

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

OPCIÓN I.- TESIS

TRABAJO PROFESIONAL

“Efecto de la digestión anaerobia termofílica en la inactivación de *Trichuris suis* y la remoción de compuestos orgánicos en residuos porcícolas”.

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS
EN INGENIERÍA QUÍMICA

PRESENTA:

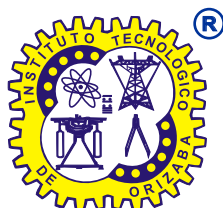
I. Q. Luis Pablo Amador Gómez

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. Juan Manuel Méndez Contreras

CODIRECTOR DE TESIS:

M.I. Norma Alejandra Vallejo Cantú



FECHA: 22/06/2018
DEPENDENCIA: POSGRADO
ASUNTO: Autorización de Impresión
OPCIÓN: I

C. LUIS PABLO AMADOR GOMEZ
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:

"EFECTO DE LA DIGESTION ANAEROBIA TERMOFILICA EN LA INACTIVACION DE TRICHURIS SUIS Y LA REMOCION DE COMPUESTOS ORGANICOS EN RESIDUOS PORCICOLAS".

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



FECHA : 04/06/2018

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. :

LUIS PABLO AMADOR GOMEZ

la cual lleva el título de:

"EFECTO DE LA DIGESTION ANAEROBIA TERMOFILICA EN LA INACTIVACION DE TRICHURIS SUIS Y LA REMOCION DE COMPUESTOS ORGANICOS EN RESIDUOS PORCICOLAS".

Y concluyen que se acepta.

A T E N T A M E N T E

PRESIDENTE : DR. **JUAN MANUEL MENDEZ CONTRERAS**

SECRETARIO : M. I. **NORMA ALEJANDRA VALLEJO CANTU**

VOCAL : DR. **ALEJANDRO ALVARADO LASSMAN**

VOCAL SUP. : DR. **DENIS CANTU LOZANO**

FIRMA

FIRMA

FIRMA

FIRMA

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

OPCION: I **Tesis**

RESUMEN

Elaborado por: I.Q. Luis Pablo Amador Gómez

Dirigido por: Dr. Juan Manuel Méndez Contreras

Co-Asesor: M.I Norma Alejandra Vallejo Cantú

La digestión anaerobia es un proceso de descomposición de materia orgánica que con la interacción de un consorcio de microorganismos específicos que degradan la materia orgánica obteniendo dos productos: biogás y biosólido. El estado de Veracruz se encuentra entre los 10 primeros productores de ganado porcino; existen diferentes tipos de granjas porcinas: tecnificadas, semitecnificadas y traspatio. Las granjas traspatio son aquellas que no cuentan con ninguna tecnología con escasa higiene, por este motivo se utilizaron las excretas de una granja traspatio para tratar la alta contaminación microbiológica e identificar la existencia de la especie de huevos de helmintos llamada: *Trichuris suis* que ha sido identificada en la región; son peligrosos para la salud humana, el suelo y para los animales. Se cuantificó la carga microbiana de Coliformes fecales, *Salmonella* spp y huevos de helminto de acuerdo a NOM-004SEMARNAT-2002, se operó el reactor a condiciones mesofílicas y se adaptó a condiciones termofílicas.

Por medio del análisis estadístico se comprobó en NCSS 2007 y Minitab 18 que existe una diferencia significativa en la remoción de SV y la producción de biogás al cambiar la temperatura de operación, se utilizaron 5 niveles de temperatura 35, 40, 45, 50 y 55 °C; con la comparación de las medias de Tukey se llegó a la conclusión que las medias son iguales excepto la de 45 °C. Por otro lado, en la producción de biogás existe una diferencia significativa, no son iguales ya que el factor principal (Temperatura) afecta en la producción de biogás; se verificó por medio de la prueba de comparación de medias de Tukey que la producción de biogás es estadísticamente igual en 35, 50 y 55°C, pero diferente en 40 y 45°C. A su vez en la temperatura de operación de 55°C, se logró completa inactivación de *Trichuris suis*, Coliformes fecales y *Salmonella* spp, por medio de las pruebas estadísticas de medias, no hay diferencia en la producción de biogás y remoción en 35, 50 y 55°C y 35, 40, 50 y 55 °C respectivamente por lo cual estadísticamente la mejor de las 5 temperaturas de operación es a 55°C.

ABSTRACT

Elaborado por: I.Q. Luis Pablo Amador Gómez

Dirigido por: Dr. Juan Manuel Méndez Contreras

Co-Asesor: M.I Norma Alejandra Vallejo Cantú

Anaerobic digestion is a process of decomposition of organic matter that with the interaction of a consortium of specific microorganisms degrade the organic matter obtaining two products: biogas and biosolids. The state of Veracruz is among the top 10 producers of pigs; There are different types of pig farms: technified, semi-specialized and backyard. Backyard farms are those that do not have any technology with poor hygiene, for this reason the excreta of a farm were used to treat the high microbiological contamination and they identify the existence of the species of helminth eggs called: *Trichuris suis* that has been identified in the region; are dangerous to human health, soil and animals. The microbial load of fecal coliforms, *Salmonella spp.* and helminth eggs according to NOM-004SEMARNAT-2002, the reactor was operated at mesophilic conditions and adapted to thermophilic conditions.

By means of statistical analysis it was verified in NCSS 2007 and Minitab 18 that there is a significant difference in the removal of SV and the production of biogas by changing the operating temperature, 5 temperature levels were used 35, 40, 45, 50 and 55 ° C; with the comparison of the means of Tukey it was reached the conclusion that the Means are equal except for 45 ° C. On the other hand, in the production of biogas there is a significant difference, they are not equal since the main factor (Temperature) affects the production of biogas; it was verified by Tukey's means comparison test that the biogas production is statistically equal at 35, 50 and 55 ° C, but different at 40 and 45 ° C. In turn, at the operating temperature of 55 ° C, complete inactivation of *Trichuris suis*, Fecal Coliforms and *Salmonella spp.* Was achieved through statistical means tests, there is no difference in the production of biogas and removal in 35, 50 and 55 ° C and 35, 40, 50 and 55 ° C respectively, so statistically the best of the 5 operating temperatures is 55 ° C.

