAPÍTULO 1 FUNDAMENTOS TEÓRICOS	4
1.1 La industria láctea en México	4
1.2 Lactosuero	5
1.4 Digestión anaeróbica	7
1.4.1 Etapas de la fermentación metanogénica	8
1.5 Factores que controlan el proceso de digestión anaerobia.....	11
1.5.1 pH.....	12
1.5.2 Nutrientes	14
1.5.3 Tóxicos e inhibidores de la metanogénesis	16
1.5.4 Relación carbono/nitrógeno de las materias primas.....	17
1.6 Biogás.....	18
1.7 Bioabono.....	19
1.8 Tipos de reactores	20
1.8.1 Reactores de primera generación.....	20
1.8.2 Reactores de segunda generación	20
1.8.3 Reactores de tercera generación.....	21
1.9 Soportes utilizados en RLF1	26
1.10 Soporte Extendosphere®.....	27
1.11 La fluidización	27
1.12 La semifluidización	28
1.13 Biopelículas.....	28
1.13.1 Formación de biopelículas	28
1.13.2 Rol de la biopelícula en el proceso del tratamiento	30

CAPÍTULO 2 METODOLOGÍA.....	32
2.1 Adecuación del Reactor de Lecho Semifluidizado Inverso con Configuración en Paralelo (RLSICP)	33
2.2 Recolección del lactosuero	39
2.3 Caracterización del lactosuero	39
2.3.1 Análisis bromatológico	39
2.3.2 Análisis fisicoquímico.....	42
2.4 Acondicionamiento del lactosuero	43
2.4.1 Ajuste del pH	44
2.4.2 Adición de nutrientes	44
2.5 Alimentación del reactor.....	45
2.6 Estabilización del reactor	46
2.7 Monitoreo del reactor.	46
2.7.1 Caracterización del bioabono producido	46
2.7.2 Caracterización del biogás producido	46
CAPÍTULO 3 RESULTADOS y DISCUSIÓN.....	49
3.1 Adecuación del reactor RLSICP	49
3.1.1 Pruebas de expansión del RLSICP.....	50
3.2 Recolección del lactosuero	53
3.3 Caracterización del lactosuero	54
3.3.1 Análisis fisicoquímico.....	54
3.3.2 Análisis bromatológico.....	54
3.4 Acondicionamiento del lactosuero	55
3.5 Alimentación del reactor.....	56
3.5.1 Monitoreo del reactor.....	57
3.6 Materia adherida volátil	69

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1	Fases de la digestión anaerobia	9
Figura 1.2	Esquema de un digestor convencional de lodo	21
Figura 1.3	Esquema general de un RAFA	22
Figura 1.4	Esquema de un reactor de lecho fluidizado	23
Figura 1.5	Reactor de lecho fluidizado inverso	25
Figura 1.6	Proceso de formación de una biopelícula	30
Figura 2.1.	Diagrama de la metodología utilizada en el estudio del Reactor de Lecho Semifluidizado Inverso con Configuración en Paralelo (RLSICP)	32
Figura 2.2	Diseño de cada RLSI	34
Figura 2.3	Esquema general del reactor RLSICP	35
Figura 2.4	Accesorios del RLSICP	36
Figura 2.5	Tanque de almacenamiento de entrada	36
Figura 2.6	Tanque de almacenamiento de salida	36
Figura 2.7	Colector de biogás	36
Figura 2.8	a) Lecho fijo, b) Placa perforada	37
Figura 2.9a	Soporte extensosphere	38
Figura 2.9b	Soporte extensosphere lavado	38
Figura 2.10	Soporte colonizado	38
Figura 3.1	Adecuación del RLSICP	49
Figura 3.2	Pruebas de expansión del soporte no colonizado.	52
Figura 3.3	Pruebas de expansión del soporte colonizado y no colonizado	53
Figura 3.4	Lactosuero envasado	54
Figura 3.5	Solución de lactosuero acondicionada	57

Figura 3.6	Monitoreo del reactor en operación continua	58
Figura 3.7	Monitoreo de la Cva durante el proceso de la digestión anaerobia	59
Figura 3.8	Monitoreo del pH durante el proceso de la digestión anaerobia	61
Figura 3.9	Eficiencias de remoción de DQO_T Y DQO_S durante el proceso de digestión anaerobia.	62
Figura 3.10	Comportamiento de DQO_T y DQO_S durante el proceso de digestión anaerobia	63
Figura 3.11	Monitoreo de los sólidos totales volátiles en g/L y su remoción, medida en porcentaje	65
Figura 3.12	Monitoreo de la producción de biogás y rendimiento de metano durante el proceso digestión anaerobia	66
Figura 3.13	Rendimiento de metano durante el proceso digestión anaerobia	68
Figura 3.14	Composición promedio del biogás durante el monitoreo a Cva de 2.4 g $DQO_T/L \cdot d$	69
Figura 3.15	Composición promedio del biogás durante el monitoreo a Cva de 5 g $DQO_T/L \cdot d$	69
Figura 3.16	Composición promedio del biogás durante el monitoreo a Cva de 20 g $DQO_T/L \cdot d$	70
Figura 3.17	Composición promedio del biogás durante el monitoreo a Cva de 10 g $DQO_T/L \cdot d$	70
Figura 3.18	Monitoreo del comportamiento de la MVA dentro del reactor durante el proceso de digestión anaerobia	71
Figura 3.19	Apariencia del soporte colonizado	71
Figura 3.20	Visualización microscópica a 40X del soporte colonizado	71
Figura 3.21	Tanque distribuidor con coloración marrón en el interior	72

LISTA DE TABLAS

Tabla 1.1	Composición del lactosuero dulce y el lactosuero ácido	7
Tabla 1.2	Reacciones bioquímicas en la digestión anaerobia de la materia orgánica	11
Tabla 1.3	Producción y composición teórica de biogás en diversos compuestos orgánicos	11
Tabla 1.4	Producción y composición teórica de biogás en diversos compuestos orgánicos	19
Tabla 1.5	Nivel de nutrientes	20
Tabla 1.6	Características del reactor de lecho fluidizado	23
Tabla 2.1	Volumen útil del RLSICP	33
Tabla 2.2	Volumen total del RLSICP	33
Tabla 2.3	Características de los RLSI	34
Tabla 2.4	Velocidades de flujo para el soporte no colonizado	38
Tabla 2.5	Velocidades de flujo para el soporte colonizado	38
Tabla 2.6	Parámetros fisicoquímicos y bromatológicos	45
Tabla 2.7	Micronutrientes adicionados para la estabilización del reactor	45
Tabla 2.8	Datos para el acondicionamiento del sustrato con las concentraciones de 3 y 6.25 g DQO _T /L	46
Tabla 3.1	Cuadro comparativo del reactor original	52
Tabla 3.2	Expansión del lecho con soporte no colonizado	53
Tabla 3.3	Expansión del lecho con soporte colonizado	54
Tabla 3.4	Análisis fisicoquímico	57
Tabla 3.5	Análisis bromatológico	57
Tabla 3.6	Comparación de caracterizaciones del lactosuero	58
Tabla 3.7	Cva, concentración y tiempo utilizado en el monitoreo del RLSICP	59
Tabla 3.8	Condiciones de operación del RLSICP	61
Tabla 3.9	Grado de colonización del soporte	74

NOMENCLATURA

Abreviatura	Significado	Unidad
RLSI	Reactor de lecho semifluidizado Inverso	-
RLSICP	Reactor de lecho semifluidizado Inverso con configuración en Paralelo	
RAFA	Reactor anaerobio de flujo ascendente	-
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
DBO	Demanda bioquímica de oxígeno	g/L
ST	Sólidos totales	g/L
STV	Sólidos totales volátiles	g/L
pH	Potencial hidrógeno	-
Cva	Carga volumétrica aplicada	g DQO/L*d
TRH	Tiempo de Residencia Hidráulico	d
MVA	Materia volátil adherida	g biomasa/mL soporte
T	Temperatura	°C
AGV's	Ácidos grasos volátiles	g /L
Ph	Concentración de iones hidrógeno	-
Y_{CH_4}	Rendimiento de metano	g DQO/L CH ₄
HMBs	Hidroximetilbilano sintasa	-
NTA	Ácido nitroacético	-
SPE	Sustancia extrapolimérica extracelular	-
RBC	Contactores biológicos rotativos	-
RAM	Reactor multitubular anaerobio	-
DA	Digestión anaerobia	-
AGC	Adenina, guanina, citosina	.-

INTRODUCCIÓN

El crecimiento que ha experimentado la industria láctea se debe a la gran demanda de los lácteos y sus derivados. En el 2014 se estimó una producción nacional de 342,870 toneladas de queso (SIAP-SAGARPA, 2015), lo que produjo una cantidad aproximada de 3,085,830 toneladas de lactosuero debido a que se estima que a partir de cada 10 L de leche de vaca se puede producir de 1 a 2 Kg de queso y un promedio de 8 a 9 Kg de lactosuero. La producción mundial anual de lactosuero en el año 2014 se estimó en más de 160 millones de toneladas (SIAP-SAGARPA, 2015). El lactosuero es obtenido como derivado de la elaboración del queso, éste contiene una elevada carga de materia orgánica como lactosa, grasas, proteínas y sales minerales. Las características del lactosuero pueden variar significativamente dependiendo de diversos factores como: productos finales, tipo de sistema utilizado en la producción y país donde se elaboran. Existen diversos tipos de procesos de tratamiento para efluentes con altas concentraciones de materia orgánica, como químicos, biológicos y fisicoquímicos. La digestión anaerobia es un proceso biológico muy utilizado debido a diversas ventajas como bajos costos y tiempos cortos de tratamiento, en comparación con los otros tratamientos. Otra ventaja no menos importante es la obtención de biogás.

En este trabajo se presenta el estudio de un Reactor de Lecho Semifluidizado Inverso con Configuración en Paralelo (RLSICP) utilizando lactosuero para la producción de biogás. Se empieza hablando sobre las generalidades de la leche, seguido del lactosuero y sus características. Posteriormente se menciona de manera breve la digestión anaerobia y algunos tipos de reactores biológicos. Finalmente se presenta la metodología detallada que será utilizada para la realización del proyecto.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el desempeño de un Reactor de Lecho Semifluidizado Inverso con Configuración en Paralelo (RLSICP) en la producción de bioenergéticos utilizando lactosuero, de la industria quesera, como sustrato.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Adecuar el RLSICP para el tratamiento de lactosuero.
- Realizar la caracterización físico-química y bromatológica del lactosuero.
- Arrancar y estabilizar el RLSICP para la producción de biogás.

CAPÍTULO 1

FUNDAMENTOS TEÓRICOS

CAPÍTULO 1 FUNDAMENTOS TEÓRICOS

1.1 La industria láctea en México

En México la producción de leche de ganado bovino es muy heterogénea desde el punto de vista tecnológico, agroecológico y socioeconómico, incluyendo la gran variedad de climas regionales, tradiciones y costumbres de las poblaciones. La industria láctea es la tercera más importante dentro de la rama de la industria de alimentos en México, y su crecimiento depende de la disponibilidad de la leche nacional. Según cifras de SIAP-SAGARPA, durante el período 2003-2011 la producción nacional de leche de bovino ha tenido una tasa media de crecimiento de 1.3 % (SE, 2012). En el año 2014 se estimó una cantidad total de leche bovino de 11,129,000,092 L. Y para el año 2015 fue de 11,368,000,000 L puesto que en el primer trimestre de ese año la producción de leche de bovino alcanzó 2,655,222,000 L de leche (2.7 % más que en el mismo periodo de 2014) (SIAP-SAGARPA, 2015).

Entre 2005 y 2011, la producción industrial de leche y derivados lácteos registra un comportamiento favorable en la mayor parte de los productos, con base en información del INEGI, destacan la producción de yogurt y quesos, con una tasa de crecimiento promedio de 7.3 y 5.7 % (SE, 2012). Al concluir el mes de febrero de 2015, la elaboración derivados y fermentos lácteos como quesos, crema y yogurt, alcanzó un volumen de 176,813 toneladas, con un valor de 5,605 MDP. Por su parte, la industria de quesos produjo 56,819 toneladas con un valor en el mercado de 2,531,000,000 MDP, durante la elaboración de las principales variedades de quesos (fresco: 18.0 %, panela: 15.0 %; amarillo: 14.0 %) (SIAP-SAGARPA, 2015).

La mayor producción de derivados se encuentra asociada entre otros factores, al comportamiento de la demanda de estos productos, apoyada en la estabilidad de la economía en general y en modificaciones en las preferencias de algunos segmentos

de la población, lo que ha influido en un aumento del consumo de productos lácteos de mayor valor, en comparación con el consumo de las leches líquidas (SE, 2012).

1.2 Lactosuero

La producción mundial anual de lactosuero en el año 2011 se estimó en más de 145 millones de toneladas, siendo los principales productores Estados Unidos y la Unión Europea (primordialmente Alemania, Francia, e Italia) con aproximadamente el 70 % (FAO, 2012 y USDA NASS, 2013). El lactosuero es un subproducto de la fabricación de queso o caseína, es un líquido de color amarillo verdoso y se puede considerar como leche libre de caseína y grasa. La precipitación de la caseína conduce a la formación de dos tipos de suero de leche: lactosuero ácido ($\text{pH} < 5$), de la fermentación o la adición de ácidos orgánicos o minerales y lactosuero dulce ($\text{pH} = 6-7$), éste se obtiene por adición de enzimas proteolíticas como quimosina, enzima proteasa aspártica (Panesar *et al.*, 2007).

El tipo de leche utilizada en la producción de queso (vaca, cabra, oveja, búfalo y otros mamíferos) también influye en las características del suero de queso producido. Como ejemplo, en una base seca, lactosuero bovino contiene 70-80 % de lactosa, 9 % de proteínas, 8-20 % de minerales y otros componentes menores, tales como algunos péptidos hidrolizados de k-caseína, lípidos y bacterias. El suero de queso tiene un alto valor agregado nutricional (Prazeres *et al.*, 2012); otros autores han reivindicado que el procesamiento de proteínas de lactosuero también se puede utilizar para fines terapéuticos, tales como antioxidantes y como antihipertensivos (Macedo, 2010) debido a que liberan, por hidrólisis, péptidos bioactivos los cuales pueden desencadenar efectos fisiológicos en el cuerpo humano.

Como regla general, el lactosuero ácido tiene un mayor contenido de cenizas y proteínas que el lactosuero dulce. El lactosuero ácido tiene un uso limitado debido al sabor ácido y alto contenido de sal (Mawson, 1994). Las concentraciones de calcio (1.2-1.6 g/L) en el lactosuero ácido son aproximadamente 2 veces más altos que los

valores observados en lactosuero dulce, sin embargo, la lactosa es mayor en el lactosuero dulce. La cantidad de suero de leche producida está relacionada con la productividad de queso, éste es considerado el más importante de los contaminantes en las aguas residuales lácteas, no sólo debido a la alta carga orgánica, sino también por el volumen generado. Esta productividad también se relaciona con el tipo de leche procesada. Los parámetros clave de lactosuero muestran una demanda biológica de oxígeno en el rango de 27 a 60 g/L y una demanda química de oxígeno en el intervalo de 50 a 102 g/L. El volumen del lactosuero es igual a cien veces el volumen de aguas residuales domésticas comunes (Mockaitis *et al.*, 2006). La relación DBO / DQO es normalmente por encima de 0.5 constituyendo un sustrato fácilmente biodegradable por digestiones anaerobias o aerobias (Prazeres *et al.*, 2012). Los sólidos totales en suspensión tienen valores dentro de 1.3 a 22.0 g/L.

Además, otros componentes menores tales como ácidos cítrico y láctico (0.02 a 0.05 %), compuestos nitrogenados no proteicos (urea y ácido úrico) y vitaminas (grupo B), también se pueden encontrar en el lactosuero (Panesar *et al.*, 2007). El pH ácido favorece el crecimiento de la biomasa filamentosa (Ghaly y Kamal, 1996). La baja capacidad amortiguadora del lactosuero es responsable de la acidificación rápida en los tratamientos biológicos (Castelló *et al.*, 2009). Los principales componentes minerales (> 50 %) son de NaCl, KCl y sales de calcio (Venetsaneas *et al.*, 2009). El alto contenido de sodio puede causar problemas cuando se opera en digestores biológicos (Backus *et al.*, 1988). La lactosa es el principal responsable de la carga orgánica, (Ghaly y Kamal, 2004) y un gran número de microorganismos no pueden utilizar directamente como fuente de carbono (González Siso, 1996). Además, los microorganismos pueden requerir condiciones ajustados y adición de algunos productos químicos suplementarios (Aktaş *et al.*, 2006).

Tabla 1.1 Composición del lactosuero dulce y del lactosuero ácido (Panesar, 2007; Callejas, 2012)

Componente	Lactosuero dulce (g/L)	Lactosuero ácido (g/L)
Sólidos totales	63-70	63-70
Lactosa	46-52	44-46
Grasa	0-5	0-5
Proteína	6-10	6-8
Calcio	0.4-0.6	1.2-1.6
Fósforo	0.4-0.7	0.5-0.8
Potasio	1.4-1.6	1.4-1.6
Cloruros	2-2.2	2-2.2

1.3 Producción de Lactosuero en el estado de Veracruz

El estado de Veracruz tiene una producción de 650,000,000 L de leche al año, lo cual se traduce en una producción diaria equivalente a 644 000 L de lactosuero en el estado, de los cuales aproximadamente el 40 % utilizan en la producción de quesos, representando 36 % el lactosuero producido y eliminado anualmente (Cabrera *et al.*, 2013).

1.4 Digestión anaeróbica

El proceso de digestión anaerobia consiste en la transformación de la materia orgánica a través de una serie de reacciones bioquímicas, en un biogás con un alto contenido de CH₄, que puede ser aprovechado como fuente de energía y un efluente sólido, con excelentes características para ser utilizado como fertilizante para el suelo (Mashad y Zhang, 2010). Éste proceso se basa en un consorcio de poblaciones de microorganismos simbióticos e interdependientes, los cuales son capaces de utilizar un diverso espectro de sustratos en la ausencia de oxígeno para la síntesis de

productos finales (Ghaly, 1996). Este proceso ha tenido ventajas como la baja generación de lodos, consumo reducido de energía y alta producción de metano. La principal desventaja de la digestión anaerobia era hasta hace poco su largo tiempo de residencia (Montero *et al.*, 2008). Sin embargo, en trabajos recientes se han llegado a optimizar.

1.4.1 Etapas de la fermentación metanogénica

Los estudios bioquímicos y microbiológicos realizados hasta ahora dividen el proceso de descomposición anaeróbica de la materia orgánica en cuatro fases o etapas, en la Figura 1.1 se muestran las etapas de la digestión anaerobia.

1.4.1.1 Hidrólisis

Durante la hidrólisis, la primera etapa, las bacterias transforman el sustrato orgánico particulado en monómeros y polímeros licuados, es decir, las proteínas, carbohidratos y grasas se transforman en aminoácidos, monosacáridos y ácidos grasos, respectivamente (Ostrem, 2004). Las bacterias hidrolíticas o fermentativas son responsables de la creación de monómeros, que luego están disponibles para el siguiente grupo de bacterias. La hidrólisis es catalizada por enzimas excretadas de las bacterias, tales como celulasa, proteasa y lipasa (United Tech, 2003).

1.4.1.2 Etapa fermentativa o acidogénica

En la segunda etapa, las bacterias acidogénicas transforman los productos de la primera reacción en ácidos volátiles de cadena corta, cetonas, alcoholes, hidrógeno y dióxido de carbono. Los principales productos de la etapa de acidogénesis son ácido propiónico ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH}$), ácido butírico ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$), ácido acético (CH_3COOH), ácido fórmico (HCOOH), ácido láctico ($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$), etanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) y metanol (CH_3OH), entre otros. A partir de estos productos, el hidrógeno, el dióxido de

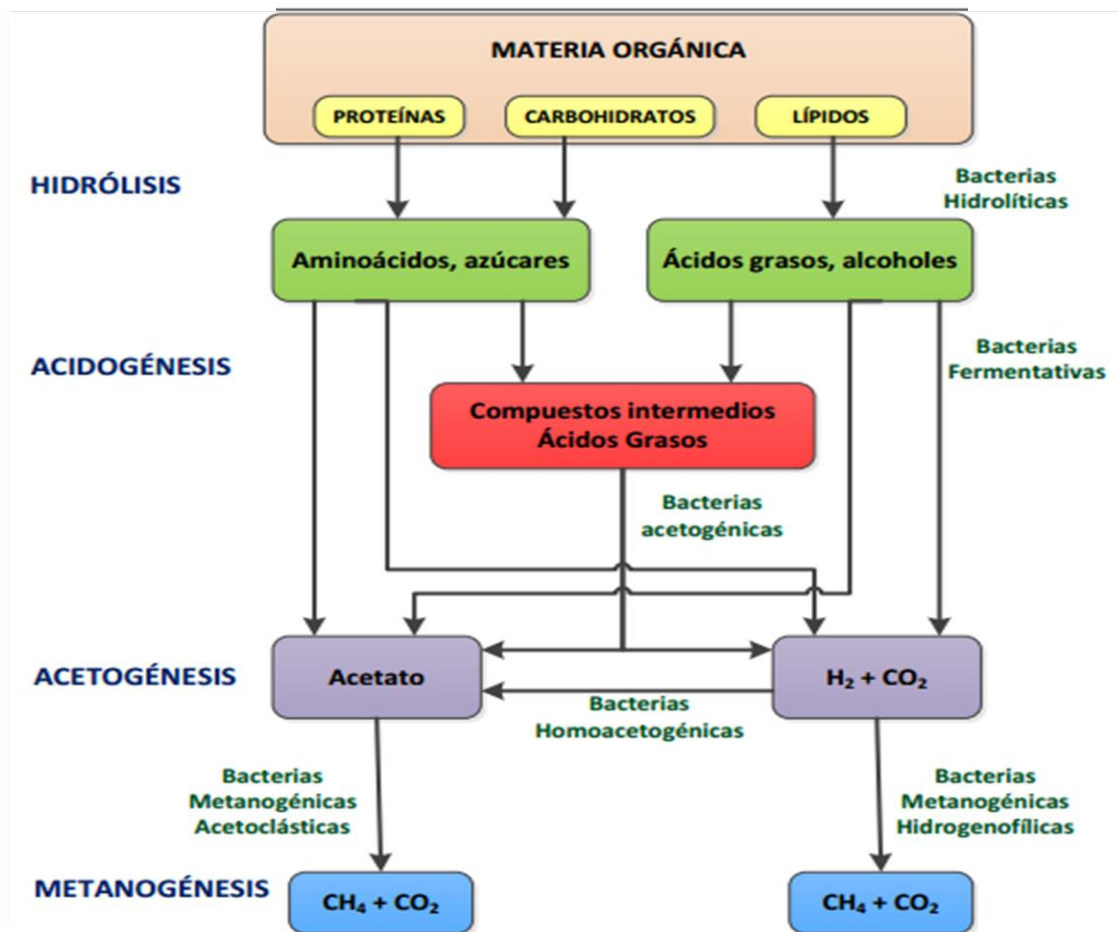


Figura 1.1 Fases de la digestión anaerobia. (IDAE, 2007).

carbono y el ácido acético pasarán la tercera etapa, la acetogénesis, y serán utilizados directamente por las bacterias metanogénicas en la etapa final (Ostrem, 2004)

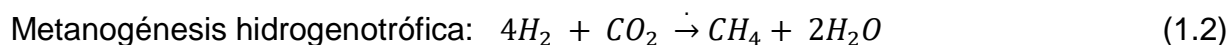
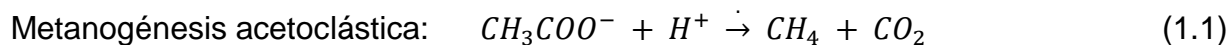
1.4.1.3 Etapa acetogénica

La DBO y la DQO se reducen a través de estas vías. La acetogénesis ocurre a través de la fermentación del carbohidrato, a través de la cual el acetato es el producto principal, y otros procesos metabólicos. El resultado es una combinación de acetato, H₂ y CO₂. El papel del hidrógeno como intermediario es de importancia crítica para las

reacciones de DA. Los ácidos grasos de cadena larga, formados a partir de la hidrólisis de lípidos, se oxidan en acetato o propionato y se forma gas hidrógeno. Bajo condiciones estándar, la presencia de hidrógeno en la solución inhibe la oxidación. La reacción sólo procede si la presión parcial de hidrógeno es lo suficientemente baja como para permitir termodinámicamente la conversión. La presencia de bacterias eliminadoras de hidrógeno (HMBs) que consumen hidrógeno, reduciendo así la presión parcial, es necesario para asegurar la viabilidad termodinámica y por lo tanto la conversión de todos los ácidos. Como resultado, la concentración de hidrógeno, medida por presión parcial, es un indicador de la salud de un digestor (Mata-Alvarez, 2003).

1.4.1.4 Etapa metanogénica

Esta consiste en la formación de metano a partir de dos rutas principales: la acetoclástica y la hidrogenotrófica.



Aunque la mayor parte del metano que se genera en la naturaleza proviene del rompimiento del acetato, la habilidad de catabolizar este sustrato está limitada a los géneros: Methanosarcina y Methanosaeta (Methanotrix) (Díaz-Báez, 2002). Pero ellos tienen de 2 a 4 veces una tasa de crecimiento menor respecto a los hidrogenotróficos. Aunque la formación de metano con hidrógeno es energéticamente favorable, sólo se genera del 27 al 30 % de producto por esta ruta y 70 % por acetato (IDAE, 2007).

Los metanógenos son anaerobios estrictos que crecen principalmente en sustratos tales como hidrógeno y dióxido de carbono (hidrogenotróficos), y acetato (acetoclásticos). Los metanógenos son un grupo especial de microorganismos,

pertencen al dominio Archaea, y entre sus coenzimas únicas pueden citarse la F₄₂₀ y la F₄₃₀ (IDAE, 2007).

Tabla 1.2 Reacciones bioquímicas en la digestión anaerobia de la materia orgánica
(Zinder, 1984)

Tipo de reacción	Ecuación
Fermentación de glucosa a acetato	$\text{Glucosa} + 4\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_3\text{COO}^- + 4\text{H}^+ + 4\text{H}_2$
Fermentación de glucosa a butirato	$\text{Glucosa} + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{C}_4\text{H}_7\text{O}_2 + 2\text{HCO}_3^- + 3\text{H}^+ + 2\text{H}_2$
Fermentación de butirato a acetato e H ₂	$\text{Butirato} + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{CH}_3\text{COO}^- + \text{H}^+ + \text{H}_2$
Fermentación del propionato a acetato	$\text{Propionato} + 3\text{H}_2 \rightarrow \text{CH}_3\text{COO}^- + \text{HCO}_3^- + \text{H}^+ + \text{H}_2$
Acetogénesis a partir de H ₂ y CO ₂	$\text{HCO}_3^- + \text{H}^+ + 4\text{H}_2 \rightarrow \text{CH}_3\text{COO}^- + 2\text{H}_2\text{O}$
Metanogénesis a partir del CO ₂ e H ₂	$\text{HCO}_3^- + 4\text{H}_2 \rightarrow \text{CH}_4 + 3\text{H}_2\text{O}$
Metanogénesis a partir del acetato	$\text{Acetato} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_4 + \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$

1.5 Factores que controlan el proceso de digestión anaerobia

En la siguiente tabla se muestran algunos de los factores importantes que son necesarios controlar durante la digestión anaerobia.

Tabla 1.3 Requerimientos ambientales en las etapas de la digestión anaerobia
(Deublein y Steinhauser 2008)

Parámetro	Hidrolisis/acidogénesis	Metanogénesis
Temperatura	25-35 °C	Mesofílica: 30-40 °C Termofílica: 50- 60 °C Psicrófilo: 15-20 °C
Potencial rédox	+400 a -300 Mv	Menos que -250 mV
Elementos traza	Sin requerimientos especiales	Esencial: Ni, Co, Mo, Se

Temperatura

Debido a la fuerte dependencia de la temperatura en la velocidad de digestión, la temperatura es quizás el parámetro más crítico para mantener en un rango deseado. Las bacterias pueden sobrevivir en una amplia gama de temperaturas, desde los -70 ° C rango psicrófilico, pero prosperan dentro de los rangos: mesófilo, de 25 a 40 °C (77 a 104 °F), y termófilo de 50 a 65 °C (122 a 149 °F). La temperatura óptima para la digestión mesófila es 35 °C (95 ° F) y un digestor debe mantenerse entre 30 ± 5 °C para el funcionamiento más favorable (United Tech, 2003), la elección entre operar en cualquiera de estos rangos de temperatura implica compensaciones. La tasa de digestión anaerobia se mide por la tasa de producción de gas, tasa de crecimiento y rendimiento de la degradación del sustrato. La digestión termofílica permite mayores tasas de carga y alcanza una tasa de destrucción de patógenos, así como una mayor degradación del sustrato. Es, sin embargo, más sensible a las toxinas y cambios más pequeños en el medio ambiente y es menos atractivo desde un punto de vista energético debido que se necesita más calor para el proceso (United Tech, 2003). Además, los cultivos termofílicos requieren un mes o más para establecer una población (Golueke, 2002). Las bacterias que operan en el rango mesofílico son más robustas y pueden tolerar mayores cambios en los parámetros ambientales, incluyendo la temperatura. Las fluctuaciones de temperatura pueden ser extremas en digestores pequeños, o digestores mal aislados en climas fríos, lo que sugiere que estos se beneficiarían al ser ejecutados en el rango mesofílico para minimizar el colapso del sistema.

1.5.1 pH

Un indicador primario de la salud del digestor es el nivel de pH, que cambia en respuesta a las conversiones biológicas durante los diferentes procesos de digestión anaerobia; una caída de éste puede apuntar hacia la acumulación de ácido y la inestabilidad del digestor. La producción de gas es el único parámetro que muestra la

inestabilidad del digestor más rápido que el pH. La gama de pH aceptable para las bacterias en la digestión es de 5.5 a 8.5, aunque cuanto más cercano a neutral, mayor es la probabilidad de que las bacterias metanógenas funcionen (Díaz *et al.*, 2002). La mayoría de los metanógenos funcionan en un rango de pH entre 6.7 y 7.4, y óptimamente entre 7.0 y 7.2.

El mayor potencial para el fallo del digestor es el resultado de la acumulación de ácido, esto ocurriría si la cantidad de sólidos volátiles cargados en el digestor como residuo fresco aumentara bruscamente. Las bacterias acidogénicas prosperarían, produciendo altos volúmenes de ácidos orgánicos y bajando el pH por debajo de 5.0, un nivel letal para los metanógenos. Esto crea un bucle de retroalimentación positiva, una población de metanógeno decreciente a su vez conducirá a una mayor acumulación de ácido debido que los metógenos son responsables de consumir ácidos. Un pH ácido indica que este proceso ha comenzado, y se requiere una acción inmediata, como reciclar más agua. Por otra parte, la proliferación de metanogénesis puede resultar en una mayor concentración de amoníaco, aumentando el pH por encima de 8.0, donde impedirá la acidogénesis (Lusk, 1999). Esto se puede oponer añadiendo una mayor cantidad de materia prima fresca, lo que estimulará la acidogénesis y la formación de ácido. El mantenimiento del pH es especialmente delicado en la puesta en marcha porque los desechos frescos deben someterse a etapas de formación de ácido antes de que pueda comenzar cualquier formación de metano, lo que reducirá el pH. Para elevar el pH durante las etapas iniciales, los operadores deben agregar un tampón al sistema, tal como carbonato de calcio o cal. Se sigue el mismo procedimiento cuando el pH disminuye durante el funcionamiento, por ejemplo, debido a una mayor velocidad de carga. Por tanto, es responsabilidad del operador mantener la alcalinidad del bicarbonato lo más alta posible para que el pH permanezca lo suficientemente alto como para que los metanógenos sobrevivan (Vlyssides y Karlis, 2003). Puede ser necesario a veces agregar el álcali, hidróxido de sodio o de potasio, para neutralizar los ácidos.

1.5.2 Nutrientes

La variación de los nutrientes influye en las velocidades en el proceso de digestión anaerobia (alimentación de los microbios). La biomasa necesita para su desarrollo, el suministro de una serie de nutrientes minerales, además de una fuente de carbono y de energía. Para que se produzca el crecimiento y la actividad microbiana, estos elementos han de estar presentes y disponibles en el medio y su ausencia o escasez pueden reducir la velocidad del proceso de digestión anaerobia. Los principales nutrientes que presenta el sistema anaerobio son carbono, nitrógeno, sulfuro, fósforo, hierro, cobalto, níquel, molibdeno, selenio, y pequeñas cantidades de otros componentes (Speece, 1987). El carbono, es la fuente principal de alimentación de las bacterias y componente principal del biogás. Procede especialmente de los hidratos de carbono contenidos en la biomasa. El nitrógeno, es fuente importante para la sintetización de proteínas de los organismos vivientes. Las necesidades de azufre son menores que la de fósforo, la mayor parte de la biomasa contiene suficiente cantidad. Pero un exceso de azufre puede producir las denominadas sulfobacterias, que convierten los compuestos azufrados en sulfuro de hidrógeno (H_2S), gas tóxico y de muy mal olor, que produce graves problemas de corrosión cuando se quemara el biogás (Persson *et al.*, 1979).

Los metales están involucrados en los aspectos de crecimiento microbiano, metabolismo y diferenciación; se considera de carácter esencial la presencia de metales como el Níquel (Ni), el Cobalto (Co) y el Hierro (Fe). El Calcio (Ca), el Potasio (K), el Magnesio, el Manganeseo (Mn), el Molibdeno (Mo), el Sodio (Na) y el Zinc (Zn) son considerados importantes en diversos procesos celulares; otros metales como la Plata (Ag), el Aluminio (Al), el Cromo (Cr), el Mercurio (Hg), el Plomo (Pb), el Estaño (Sn), el Estroncio (Sr) y el Talio (Tl) tienen funciones biológicas esenciales desconocidas (Cooney, G., 1995). El Hierro como nutriente destaca por aumentar la conversión de ácido acético en metano, por aumentar la producción de biogás (Preeti y Seenayya, 1994) y por su efecto positivo en la reducción de sulfatos (Pereda *et al.*,

2007). Otro metal de carácter esencial es el cobre; el cual es utilizado por los microorganismos en gran variedad de procesos metabólicos (Virkutyte *et al.*, 2006). Se han obtenido efectos positivos utilizando trazas de metales principalmente el níquel, el cobalto, el tungsteno y el molibdeno, ya que constituyen cofactores, como los F₄₂₀, F₄₃₀, F₄₃₂, para enzimas procarióticas claves en la ruta bioquímica de la producción de metano (Pobeheim *et al.* 2011). El Hierro está involucrado en el metabolismo energético como citocromo y ferredoxina en metanógenos y en algunas enzimas; mientras que el Cobalto se encuentra presente en algunos derivados de la vitamina B₁₂ involucrados en la metiltransferasa y en la codeshidrogenasa; el Níquel es constituyente de la metil coenzima M reductasa (F₄₃₀) y de la hidrogenasa y cohidrogenasa (Fang Shen *et al.*, 1993). El Cobalto y el Tungsteno son componentes esenciales de cofactores de numerosas enzimas procarióticas involucradas en una gran variedad de procesos metabólicos (Chellapandi, 2011). Además, el Tungsteno juega un rol significativo en la degradación del propionato (Demirel y Scherer, 2011).

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 (Rossi y Leslie, 2010). Otro aspecto que considerar es la inclusión de vitaminas, ya que estimulan el crecimiento de las bacterias metanogénicas (Pereda, 2007). 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 (Basiliko y Yavitt, 2001). 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 (Bagi *et al.*, 2007).

De manera general los requerimientos de las bacterias metanogénicas van en el siguiente orden: $Mg = Ca > Fe > Zn > Ni > Co = Mo > Cu > Mn$ (Fang Shen *et al.*, 1993). La presencia de micronutrientes tales como Hierro, Níquel, Cobalto, Selenio, Molibdeno, Manganeso y Tungsteno provocan estabilidad membranal, transferencia de nutrientes y ahorro de energía en bacterias productoras de metano tales como las bacterias reductoras de azufre (Patidar, 2006). Otro aspecto que se ve beneficiado con la adición de micronutrientes es la cantidad de biogás producida; siendo él Ni el que más significancia aporta (Demirel y Scherer, 2011). La adición de nutrientes como el Calcio, el Níquel, el Cobalto y Hierro facilita la remoción casi total de los AGVs en un sistema termofílico (Zitomer *et al.*, 2008). Elementos como el Selenio (Se), el Molibdeno (Mo) y el tungsteno (W) son importantes en la oxidación del formato, un producto de la ruptura del ácido propiónico, ya que forman parte de la enzima formato deshidrogenasa. Un exceso de formato en el sistema puede intervenir con la oxidación del ácido propiónico (Banks *et al.*, 2012). Para la adición de micronutrientes se debe tomar en cuenta que las bacterias reductoras de azufre compiten por el sustrato con los metanógenos, y que además el azufre que producen tiene un efecto tóxico sobre las mismas (Wang *et al.*, 2011). El ácido nitriloacético (NTA) ha demostrado ser un quelante para metales traza y de este modo aumenta la biodisponibilidad de Co y Ni y promueve la producción de metano (Jin *et al.*, 2011). Una baja adición de metales esenciales puede tener un efecto estimulador en sistemas biológicos, mientras que, la presencia elevada de metales tiene un efecto tóxico a nivel celular, ya que causan estrés oxidativo al generar radicales libres (Chellapandi, 2011).

1.5.3 Tóxicos e inhibidores de la metanogénesis

El proceso de digestión anaeróbica es inhibido por la presencia de sustancias tóxicas en el sistema. Estas sustancias pueden formar parte de las materias primas que entran al digestor o pueden ser subproductos de la actividad metabólica de los microorganismos anaeróbicos. Sustancias tales como amoníaco, metales pesados, compuestos halogenados, cianuro y fenoles, forman parte del primer grupo, en tanto

que, sulfuro, amoníaco y ácidos grasos de cadena larga, forman parte del último grupo mencionado. En algunos casos, la magnitud del efecto tóxico de una sustancia puede ser reducido significativamente mediante la aclimatación de la población de microorganismos al tóxico. Por otra parte, muchas de estas sustancias a bajas concentraciones pueden ser estimuladoras del proceso (FAO, 2011), por ejemplo, hay sales como Na^+ , K^+ , Ca^{2+} y Mg^{2+} que a bajas concentraciones favorecen la digestión, pero a valores por encima de un cierto límite pueden inhibir el proceso (Menéndez y Pérez, 2007).

1.5.4 Relación carbono/nitrógeno de las materias primas.

Prácticamente toda la materia orgánica es capaz de producir biogás al ser sometida a fermentación anaeróbica. La calidad y la cantidad del biogás producido dependerán de la composición y la naturaleza del residuo utilizado. Los niveles de nutrientes deben de estar por encima de la concentración óptima para las metanobacterias, ya que ellas se inhiben severamente por falta de nutrientes.

El carbono y el nitrógeno son las principales fuentes de alimentación de las bacterias metanogénicas. El carbono constituye la fuente de energía y el nitrógeno es utilizado para la formación de nuevas células. Estas bacterias consumen 30 veces más carbono que nitrógeno, por lo que la relación óptima de estos dos elementos en la materia prima se considera en un rango de 30:1 hasta 20:1. La descomposición de materiales con alto contenido de carbono, superior a 35:1, ocurre más lentamente, porque la multiplicación y desarrollo de bacterias es bajo, por la falta de nitrógeno, pero el período de producción de biogás es más prolongado. En cambio, con una relación C/N menor de 8:1 se inhibe la actividad bacteriana debido a la formación de un excesivo contenido de amonio, el cual en grandes cantidades es tóxico e inhibe el proceso. En términos generales, se considera que una relación C/N óptima que debe tener el material “fresco o crudo” que se utilice para iniciar la digestión anaeróbica, es de 30 unidades de carbono por una unidad de nitrógeno, es decir, $\text{C/N} = 30/1$. Por lo tanto,

cuando no se tiene un residuo con una relación C/N inicial apropiada, es necesario realizar mezclas de materias en las proporciones adecuadas para obtener la relación C/N óptimas. Sobre la base del contenido de carbono y de nitrógeno de cada una de las materias primas puede calcularse la relación C/N de la mezcla aplicando la ecuación 1.3 (FAO, 2011):

$$K = \frac{C1 * Q1 + C2 * Q2 + \dots Cn * Qn}{N1 * Q1 + N2 * Q2 + \dots Nn * Qn} \quad (1.3)$$

Donde:

K = C/N de la mezcla de materias primas.

C = % de carbono orgánico contenido en cada materia prima.

N = % de nitrógeno orgánico contenido en cada materia prima.

Q = Peso fresco de cada materia, expresado en kilos o toneladas.

1.6 Biogás

La producción de biogás, que contiene entre 50 y 70 % de metano, es el aspecto más valioso del proceso de digestión anaerobia. El biogás se compone principalmente de metano y dióxido de carbono, con trazas de otros gases. El valor de calentamiento del biogás es directamente proporcional al porcentaje de contenido de metano, expresado por la relación:

$$\frac{1,000 \text{ BTU}}{\text{ft}^3} * (\% \text{ metano}) = \frac{\text{Valor calorífico del biogás BTU}}{\text{ft}^3} \quad 1.4$$

Una tonelada de residuos produce entre 80 y 150 m³ de biogás, dependiendo del proceso. La producción de biogás representa la ventaja más significativa de digestión anaerobia sobre el compostaje. Entre el 70-80 % del contenido energético de los compuestos orgánicos iniciales se conserva en el metano, por lo que el crecimiento

de la biomasa bacteriana es menor para los digestores anaerobios que aeróbicos, resultando en mayor volumen y reducción de masa (Mahony, O'Flaherty *et al.*, 2002).

Tabla 1.4 Producción y composición teórica de biogás en diversos compuestos orgánicos (Varnero, 1991)

Compuesto orgánico	Fórmula	Biogás (m ³ /Kg SV)	CH ₄ (m ³ /Kg ST)
Carbohidratos	C ₆ H ₁₀ O ₅	0.75	0.37
Lípidos	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	1.44	1.44
Proteínas		0.98	0.49

Domingues, *et al.* (2015) sometieron la grasa de la leche a un tratamiento anaeróbico y un pretratamiento enzimático utilizando dos enzimas diferentes. Una de ellas, *Candida rugosa* fue la más efectiva y con la que se obtuvieron 119.3 % CH₄ con un rendimiento de 0.4179 m³/kg DQO.

1.7 Bioabono

Las características del bioabono, dependen en gran medida del tipo de tecnología y de las materias primas utilizadas para la digestión. Durante el proceso anaeróbico, parte de la materia orgánica se transforma en metano, por lo que el contenido en materia orgánica es menor al de las materias primas. Gran parte de la materia orgánica de este producto se ha mineralizado, por lo que normalmente aumenta el contenido de nitrógeno amoniacal y disminuye el nitrógeno orgánico (FAO, 2011). El contenido de nutrientes de los bioabonos provenientes de aguas domésticas contienen tres elementos esenciales para el crecimiento de las plantas: nitrógeno, fósforo y potasio (NPK). Los mismos, en los bioabonos pueden estar en diversas formas químicas. Por ejemplo, el nitrógeno puede estar presente como nitratos, amonio o nitrógeno orgánico y el fósforo, por su parte, como ion fosfato y orto fosfato. Sin embargo, los niveles de

NPK presentes en los bioabonos estabilizados son inferiores a los contenidos en fertilizantes químicos como se indica en la siguiente tabla (Tabla 1.5):

Tabla 1.5 Nivel de nutrientes (Welter, 2006)

	Nitrógeno (%)	Fósforo (%)	Potasio (%)
Fertilizante	5	10	10
Bioabono estabilizado	3.3	2.3	0.3

1.8 Tipos de reactores

1.8.1 Reactores de primera generación

Son aquellos en que la biomasa se encuentra en relativo reposo, con un mínimo contacto con el sustrato, o también en suspensión, pero sin recirculación de sólidos. Por esta razón la relación (edad del lodo/tiempo de retención hidráulico) es igual a 1, como es el caso de los reactores completamente mezclados. Ejemplos de reactores de primera generación son las fosas sépticas, los tanques Imhoff, los digestores convencionales (Fig. 1.2), las lagunas anaerobias y los reactores completamente mezclados aplicados a la estabilización de los lodos de extracción de plantas de tratamiento de aguas residuales (Menéndez y Pérez, 2007).

1.8.2 Reactores de segunda generación

Se caracterizan porque los microorganismos son retenidos en el reactor por la presencia de un soporte al que se adhieren y se sedimentan. La primera versión de esta generación es el filtro anaerobio y posteriormente los Reactores de Manto de Lodo de Flujo Ascendente (RAFA) (Menéndez y Pérez, 2007). En la Figura 1.3 se muestra un esquema general de un RAFA.