Índice

OBJETIVOS	1
CAPÍTULO 1 FUNDAMENTOS TEORICOS	2
1.1 Producción de ganado porcino en México	2
1.2 Problemática de la producción y crianza del ganado porcino	2
1.3 Organismos patógenos presentes en los cerdos.	3
1.3.1 Bacterias	3
1.3.2 Coliformes Fecales.....	4
1.3.3 <i>Salmonella</i> spp.....	5
1.3.4 Protozoarios	5
1.3.5 Virus.....	6
1.3.6 Helmintos	6
1.4 Principales tipos de helmintos en cerdos	8
1.4.1 <i>Trichuris suis</i>	8
1.4.1.1 Morfología.	8
1.4.1.2 Ciclo de vida.....	9
1.4.1.3 Infección en cerdos.....	11
1.4.2 <i>Ascaris suum</i>	11
1.4.2.1 Morfología.	11
1.4.2.2 Ciclo de vida.....	12
1.4.2.3 Infección en cerdos.....	13
1.4.3 <i>Metastrongylus elongatus</i>	14
1.4.4 <i>Physocephalus sexalatus</i>	15
1.4.5 <i>Strongyloide ransomi</i>	16
1.4.6 <i>Macracanthorhynchus hirudinaceus</i>	16
1.4.7 <i>Stephanurus dentatus</i>	17
1.5 Inactivación de huevos de helmintos	18
1.6 Límites máximos permisibles de patógenos y parásitos en lodos residuales	19
1.6.1 Uso y clasificación de biosólidos.....	19
1.7 Tratamiento de residuos y lodos	20
1.8 Digestión anaerobia.....	21
1.8.1 Hidrólisis.....	22

1.8.2	Acidogénesis	23
1.8.3	Acetogénesis.....	23
1.8.4	Metanogénesis	25
1.8.5	Clasificación de la digestión anaerobia	26
1.8.6	Digestión anaerobia termofílica.....	27
1.8.7	Factores que influyen en la digestión anaerobia	29
1.8.7.1	Temperatura	29
1.8.7.2	pH	30
1.8.7.3	Alcalinidad	30
1.8.7.4	Carga orgánica	31
1.8.7.5	Mezclado	31
1.8.7.6	Nutrientes.....	31
1.9	Modelo cinético de Michaelis-Menten	32
1.9.1	Gráfico de Lineweaver-Burke	33
1.9.2	Gráfico de Eadie-Hofstee	33
1.10	Modelo de Hom.....	34
1.10.1	Modelo de Hom modificado para tratamiento térmico.	35
1.11	Estudios relacionados a la inactivación de huevos de helminto	36
CAPÍTULO 2 MATERIALES Y MÉTODOS		40
2.1	Etapa 1. Obtención y caracterización de lodos residuales porcícolas.....	41
2.1.1	Determinación de pH.....	42
2.1.2	Determinación de Sólidos totales	42
2.1.3	Determinación de SV	43
2.1.4	Nitrógeno total	44
2.1.5	Nitrógeno amoniacal	44
2.1.6	Coliformes fecales	44
2.1.7	<i>Salmonella</i> spp.....	45
2.1.8	Huevos de helmintos	45
2.2	Adaptación del proceso de la digestión anaerobia mesofílica.....	46
2.2.1	Arranque del reactor anaerobio-mesofílico en modo batch.....	46
2.2.2	Operación del proceso de la digestión anaerobia en semicontinuo.	48

2.3	Pruebas de adaptación del proceso de la digestión anaerobia en modo mesofílico a termofílico.....	48
2.4	Diseño experimental	50
2.5	Evaluación de la biomasa tratada de residuos.....	50
CAPÍTULO 3 Resultados.....		53
3.1	Obtención y caracterización de lodos residuales porcícolas.....	53
3.2	Adaptación del proceso de la digestión anaerobia mesofílica.....	55
3.2.1	Arranque del reactor anaerobio-mesofílico en modo batch.....	55
3.2.1.1	Determinación de V_{max} y K_m de residuos porcícolas mediante los gráficos Lineweaver-Burke y Eadie-Hofstee.....	56
3.2.2	Operación del proceso de la digestión anaerobia en semicontinuo.	58
3.2.2.1	Comportamiento del pH en la operación de la digestión anaerobia mesofílica.....	59
3.2.2.2	Producción de biogás en la operación de la digestión anaerobia mesofílica a diferentes cargas.....	60
3.3	Pruebas de adaptación del proceso de la digestión anaerobia en modo mesofílico a termofílico.....	61
3.3.1	Porcentaje de remoción de SV.....	61
3.3.2	Comportamiento del pH	65
3.3.3	Producción de biogás.....	68
3.3.4	Inactivación de <i>Trichuris suis</i> , Coliformes fecales y Salmonella Durante las etapas equidistantes de temperatura.....	71
3.3.5	Determinación de parámetros cinéticos en la inactivación de Coliformes fecales, <i>Salmonella spp.</i> y <i>Trichuris suis</i>	72
3.4	Diseño experimental	75
3.4.1	Conclusiones a partir de los 2 datos softwares estadísticos.	79
3.5	Evaluación de la biomasa tratada.....	80
CONCLUSIONES		83
RECOMENDACIONES		85
ANEXO A		87
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS		92

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1 A) Huevo de helminto, B) Larva en el momento de la eclosión, C) Larvas adultas (Hernández., 2007).	7
Figura 1.2 Fotografía de un huevo de <i>Trichuris suis</i> (Vejzagic et al., 2015).	9
Figura 1.3 Ciclo de vida de <i>Trichuris suis</i> . (https://www.remedicajournals.com/inflammatory-Bowel-Disease-Monitor/BrowseIssues/Volume-13-Issue-3/Article-Helminthic-Therapy-in-IBD)	10
Figura 1.4 Ciclo de vida de <i>Ascaris Suum</i> . (Sánchez, 2002).	13
Figura 1.5 Huevo de <i>Ascaris suum</i> (College, 2017)	14
Figura 1.6 Huevo de <i>Metastrongylus elongatus</i> (College, 2017)	15
Figura 1.7 Huevo de <i>Physocephalus sexalatus</i> (College, 2017)	16
Figura 1.8 <i>Strongyloide ransomi</i> (College, 2017)	16
Figura 1.9 <i>Macracanthorhynchus hirudinaceus</i> (College, 2017)	17
Figura 1.10 <i>Stephanurus dentatus</i> (College, 2017)	18
Figura 1.11 Clasificación de tratamientos para la estabilización de lodos residuales	21
Figura 1.12 Gráfica del comportamiento de la inactivación térmica.	36
Figura 2.1 Esquema de bloques de la metodología.	40
Figura 2.2 Potenciómetro Orión 250.	42
Figura 2.3 Estufa Marca Felisa.	43
Figura 2.4 Mufla marca Thermo Scientific.	44
Figura 2.5 Cámara de conteo Sedgewick Rafter.	46
Figura 3.1 Digestión anaerobia mesofílica en modo batch.	56
Figura 3.2 Gráfico Lineweaver-Burke	57
Figura 3.3 Gráfico Eadie-hofstee	57
Figura 3.4 Porcentaje de remoción.	59
Figura 3.5 Comportamiento del pH.	60