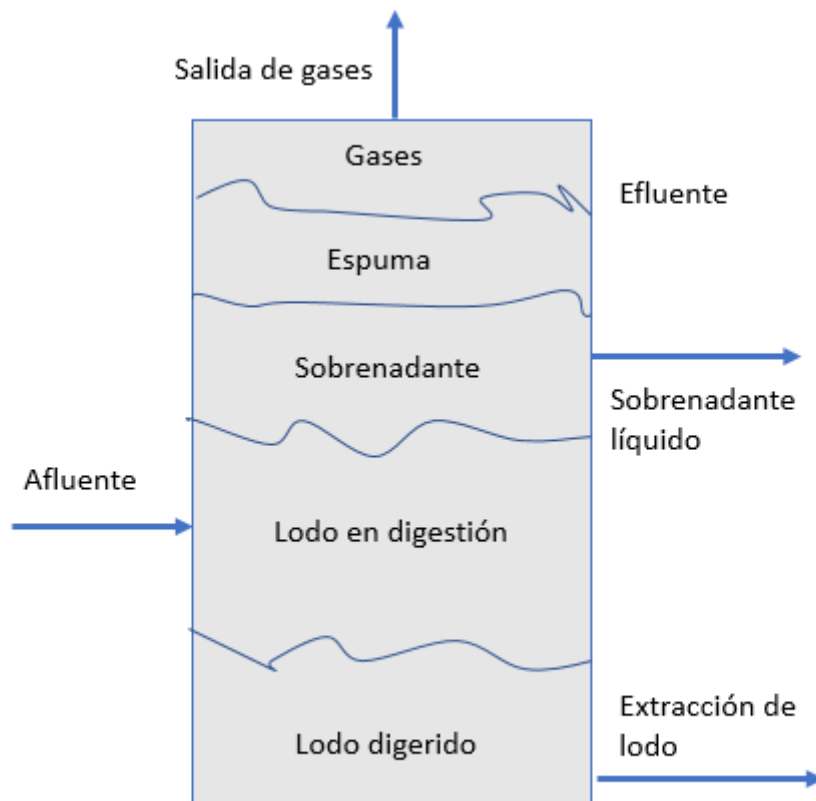


Figura 1.2 Esquema de un digester convencional de lodo

1.8.3 Reactores de tercera generación

Estos reactores contienen microorganismos en forma de biopelícula adherida a un soporte que se expande o fluidiza llamados reactores de lecho fluidizado (RLF) (Menéndez y Pérez, 2007). Este tipo de reactor puede ser flujo inverso o de flujo ascendente, dependiendo del material de soporte que se utilice (Moreno-Rincón, 2003).

1.8.3.1 Reactor de lecho fluidizado

Son reactores que funcionan en régimen continuo, en los que se utiliza material de soporte como medio de retención de la biomasa. Ésta crece formando una capa

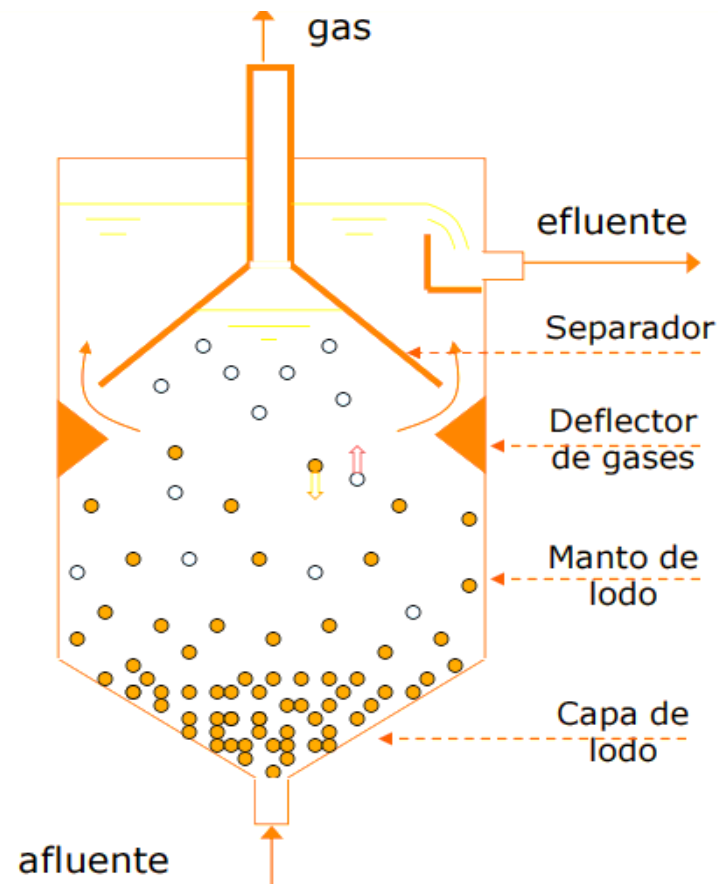


Figura 1.3 Esquema general de un reactor RAFA (FHIS, 2014)

alrededor del soporte (biopelícula), con lo que al fluidizar el agua residual a tratar, en este caso con el propio biogás generado por el sistema, elevamos al máximo el contacto de los microorganismos con el sustrato, maximizando también el rendimiento de proceso.

1.8.3.2 Reactor anaerobio de lecho fluidizado inverso

Para el caso de reactor de flujo inverso el líquido circula de manera descendente y se emplean soportes de baja densidad como el nylon, poliéster y polietileno, teniendo así un menor gasto energético para fluidizar el lecho (Figura 1.5). Por otro lado, los tiempos

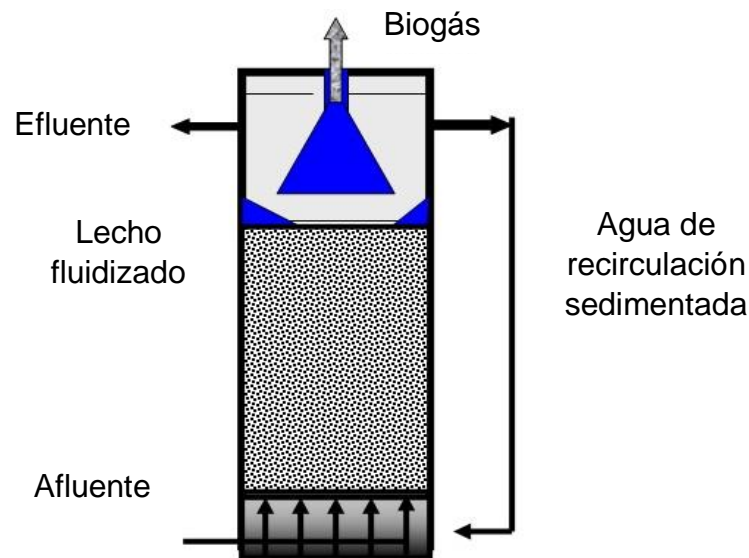


Figura 1.4 Esquema de un reactor de Lecho fluidizado (UNAD, 2016)

de retención hidráulica son menos prolongados llegando a estar entre 12-1 horas. Una desventaja que presentaba este reactor son los largos periodos de arranque debido al difícil desarrollo de la biopelícula sobre el soporte, sin embargo, Alvarado-Lassman (2008) realizó un estudio en este tipo de reactor utilizando soporte limpio y colonizado reportando periodos cortos de arranque con el último.

Tabla 1.6 Características del reactor de lecho fluidizado

Ventajas	Desventajas
Asimila muy altas cargas (40 Kg DQO/m ³ *d)	Arranque lento y difícil.
Pequeños tiempos de retención	Requiere energía para mantenerse la fluidización por bombeo.
Instalaciones compactas.	Presencia de sólidos suspendidos en el efluente
Asimila sólidos suspendidos en el afluente.	

En un reactor de lecho expandido, las partículas permanecen en suspensión, mientras que en el lecho fluidizado las partículas se encuentran en continuo movimiento. El sistema consiste de una columna de partículas dentro de un tubo, cuando una corriente descendente de un fluido pasa a través del lecho estático, este se expande

ligeramente, iniciándose el movimiento de las partículas. Conforme la velocidad descendente del fluido se incrementa las partículas se separan y se inicia la fluidización. Si se sigue aumentando la velocidad, llega un momento en que las partículas son transportadas fuera del reactor. El reciclo del efluente, es necesario para mantener la suficiente velocidad de descenso del lecho, es por ello que estos reactores son considerados como de mezcla completa, debido a este reciclo, estos sistemas son menos susceptibles a variaciones de pH, concentración o velocidad de carga orgánica (Moreno Rincón, 2003). Se han empleado diferentes tipos de soporte como: perlas de vidrio, plástico, PVC, Alúmina, Carbón Activado (GAC) y arena. En los reactores de la segunda y tercera generación, resalta el uso de material de soporte para la inmovilización de bacterias. La importancia de esto consiste en que presentan grandes superficies para colonización, pueden ser fijos o suspendidos y a su vez fluidizables. Si son fijos se emplean placas o empacados con partículas esféricas o irregulares, cuando son suspendidas se utilizan materiales de baja densidad como el poliéster, nylon y polietileno, estos se fluidifican permitiendo una distribución uniforme de la biomasa en la zona de expansión del reactor (Moreno Rincón, 2003). La fluidización inversa tiene varias ventajas tales como velocidades más altas de transferencia de masa, desplazamiento mínimo de microorganismos que cubren las partículas sólidas debido a menor atricción de sólidos, control eficiente del espesor de la biopelícula, velocidades del líquido más bajas para fluidizar las partículas y facilidad de refluidización en caso de falla de energía (Choudhury y Sahoo, 2012). Una vez fluidizado, el medio provee una vasta superficie de crecimiento bacteriano, generando una concentración de biomasa mayor a la de los otros sistemas de aguas residuales. La principal ventaja de los lechos fluidizados es que no se saturan por el crecimiento de esta biopelícula. Consecuentemente, se pueden usar partículas de soporte pequeñas, dando una mayor área superficial por unidad de volumen del reactor y con mayor carga orgánica. Diversos estudios se han dirigido a evaluar su variante, los RLFI y su implementación para tratar diversos sustratos como aguas provenientes de la industria cervecera (Alvarado–Lassman *et al.*, 2008), residuos de la industria vinícola (García-Calderón *et al.*, 1998), agua sintética (Sowmeyan y Swaminathan, 2008), resi-

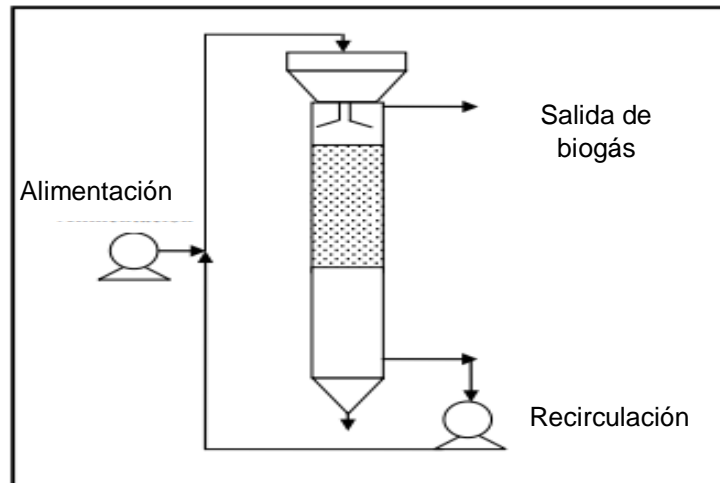


Figura 1.5 Reactor de lecho fluidizado inverso (García Rodríguez, 2015).

duos de la industria del destilado de vino (Buffiere *et al.*, 2006), los cuales demostraron que estos tipos de reactores son una buena opción en el tratamiento de residuos orgánicos mediante la digestión anaerobia. Según Heijnen *et al.*, (1989) Cuando se compara este tipo de configuración con otras, las ventajas que ofrece son:

1. Altas concentraciones de biomasa, adheridas a un soporte denso, el cual permite que no se elimine esta del reactor.
2. Grandes áreas disponibles para la adhesión de la biomasa.
3. Permite disminuir la concentración inicial del influente, al mezclarse esta con el efluente, así como la de proveer la alcalinidad necesaria para neutralizar pH altos del influente, contribuyendo a disminuir los efectos de shock.
4. Propiedades de alta transferencia de masa. Se tienen bajos gradientes de concentración alrededor de las partículas, lo cual permite el tratamiento de aguas residuales de baja carga.
5. No se producen taponamientos, ni canalizaciones, o retención de gas.
6. Es posible controlar y optimizar el espesor de la biopelícula.
7. No hay problemas de retención de lodos.
8. Ocupan poco espacio.

1.8.3.3 Reactores híbridos

Los biorreactores híbridos para el tratamiento de aguas residuales se caracterizan por un diseño que permite combinar en un mismo equipo la biomasa en suspensión con la biomasa adherida, por lo que si se ajusta su diseño adecuadamente puede combinar las ventajas propias de los sistemas de biomasa en suspensión (robustez y fiabilidad) con las de los sistemas de biopelícula (alta capacidad de tratamiento de contaminantes). Los soportes que se utilizan en estos sistemas híbridos pueden ser tanto sintéticos (poliestireno, poliuretano, polietileno, etc.) como naturales (arcilla, basalto, carbón etc.) y pueden encontrarse en suspensión moviéndose o fijos ocupando una posición determinada en el sistema (Oyanedel *et al.*, 2003).

1.8.3.4 Reactores con configuración en paralelo

Los reactores con configuración en paralelo 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, 1998). Hasta hace poco no existía antecedente de la existencia o utilización de bioreactores de este tipo dentro de las tecnologías de tratamiento anaerobio en aguas residuales sino hasta que Juárez-García (2016) utilizó un reactor de este tipo utilizando un sustrato estandarizado.

1.9 Soportes utilizados en RLFI

Muchos materiales diferentes podrían ser utilizados como apoyo en el reactor. En nuestro caso, las partículas de baja densidad requieren bajo consumo de energía de fluidificación, pero las partículas Extendsphere® presentan una mejor fluidificación. El tamaño del soporte es un parámetro importante para controlar la densidad aparente cuando la biopelícula crece. El polietileno triturado podría ser utilizado cuando una baja

Cva (inferior a 10 g / L d de DQO) se aplica y extendosphere® cuando se requiere una Cva superior. En general en las condiciones ensayadas el soporte extendosphere® presenta un mejor comportamiento para la fluidización, la colonización y el crecimiento de biopelículas (Alvarado-Lassman *et al.*, 2008).

1.10 Soporte Extendosphere®

El soporte Extendosphere® está hecho de pequeñas partículas de sílice, con una burbuja de aire en el interior, con una densidad de 0.7 g/cm³, diámetro promedio de 169 µm, tamaño de partícula promedio de 100-400 µm y área superficial de 0.0355 m²/g (Alvarado-Lassman *et al.*, 2008).

1.11 La fluidización

El termino fluidización es usualmente asociado con un sistema de dos o tres fases, en el cual las partículas sólidas son fluidizadas por una corriente de un líquido o gas fluyendo en sentido contrario a la gravedad. En el caso de los sistemas clásicos de fluidización las partículas sólidas tienen una mayor densidad que la del fluido, en la fluidización inversa la densidad específica del líquido es mayor que la densidad específica de la partícula y el lecho es expandido hacia abajo en dirección del fluido. (García - Calderón *et al.*, 1998). El principio de fluidización es poner en suspensión un material granular por una corriente de fluido. Este material se comporta en reposo como un medio poroso. La suspensión tiene lugar cuando la fuerza de gravedad de la partícula solida es compensada por la fuerza generada del fluido. Cuando se pone en suspensión, las partículas del lecho tienen un comportamiento parecido al del fluido, como son la densidad y viscosidad.

1.12 La semifluidización

Un lecho semifluidizado se forma restringiendo la expansión de un lecho fluidizado por medio de una malla o placa perforada que se encuentra en la parte superior del lecho. De esta manera en la parte superior del lecho, se forma un lecho fijo con las partículas cuya expansión está siendo restringida y en la parte inferior 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 en la parte superior y un lecho fluidizado en la parte inferior (Leyva *et al.*, 1993), cabe destacar que en los sistemas de fluidización inversa esto puede cambiar. El fenómeno de la semifluidización actualmente es estudiado por Alvarado-Lassman *et al.*, (2010) dentro de reactores con diversas configuraciones y condiciones.

1.13 Biopelículas

Las biopelículas son comunidades microbianas complejas que contienen bacterias y hongos. Los microorganismos sintetizan y secretan una matriz de protección que adhiere firmemente la biopelícula a una superficie biótica o abiótica (Stoodley *et al.*, 2002). Pueden consistir en una sola especie bacteriana o fúngica o, más comúnmente, pueden ser polimicrobiana, es decir, contienen muchas especies distintas (Dowd *et al.*, 2008).

1.13.1 Formación de biopelículas

1.13.1.1 Primera fase: Adhesión reversible a la superficie

Los microorganismos normalmente se perciben como seres solitarios que flotan libremente, es decir, en estado planctónico. Sin embargo, en condiciones naturales, la mayoría de microorganismos tiende a adherirse a superficies (gracias a enlaces débiles intermoleculares, que resultan de las fuerzas entre la célula y el soporte,

incluyendo: fuerzas de London – Van der Waals, interacciones electrostáticas, interacciones estéricas y puentes poliméricos de biopelícula en procesos RBC) y finalmente conforman las biopelículas (Flemming *et al.*, 2007).

1.13.1.2 Segunda fase: Adhesión irreversible a la superficie

A medida que las bacterias se multiplican, se adhieren más firmemente y se diferencian, cambiando los patrones de expresión génica en formas que promueven la supervivencia (Fleming *et al.*, 2007). Esto suele ser el resultado de un tipo de comunicación bacteriana conocida como detección de quórum (Horswill *et al.*, 2007).

1.13.1.3 Tercera fase: Biopelícula/matriz protectora viscosa

Una vez bien adheridas, las bacterias comienzan a segregar una matriz circundante conocida como sustancia polimérica extracelular (SPE) (Sutherland, 2001). Se trata de una matriz protectora o “limo”. A partir de ahí, las pequeñas colonias bacterianas empiezan a formar una biopelícula inicial (Donlan *et al.*, 2002).

1.13.1.4 Cuarta fase: 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.

1.13.1.5 Quinta fase: 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).

1.13.2 Rol de la biopelícula en el proceso del tratamiento

El tratamiento biológico de líquidos residuales consiste principalmente en la estabilización de la materia orgánica (a veces mal llamada eliminación), por acción de los microorganismos que se alimentan de la misma, transformándola en productos más oxidados y por lo tanto más estables. Los microorganismos de la biopelícula adheridos al soporte toman principalmente el oxígeno de la atmósfera, para la respiración y se alimentan de materia orgánica contenida en el líquido residual, la cual difunde a través de la biopelícula por diversos mecanismos.

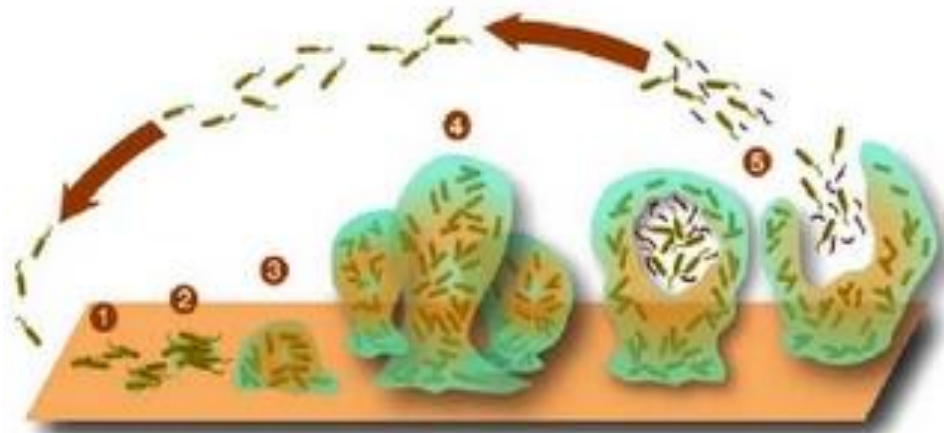


Figura 1.6 Proceso de formación de una biopelícula

CAPÍTULO 2

METODOLOGÍA

CAPÍTULO 2 METODOLOGÍA

Para lograr obtener los objetivos establecidos en esta investigación se planteó la metodología generalizada descrita a continuación en la Figura 2.1.

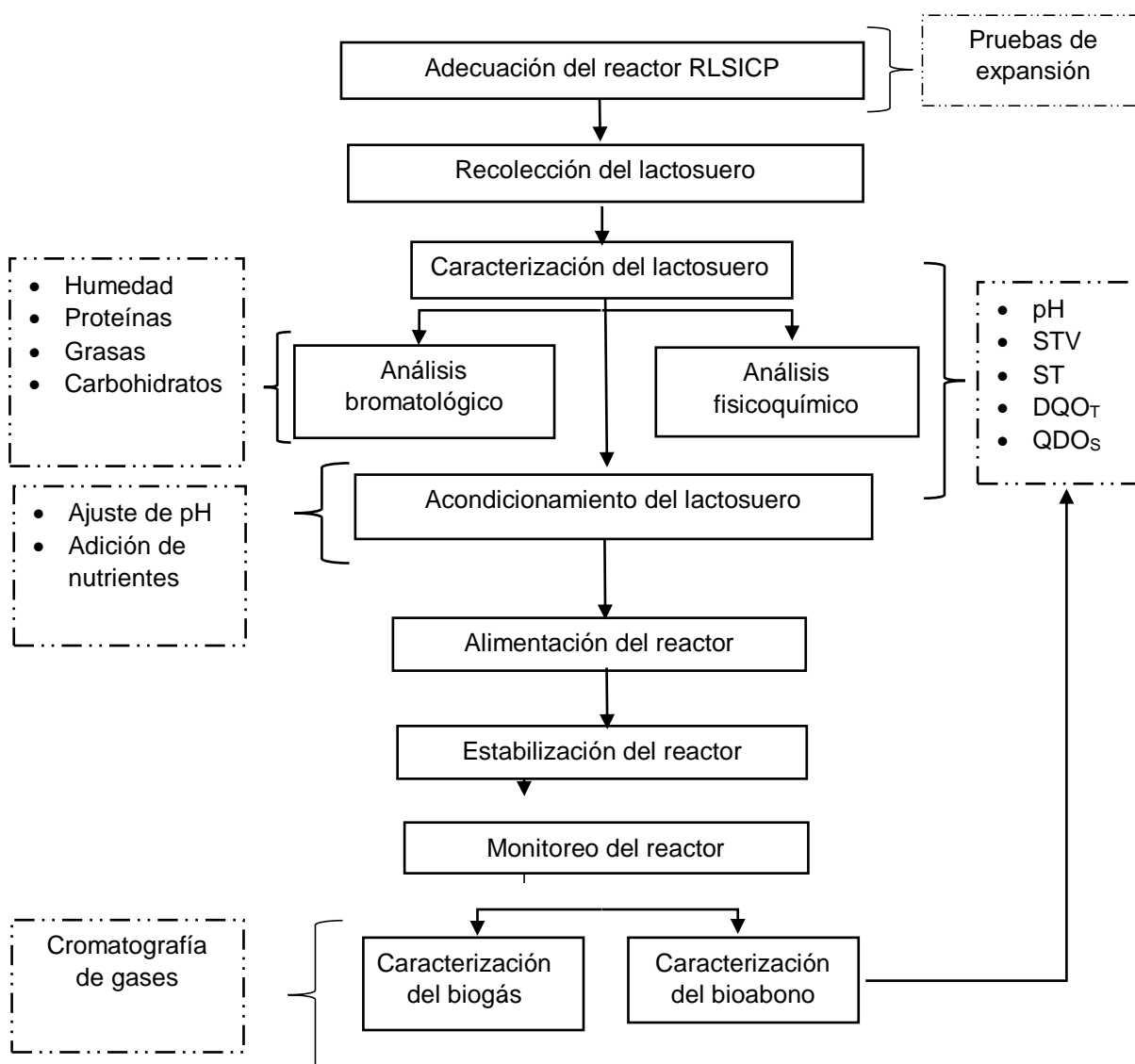


Figura 2.1. Diagrama de la metodología utilizada en el estudio del Reactor de Lecho Semifluidizado Inverso con Configuración en Paralelo (RLSICP)

2.1 Adecuación del Reactor de Lecho Semifluidizado Inverso con Configuración en Paralelo (RLSICP)

Se utilizó como reactor un tanque de vidrio y sus dimensiones fueron 30 cm de largo por 15 cm de ancho y 72 cm de alto (con 3 mm de espesor), capacidad de 32.4 L. En el interior del tanque fueron colocados 3 RLSI. El reactor utilizado durante el desarrollo de esta investigación se encuentra ubicado en el laboratorio de Investigación Ambiental I, ensamblado y utilizado por Juárez-García (2016) utilizando un sustrato comercial; en su estudio recomendó aumentar el diámetro de cada reactor RLSI para mejorar el rendimiento del biogás. En el siguiente diagrama (Fig. 2.2) se muestra el reactor con el que se llevó a cabo la experimentación. Ella utilizó tubos de acrílico como RLSI, con diámetro interno de 6.35 cm, en este trabajo se hizo el rediseño de éstos aumentando su diámetro interno a 8.29 cm y por consecuencia aumentó su volumen útil.

Del volumen total de cada RLSI, el 85 % se consideró como volumen de trabajo y el 15 % se destinó a la cámara de biogás (Tabla 2.1). Con respecto al volumen de trabajo de cada reactor (85 %), el 30 % fue ocupado por el inóculo y el 70 % restante correspondió al volumen útil (Tabla 2.2); considerando el volumen útil éstos, las dimensiones de los RLSI se muestran en la Tabla 2.3.

Tabla 2.1 Volumen total del RLSICP

Volumen de trabajo	85%
Cámara de biogás	15%

Tabla 2.2 Volumen de trabajo del RLSICP

Inóculo	30%
Volumen Útil	70%

En cuanto a los accesorios la mayoría no tuvo modificación con respecto al original. Debido al cambio de circunferencia de los RLSI, se modificaron las tapas, las cuales se pueden apreciar en la Figura 2.4d; cuentan con un orificio para la alimentación y

otro para la salida del biogás, están hechas de nylamid y su diámetro interno es de 8.29 cm.

Tabla 2.3 Características de diseño de los RLSI

Característica	Unidad
Diámetro externo	8.9 cm
Diámetro interno	8.3 cm
Altura total	58.5 cm
Altura de cámara de biogás	8.8 cm (15 %)
Altura útil	49.7 cm
Volumen útil total	2683 mL
Volumen de soporte	805 mL (15 cm de altura)
Volumen útil del reactor	1879 mL

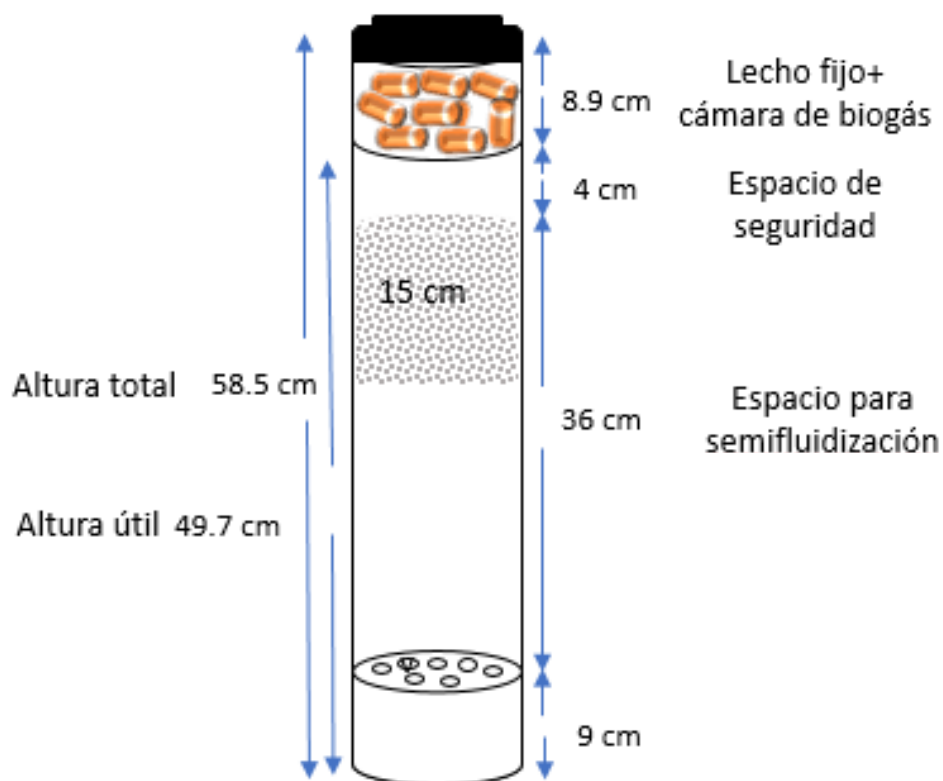


Figura 2.2 Diseño de cada RLSI

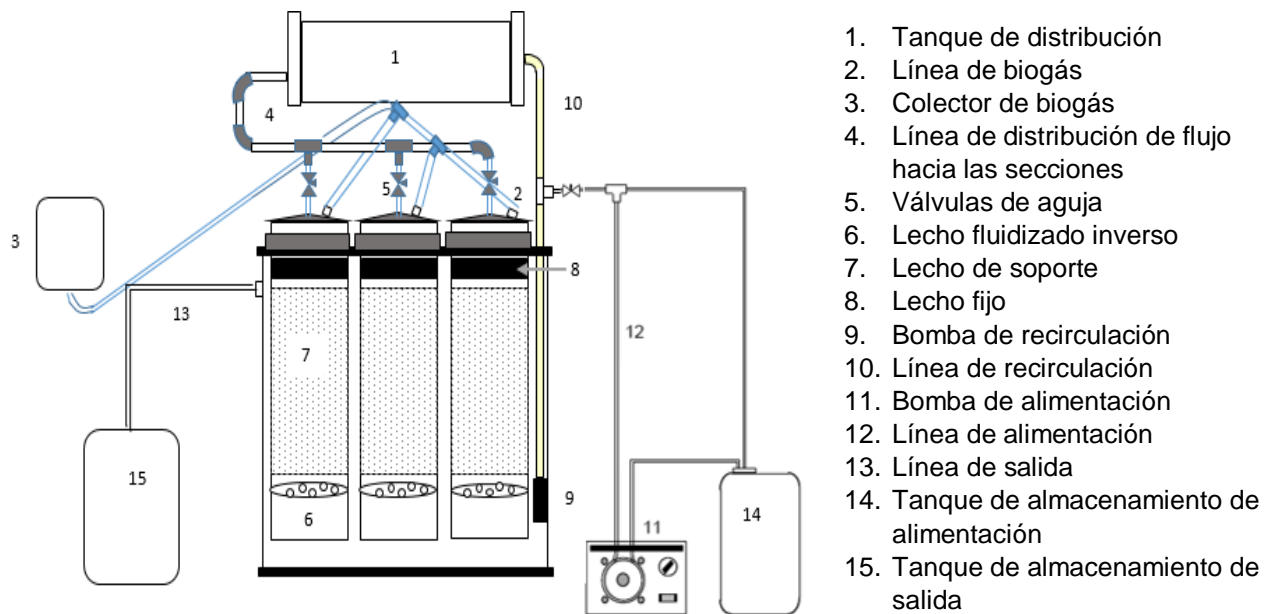


Figura 2.3 Diagrama general del RLSICP

Como tanque de almacenamiento de entrada (afluente) se utilizó un tanque cilíndrico con capacidad de 40 L; para la salida (efluente) un recipiente redondo de plástico con una capacidad de 30 L y como colector de biogás un recipiente de 10 L de capacidad (Fig. 2.5, 2.6 y 2.7).

2.1.1 Pruebas de expansión del RLSICP con soporte colonizado y no colonizado

Para observar el buen funcionamiento del reactor a utilizar, se realizaron pruebas de expansión, la primera consistió en hacer pasar diferentes flujos sobre 805 mL de soporte no colonizado que representa el 30 % del volumen útil de cada reactor. La suma total del soporte de los tres reactores fue de 2415.5 mL; la segunda prueba se hizo de la misma manera utilizando soporte colonizado, ambas se realizaron con la configuración de semifluidización. El soporte utilizado para estas pruebas fue el Extendsphere® (Figura 2.9a) por sus características especiales, como lo es su baja



Figura 2.4 Accesorios del RLSICP



Figura 2.5 Tanque de almacenamiento de entrada



Figura 2.6 Tanque de almacenamiento de salida



Figura 2.7 Colector de biogás

densidad. Las características de este soporte son: Densidad (g/cm^3): 0.7, diámetro promedio (μm): 169, tamaño promedio de la partícula (μm): 100-400 y Área superficial (m^2/g): 0.0355. El tipo de placa difusora del flujo utilizada para soportar el lecho fijo, en la parte superior del lecho fluidizado, se muestra en la Figura 2.8a. Está compuesto por 28 tubos de polietileno corrugado de 3 cm de largo y 19 cm de diámetro.

Domínguez-Hernández, (2015) diseñó varios modelos de placas perforadas de plástico para controlar la expansión del lecho fluidizado, colocándolas en la parte inferior del lecho, y recomendó las de orificios circulares de 6 mm de diámetro puesto que las de diámetro menor presentaron problemas de taponamiento, por ello se decidió para este estudio elaborar una placa con las características recomendadas. El diámetro de la placa fue de 8.29 cm y contó con cuatro perforaciones para dar soporte al anillo de sujeción (Figura 2.8b).



Figura 2.8 a) Lecho fijo, b) Placa perforada

Las pruebas de expansión con las dos condiciones del soporte se realizaron de la misma manera, por triplicado y se dejó 20 min entre cada réplica hasta compactar nuevamente el lecho. Alvarado-Lasman *et al.*, (2008) realizó pruebas con soporte colonizado y observó comportamientos diferentes entre cada uno de los soportes (colonizado y no colonizado). Por lo que se hicieron necesarias las pruebas de expansión y así tener mejor control sobre la fluidización.

Primero se realizaron las pruebas con soporte no colonizado, para esta prueba se lavó perfectamente la cantidad de 2415.5 mL de soporte con agua (Figura 2.9a y 2.9b), para quitar cualquier tipo de impureza. En la Tabla 2.4 se muestran las velocidades de flujo seleccionadas para las pruebas.

Tabla 2.4 Velocidades de flujo para el soporte no colonizado

No. de ensayo	Velocidad (mL/min)
Corrida 1	0
Corrida 2	108
Corrida 3	161
Corrida 4	176
Corrida 5	210
Corrida 6	223
Corrida 7	324



Figura 2.9a Soporte Extendsphere



Figura 2.9b Soporte Extendsphere lavado

El soporte colonizado utilizado (Figura 2.10) para el desarrollo de estas pruebas fue proveniente del RLF1 híbrido, ubicado en la planta piloto del Instituto Tecnológico de Orizaba. Dicho reactor fue alimentado con residuos orgánicos, provenientes de frutas y verduras, recolectados del mercado Zapata de la Ciudad de Orizaba. Las velocidades seleccionadas para estas pruebas se muestran a continuación (Tabla 2.5):

Tabla 2.5 Velocidades de flujo para el soporte colonizado

No. de ensayo	Velocidad (mL/min)
Corrida 1	0
Corrida 2	139
Corrida 3	145
Corrida 4	179
Corrida 5	206
Corrida 6	222
Corrida 7	232



Figura 2.10 Soporte colonizado

2.2 Recolección del lactosuero

Posteriormente se recolectó el lactosuero, proveniente de un negocio establecido en la comunidad de Soledad de Doblado, Veracruz en donde se elabora queso fresco. Para una carga volumétrica aplicada (Cva) de 2.4 g DQOT /L*d, el lactosuero fue recolectado cada tercer día en un recipiente de 3 L previamente lavado y para una Cva mayor de 5 g DQOT/L*d se recolectó en un recipiente de 20 L; al llegar al laboratorio éste fue almacenado a 4 °C con el propósito evitar la descomposición antes de su caracterización.

2.3 Caracterización del lactosuero

La caracterización consistió en la medición de diversos componentes como: pH, Sólidos Totales (ST), Sólidos Totales Volátiles (STV), Demanda Química De Oxígeno total (DQO_T) y Demanda Química de Oxígeno soluble (DQO_S), mediante el análisis fisicoquímico; y grasas, proteínas, carbohidratos y humedad, a través del Análisis bromatológico. La importancia de caracterizar la materia prima a utilizar en una investigación permite reducir la dispersión de características de la misma, de acuerdo con diversos factores como región de origen, productor, por mencionar algunos. En la Tabla 2.6 se muestra el método de prueba utilizado para cada componente analizado.

2.3.1 Análisis bromatológico

2.3.1.1 Humedad

La humedad se determinó aplicando la técnica gravimétrica, para ello se utilizaron crisoles en los cuales se depositó la muestra, posteriormente se colocaron a 104 °C durante 24 horas en una estufa Riossa, Modelo: H-33. Al cabo del tiempo se colocaron los crisoles con la muestra dentro de un desecador y una vez que alcanzaron la temperatura, se pesaron. Este procedimiento fue tomado de la norma nmx-aa-034-

scfi-2015 Análisis de agua - Medición de sólidos y sales disueltas en aguas naturales, residuales y residuales tratadas – Método de prueba.

2.3.1.2 Proteínas

Para la determinación de proteínas primero se determinó el contenido de nitrógeno total en porcentaje, por el método de Microkjeldahl. El porcentaje de nitrógeno obtenido por este método se calculó en base a la ecuación 2.1. Para convertir el nitrógeno a proteína, los valores obtenidos de porcentaje de nitrógeno se multiplicaron por el factor 6.38 (Ec. 2.2). Este método utilizado consistió en digerir las proteínas junto con otros componentes orgánicos con ácido sulfúrico y en presencia de catalizadores mecánicos como sulfato de potasio, sulfato de cobre y selenio. El nitrógeno orgánico total fue convertido en sulfato de amonio y retenido en solución. La solución de digestión se hizo alcalina y se destiló para liberar el amoniaco atrapado y titulado con una solución normal, para obtener el contenido de nitrógeno orgánico de la muestra.

$$\%N = \frac{G * N * 0.014}{M} * 100 \quad (2.1)$$

Donde:

G= mililitros de la solución gastados en la titulación.

N= normalidad de la solución usada en la titulación.

0.014= mili equivalentes de nitrógeno.

M=peso de la muestra en gramos o volumen en mililitros.

$$\% P = \% N \times F \quad (2.2)$$

Donde:

% P= porcentaje de proteínas

% N= porcentaje de nitrógeno

F=factor de conversión

2.3.1.3 Grasas

Para la determinación de las grasas y los aceites el hexano fue el solvente extractor. Este método fue seguido de la norma mexicana NMX-AA-005-scfi-2013 Análisis de agua – medición de grasas y aceites Recuperables en aguas naturales, residuales y Residuales tratadas – método de prueba. Para la cuantificación de las grasas y aceites se hizo uso de la ecuación 2.3.

$$\frac{mg}{L} \text{ grasas y aceites} = \frac{(M_2 - M_1) * 106}{V} \quad (2.3)$$

Donde:

M₁= Peso del matraz a peso constante

M₂= Peso del matraz con muestra

V= volumen de muestra

2.3.1.4 Carbohidratos

Se determinaron utilizando la técnica de la antrona descrita por Trevelyan y Harrison (1952) citado por Pimentel-González *et al.*, (2011). Ésta consistió en agregar 0.2 g de antrona en 100 mL de ácido sulfúrico. La solución de ácido sulfúrico fue preparada adicionando 200 mL de agua destilada en 500ml de ácido sulfúrico concentrado. La solución de antrona se dejó reposar de 30-40 minutos con agitación ocasional. Se elaboró una curva de calibración, para ello se adicionó 1 mL de solución bajo prueba y 5 mL de antrona en tubos de ensaye de (150x25 mm). Se sometieron los tubos a un baño de hielo durante 12 minutos y se dejaron enfriar a temperatura ambiente. Finalmente se midió la absorbancia a una longitud de onda de 600 nm.

2.3.2 Análisis fisicoquímico

2.3.2.1 pH

Para la determinación del pH (concentración de iones hidrógeno) se utilizó un potenciómetro marca ORION Research. Inc. Model 250 A. El suero utilizado por la adición de ácidos tuvo un pH inferior a 7, por lo que se ajustó con la adición de bicarbonato de sodio (NaHCO_3). Se eligió esta sustancia ya que posee una gran solubilidad y no es tóxica.

2.3.2.2 STV y ST

Se llevó a cabo utilizando muestras previamente deshidratadas mediante una estufa Riossa. Modelo: H-33. Se colocaron dentro de una Mufla modelo Furnace 1300 (Barnstead/thermolyne) a una temperatura de 500 °C durante 2 h. El método es gravimétrico y se basó en la diferencia de pesos; las fórmulas utilizadas fueron las siguientes (Ec. 2.4 y 2.5):

$$mg \frac{STV}{L} = \left(\frac{P_3 - P_4}{P_2} \right) * 1000 \quad (2.4)$$

$$mg \frac{ST}{L} = \left(\frac{P_3 - P_1}{P_2} \right) * 1000 \quad (2.5)$$

Donde:

P_1 = peso del crisol a peso constante

P_2 = peso del crisol+muestra

P_3 =peso del crisol+muestra después de la estufa

P_4 = peso del crisol+muestra después de la mufla

2.3.2.3 DQO_T y QDO_s

Para la determinación de estos parámetros se utilizaron como equipos: un vórtex Thermolyne Maxi mix Plus, una placa digestora para (DQO) marca Hach y una centrifuga Beckman Allegra™. La técnica empleada se llevó a cabo con el procedimiento del micrométodo colorimétrico 5220 D Standard Methods. El cálculo del porcentaje de remoción de la DQO se realizó aplicando la ecuación 2.6.

$$DQO \left(g \frac{DQO}{L} \right) = \frac{DQO \text{ Entrada} - DQO \text{ Salida}}{DQO \text{ Entrada}} * 100 \quad (2.6)$$

Donde:

DQO= Demanda química de oxígeno

2.4 Acondicionamiento del lactosuero

Desde hace varias décadas se han realizado caracterizaciones del lactosuero, en relación a la NOM- 001-SEMARNAT (1996), la cual hace referencia a los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales, las concentraciones de materia orgánica obtenidas (que actúan como contaminante) sobrepasan estos límites por lo que este sustrato es catalogado dentro de los residuos con una elevada cantidad de materia orgánica. En la tabla 2.8 se encuentran las concentraciones utilizadas para el acondicionamiento para diversas Cva. La ecuación 2.7 se utilizó para conocer las concentraciones indicadas del ajuste de las cargas.

$$Cva \left(g \frac{DQO_T}{L} * d \right) = \frac{(Concentración \text{ de } DQO_T * Vol \text{ útil de alimentación})}{Volumen \text{ útil de reactor}} \quad (2.7)$$

2.4.1 Ajuste del pH

Para que se lleve a cabo el proceso de la digestión anaerobia se necesita ajustar el pH a valores de 6.8 y 7.4 (Deublein y Steinhauser 2008) siendo el pH de 7 el ideal. El origen del lactosuero utilizado en este trabajo fue de origen ácido por lo que para ajustar el pH se adicionó bicarbonato de sodio (NaHCO_3). Se requirió de un potenciómetro para medir el ajuste del pH.

2.4.2 Adición de nutrientes

La fermentación anaerobia incluye grandes cantidades de reacciones químicas, bioquímicas y microbiológicas asociadas al metabolismo de numerosos microorganismos. Por lo mismo requiere de macro y micronutrientes (González *et al.* 2011); así como trazas de algunos metales para el crecimiento y buen funcionamiento de los microorganismos (Feng, 2010). Las trazas de determinados metales están involucradas en las actividades enzimáticas de la acidogénesis y metanogénesis; en condiciones de depresión o estrés, la adición de elementos traza al proceso de digestión anaerobia es indispensable para garantizar una buena producción de metano (Rossi y Leslie, 2010). Alvarado-Lassmann *et al.*, (2013) estudiaron la influencia de los nutrientes y oligoelementos en un reactor de lecho fluidizado inverso (RLSI). 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. El reactor se hizo funcionar en modo continuo por un periodo de 56 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.

Las cantidades que aparecen en la tabla 2.7 fueron también adicionadas por González-García (2016) para estabilizar un reactor RLF cuando utilizó lactosuero como sustrato, éstas se prepararon por litro de solución.