Figura 3.6 Producción de biogás a 35 °C.	61
Figura 3.7 Porcentaje de remoción a 40 °C.....	62
Figura 3.8 Porcentaje de remoción a 45 °C.....	63
Figura 3.9 Porcentaje de remoción a 50 °C.....	64
Figura 3.10 Porcentaje de remoción a 55 °C	65
Figura 3.11 Comportamiento del pH a 40 °C	66
Figura 3.12 Comportamiento del pH a 45 °C	66
Figura 3.13 Comportamiento del pH a 50 °C	67
Figura 3.14 Comportamiento del pH a 55 °C	68
Figura 3.15 Producción de biogás a 40 °C.	69
Figura 3.16 Producción de biogás a 45 °C.	69
Figura 3.17 Producción de biogás a 50 °C	70
Figura 3.18 Producción de biogás a 55 °C	71
Figura 3.19 Curva de inactivación de Coliformes fecales durante la adaptación de la digestión anaerobia mesofílico-termofílico.	74
Figura 3.20 Curva de inactivación de Salmonella spp. durante la adaptación de la digestión anaerobia mesofílico-termofílico.	74
Figura 3.21 Curva de inactivación de Huevos de helminto durante la adaptación de la digestión anaerobia mesofílico-termofílico.....	75
Figura 3.22 porcentaje de remoción de SV en cada temperatura.	76
Figura 3.23 Producción de biogás promedio en las temperaturas de operación.	77
Figura 3.24 Promedios de porcentaje de remoción de SV en Minitab 18	78
Figura 3.25 Producción promedio de biogás en diferentes temperaturas de trabajo en Minitab 18.....	79

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1 Límites máximos permisibles de patógenos y parásitos en los lodos residuales	20
Tabla 1.2 Uso y clasificación de biosólidos.	20
Tabla 1.3 Reacciones Acetogénicas	24
Tabla 1.4 Clasificación de la digestión anaerobia.....	27
Tabla 1.5 Temperatura típicas para diversas bacterias (Metcalf y Eddy, 2003)	29
Tabla 2.1 Parámetros de caracterización del lodo generado.	41
Tabla 2.2 Condiciones de operación modo semicontinuo a 35°C	48
Tabla 2.3 Condiciones de operación a 35°C carga 2 kg SV/m ³ .d	49
Tabla 2.4 Estrategia de adaptación del reactor mesofílico a termofílico.	49
Tabla 2.5 Condiciones de operación de la adaptación de la digestión anaerobia.	50
Tabla 2.6 Diseño unifactorial.	50
Tabla 3.1 Caracterización del residuo porcícola e inóculo.	53
Tabla 3.2 Parámetros obtenidos en ambos gráficos.	58
Tabla 3.3 Inactivación de microorganismos patógenos durante el proceso de la digestión anaerobia.	72
Tabla 3.4 Parámetros cinéticos para el modelo de Hom modificado.	72
Tabla 3.5 Comparativa de estadísticos.	80
Tabla 3.6 Evaluación de los biosólidos obtenidos.	81
Tabla A.1 Anova de porcentaje de remoción en las 5 temperaturas de trabajo.	87
Tabla A.2 Pruebas de comparación de medias de porcentaje de remoción de SV.	87
Tabla A.3 Anova de la producción de biogás en las 5 temperaturas.	88
Tabla A.4 Pruebas de comparación de medias en la producción de biogás.	88
Tabla A.5 Anova del porcentaje de remoción de SV en Minitab 18.	89
Tabla A.6 Pruebas de comparación de medias de porcentaje de remoción en Minitab 18.	89
Tabla A.7 Anova de la producción de biogás en Minitab 18.	89
Tabla A.8 Prueba de comparación de medias de producción de biogás en Minitab 18.	90

Introducción.

De acuerdo con el censo agropecuario INEGI 2007, en México se contabilizaron más de 970 mil unidades de producción de ganado porcino. En los últimos años la producción porcina se ha visto afectada en los inventarios actuales, sin embargo, la acumulación de excretas producidas ha provocado, un aumento en los niveles de nitrógeno y fósforo que se aportan al suelo, lo que supone un exceso de dichos elementos sobre las necesidades de las plantas. Al mismo tiempo se tiene un aumento en las emisiones de amoníaco al medio ambiente, y por consiguiente el mal olor que estos emiten. Esto como el resultado del mal manejo o en algunos casos nulos de los residuos generados. Resultando la importancia previniendo su impacto negativo al medio ambiente y/o considerar al residuo como una oportunidad, brindando manejo y tratamiento a la misma (Dominguez Araujo *et al.*, 2014).

La tasa de sobrevivencia de los helmintos llega a ser de años, comparado con otros organismos patógenos como los virus y bacterias que es de meses y de semanas en el caso de los protozoos, para los que son considerados como uno de los grupos más resistentes a cambios en los factores ambientales (pH, temperatura, humedad, etc.) llegando a sobrevivir a los tratamientos convencionales de desinfección de aguas residuales y lodos. Por ejemplo, la desinfección con cloro y la digestión anaerobia mesofílica no son tratamientos efectivos en la inactivación de huevos de helmintos (López., 2009).

La digestión anaerobia en condiciones de operación termofílica (50-55°C) son comúnmente aplicados en Europa para el tratamiento de la fracción soluble de residuos municipales y en plantas piloto de biogás para el tratamiento de heces. Debido a sus ventajas aparentes en años recientes la DAT es un proceso que ha obtenido gran atención. Como son una mejor remoción de materia orgánica, mayor producción de metano y la reducción de espuma. Por otra parte, DAT tiene una mayor reducción de organismos patógenos, permitiendo la higienización de efluentes los cuales pueden ser utilizados en la aplicación de suelos en un periodo corto (Gagliano *et al.*, 2015).

La presente investigación tiene como objetivo la obtención de un inóculo termofílico en la digestión anaerobia de residuos porcícolas; mediante el incremento equidistante de temperatura desde 35°C (temperatura mesofílica) hasta 55°C (temperatura termofílica), así como la inactivación de microorganismos patógenos y la especie de huevos de helminto *Trichuris suis* que se ha encontrado en mayor proporción que la especie *Ascaris suum* presentes en los porcinos.

NOMENCLATURA

%SV	Porcentaje de Sólidos Volátiles.
%ST	Porcentaje de Sólidos Totales.
g N-NH ₃ /kg ST	Gramos de nitrógeno amoniacal por kilogramo de sólido total .
g N-NTK/kg ST	Gramos de nitrógeno total por kilogramo de sólido total.
g SV/L-d	Gramos de Sólidos Volátiles por litro por día.
HH/g ST	Huevos de Helmintos por gramo de sólido total.
NMP/g ST	Número más probable por gramo de sólido total.
pH	Potencial de hidrogeno.
L/d	Litros de biogás producidos por día.
TRH	Tiempo de residencia hidráulica.

OBJETIVOS

Objetivo general

- Evaluar el efecto de la Digestión anaerobia termofílica en la inactivación de *Trichuris suis* presentes en residuos porcícolas.

Objetivos específicos

- Estabilizar la operación del proceso de la digestión anaerobia mesofílica de residuos porcícolas.
- Conversión de un proceso de digestión anaerobia mesofílica a un proceso termofílico mediante el incremento equidistante de temperatura.
- Evaluar la inactivación de *Trichuris suis* en ambas modalidades térmicas del proceso.
- Evaluar la calidad de la biomasa en ambas modalidades térmicas de la digestión anaerobia.

CAPÍTULO 1

FUNDAMENTOS TEÓRICOS

CAPÍTULO 1 FUNDAMENTOS TEORICOS

1.1 Producción de ganado porcino en México

El cerdo se cría en casi todo el mundo, con la finalidad de obtener alimento cárnico, por sus buenas características nutricionales y por su buen sabor. Crecen y maduran con rapidez, tienen un periodo de gestación corto (114 días), de las madres se obtienen camadas numerosas, son omnívoros y consumen una gran variedad de alimentos convirtiendo los cereales y leguminosas en carne. De acuerdo al censo agropecuario INEGI 2007, en México se contabilizaron más de 970 mil unidades de producción de ganado porcino. De estas unidades de producción porcino un 59.3 % se dedica a la engorda. Un 15 % produce lechones, otro 15 % mantiene vientres con ciclo completo y un 10.7 % cuenta con sementales. La SIAP 2016 tiene un pronóstico de 1,364,200 toneladas de carne de canal y para el estado de Veracruz se pronostica una producción de 122.329 toneladas colocándolo dentro de los primeros 5 estados con mayor producción en México.

1.2 Problemática de la producción y crianza del ganado porcino

Los sistemas de producción porcina se clasifican en tres tipos de instalaciones:

- Instalaciones tecnificadas: Los porcinos son criados en granjas grandes que pueden llegar a tener más de 100,000 cerdos, están ubicados en instalaciones automatizadas además de que utilizan lo último en tecnología para su producción.
- Instalaciones tradicionales o semitecnificadas: Los porcinos son criados en explotaciones de diferente tamaño, donde tienen desde 100 animales en adelante y su objetivo es la venta del ganado para abasto. A diferencia de las instalaciones tecnificadas, estas instalaciones son tradicionales y no usan lo último que hay en tecnología. Este tipo de producción se ajusta para la implementación de buenas prácticas de manejo, así como el manejo de

residuos y recolección de residuos aprovechando al máximo su potencial nutritivo.

- Traspatio, sistema rural o de autoabastecimiento: Los porcinos son mantenidos en corrales rústicos contruidos sin tecnología alguna con materiales de la región. Este tipo de producción se da principalmente en las zonas rurales de nuestro país y son explotaciones de pocos animales, comúnmente no más de 10 (Dominguez-Araujo et al., 2014).

En los últimos años la producción porcina se ha visto afectada en los inventarios anuales, la producción intensiva de carne de cerdo ha provocado severos impactos ambientales por la acumulación de desechos sólidos sin tratar y por la contaminación de diferentes cuerpos de agua, donde son descargadas sus aguas residuales, provocando problemas sanitarios y enfermedades parasitarias tales como las helmintiasis causadas por parásitos intestinales son transmitidas por: contacto directo con heces contaminadas o agua residual contaminada, consumo de cultivos contaminados e ingestión de carne contaminada, al mismo tiempo se tiene un aumento en las emisiones de amoniaco al medio ambiente, y por consiguiente el mal olor que éstos emiten. Esto como el resultado del mal manejo o nulo de los residuos generados.

1.3 Organismos patógenos presentes en los cerdos.

1.3.1 Bacterias

Las bacterias son organismos unicelulares procariontes, es decir, que están formados por una sola célula carente de núcleo. Su ácido desoxirribonucleico (ADN) se encuentra libre en el citoplasma y no tienen organelos, como las mitocondrias, cloroplastos o aparato de Golgi. A pesar de su sencilla organización celular, cuentan con una pared celular (capa de polisacáridos) que envuelve la célula proporcionándole rigidez y protección.

Las bacterias se pueden clasificar en función de su morfología, las bacterias que tienen forma esférica u ovoide se denominan cocos, si se tiñen de azul con el Gram, se les

denomina grampositivos. Cuando los cocos se agrupan en cadenas, se les denomina estreptococos y cuando lo hacen en racimos, se les llama estafilococos; también se pueden agrupar en pares que reciben el nombre de diplococos. Las bacterias en forma de bastón reciben el nombre de bacilos. Si al teñirlos con el Gram quedan de color rojo, se les denomina gramnegativos. Los bacilos curvados que presentan espirales se llaman espirilos, rígidos; algunas bacterias en espiral presentan formas fácilmente reconocibles, como las espiroquetas, semejantes a un tornillo o sacacorchos, flexibles. Las bacterias que carecen de pared celular tienen gran plasticidad (micoplasmas) y adoptan una variedad de formas. Las bacterias esféricas tienen un tamaño promedio de 1 micrómetro de diámetro, mientras que los bacilos miden 1.5 de ancho por 6 μm de largo (Molina y Uribarren, 2015)

1.3.2 Coliformes Fecales

Los coliformes fecales son un subproducto de los coliformes totales que incluyen a todos los grupos Coliforme. Están definidas como bacilos gram-negativos, no esporulados que fermentan la lactosa con producción de ácido y gas a 44.5 °C por lo que se les considera organismos termotolerantes. Se encuentran relacionados estrechamente con la contaminación fecal, son relativamente fáciles de identificar y cuantificar

Los coliformes fecales son comúnmente utilizados como indicadores de contaminación fecal en aguas residuales. Es un indicador en la eficiencia de los procesos de tratamiento de lodos y regula la calidad de los biosólidos que pueden reusarse benéficamente; a su vez son indicadores de la concentración de *Salmonella spp.* bacterias que usualmente están relacionadas con enfermedades gastrointestinales en humanos por lo tanto, la reducción de coliformes totales refleja un decremento en *Salmonella spp* (López., 2009).

1.3.3 *Salmonella* spp.