Tabla 2.6 Métodos de prueba para el análisis fisicoquímico y bromatológico

Análisis bromatológico	Método de prueba
Proteínas	Método de Microkjeldahl
Grasas	NMX-AA-005-SCFI-2013
Carbohidratos	Método de Antrona-Ácido Sulfúrico
Humedad	NMX-aa-034-scfi-2015
Análisis físico-químico	Método de prueba
STV y ST	NMX-AA-034-SCFI-2015
DQO _T y QDO _s	Micrométodo colorimétrico 5220 D Standard Methods
pH	Método potenciométrico

2.5 Alimentación del reactor

Para la alimentación se utilizó el 64.8 % de la capacidad de un contenedor de 40 L, es decir se colocaron en el interior 25.92 L de sustrato, el cuál fue constituido por una relación lactosuero: agua; para la Cva de 2.4 g DQOT /L fue 1:24.92 L, ésta fue la Cva inicial y dicha carga se incrementó paulatinamente. La adición de nutrientes y oligoelementos al reactor es esencial para reducir la puesta en marcha y el tiempo de estabilización (Alvarado-Lassman *et al.*, 2013). En la Tabla 2.8 se muestra de manera práctica las cantidades utilizadas para el acondicionamiento del lactosuero. Durante la alimentación el sustrato en solución se agitó ocasionalmente con la finalidad de evitar la sedimentación de los sólidos suspendidos totales.

Tabla 2. 7 Micronutrientes adicionados para la estabilización del reactor híbrido (Aguilar- Montor, 2014)

Componente	Sustancia	Concentración (g/L)
Oligoelementos	Cloruro de potasio	0.5
	Cloruro de cobalto	0.1
	Cloruro ferroso	0.5
	Cloruro de calcio	0.5
	Cloruro de amonio	0.5

2.6 Estabilización del reactor

Debido al cambio de sustrato, el reactor tomó su tiempo en estabilizarse. El periodo de arranque fue corto ya que el soporte utilizado para este trabajo se hizo utilizando soporte Extendsphere® colonizado. Alvarado-Lassman *et al.*, (2008) hizo pruebas utilizando soporte Extendsphere® colonizado y no colonizado obteniendo un menor tiempo de arranque con el soporte colonizado.

Tabla 2.8 Acondicionamiento del sustrato para diversas Cva

Cva (g DQO_T/L*d)	2.4	5	20	10
Concentración (g DQO _T /L)	3	6.25	25	12.5
Cantidad de bicarbonato de sodio (mL)	75	150	400	220
Lactosuero (L)	0.96	2	8	4
Oligoelementos (mL)	25.92	54	216	108

2.7 Monitoreo del reactor.

El monitoreo consistió en la medición de los siguientes parámetros: pH, SV, STV, DQO_T y QDO_s. Para dicho análisis se recolectó una muestra de aproximadamente 50 mL en un recipiente pequeño y se almacenó a una temperatura de 4 °C.

2.7.1 Caracterización del bioabono producido

La caracterización se realizó cuantificando los mismos parámetros mencionados en el monitoreo del reactor.

2.7.2 Caracterización del biogás producido

Una vez que el reactor se halló estabilizado se cuantificó y se caracterizó el biogás producido mediante un cromatógrafo de gases marca Buck Scientific Model 310. Este equipo está conectado a una computadora. La técnica se realizó utilizando una jeringa

con la cual se extrajo la muestra de biogás y se inyectó al cromatógrafo. Después de 15 minutos en la pantalla del monitor arrojó los valores del área analizada bajo las curvas y de éstos se obtuvo la relación, en base al área total, para obtener el porcentaje de metano

CAPÍTULO 3

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CAPÍTULO 3 RESULTADOS y DISCUSIÓN

En el presente capítulo se muestran a continuación los resultados obtenidos en las pruebas descritas en el capítulo II.

3.1 Adecuación del reactor RLSICP

Se adecuó el Reactor de Lecho Semifluidizado Inverso con Configuración en Paralelo (RLSICP) (Figura 3.1) el cual quedó instalado en el laboratorio de Investigación ambiental I del Instituto Tecnológico de Orizaba.

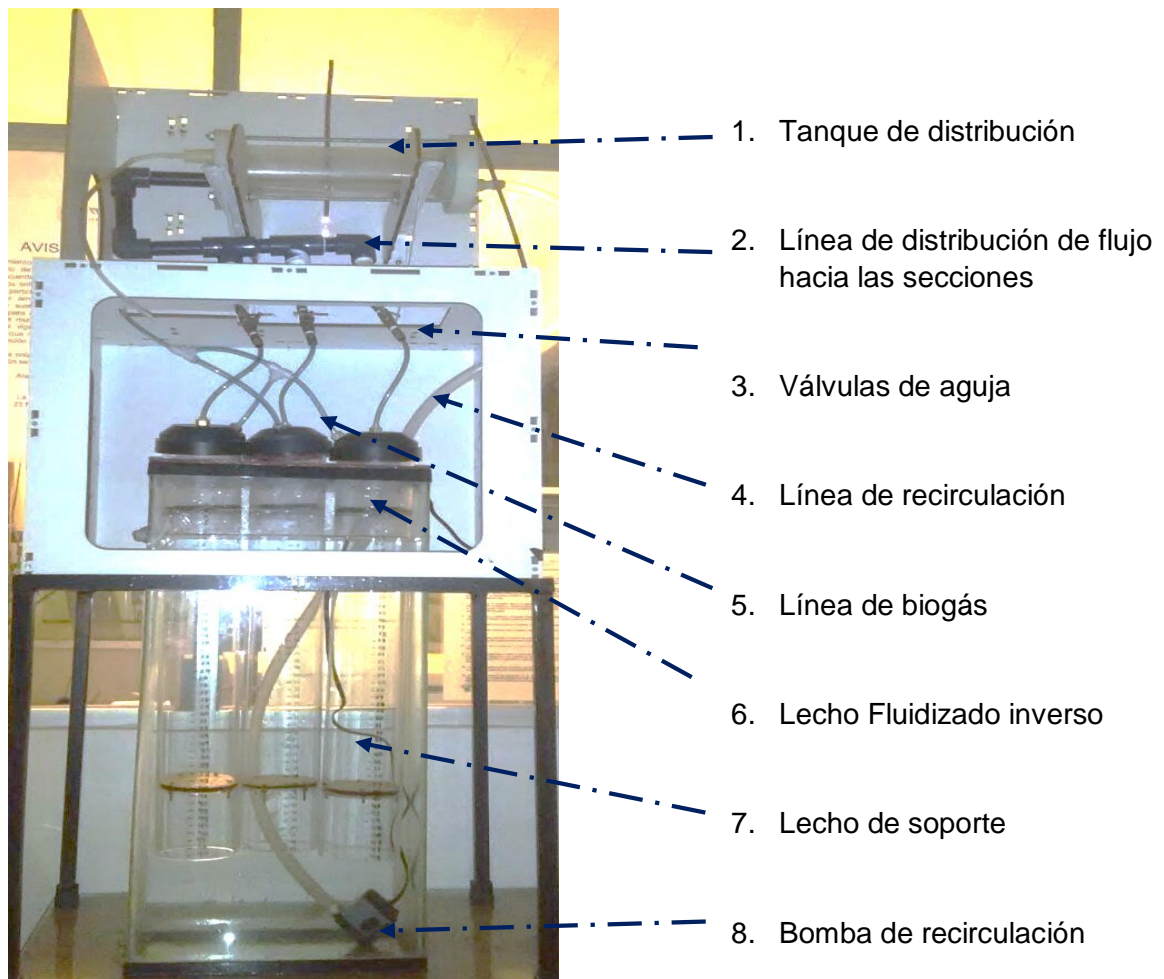


Figura 3.1 Adecuación del RLSICP

Al aumentar el diámetro de los RLSI la cantidad de soporte se incrementó; la cantidad total correspondiente al 30 % del volumen útil de cada reactor sumó un total de 2415 mL, ésto representó 7.46 % del volumen total del reactor (32.4L), mientras que Juárez-García, (2016) al trabajar con esta misma configuración de reactor, el volumen de soporte que utilizó tan sólo representó el 2.21 %. Al contrastar estos valores se registró un incremento de 3 veces más. En la Tabla 3.1 se muestra una comparación entre el reactor original y el modificado (RLSICP).

Tabla 3.1 Cuadro comparativo del reactor original (Juarez-García, 2016) y el reactor modificado

Característica	Original	Modificado
Cantidad de soporte (mL)	717	2415
Diámetro de los RLSI (cm)	6.35	8.89
Remoción DQO _s (%)	26	62.2
Biogás producido (L)	3	24
Tiempo de estabilización (d)	28	40
Velocidad descensional (m/h)	8.75	2.28
Expansión del soporte colonizado (%)	98	91

3.1.1 Pruebas de expansión del RLSICP

Las pruebas de expansión del RLSICP se realizaron por triplicado; para estas pruebas se hicieron pasar diferentes velocidades de flujo (Tabla 3.2 y 3.3) en cada reactor, sobre soporte colonizado y no colonizado. Después de cada prueba se esperó aproximadamente 20 minutos para que el soporte se compactara nuevamente. Los resultados de la expansión se muestran en las tablas 3.2 y 3.3.

Tabla 3.2 Expansión del lecho con soporte no colonizado

No. de ensayo	Velocidad descensional cm/min	Expansión $\varepsilon = \left(\frac{H}{H_0}\right)$
1	0	0.30
2	2	0.38
3	2.99	0.62
4	3.26	0.63
5	3.89	0.66
6	4.13	0.71
7	6	1

Tabla 3.3 Expansión del lecho con soporte colonizado

No de ensayo	Velocidad descensional cm/min	Expansión $\varepsilon = \left(\frac{H}{H_0}\right)$
1	0	0.30
2	2.58	0.49
3	2.7	0.65
4	3.32	0.68
5	3.83	0.80
6	4.13	0.91
7	4.3	1

Los resultados de las pruebas de expansión fueron expresados en términos de la expansión relativa que se define por la relación de la altura estática del lecho a la altura de columna H / H_0 . El comportamiento del soporte colonizado contra el no colonizado fue muy semejante a velocidades inferiores a 3.3 cm/min y a partir de ésta el soporte colonizado a velocidades mínimas logró expansiones relativas adecuadas alcanzando la ideal (0.8) a 3.8 cm/min, mientras que el no colonizado a 4.3 cm/min. El aumento paulatino en la velocidad del soporte colonizado para expandirse favoreció la expansión y la fluidización del mismo puesto que al llegar a la expansión relativa de 0.8 se mantuvo sin tendencia a aumentar, lo contrario se observó con el no colonizado ya que la rápida velocidad no permitió el control del soporte y la expansión más alta que logró antes de llegar a la placa fue de 0.65 cm/min a una velocidad de 4.13 cm/min, con el aumento mínimo de ésta fue inevitable su tendencia a salir del reactor ya que al ser partículas muy finas estas se dispersaron rápidamente y tendieron a salirse.

El caso del soporte no colonizado fue que sus partículas estaban aglomeradas y éstas permitieron una mejor regulación en la fluidización y a su vez evitaron la dispersión del soporte evitando pérdidas; otro factor importante que reguló la expansión fue la placa

de semifluidización, ya que sus orificios de 6 mm actuaron disminuyendo la velocidad descendencial y no presentó problemas de obstrucción.



Figura 3.2 Pruebas de expansión del soporte no colonizado.

Las velocidades relativas son semejantes a las obtenidas por Domínguez-Hernández (2015) que al utilizar la misma configuración de placa, en un RLF1 con una velocidad de 2.3 m/h (3.83 cm/min) logra una expansión relativa de 0.8 y velocidades por encima de ésta el soporte se expande lentamente hasta salir de la zona de fluidización, discute que si bien no logra retener el soporte dentro de la zona de lecho fluidizado, pero si por lo menos ralentiza la salida dentro del soporte del reactor.

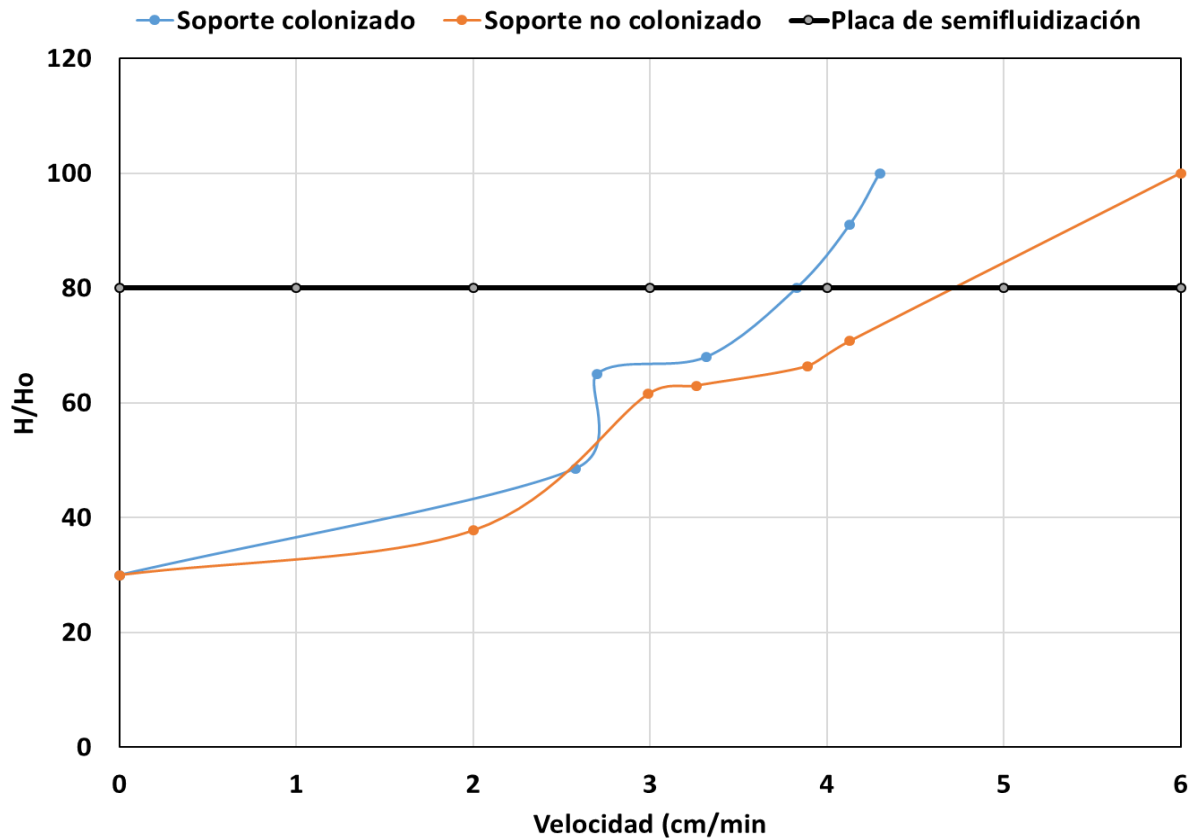


Figura 3.3 Pruebas de expansión del soporte colonizado y no colonizado

3.2 Recolección del lactosuero

El lactosuero utilizado fue recolectado cada tercer día, para las cargas de 2.4 y 5 g DQOT/L*d la recolección se llevó a cabo en recipientes pequeños de 5 L de capacidad y para las cargas de 20 y 10 g DQOT/L*d fue en un recipiente de 20 L. Las muestras variaron su coloración, algunas mostraron color blanco-amarillento y otras amarillo-verdoso (Fig. 3.4). Los primeros días presentaron una apariencia homogénea, sin embargo, entre el segundo y tercer día se presentó una capa blanca, lechosa y grasosa de aproximadamente 0.5 mL en la parte superior, que al agitar el recipiente desapareció. La aparición de esa capa mostró la materia insoluble del lactosuero.

3.3 Caracterización del lactosuero

3.3.1 Análisis fisicoquímico

El análisis fisicoquímico del lactosuero se llevó a cabo analizando 15 muestras con una réplica para ST y STV; mientras que para DQO_T y DQO_S se analizaron 4 muestras con su respectiva réplica por lo que se obtuvo un promedio de los datos. En la Tabla 3.4 se muestran los resultados obtenidos. El lactosuero presentó una cantidad elevada de materia orgánica medida como Sólidos Totales Volátiles (STV) con un valor de 57 ± 2.5 g/L. El valor del pH fue ácido siendo de 3.9. La cantidad de materia orgánica fue medida también mediante la DQO_T y DQO_S contando con un valor de 82 ± 5 y 75 ± 4 g/L, respectivamente. Con lo cual se corrobora la cantidad de materia orgánica presente en la muestra de lactosuero analizada.

Tabla 3.4 Análisis fisicoquímico

Parámetro	Unidad
ST (g/L)	85 ± 5
STV (g/L)	57 ± 2.5
pH	3.9 ± 0.6
DQO_T (g/L)	82 ± 5
DQO_S (g/L)	75 ± 4



Tabla 3.4 Lactosuero bruto envasado

3.3.2 Análisis bromatológico

La cantidad de macromoléculas presentes en la muestra fue determinada mediante el análisis bromatológico el cual se muestra en la Tabla 3.5. Se obtuvo que la cantidad de carbohidratos predominó, seguido de las proteínas y finalmente las grasas. El contenido de grasa fue de 4.9 g/L, dicho valor es también un indicador de materia

orgánica elevada. Otro problema potencial puede ser la flotación de biomasa debido al contenido de grasa (Mockaitis *et al.*, 2006). Panesar, (2007) y Callejas, (2012) realizaron la caracterización bromatológica de lactosuero ácido y dulce, analizando sólidos totales, carbohidratos en forma de lactosa, grasa, proteína, calcio, fósforo, potasio y cloruros para cada componente. Los resultados obtenidos en este trabajo

Tabla 3.5 Análisis bromatológico

Parámetro	Unidad
% Humedad	94 \pm 0.5
Nitrógeno (g/L)	1.08 \pm 0.5
Proteínas (g/L)	6.9 \pm 1
Carbohidratos (g/L)	44.5 \pm 4
Grasas (g/L)	4.9 \pm 1.5

se encuentran dentro de los rangos propiamente del suero ácido. En la siguiente tabla (Tabla 3.6) se muestra la comparación entre caracterizaciones realizadas por diversos autores y la realizada en este estudio, y ésta última fue semejante a la realizada por Hernández-Cabrera *et al.*, (2005).

3.4 Acondicionamiento del lactosuero

Después de la caracterización se ajustaron ciertas características del lactosuero, como pH y carga orgánica, además de agregar oligoelementos (cloruro de calcio, cloruro de potasio, cloruro de hierro en cantidades de 0.5 g/L y 0.1 g/L de cloruro de cobalto). Los oligoelementos fueron agregados en forma de solución. Ésta se preparó por litro y fue contenida en un frasco ámbar para posteriormente almacenarla a una temperatura de 4 °C con la finalidad de conservarla. Para cada carga se adicionó una cantidad de esta

Tabla 3.6 Comparación de caracterizaciones del lactosuero

	pH	DQO (g/L)	Humedad (%)	ST (%)	STV (%)	Grasas y aceites (%)	Carbohidratos (%)
Caracterización actual	3.9±0.5	82±5	94 ±0.5	5±1	4.9	0.44	3.8
Valencia- Denicia y Ramírez- Castillo, 2009	N.R	N.R	93.1	6.9	6.3	0.3	4.9
Comino et al., 2012	4.12	74.4	94.92	5.08	4.52	N.R	N.R
Hernández- Cabrera et al., 2005	5	N.R	93-95	5-7	N.R	0.1-0.5	3.8-5.2

solución, las cantidades se muestran en la Tabla 2.7, que actúan como nutrientes para los microorganismos metanogénicos. El pH de las muestras contó con un valor ácido de 3.9 ± 0.5 y al preparar la carga este valor aumentó oscilando entre 6 y 6.5, por lo que se procedió a ajustarlo con bicarbonato de sodio (NaHCO_3) hasta un pH de 7.3 (Tabla 2.8). Durante el monitoreo del reactor se observó oscilación dentro del sistema en un rango de 6.4 y 7.1, por lo que el ajuste del pH varió de acuerdo con esto; si el valor del pH se mostraba por debajo de 6.4, entonces el valor de entrada se aumentaba hasta 7.5 y si el valor del pH se encontraba por encima de 7, entonces el ajuste se hacía a 7.1. El lactosuero ajustado mostró una apariencia final como la que se observa en la Figura 3.5.

3.5 Alimentación del reactor

El reactor se alimentó de manera continua a diversas cargas: 2.4, 5, 20 y 10 g DQO_T/L con un tiempo de residencia hidráulica de 1.25 días; el flujo de alimentación fue de 17.7 mL/min, éste se determinó en base al volumen útil del reactor (32.4 L). De manera

general en la Tabla 3.8 se muestran de forma resumida las condiciones de operación del reactor.



Figura 3.5 Solución de lactosuero acondicionada.

3.5.1 Monitoreo del reactor

El monitoreo del reactor se llevó a cabo como se describe en el capítulo 2. El RLSICP se monitoreó durante 154 días. En la Tabla 3.7 se muestran las cva_s , concentraciones y tiempos utilizados durante la operación del reactor.

Tabla 3.7 Cva , concentración y tiempo utilizado en el monitoreo del RLSIAP

Cva (mg/L*d)	Concentración (mg/L)	Tiempo (días)
2.4	3	74
5	6.25	29
20	25	17
10	12.5	34



Figura 3.6 Monitoreo del reactor en operación continua

3.5.1.1 Monitoreo de la 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 $10 \text{ g DQO}_T/\text{L}^*\text{d}$, por lo anterior el RLSICP fue alimentado con una Cva inicial de $2.4 \text{ g DQO}_T/\text{L}^*\text{d}$ durante 74 días. La Cva se mantuvo en un intervalo mínimo de $2.3 \text{ g DQO}_T/\text{L}^*\text{d}$ y máximo $3 \text{ g DQO}_T/\text{L}^*\text{d}$, obteniéndose en promedio $2.6 \text{ g DQO}_T/\text{L}^*\text{d}$, a partir del día 75 se incrementó la carga a $5 \text{ g DQO}_T/\text{L}^*\text{d}$, se mantuvo durante 29 días, en promedio se registró $4.92 \text{ g DQO}_T/\text{L}^*\text{d}$. En el día 104 se aumentó drásticamente hasta $20 \text{ g DQO}_T/\text{L}^*\text{d}$, en promedio $19.4 \text{ g DQO}_T/\text{L}^*\text{d}$ y finalmente se alimentó a una carga de $10 \text{ g DQO}_T/\text{L}^*\text{d}$ obteniéndose en promedio $10.36 \text{ g DQO}_T/\text{L}^*\text{d}$. En la Tabla 3.8 se muestran las condiciones de operación del reactor bajo estudio.

Tabla 3.8 Condiciones de operación del RLSICP

Parámetro	RLSICP
Tipo de reactor	RLSI
Modo de operación	Continuo
Cva	2.4, 5, 20 y 10 g/L*d
Afluente	Lactosuero
Pretratamiento	No
pH alimentación	7.3
Temperatura	No controlada
Micronutrientes	si
Flujo de alimentación	17.7 mL/min
TRH	1.25 d

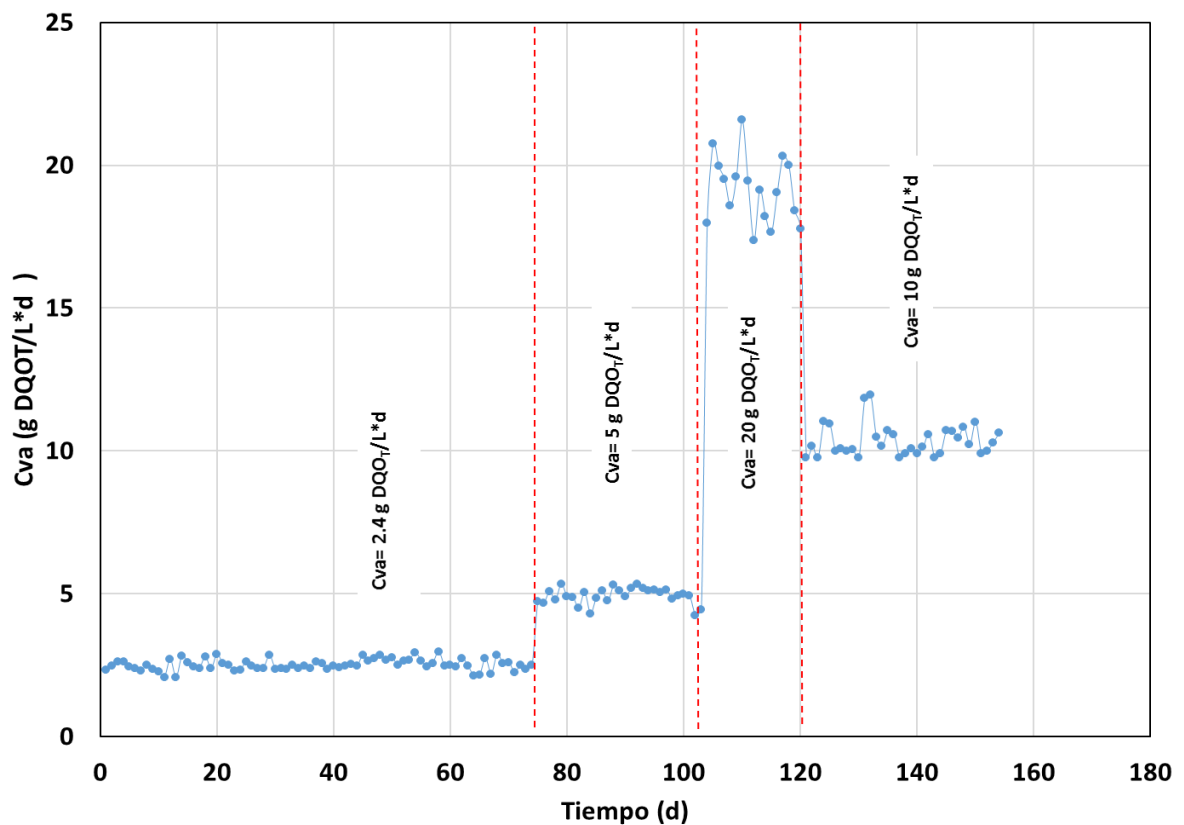


Figura 3.7 Monitoreo de la Cva durante el proceso de la digestión anaerobia.

3.5.1.2 Monitoreo del pH

Un rango de pH entre 6.5-7.2 es favorable para el crecimiento de bacterias metanogénicas (Zhao *et al.*, 2008), este factor es de los más importantes para lograr el buen desempeño de un biorreactor anaerobio. El pH del lactosuero utilizado fue de 3.9, sin embargo, al diluirlo para la alimentación aumentaba a 6.4.

El lactosuero tiende a acidificarse dentro del sistema. Gonzáles-García, (2016) al utilizar como sustrato lactosuero trabajó un rango de pH de entrada de 7.3-7.5 (con un TRH de 1 día) y el pH de salida se mantuvo entre 6.5-7. Por lo anterior el pH también se consideró en ese rango, adicionando NaHCO_3 .

Con la carga de 2.4, 5 y 10 g se observó estabilización dentro del reactor registrándose un promedio de 7.36 de entrada y 6.7 de salida, lo anterior indica que los valores de entrada tuvieron una buena capacidad amortiguadora. Sin embargo, en la carga de 20 g $\text{DQO}_T/\text{L}^*\text{d}$ el pH no se mantuvo dentro del rango ideal y aunque se alimentó con entrada promedio de 7.3 éste disminuía drásticamente hasta valores inferiores de 6, ésto se traduce en una acidificación dentro del sistema lo cual provocó bajos rendimientos en las remociones de los parámetros analizados como la DQO_T y los STV, así como la inhibición en la producción de biogás. En la Figura 3.8 se muestra el comportamiento del pH monitoreado diariamente durante 154 días.

3.5.1.3 Monitoreo de la DQO_T Y DQO_S

El reactor se puso en marcha con una Cva de 2.4 g $\text{DQO}_T/\text{L}^*\text{d}$, y en el primer día alcanzó apenas 20.1 % de remoción, mientras que en el día 2 ésta aumentó considerablemente hasta 40 % de DQO_T removida. Las remociones se mantuvieron oscilando entre dichos valores durante los primeros 24 días y se registró en promedio el 30 % de remoción. y a partir de éste las remociones fueron aumentando

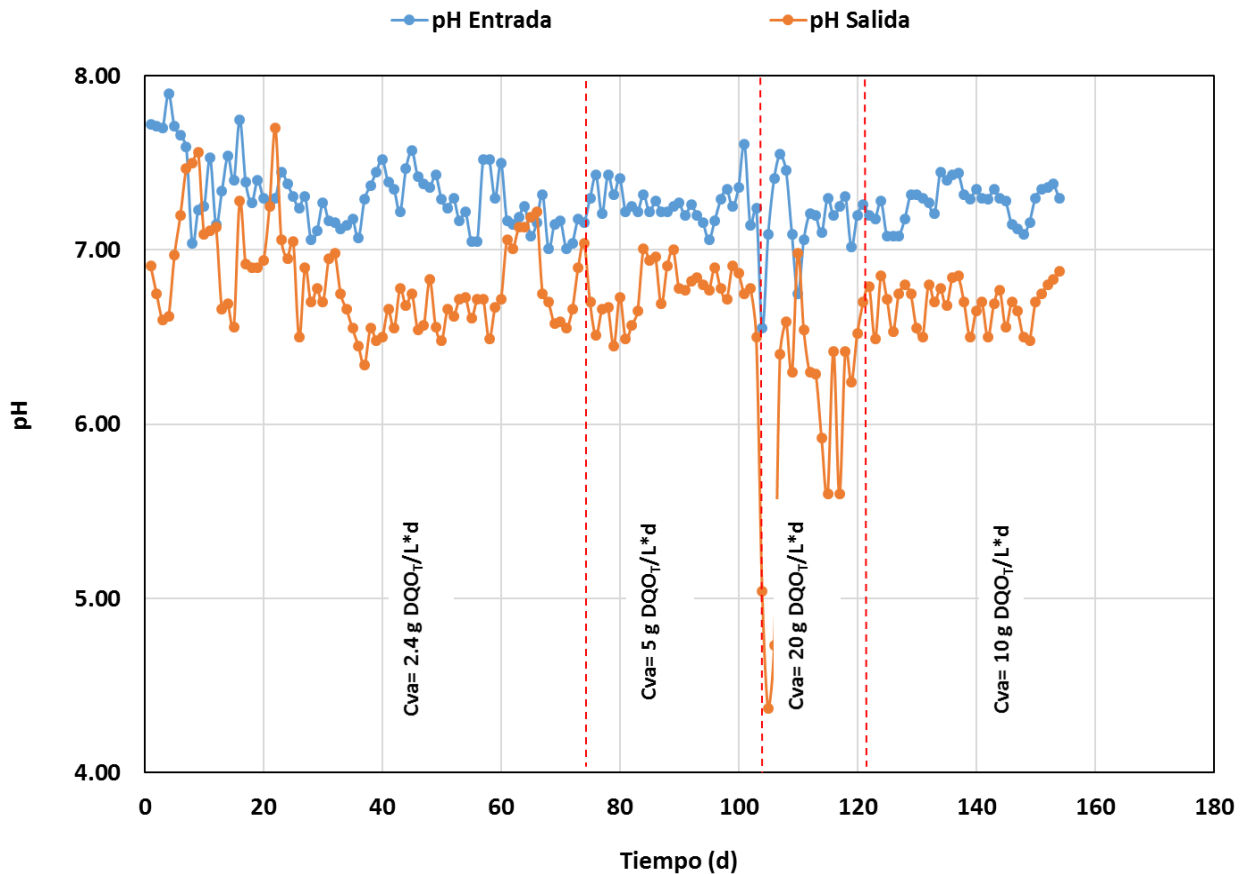


Figura 3.8 Monitoreo del pH durante el proceso de la digestión anaerobia.

gradualmente y en los días 31, 34 y 67, y se registraron las eficiencias máximas de 80, 85 y 74 % de DQO_T removida, respectivamente. Durante estos días el promedio de la eficiencia por ende aumentó a 62.2 % de DQO_T removida. El comportamiento observado durante los primeros días se debe principalmente a la adaptación de las bacterias al cambio de sustrato el cuál cambió de frutas y verduras a lactosuero. El periodo de arranque de un reactor puede ser visto como el tiempo necesario para la selección y justo arreglo de la más apropiada variedad de bacterias de un consorcio, en donde están relacionadas unas a otras dependiendo del sustrato (Houbron *et al.*, 2016). Las eficiencias descritas sobrepasan las obtenidas por Juárez-García, (2016) quién al operar a carga de 2.4 g $DQO_T/L \cdot d$ y TRH de 1 día con jugo de manzana, obtuvo en promedio apenas el 26 % de remoción de DQO_T/L .

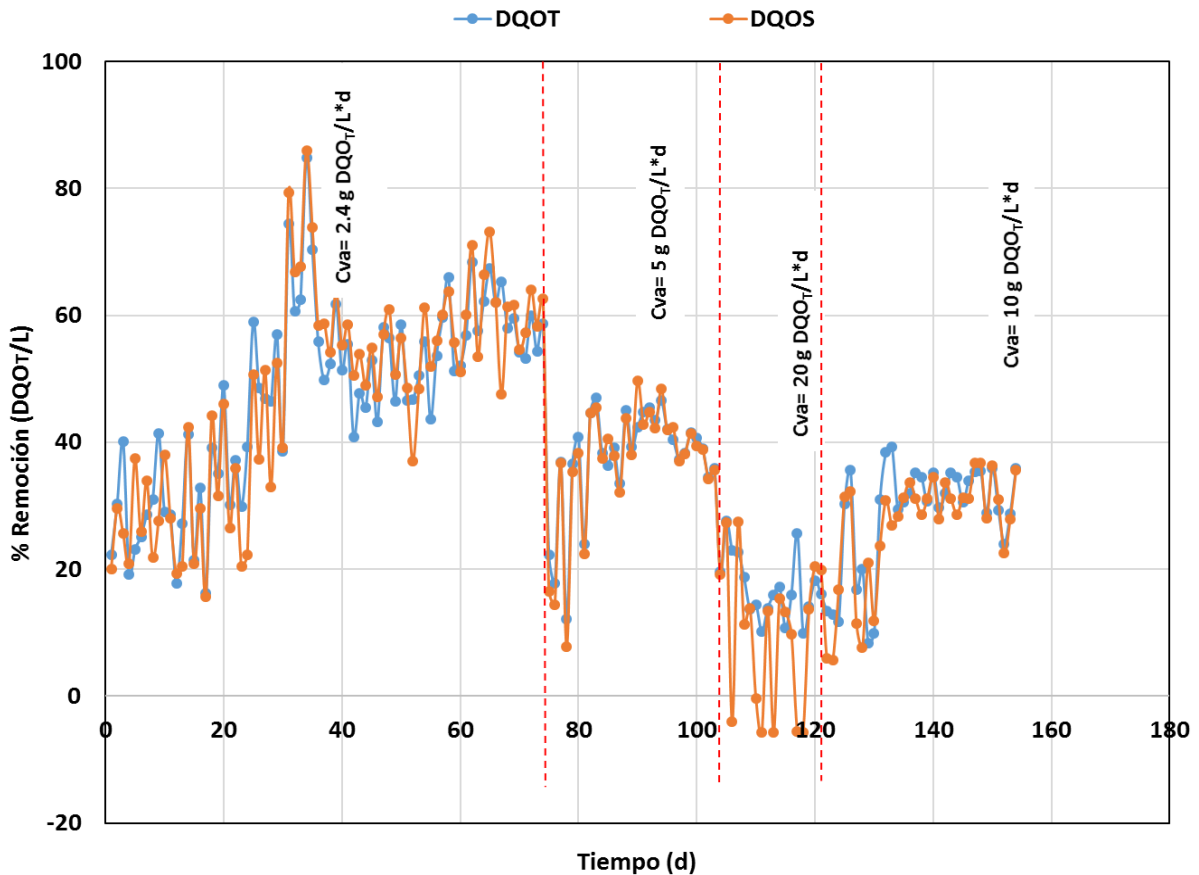


Figura 3.9 Eficiencias de remoción de DQO_T y DQO_S durante el proceso de digestión anaerobia.

Al aumentar la Cva a $5 \text{ g } DQO_T/L \cdot d$ en el día 76, se observó una disminución drástica en la remoción de la materia orgánica obteniéndose tan sólo 22 %, debido a que las bacterias tuvieron que adaptarse a este cambio de concentración y en el día 80 mejoró, obteniéndose en promedio 36.7 % de remoción de DQO_T . A partir del día 90 de operación se observó que la oscilación de los valores fue reducida (entre 40 y 50 %) lo cual dio en promedio el 45 % de remoción de DQO_T (Fig. 3.9). Se aumentó la carga hasta $20 \text{ g } DQO_T/L \cdot d$ en el día 103 y las remociones fueron nulas e incluso negativas, debido a la acumulación de los STV, lo que indicó que ni las bacterias fermentativas sobrevivieron, y así se monitoreó durante 10 días; sin embargo, no se observó ninguna mejora por lo que en el día 121 se redujo la carga a $10 \text{ g } DQO_T/L \cdot d$ observándose nuevamente un comportamiento adecuado con remoción promedio del 30 % (Fig. 3.9).

En la Figura 3.10 se muestra el comportamiento de la DQO_T y la DQO_S durante el proceso de DA dentro del RLSICP. En general, los resultados conseguidos durante la evaluación del desempeño del RLSICP en este estudio coinciden con los anteriormente reportados por Houbron *et al.*, (2016) al tratar vinazas en un LFI utilizando 247 mL de soporte a diversas Cva y TRH, para producir biogás. Se puede apreciar claramente que el volumen del soporte utilizado para el tratamiento de las vinazas fue menor que la cantidad utilizada para el tratamiento del lactosuero y sin embargo los resultados fueron similares, esto podría deberse a la composición de los sustratos ya que en las vinazas el componente principal es el nitrógeno.

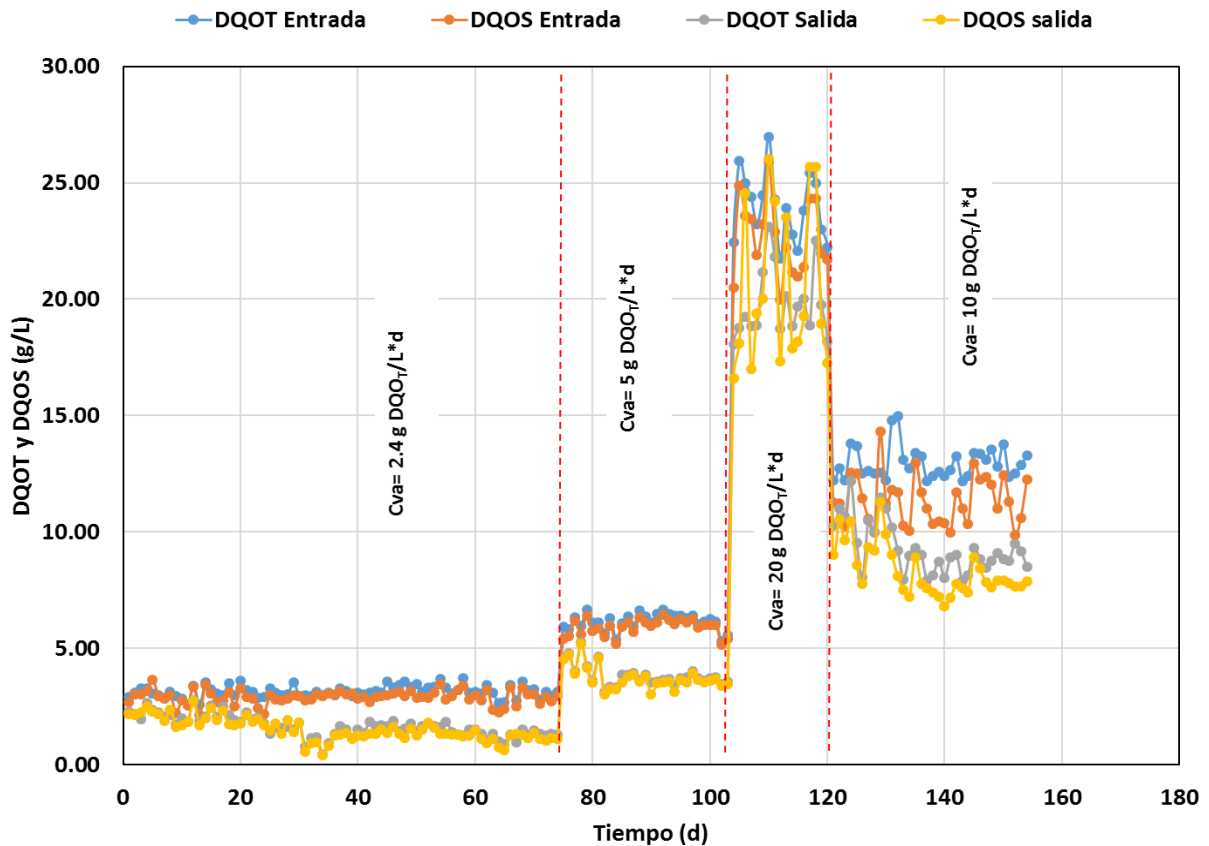


Figura 3.10 Comportamiento de DQO_T y DQO_S durante el proceso de digestión anaerobia.

Chávez, (2003) utilizó concentraciones de glucosa 1000 a 3000 mg/L, en un reactor anaerobio por carga, y al aumentar la carga de 1000 a 2000 mg/L, observó una disminución en la producción de metano, derivada del ajuste que requieren los microorganismos ante una concentración de sustrato más elevada y mencionó que este hecho ocurre comúnmente en los reactores anaerobios por carga debido probablemente a que con el aumento de la concentración de la glucosa se requiere una cantidad mayor de enzimas para la degradación anaerobia.

3.5.1.4 Monitoreo de los ST y STV

En la Figura 3.11 también se puede observar la reducción de la materia orgánica, a través de los STV por ser una medida de la misma. A Cva de 2.4 g DQO_T/L*d los STV promedio de entrada fueron 2 g STV/L y los de salida 1.1 g STV/L, lo que en porcentaje representó el 48 % de remoción; con la Cva de 5 g DQO_T/L*d los STV se registraron en promedio de 2.5 g STV/L y de salida en promedio 1.7 g STV/L, lo cual dio como resultado el 24 % de remoción. Se observaron valores tan altos de hasta el 77.5 % de remoción de los STV durante la primera Cva y al incrementarse la carga se observó máximo el 41 % de remoción de los STV.

En el día 103 se decidió aumentar dicha carga a 20 g DQO_T/L*d registrándose eficiencias de remoción promedio del 10 %. El comportamiento observado puede deberse a que el aumento repentino de los STV ocasionó una sobrecarga de alimento para las bacterias. Al observar esto se decidió disminuir la carga a 10 g DQO_T/L*d y se observó nuevamente un aumento en la eficiencia de remoción alcanzando en promedio el 20 % en la remoción de los STV.

Los valores normales para residuos ganaderos y fracción orgánica de residuos sólidos están entre 2 y 4 g STV/L*d (FAO, 2011). Y los STV con la carga de 20 g STV/L*d rebasan dicho rango.

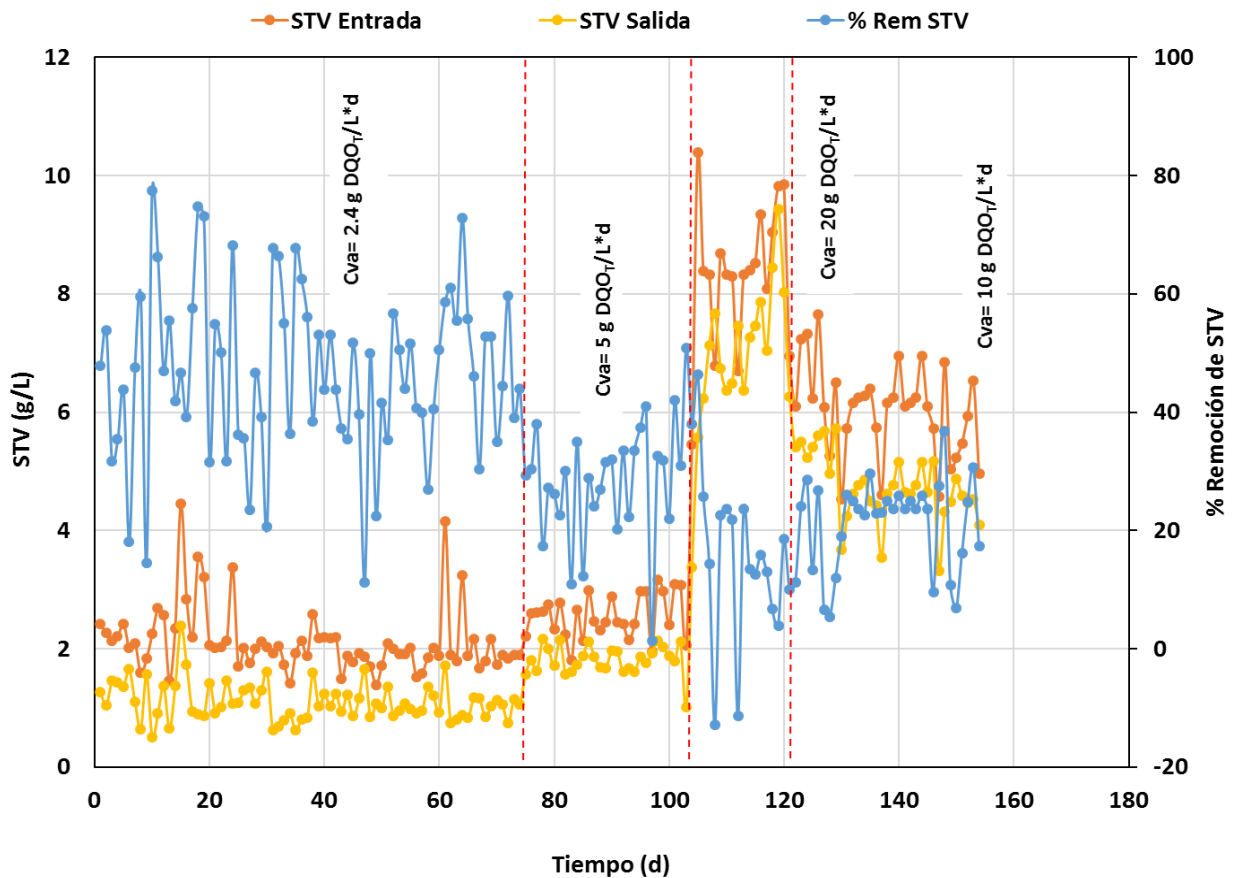


Figura 3.11 Monitoreo de los sólidos totales volátiles en g/L y su remoción, medida en porcentaje.