El género *Salmonella* pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*. Son bacterias gram negativas, no esporuladas y móviles, que pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae*. Existen tres especies: *Salmonella typhi*, *S. choleraesuis* y *S. enteritidis*. Esta última presenta más de 1400 variedades distintas. Con excepción de *S. typhi*, que afecta a los seres humanos y produce la fiebre tifoidea, la mayoría son patógenas tanto para el hombre como para los animales. En los seres humanos la salmonela es responsable de diferentes cuadros clínicos como la fiebre tifoidea y paratifoidea, la gastroenteritis por *Salmonella* (salmonelosis), y las bacteriemias e infecciones localizadas. Además, existen personas que sufren una infección asintomática y otras que son portadoras sanas transitorias o crónicas y que son responsables de la diseminación de los bacilos. Las salmonelas se transmiten sobre todo a través de alimentos contaminados. (Carrillo y Audisio., 2007)

1.3.4 Protozoarios

Los protozoos son seres eucariotas (con núcleo celular definido), unicelulares y heterótrofos (se alimentan de materia orgánica). Suelen ser de vida libre, aunque existen grupos que son parásitos. Se pueden distinguir distintos tipos de protozoos, si se observa su estructura pueden clasificarse en: flagelados, son protozoos que para moverse utilizan flagelos, la mayoría de los flagelados tienen vida libre, pero hay algunos que son parásitos. Ciliados, son protozoos que utilizan cilios para moverse, los cilios son pequeñas estructuras que la célula mueve a modo de remos. Rizópodos, son protozoos que se mueven emitiendo prolongaciones de su cuerpo y deslizándose sobre la superficie sobre la que viven. Estas prolongaciones se llaman pseudópodos, y funcionan como falsos pies. Finalmente, los esporozoos que son protozoos inmóviles. Todos los individuos de este grupo son parásitos. (Puerta-García y Mateos-Rodríguez., 2010)

1.3.5 Virus

Los virus son organismos con una estructura más sencilla que las células procariontas y eucariotas, por lo cual son considerados acelulares o acarióticos. Son partículas cuyo genoma es un ácido nucleico (ADN o ARN), el cual se replica en células vivas y utiliza su maquinaria metabólica para dirigir la síntesis de nuevos virus que a su vez infectarán más células.

Existen más de 100 clases diferentes de virus entéricos, capaces de transmitir algún tipo de infección o enfermedades son excretadas por el hombre. Los virus entéricos se reproducen en el tracto intestinal de personas infectadas y son posteriormente expulsados en las heces. Desde el punto de vista de la salud humana, los virus entéricos más importantes son enterovirus (polio, eco, coxsackie), virus norwalk, rotavirus, reovirus, calcivirus, adenovirus y virus de hepatitis A. Entre los virus que causan enfermedades diarreicas, se ha demostrado que los rotavirus y virus norwalk son los principales patógenos de origen hídrico. (Peláez *et al.*, 2016)

1.3.6 Helmintos

La palabra *helminto* procede del término griego *helmins* que significa gusano y, de éstos, los que son parásitos se clasifican en: platelmintos (gusanos planos) y nematelmintos (gusanos redondos) (Escobar *et al.*, 2014). Los cuales poseen células organizadas en tejidos y órganos especializados para distintas funciones vitales. Son seres heterótrofos con una reproducción de tipo sexual. Sus dimensiones varían desde cerca de 1mm hasta varios metros de longitud. Tienen órganos diferenciados y sus ciclos vitales comprenden la producción de huevos o larvas infecciosas y la alternancia compleja de generaciones que incluyen hasta tres huéspedes distintos (Hernández, 2007). Los HH tienen una longitud que varía entre 18 y 150 μm , y un diámetro que va de 12 a 14 μm , en los gusanos más pequeños, y hasta 90 μm , en los más grandes. Su forma puede ser esférica, ovalada o alargada. (Figura 1.1)

Las infecciones por helmintos se diagnostican por la presencia de sus huevos o larvas en las heces; los cuales son eliminados por el portador y la vía de entrada al hospedero es oral. Los HH tienen una cubierta lisa que puede variar de grosor, según la especie; con excepción de los huevos de *Ascaris lumbricoides*, que presentan una cubierta externa mamelonada, la cual es una protuberancia externa, generalmente carnosa, que altera su textura y superficie natural.

La tasa de sobrevivencia de los helmintos llega a durar varios años, por lo que son considerados uno de los grupos más resistentes a cambios en los factores ambientales (pH, temperatura, humedad, etc.), llegando a sobrevivir a los tratamientos convencionales de desinfección de aguas residuales y lodos.

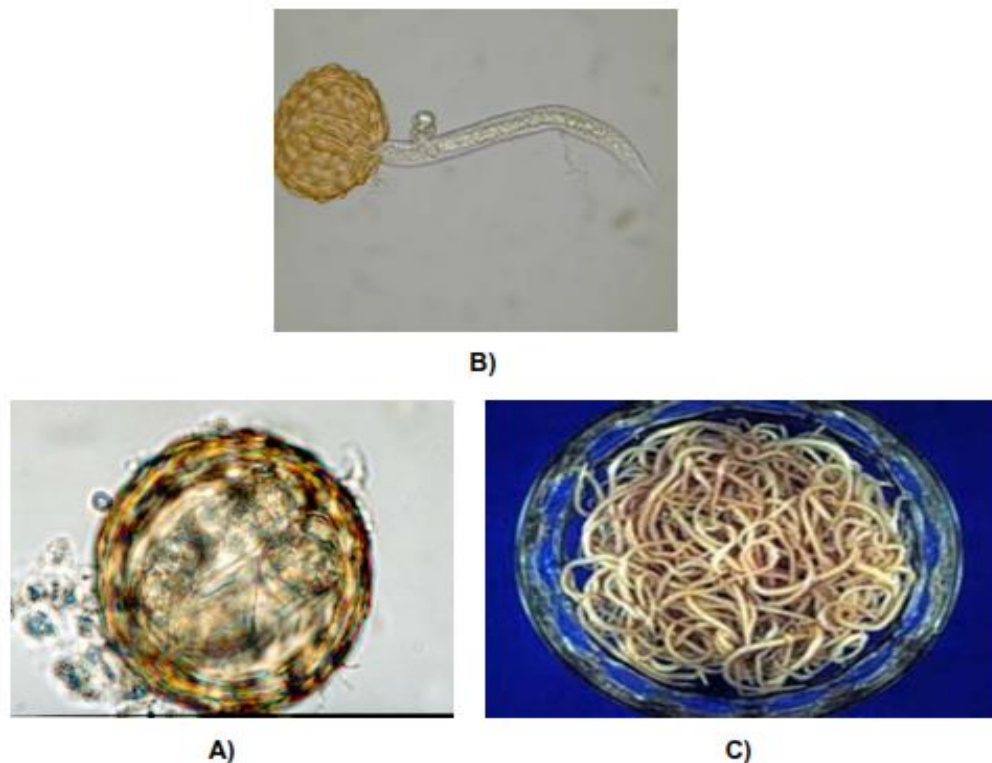


Figura 1.1 A) Huevo de helminto, B) Larva en el momento de la eclosión, C) Larvas adultas (Hernández., 2007).

Otra característica es su alta capacidad de ovoposición; durante el primero y segundo años de vida, una hembra de *Ascaris lumbricoides* en estado adulto puede liberar, aproximadamente, 200,000 huevos por día; *Trichuris*, de 3,000 a 20,000 huevos por día, y *Taenia solium*, 50,000.

Existe una gran diversidad de HH de importancia sanitaria recuperada de aguas residuales y lodos que afectan a humanos y animales; entre los helmintos más importantes encontrados en las aguas residuales destacan: *Ascaris lumbricoides*, *Hymenolepis diminuta*, *Trichuris trichiura*, *Toxocara canis*, *Necator americanus*, *Taenia solium* y *Enterobius vermicularis*; en tanto que en los lodos han sido hallados: céstodos (*Hymenolepis diminuta*, *Taenia solium*) y nematodos (*Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, *Toxocara canis* y *Necator americanus*).

La infección parasitaria por *Ascaris lumbricoides* es considerada como la más prevalente en el mundo, con alrededor de un billón y medio de personas infectadas. En México, esta especie representa el helminto más resistente y frecuente en agua y lodos, pues se encuentra en más de 50 % de los preescolares de las áreas suburbanas de la Ciudad de México y en cerca de 100 %, en algunos estados del país.

La ascariasis puede ocasionar dolor abdominal, náuseas, vómito, trastornos en la digestión y diarrea; la migración de sus larvas causa algunos malestares, como fiebre, urticaria y asma. Los casos de ascariasis que requieren cirugía se deben a la localización anormal de los gusanos adultos en órganos, como riñón, vejiga, apéndice, páncreas, corazón e hígado, entre otros (Escobar *et al.*, 2014).

1.4 Principales tipos de helmintos en cerdos

1.4.1 *Trichuris suis*

1.4.1.1 Morfología.

El gusano propio de los cerdos es un nematodo, naturalmente se encuentran en el intestino largo de cerdos salvajes; sus huevos son excretados en las heces. Los huevos de *Trichuris suis* son de forma de barril (Figura 1.2) y contienen conexiones polares en ambos extremos de estos. La larva dentro de los huevos es protegida por un cascarón de huevo de tres capas. La capa interna es de lípido impermeable, la segunda por unas fibras de un complejo formado por proteínas y quitina que promueven el soporte estructural mientras que la capa externa es de vitelina que está compuesta por lipoproteínas (Vejzagic *et al.*, 2015).

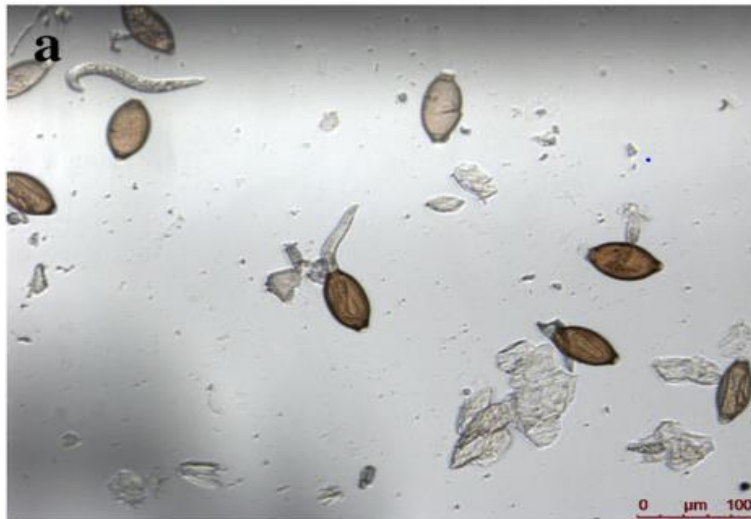


Figura 1.2 Fotografía de un huevo de *Trichuris suis* (Vejzagic *et al.*, 2015).

1.4.1.2 Ciclo de vida

El ciclo de la infección de *Trichuris suis* como se muestra en la Figura 1.3 comienza con la etapa de Larva 1 dentro del huevo, el cual se ha demostrado ser influenciado por la temperatura. Después de la ingestión de los huevos por el cerdo, todo el desarrollo larval se produce en la mucosa del intestino en las partes del ciego y el colon. Los huevos eclosionan en la región distal del intestino delgado y en todo el intestino grueso. Las larvas penetran la mucosa del ciego y colon a través de las criptas

de Lieberkühn, donde entran en las células que recubren las criptas. La fase histotrófica subsiguiente dura 13 días, durante el cual se da una migración gradual de las larvas a partir de las regiones más profundas de la lámina propia a zonas debajo de la superficie del epitelio de la mucosa intestinal. El desarrollo luminal es visto durante el día 16, cuando se observan las extremidades posteriores de las larvas en el lumen del intestino, a partir del día 20 toda la región posterior del cuerpo de la larva está expuesto, mientras que la región filamentosa del parásito se mantiene incrustada en la superficie de la mucosa. El periodo prepatente dura del día 41 al 47 (Obregón, 2015). Se observan cuatro mudas durante el desarrollo en el huésped y se producen en los días 10 (Larva 2), 16 (Larva 3), 20 (Larva 4), 32 (Larva 5) y 37 (etapa 6 y/o adulta).