3.5.1.5 Monitoreo de la producción de biogás

La movilidad de las bacterias metanogénicas dentro del sustrato se ve crecientemente limitada a medida que se aumenta el contenido de sólidos y por lo tanto puede verse afectada la eficiencia y producción de gas (FAO, 2011). Las bacterias metanogénicas tienen un periodo de reproducción de 6 a 14 días (Kepler, 2009), y se corrobora con la Figura 3.12 en donde se logra observar que durante los primeros 8 días de monitoreo del reactor a carga de 2.4 g DQO_T/L*d la producción de biogás fue nula, y a partir del día 9 al 42 en promedio se produjeron 10 L/d. A partir del día 43 la producción aumentó considerablemente hasta un valor promedio de 24 L/d, manteniéndose hasta el día 72. Para la carga de 5 y 10 g DQO_T/L*d la producción se mantuvo oscilando entre 44 y 64

L biogás /d, por lo que se registró en promedio 55 L biogás/d, mientras que a carga de 20 g DQO_T/L*d la producción de biogás aumentó hasta un promedio de 70 L/d y se observaron valores de producción de hasta 120 L/d. Se pudo observar que la mayor cantidad de biogás se obtuvo con la mayor carga, sin embargo, eso no ocurrió con el metano. La mayor cantidad de metano se produjo con la carga de 10 g DQO_T/L*d y registró en promedio 20 L CH₄/d; con carga de 20 g DQO_T/L*d se presentó inhibición del metano, esto quiere decir que para este biogás otros gases fueron los componentes como N₂, O₂, CO₂, entre otros. La nula producción de metano se debe a la sobrecarga de STV que ocasionó la acumulación de los AGV's dentro del sistema lo que conllevó a la acidificación y a su vez a la inhibición de las bacterias metanogénicas.

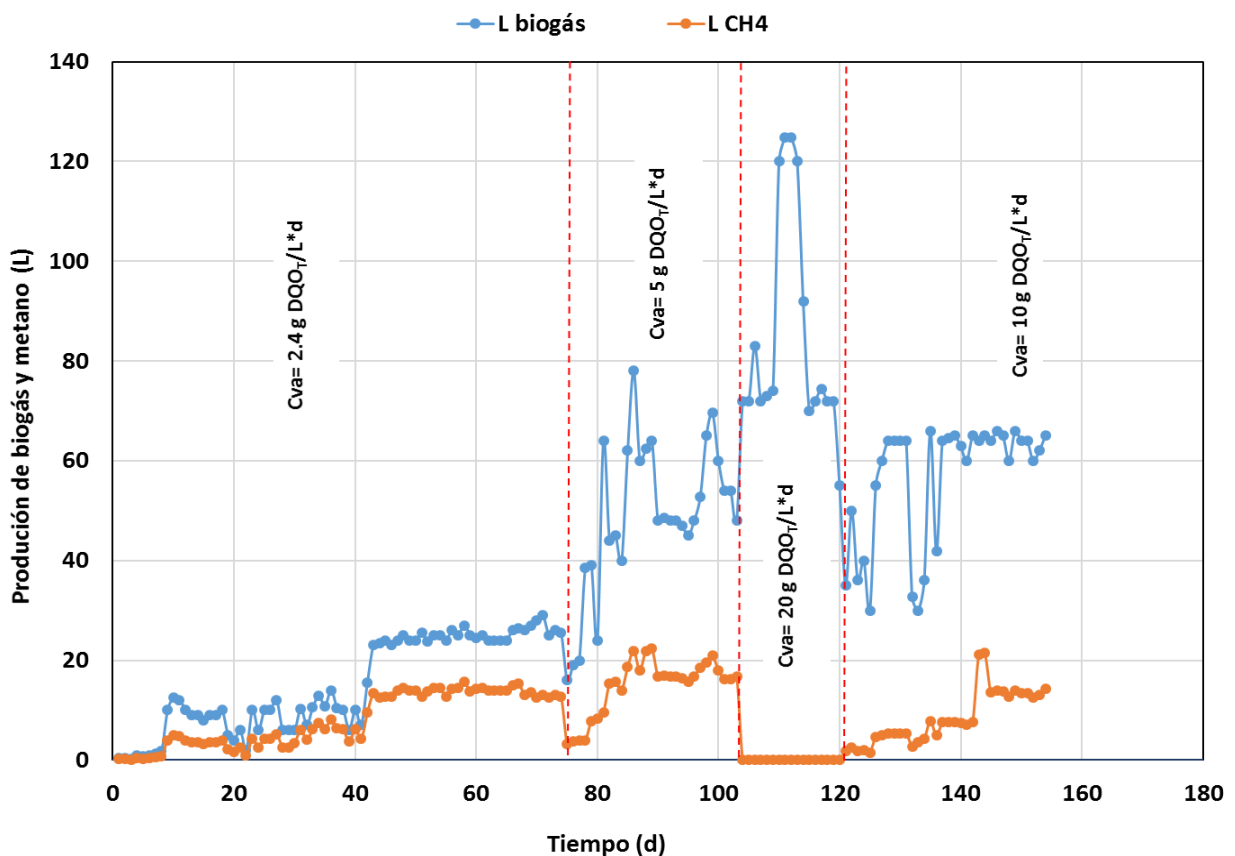


Figura 3.12 Monitoreo de la producción de biogás y rendimiento de metano durante el proceso digestión anaerobia.

Juárez-García, (2016) operó este reactor utilizando un sustrato comercial a una Cva de 2.4 g DQO_T/L*día y 717 mL de soporte previamente colonizado a condiciones semejantes a este trabajo y obtuvo en promedio una producción de 3 L biogás/día a partir del día 17. Con esto se determina la favorable producción de biogás debido al incremento en el volumen de soporte. El tipo de residuo junto con los parámetros ambientales y operacionales condiciona la producción de biogás por unidad de biomasa, así como la composición de dicho biogás. El potencial de producción depende de los parámetros ambientales y operacionales, así como la carga orgánica del sustrato y de la biodegradabilidad del mismo. En general, los residuos orgánicos industriales y la fracción orgánica de residuos sólidos urbanos presentan altos potenciales de producción. El biogás una vez tratado es capaz de utilizarse en motores eléctricos, generadores, motores de combustión interna, etc. (Hidalgo y García, 2012).

3.5.1.6 Rendimiento de metano

En la figura 3.13 se puede observar que el rendimiento de metano durante la carga de 2.4, 5 y 10 g DQO_T/L*d presenta un incremento paulatino a medida que se va estabilizando la carga. Pero esto no ocurre con la carga de 20 DQO_T/L*d ya que el rendimiento fue cero, ésto se debió a la escasa remoción de la materia orgánica debido a la acidificación del sistema y a su vez a la inhibición de metano.

Un reactor estabilizado debe presentar valores de rendimiento de metano muy cercanos a 0.35 ($Y_{CH_4}=0.35$) (Gerardi, 2003). El rendimiento de metano más cercano al óptimo se presentó en el periodo de estabilización de cada carga.

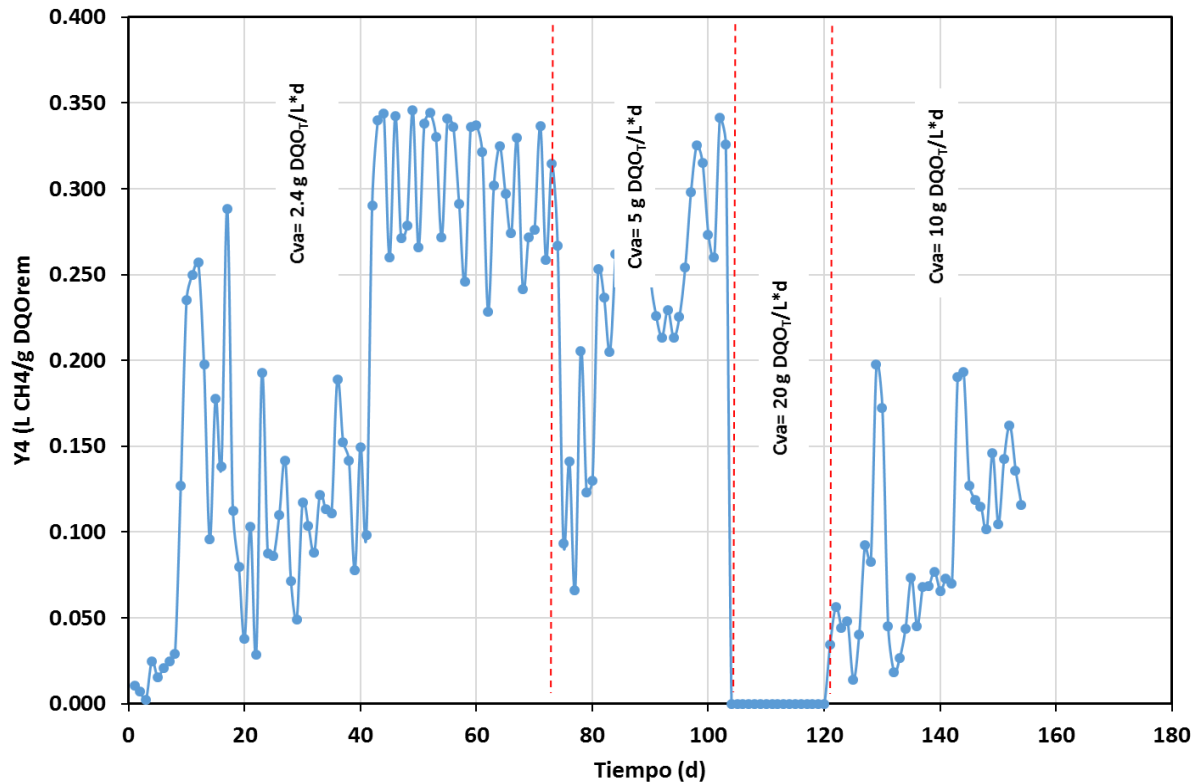


Figura 3.13 Rendimiento de metano durante el proceso digestión anaerobia.

3.5.1.7 Composición del biogás

Al operarse a Cva de 2.4 g DQO₇/L*d la composición de biogás fue muy rica en metano (CH₄) contando con 63 %; 15 % de nitrógeno (N₂), 17 % de bióxido de carbono (CO₂) y 5 % de oxígeno (O₂), esto se tradujo en un biogás de alta calidad. Al incrementar la Cva a 5 g DQO₇/L*d dicha calidad se vió significativamente afectada puesto que el metano contó con 48 %, es decir, se redujo tan el 15 %. Al igual que en la primera carga, el segundo componente predominante fue el CO₂ el cual contó con el 24 % aumentando 7 %; el nitrógeno 10 % y el oxígeno 2 %.

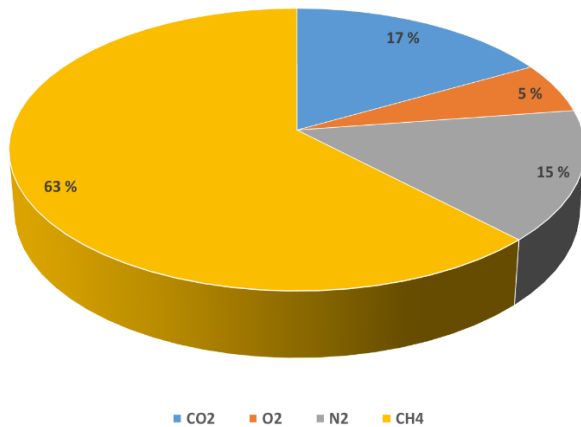


Figura 3.14 Composición promedio del biogás durante el monitoreo a Cva de 2.4 g DQO_T/L*d

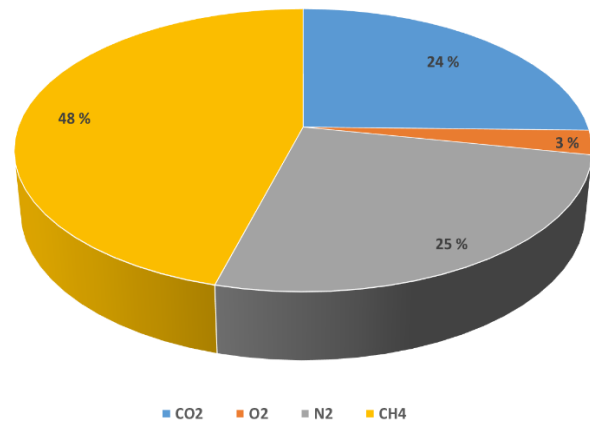


Figura 3.15 Composición promedio del biogás durante el monitoreo a Cva de 5 g DQO_T/L*d

En la Figura 3.16 se presenta la composición del biogás a Cva de 20 g DQO_T/L*d, el biogás se caracterizó por un contenido de N₂ del 100 %, esto se tradujo en una nitrificación del sistema. Estudios como el de Ferrer y Pérez, (2010) adjudican este hecho al mayor crecimiento de diversos grupos bacterianos altamente degradantes, pero ajenos a los metanogénicos cuando se manejan elevadas concentraciones de DQO dentro de los reactores. La última composición de biogás (Figura 3.17) que se analizó fue el de carga a 10 g DQO_T/L*d, se observó en promedio 21 % de CH₄, 14.57 % de N₂ y 64 % de CO₂, siendo este último el componente mayoritario. Al analizar las gráficas se pudo determinar que a mayor carga menor calidad de biogás, ya que el metano disminuyó y el CO₂ aumentó.

3.6 Materia adherida volátil

La biomasa adherida al soporte Extendsphere, es denominada Materia Adherida Volátil (MVA) y se midió mediante los STV. La MAV al inicio del proceso contó con un valor de 0.013 mg SV/mL de soporte y en el día 35 disminuyó hasta en un 40 %; continuó observándose la disminución hasta el día 125, cuando se operó a Cva de 5 y 10 g DQOT/L*d, y en el día 131 el valor de la MVA alcanzó su máximo crecimiento

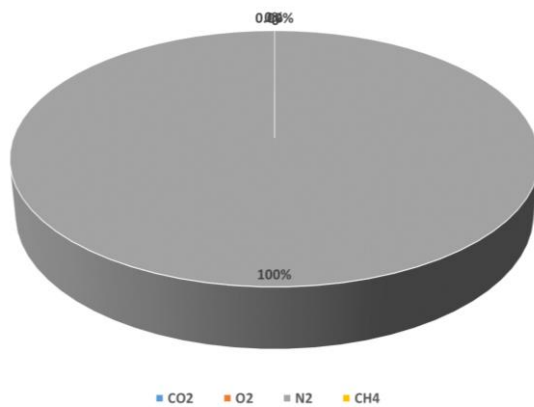


Figura 3.16 Composición promedio del biogás durante el monitoreo a Cva de 20 g DQO_T/L*d

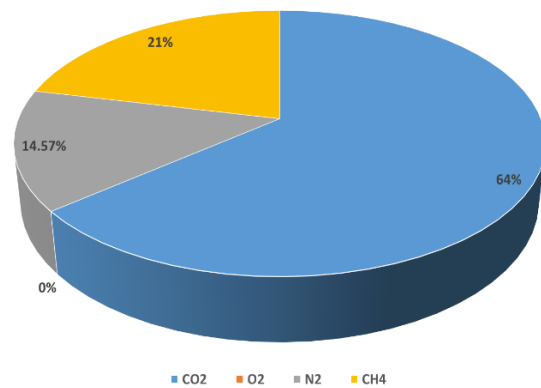


Figura 3.17 Composición promedio del biogás durante el monitoreo a Cva de 10 g DQO_T/L*d

registrándose un valor de 0.048 mg SV/mL (Fig. 3.18). El crecimiento de la biomasa pudo apreciarse visualmente ya que al inicio del proceso el soporte se observaba con una apariencia fina, mientras que a los 40 días se observó claramente aglomeraciones, en las figuras 3.19 y 3.20 se muestran las imágenes. También se calculó el grado de colonización y en la tabla 3.9 se muestran los resultados. Se observa que inicialmente contó con 5 % de MVA y al final con 21 %. Esto indica el aumento de la biomasa con respecto al aumento de la carga, aunque esto no ocurrió con la Cva de 20 g DQOT/L lo cual pudo deberse al mal funcionamiento del proceso. Chávez, (2003) concluyó de la misma manera cuando aumentó la concentración del sustrato, de 1000 a 3000 mg/L de DQO.

En la Figura 3.21 se muestra una coloración rojo-marrón durante todo el proceso, en el interior del tanque de recirculación la posible presencia de bacterias nitrato reductoras.

La biomasa de color gris es indicativo de biomasa que preferentemente remueve materia orgánica carbonosa mientras que la amarronada rojiza es característica de la

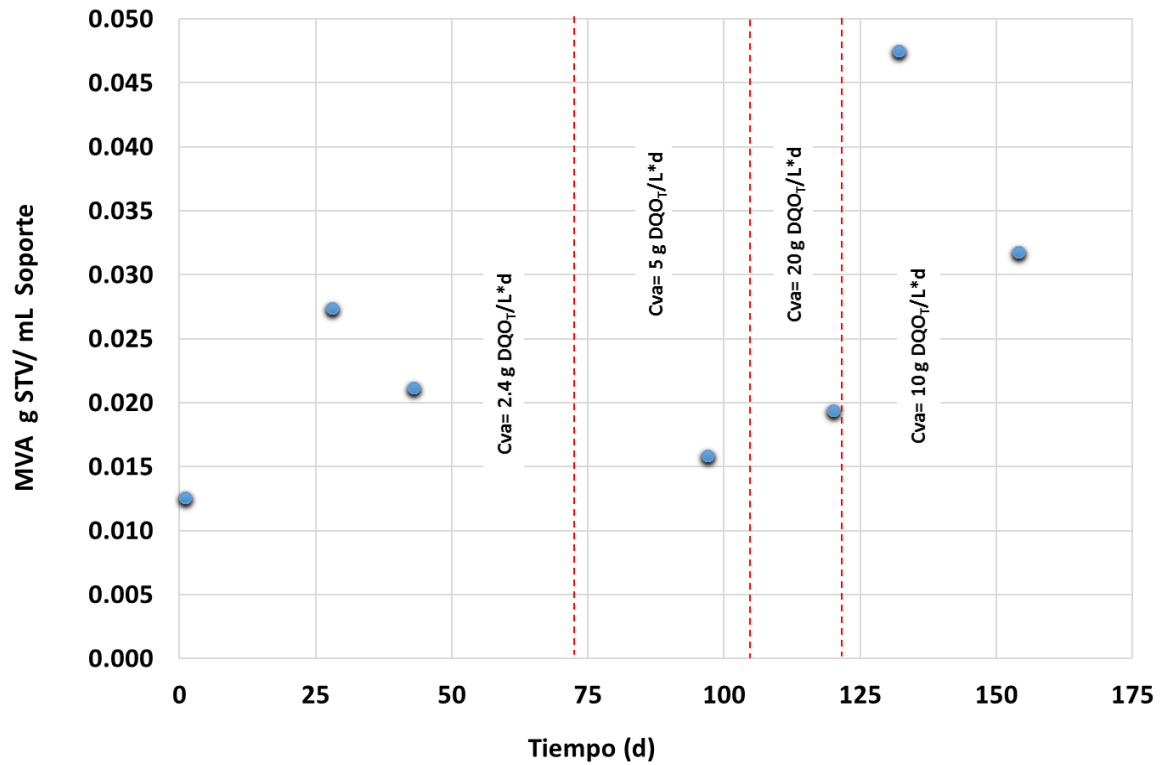
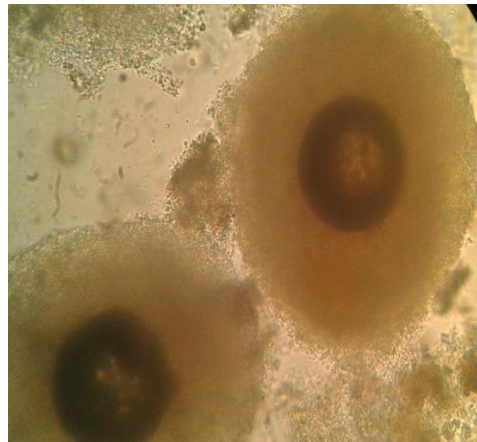


Figura 3.18 Monitoreo del comportamiento de la MVA dentro del reactor durante el proceso de digestión anaerobia



Figura 3.19 Apariencia del soporte colonizado



3.20 Visualización microscópica a 40X del soporte colonizado

predominancia de microorganismos nitrificantes (Welter, 2006). Chávez, (2003) observó que el mayor porcentaje de bacterias en su lodo anaerobio lo obtuvo para las bacterias nitrato reductoras, alcanzando un 43 %, probablemente debido a que el nitrógeno suministrado a los reactores fue reducido desasimilativamente al nitrógeno y óxido nitroso, una vez consumidos los niveles de amoníaco, la vía asimilativa es activada generando el crecimiento microbiano de este grupo.