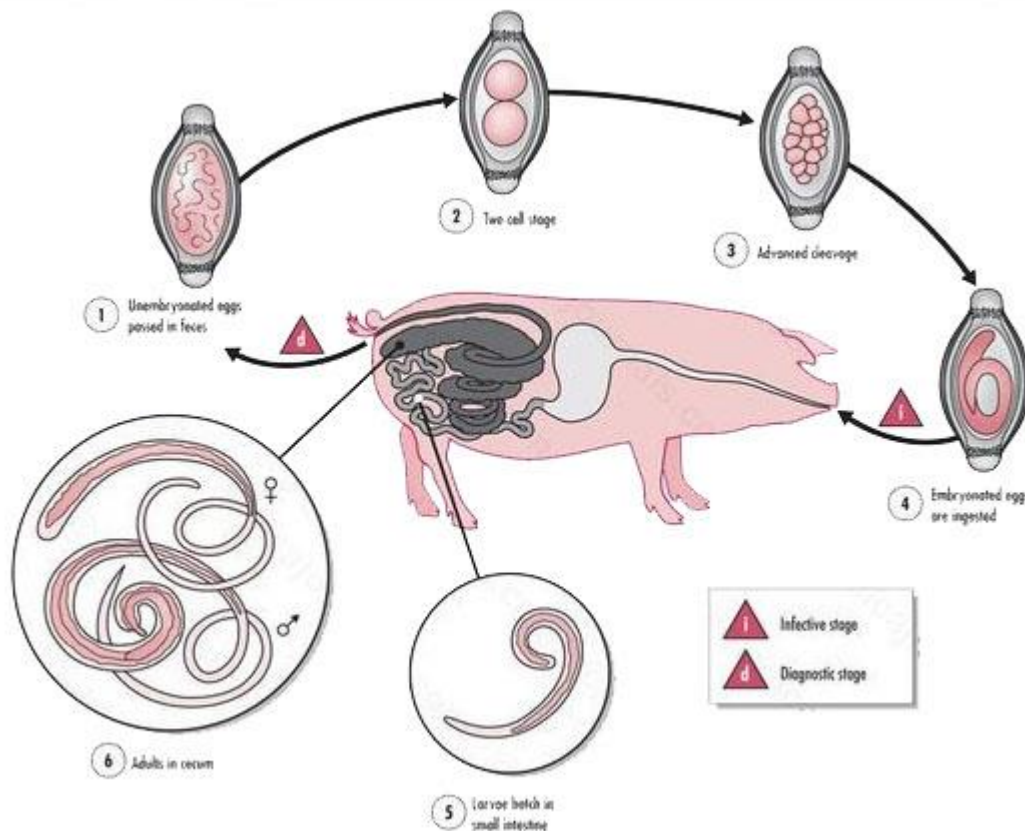


Figura 1.3 Ciclo de vida de *Trichuris suis*.

(<https://www.remedicajournals.com/inflammatory-Bowel-Disease-Monitor/BrowseIssues/Volume-13-Issue-3/Article-Helminthic-Therapy-in-IBD>)

1.4.1.3 **Infección en cerdos.**

La infección en cerdos con *Trichuris suis* es difícil de diagnosticar ya que sus síntomas se parecen a muchos otros trastornos gastrointestinales comunes en cerdos. Gran parte de la patología se produce mientras el parásito se encuentra en etapas inmaduras y la producción de huevos por las hembras es escasa (Obregón, 2015). En parasitaciones intensas los animales pueden tener debilidad general, fiebre, se tornan pálidos (anemia), falta de apetito, presentan diarrea con mucosidades y/o sangre en ocasiones, los animales se deterioran, no crecen ni se desarrollan, debilitándose hasta morir si no son tratados a tiempo.

1.4.2 ***Ascaris suum*.**

1.4.2.1 **Morfología.**

Es un parásito ubicado en el intestino delgado y puede ser quizás el nematodo más frecuente en el cerdo que provoca una infestación principalmente en animales jóvenes. su cuerpo es un muy elongado y fusiforme, de color rosado amarillento, la longitud del macho se sitúa entre los 15-31 cm, mientras que su anchura oscila de 2 a 4 mm, mientras que la hembra puede alcanzar unos 20-49 cm de longitud por 3-6 mm de anchura. Las larvas son mucho más pequeñas que otras y presentan distintos orgánulos, tales como aparato bucal, esófago, anillo nervioso, glándulas esofágicas, célula excretora, intestino y primordio genital. Los huevos fertilizados son anchos y ovoides (Figura 1.5) con una cápsula gruesa y transparente, constituida por una membrana vitelina interna, relativamente impermeable y de naturaleza lipoidea, la cual no se encuentra en los huevos infértiles; una capa media transparente y gruesa y una capa externa, mamelonado albuminoide y generalmente teñida de un color café dorado. Miden 60-75 μm por 50-55 μm en su diámetro menor; cuando son esféricos tienen alrededor de 60 μm de diámetro.

1.4.2.2 Ciclo de vida.

En la Figura 1.4 se observa el ciclo evolutivo del género *Ascaris suum*, que es directo. Las hembras depositan los huevos insegmentados en el intestino delgado, salen con las heces (A-B) y se dispersan en el medio exterior. Una hembra puede depositar unos 200.000 huevos diarios, aunque algunos autores sugieren que pueden llegar hasta 2 millones de huevos por día. Éstos son muy resistentes a los factores disgenésicos ambientales, como falta de humedad, la congelación o el contacto con productos químicos del tipo de los cresoles y fenoles.

Esta bionomía le posibilita una viabilidad de hasta 5 años o incluso más. No obstante, el calor y la desecación, tal como ocurre en el suelo arenoso expuesto a la acción directa del sol, los destruyen en pocas semanas.

Las larvas que emergen de los huevos (C) son L3, la larva raramente eclosiona (D), y normalmente la infección se realiza tras la ingestión de huevos infectantes CON los alimentos (E), o a partir de contaminaciones epiteliales que las madres infieren a los lechones.

Tras la ingestión, estos huevos eclosionan (F) en el intestino del cerdo, necesitando al menos, cuatro estímulos, para su apertura: temperatura corporal óptima, nivel de anhídrido carbónico de aproximadamente 5 volúmenes/litro, pH aproximadamente 6 y condiciones reductoras no específicas, tales como las proporcionadas por cisteína, glutatión, bisulfito sódico o anhídrido sulfuroso. Los L3 atraviesan la pared del ciego y la parte superior del intestino grueso para seguir una migración tisular. Así, la mayoría alcanzan vía sistema porta-hepático, el hígado (G), llegan a los ganglios mesentéricos y otras, pueden encontrarse ectópicamente en la cavidad peritoneal y otras localizaciones. De ahí pasan a la vía sanguínea, al corazón para alcanzar el tejido pulmonar (H) en 5 ó 6 días más; tras una segunda muda se transforman en cuarto estado larvario. Estas larvas atraviesan los capilares sanguíneos y migran lentamente desde los alveólos a los bronquiolos, bronquios y finalmente a la tráquea, teniendo el pico de esta migración a los 12 días post-infección. A partir de aquí las larvas son deglutidas y llegan al intestino entre 14 y 21 días después de la infección (I). En esta ubicación mudan al estado adulto al mes de ser ingeridas. El período prepatente dura

aproximadamente de 6 a 8 semanas caracterizándose por su gran longevidad ya que pueden vivir más de un año (Sánchez, 2002).