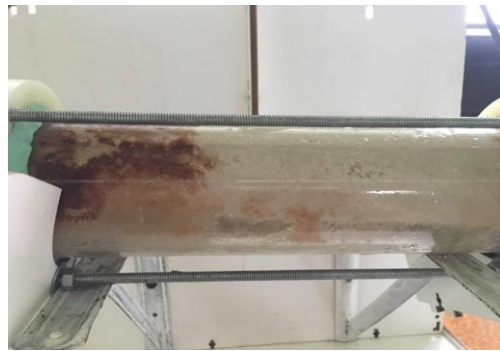


Figura 3.21 Tanque distribuidor con coloración marrón en el interior

Tabla 3.9 Grado de colonización del soporte

No. muestreo	MVA (g STV/mL)	Grado de colonización (%)
1	0.013	5.00
2	0.0274	13.24
3	0.0212	12.48
4	0.0159	35.53
5	0.0194	15.77
6	0.0475	26.98
7	0.0318	21.69

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

Al incrementar el diámetro de cada uno de los reactores RLSI, la cantidad de soporte se triplicó, por lo que la relación sustrato: biomasa se mejoró y esto se demostró con el incremento en la eficiencia de remoción de la materia orgánica (2.4 veces) y la producción de biogás (8 veces). El soporte colonizado presentó un comportamiento ideal en la fluidización y logró una expansión óptima de 0.8 con una velocidad mínima de 3.8 cm/min.

Mediante los análisis realizados al lactosuero se catalogó como un contaminante altamente potencial por la elevada cantidad de materia orgánica obtenida, siendo la lactosa el componente principal. El ajuste del pH antes de ingresar al sistema mantuvo favorable el proceso para la etapa metanogénica esto mismo conllevó a obtener altos porcentajes de remoción alcanzando en promedio el 62.2 %, el aumento en la carga mostró remociones inferiores.

La producción de biogás aumentó considerablemente al aumentar la carga, sin embargo, la composición del mismo fue afectada ya que a medida que se aumentó la carga éste disminuyó su contenido en metano y en la carga de 20 g DQO_T/L*d fue inhibido siendo su componente principal el bióxido de carbono. A carga de 2.4 y 5 se obtuvo biogás de calidad.

El contenido de MVA fue favorable durante todo el proceso, ya que incrementó. El porcentaje de colonización aumentó en un 15 % al final del proceso.

A una carga de 20 g DQO_T/L*d sistema se vió limitado el sistema por lo que se concluye que este debe trabajar a cargas inferiores a ésta.

RECOMENDACIONES

Se recomienda hacer un rediseño del tanque de distribución para lograr un flujo individual para cada RLSI ya que la estructura que tiene impide la distribución proporcional de éste y a su vez la expansión semejante en cada una de los RLSI.

Se recomienda realizar un estudio para la optimización del proceso. Como por ejemplo, el control de la temperatura y el pretratamiento del lactosuero. En cuanto al control de la temperatura, se recomienda colocar el reactor en un cuarto de temperatura controlada a la temperatura óptima. Y en cuestión al lactosuero se recomienda dar un pretratamiento fisicoquímico o térmico para reducir las cadenas largas de la materia orgánica a moléculas más simples, y así aumentar la eficiencia en el proceso de la digestión anaerobia.

En el tanque de alimentación a medida que transcurría el tiempo se presentó el fenómeno físico de la sedimentación y se tuvo que agitar constantemente para evitar que al final de la alimentación, se quedara en el fondo del tanque gran parte de la materia orgánica, para ésto se recomienda implementar un sistema de agitación en el tanque de alimentación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilar-Montor, 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.
- Aktas, N., I. H. Boyaci, M. Mutlu y A. Tanyolaç. 2006. Optimization of lactose utilization in deproteinated whey by *Kluyveromyces marxianus* using response surface methodology (RSM). *Bioresour. Technol.* **97**(18): 2252–2259.
- Alvarado-Lassman, A., E. Rustrián, M. A García-Alvarado, G. C. Rodríguez-Jiménez y E. Houbroun. 2008. Brewery wastewater treatment using anaerobic inverse fluidized bed reactors. *Bioresour. Technol.* **99**(8), 3009–3015.
- Alvarado, L. A. 2012. Diseño e implementación de un reactor de lecho fluidizado inverso (RLFI) a escala piloto para el tratamiento de la fracción soluble de residuos sólidos municipales (RSM). Tesis de Maestría. Instituto Tecnológico de Orizaba. México.
- Alvarado-Lassmann, A., Y. J. Aguilar-Montor, N. A. Vallejo-Cantú, J. M. Méndez-Contreras, A. Martínez-Sibaja y A. Alvarado-Lassman. 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. ISSN (online): 2278-5299.
- Alvarado-Lassman, A., Y. J. Aguilar-Montor, J. M. Méndez-Contreras, S. A. Martínez-Delgadillo y N. A. Vallejo-Cantú. 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-Lassman, A., A. Sandoval-Ramos, M. G. Flores-Altamirano, Vallejo-Cantú, N. A. y J. M. Méndez-Contreras. 2010. Strategies for the startup of methanogenic inverse fluidized-bed reactors using colonized particles. *Water Environ Res.* **85**(5): 387-391.
- Baccay, R. A. y Hashimoto, A. G. 1984. Acidogenic and methanogenic fermentation of causticized straw. *Biotechnol. bioeng.* **26**(8): 885-891.
- Bagi, Z., N. Ács, B. Bálint, L. Horváth, K. Dobó, K. R. Perei, G. Rákhely y K. L. Kovács. 2007. Biotechnological intensification of biogas production. *Appl Microbiol Biotechnol.* **76**(2): 473- 482.
- Banks, C. J., Y. Zhang, Y. Jiang y S. Heaven. 2012. Trace element requirements for stable food waste digestion at elevated ammonia concentrations. *Bioresour. Technol.* **104**: 127- 135.
- Buffiere, P., D. Loisel, N. Bernet y J. P. Delgenes. 2006. Towards new indicators for the prediction of solid waste anaerobic digestion properties. *Water Sci. Technol.* **53**(8): 233–241.
- Basiliko, N. y Yavitt, J. B. 2001. Influence of Ni, Co, Fe, and Na additions on methane production in Sphagnum- dominated Northern American peatlands. *Biogeochemistry.* **52**(2): 133- 153.
- Cabrera, N. A., M. A. Lammoglia, I. C. Daniel, D. L. Díaz y M. P. Elorza. 2013. Estrategias para la suplementación de becerros lactantes. *Revista Científica Biológico Agropecuaria Tuxpan.* 1: 59-65.
- Callejas-Hernández, J., F. Prieto-García, V. Reyes-Cruz, Y. Marmolejo-Santillán y M. A. Méndez-Marzo. 2012. Caracterización fisicoquímica de un lactosuero: potencialidad de recuperación de fósforo. *Acta universitaria.* Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. México.

- Castelló, E., C. Santos, T. Iglesias, G. Paolino, J. Wenzel, L. Borzacconi y C. Etchebehere. 2009. Feasibility of biohydrogen production from cheese whey using a UASB reactor: Links between microbial community and reactor performance. *Int. J. of Hydrogen Energy*. **34**(14): 5674–5682.
- Chávez, M., D. Mejías, R. M. Masy, A. Escorihuela, E. Chacín y N. Fernández. 2003. Evaluación de la biomasa en el lodo granular anaerobio en reactores por carga. *Redalyc. Org.* **3**(2): 1317-2255.
- Chellapandi, P. 2011. In silico description of cobalt and nickel assimilation systems in the genomes of methanogens. *Syst Synth Biol.* **5**(3-4): 105- 114.
- Choudhury, S. y Sahoo, A. 2012. Wastewater treatment by inverse fluidization process: an overview. *I. J. Adv. Eng. Technol.* **3**(4): 08-16.
- Comino, E., V. A. Riggio y M. Rosso. 2012. Biogas production by anaerobic co-digestion of cattle slurry and cheese whey. *Bioresour. technol.* **114**: 46- 53.
- Cooney, J. J. y Gadd, G. M. 1995. Introduction. Special Issue of *Journal of Industry Microbiology: Metals and microorganisms*. *J. Ind. Microbiol.* **14**: 59.
- Cresson, R., H. Carrere, J. P. Delgenes y N. Bernet. 2006. Biofilm formation during the start-up period of an anaerobic biofilm reactor-impact of nutrient complementation. *J. Biochem. Eng.* **30**(1): 55-62.
- Demirel, B. y Scherer, P. 2011. Trace element requirements of agricultural biogas digesters during biological conversion of renewable biomass to methane. *Biomass Bioenergy.* **35**(3): 992- 998.
- Deublein, D. y Steinhauser, A. 2008. *Biogas from waste and renewable resources: an introduction*. Wiley-V CH, Weinheim, Germany.

- Díaz-Báez, M. C., S. E. Espitia y F. Molina. 2002. Digestión anaerobia una aproximación a la tecnología. Editorial Universidad Nacional de Colombia, Instituto de Biotecnología. Colombia.
- Díaz, I. F., G. M. Savage y C. G. Golueke. 2002. Compositing of Municipal Waste in G. Tchobanoglous and F. Kreith (Eds.). Solid Waste Handbook. McGraw-Hill. New York.
- Domingues, R. F., T. Sanches, G. S. Silva, B. E. Bueno, R. Ribeiro, E. S. Kamimura y G. Tommaso. 2015. Effect of enzymatic pretreatment on the anaerobic digestion of milk fat for biogas production. *Food Res. I.* 73:26–30.
- Domínguez-Hernández, E. 2015. Diseño e implementación de un reactor de lecho semifluidizado inverso para el tratamiento anaerobio de un efluente de la industria cítrica. Tesis de maestría. Instituto tecnológico de Orizaba. México.
- Donlan, R.M. y Costerton, J.W. 2002. Biofilms: Survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin. Microbiol. Rev.* **15**(2): 167-93.
- Dos Reis, C. M., M. F. Carosia, I. K. Sakamoto, M. B. Amancio Varesche y E. L. Silva. 2015. Evaluation of hydrogen and methane production from sugarcane vinasse in an anaerobic fluidized bed reactor. *Int. J. of Hydrogen Energy.* **40** (2015): 8498-8509.
- Dowd, S. E., Y. Sun, P. R. Secor, D. D. Rhoads, B. M. Wolcott, G. A. James y R. D. Wolcott. 2008. Survey of bacterial diversity in chronic wounds using pyrosequencing, DGGE, and full ribosome shotgun sequencing. *BMC Microbiol.* **8**(1): 43-4.
- Fang, S. C., K. Naim y R. Blaszczyk. 1993. Properties of anaerobic granular sludge as affected by yeast extract cobalt and iron supplements. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **39**(1): 132- 137.

- FAO. 2012. Situación de la lechería en América Latina y el Caribe en 2011. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Brazil.
- FAO. 2011. Manual de biogás. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Brazil.
- FHIS. 2014. Fondo Hondureño de Inversión Social. Taller de operación y sistemas de mantenimiento de sistemas de alcantarillado sanitario y plantas de y tratamiento de aguas residuales. Reactores anaerobios. <https://1793ho.files.wordpress.com/2014/03/2g-tratamiento-anaerobiopo2014.pdf>. (Consultada Octubre, 2016).
- Feng, X., A. Karlsson, B. Svensson y S. Bertilsson. 2010. Impact of trace element addition on biogas production from food industrial waste-linking process to microbial communities. *FEMS Microbiology Ecology*. **74**(1): 226-240.
- Ferrer, Y. y Pérez, H. 2010. Los microorganismos en la digestión anaerobia y la producción de biogás. *ICIDCA*. **43**(1): 9-20.
- Flemming, H. C., T. R. Neu y D. J. Wozniak. 2007. The EPS matrix: the house of biofilm cells. *J. Bacteriol.* **189**(22): 7945-47.
- García-Calderón, D., P. Buffiere, R. Moletta y S. Elmaleh. 1998. Anaerobic digestion of wine distillery wastewater in down-flow fluidized bed. *Water Res.* **32**: 3593–3600.
- Gerardi, M. H. 2003. *The microbiology of anaerobic digesters*. John Wiley and Sons.
- Ghaly, A. E. 1996. A comparative study of anaerobic digestion of acid cheese whey and dairy manure in a two-stage reactor. *Bioresour. Technol.* **58**(1996): 61-72.

- Ghaly, A. E. y Kamal, M. A. 2004. Submerged yeast fermentation of acid cheese whey for protein production and pollution potential reduction. *Water Res.* **38**(3): 631–644.
- González-Siso, M. I. 1996. The biotechnological utilization of cheese whey: A review. *Bioresour. Technol.* **57**(1):1–11.
- González, A., I. Pereda, U. Schrimp, D. Oliva y K. Nielsen. 2011. Stimulation of the anaerobic process of Mycrocrystalline Cellulose (MCC) using natural minerals as essential micronutrients source. Preliminary Results.
- Heijnen J. J., A. Mulder, W. Enger y F. Hoeks. Review on the Application of Anaerobic Fluidized Bed Reactors in Wastewater Treatment. *The Chemical Engineering Journal.* 41(1989): B37-B50.
- Hernández-Herrera, H. 2005. Tratamiento de lactosuero hidrolizado por medio de un reactor UASB. Tesis de grado. Ingeniería Agroindustrial. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. México.
- Hidalgo, M.D. y García, P. A. 2012. Reactores biológicos de lecho fluidizado. Universidad de Valladolid. España.
- Houbron, C., M. E. Saldoval-Rojas y A. F. Hernández-Muñoz. 2016. Tratamiento de vinazas en un reactor de lecho fluidizado inverso anaerobio. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental.* **32** (1): 255-266.
- Horswill, A. R., P. Stoodley, P. S. Stewart y M. R. Parsek. 2007. The effect of the chemical, biological, and physical environment on quorum sensing in structured microbial communities. *Anal. Bioanal. Chem.* 2007. **387**(2): 371-80.
- IDAE. 2007. Biomasa: Digestores anaerobios. Madrid.

- Jin, H., B. Li, H. Jin y G. Zhu. 2011. Enhanced methane production in an anaerobic continuous stirred tank reactor by adding nitroacetic acid to increase the activity of methanogenic bacteria. *Energy Procedia*. 11: 3591-3598.
- Juárez- García, A. P. 2016. Diseño, arranque y construcción de un Reactor Anaerobio Multitubular (RAM). Tesis de Maestría. Instituto Tecnológico de Orizaba.
- Kepler. 2009. ¿por qué basta con un digestor en las plantas de biogás alto rendimiento según Rottaler Modell (RM). Rottaler Modell). <http://es.scribd.com/doc/69059530/biodigestor-HIDROLIZADO>. (Consultado Enero, 2015).
- Kim, H-W., S. Shin y J. Y. Namb. 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. *Bioresour. Technol.* **102**(15): 7272-7279.
- Leyva, R., P. Soriano y V. Serrato. 1993. Hidrodinámica de un lecho semifluidizado líquido – sólido. *Tecnología, Ciencia y educación*. **9**: 23-31.
- Lindsay, D. y von Holy, A. 2006. Bacterial biofilms within the clinical setting: what healthcare professionals should know. *J. Hospital Infection*. **64**: 313-325.
- Lusk, P. 1999. Latest Progress in Anaerobic Digestion. *Biocycle*. **40**(7).
- Macedo A. 2010. Fraccionamento de Lactosoro de Ovelha por Tecnologias de Membranas e Estudos das Possíveis Utilizações dos Concentrados Obtidos. Tese de Doutoramento. Universidade Técnica de Lisboa – Instituto Superior de Agronomia.
- Mahony, T. y V. O'Flaherty. 2002. Feasibility study for centralised anaerobic digestion for the treatment of various wastes and wastewaters in sensitive catchment areas. Ireland, Environmental Protection Agency.

- Mashad, H. y R. Zhang. 2010. Biogas production from co-digestion of dairy manure and food waste. *Bioresour. Technol.* **101**(11): 421-428.
- Mata-Alvarez, J. 2003. Biomethanization of the organic fraction of municipal solid wastes. IWA publishing, Londres, UK.
- Mawson, A. J. 1994. Bioconversions for whey utilization and waste abatement. *Bioresour. Technol.* **47**(3): 195–203.
- Menéndez, G. y Pérez, O. 2007. Procesos para el tratamiento biológico de aguas residuales. Editorial Universitaria. Ciudad de La Habana.
- Mockaitis, G., S. M. Ratusznei, J. A. D. Rodrigues, M. Zaiat y E. Foresti. 2006. Anaerobic whey treatment by a stirred sequencing batch reactor (ASBR): Effects of organic loading and supplemented alkalinity. *J. Environ. Manage.* **79**(2): 198–206.
- Moreno-Rincón, C. 2003. Tratamiento de aguas residuales en la embotelladora coca-cola mediante un reactor de lecho fluidizado inverso. Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Iztapalapa.
- NMX-AA-005-SCFI-2013. Análisis de agua – medición de grasas y aceites recuperables en aguas naturales, residuales y residuales tratadas – método de prueba (cancela a la nmx-aa-005-scfi-2000).
- NOM-001-SEMARNAT-1996. Límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales. México.
- Ostrem, K. 2004. Greening Waste: anaerobic digestion for treating the organic fraction of municipal solid wastes. Thesis in Earth Resources Engineering. Columbia University. Republic of Colombia.

- Oyanedel, V., J. M. Garrido-Aranda y R. Méndez. 2003. Nuevos biorreactores híbridos para el tratamiento de aguas residuales. *Ingeniería Química*. ISSN 0210-2064. **401**(2003): 171-178.
- Panesar, P. S., J. F. Kennedy, D. N. Gandhi y K. Bunko. 2007. Bioutilisation of whey for lactic acid production. *Food Chem.* **105**(1): 1–14.
- Patidar, S. K. y Tare, V. 2006. Effect of nutrients on biomass activity in degradation of sulfate laden organics. *Process Biochem.* **41** (1): 489–495.
- Pereda-Reyes, I. 2007. Potencialidad de los residuos sólidos mineros como estimulantes del proceso de digestión anaerobia. Centro de estudio de tecnologías energéticas. La Habana, Cuba, Instituto Superior Politécnico José Antonio Echeverría. Doctor en Ciencias Técnicas. 15- 49.
- Persson, P.E., H.D. Bartlett, A.E. Branding y R.W. Regan. 1979. Agriculture anaerobic digesters. Design and operation. Agricultural Experiment Station. The Pennsylvania State University, University Park. Pennsylvania, USA.
- Pimentel-González, D.J., M.E. Rodríguez-Huezo, R.G. Campos-Montiel, A. Trapala-Islas, y A. D. Hernández-Fuentes. 2011. Influencia de la variedad de maíz en las características fisicoquímicas del huitlacoche (*Ustilago maydis*). *Rev Mex Ingeniería Química*. **10**(2): 171-178.
- Prazeres A.R., F., Carvalho y F.J. Rivas. 2012. Cheese whey management: a review. *J. Environ. Manage.* **(36)**110: 48–68.
- Preeti, R. P., y Seenayya, G. 1994. Improvement of methanogenesis from cow dung and poultry litter waste digesters by addition of iron. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **10**(2): 211- 214.

- Pobeheim, H., B. Munk, H. Lindorfer y G. M. Guebitz. 2011. Impact of nickel and cobalt on biogas production and process stability during semi-continuous anaerobic fermentation of a model substrate for maize silage. *Water Res.* **45**(2): 781- 787.
- Rossi, C. y Leslie, M. 2010. Potencialidad de residuos mineros aplicados a los efluentes de la industria azucarera (vinazas) en la producción de biogás. Guatemala, Guatemala. Tesis de licenciatura. Universidad de San Carlos de Guatemala. República de Guatemala.
- SE. 2012. Secretaría de Energía. Análisis del sector lácteo en México. México.
- SIAP-SAGARPA. 2015. Boletín de Leche. Servicio de información agroalimentaria y pesquera-secretaría de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación. México.
- Sowmeyan, R., and Swaminathan, G. 2008. Evaluation of inverse anaerobic fluidized bed reactor for treating high strength organic wastewater. *Bioresour. Technol.* **99**(9): 3877–3880.
- Speece, R. E. 1987. Nutrient Requeriments. En: *Anaerobic digestion of biomass*. Chynoweth y Isaacson, Oxxford, UK.
- Stoodley, P, K. Sauer, D.G. Davies y J. W. Costerton. 2002. Biofilms as complex differentiated communities. *Annu Rev. Microbiol.* 56: 187-209.
- Sutherland, I. 2001. Biofilm exopolysaccharides: a strong and sticky framework. *Microbiol.* **147**(Pt 1): 3-9.
- UNAD. Universidad Nacional Abierta y a Distancia.
http://datateca.unad.edu.co/contenidos/301332/contLinea/leccin_5_reactores_de_tercera_generacion.html. (Consultada Octubre, 2016).
- United Tech, I. 2003. Anaerobic Digestion, UTI Web Design.

- Valencia-Denicia., E. y Ramírez-Castillo, M. 2009. La industria de la leche y la contaminación del agua. *Elementos*. 73: 27-31.
- Venetsaneas, N., G. Antonopoulou, K. Stamatelatou, M. Kornaros y G. Lyberatos. 2009. Using cheese whey for hydrogen and methane generation in a two-stage continuous process with alternative pH controlling approaches. *Bioresour. Technol.* **100**(15): 3713–3717.
- Vlyssides, A.G., P.K. Karlis y G. Mahnken. 2003. Influence of various parameters on the electrochemical treatment of landfill leachates. *J. Appl. Electrochem.* **33**(2): 155–159.
- Virkutyte, J., M. Sillanpää y P. Lens. 2006. Electrokinetic copper and iron migration in anaerobic granular sludge. *Water, Air and Soil Pollution*. **177**(1): 147- 168.
- Welter, A. B., J. M. Romero, Y. A. Grumelli, J. A. Sanchez y G. I. Ascar. 2006. La biopelícula en los procesos RBC. <http://www.bvsde.paho.org/bvsaidis/argentina14/welter.pdf>. (Consultada Julio, 2017).
- Wang, A. J., W. W. Li y H. Q. Yu. 2011. Advances in biogas technology. *Adv Biochem. Engin/Biotechnol.* 128:119-41.
- Zhao, M. X., Q. Yan, W. Q. Ruan, H. Zou y Y. Xu. 2008. The influence of Ph adjustment on biogas production from kitchen wastes by anaerobic fermentation. *Bioprocess Eng.* **6**(4): 45-9.
- Zinder, S. H. 1984. Microbiology of anaerobic conversion of organic wastes to methane: recent developments. *ASM News*, 50: 294-298.
- Zitomer, D. H., C. C. Johnson y R. E. Speece. 2008. Metal stimulation and municipal digester thermophilic/mesophilic activity. *J. Environ. Eng.* **134**(1): 42-47.