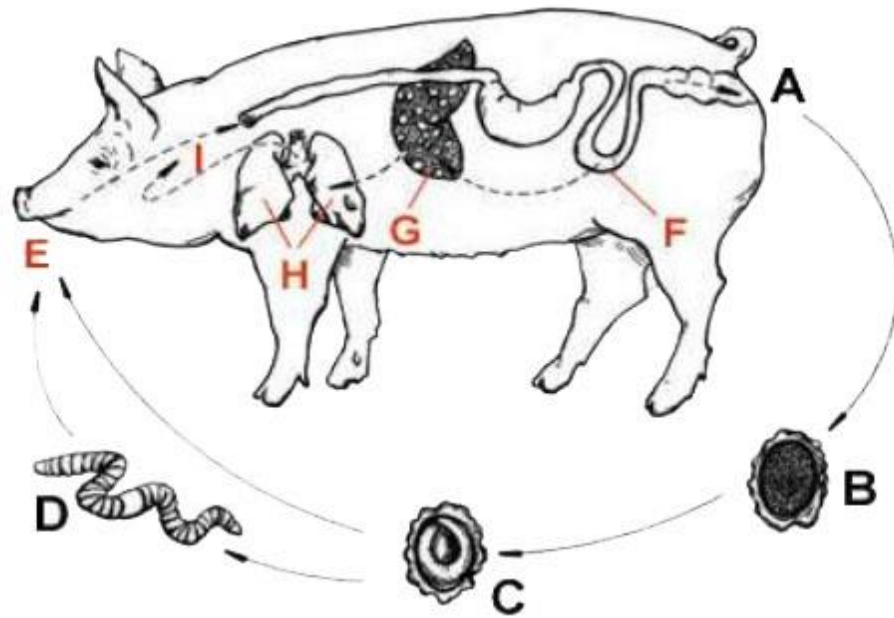


Figura 1.4 Ciclo de vida de *Ascaris Suum*. (Sánchez, 2002).

Las larvas durante su migración causan daño en el hígado y en los pulmones se caracteriza por tres labios, los cuales forman una protuberancia oral definida.

1.4.2.3 Infección en cerdos.

Los gusanos adultos pueden reducir significativamente la tasa de crecimiento de los cerdos jóvenes; si son suficientemente numerosos, pueden causar obstrucción mecánica del intestino o puede migrar a los conductores biliares y obstruirlos, causando ictericia.

La migración de larvas a través del hígado causa hemorragia, fibrosis y calcificación, lo que se traduce en la aparición de puntos blancos debajo de la cápsula. En las infestaciones masivas, las larvas pueden causar edema y condensación pulmonar, así como exacerbar la gripe porcina y la neumonía enzoótica.

Los animales afectados presentan una respiración abdominal, que se asemeja al hipo. Además de los signos respiratorios, los animales presentan un rendimiento muy bajo y pérdida de peso. Puede producirse la detención permanente del crecimiento en cerdos de 4 meses a 5 meses de edad (Sánchez, 2002).

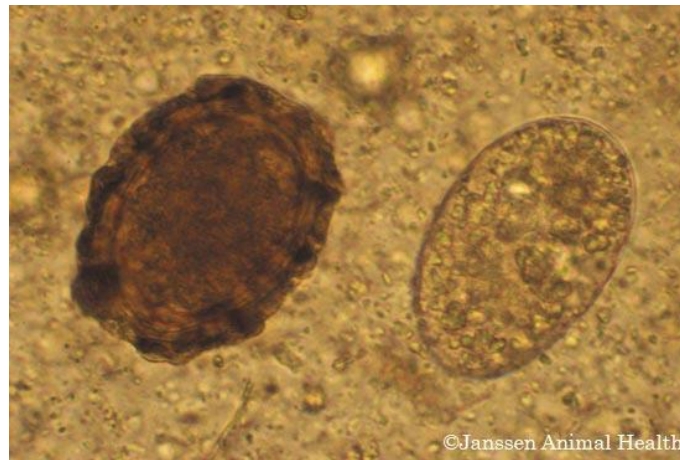


Figura 1.5 Huevo de *Ascaris suum* (College, 2017)

1.4.3 *Metastrongylus elongatus*

Es un género de gusanos redondos (nematodos) parásitos pulmonares que se encuentran principalmente en los porcinos y jabalís. Se encuentran generalmente en los bronquios y bronquiolos. Son gusanos esbeltos (Figura 1.6), de color blanquecino de 2 a 5 cm de longitud las hembras son más grandes en talla que los machos. Los machos tienen espículas largas y esbeltas para aparearse con la hembra durante la cópula. Los huevos son ovoidales, de unas 50x60 μm . El ciclo de vida inicia cuando las hembras ponen huevos embrionados en las vías respiratorias del hospedero, a través de toses o estornudos, o por las heces si fueron ingeridos los huevos llegan al exterior; se depositan en el suelo (pueden sobrevivir hasta un año) y generalmente se propagan por hospederos intermedios que son lombrices terrestres (*Lombricus*, *Eisenia*, *Helodrilus* etc.) dentro de ellas se desarrollan las larvas infectivas y los cerdos se infectan al consumir de estas. Las larvas atraviesan el intestino delgado del porcino y emigran a través del sistema linfático y sanguíneo hasta los pulmones donde se establecen en los bronquios o bronquiolos hasta alcanzar su madurez (2 a 4 semanas).



Figura 1.6 Huevo de *Metastrongylus elongatus* (College, 2017)

1.4.4 *Physocephalus sexalatus*

Es el verme blanco del estómago (Figura 1.7). Son nematodos pequeños, filiformes de color blanco pálido que presentan una boca con dos pseudolabios trilobulados, y a nivel cervical, tres alas cuticulares a cada lado. La faringue es cilíndrica con un engrosamiento espiral quitinoso. Miden hasta 2 cm de largo, teniendo los machos la cola en forma de espiral y con espículas desiguales. El ciclo evolutivo es indirecto, en el que intervienen coleópteros coprófagos (escarabajos peloteros) como hospederos intermediarios. Los huevos tienen una longitud de 31-45 μm y ancho de 12-26 μm . Los procesos parasitarios causados suelen ser sub clínicos, aunque se supone que hay alteración del apetito, vómitos, sed y trastornos en la digestión, con retraso en el desarrollo y adelgazamiento.



Figura 1.7 Huevo de *Physocephalus sexalatus* (College, 2017)

1.4.5 ***Strongyloide ransomi*.**

Es un género de gusanos redondos (nematodos) que parasitan el sistema digestivo de los porcinos generalmente en regiones cálidas. Los adultos son pequeños y filiformes, y no superan los 6 mm de longitud. Tienen un largo esófago característico. La hembra que parasita en el intestino (hembra de vida parasitaria) mide de 3.3 a 4.5 mm de largo, pone huevos que salen con las heces al exterior; en condiciones adecuadas de humedad y temperatura a las 6 horas salen del huevo (eclosionan). Los huevos, Figura 1.8, miden unas 25 por 50 micras y cuando abandonan el hospedador a través de las heces, cada uno contiene ya una larva completamente desarrollada.



Figura 1.8 *Strongyloide ransomi* (College, 2017)

1.4.6 ***Macracanthorhynchus hirudinaceus*.**

Es la lombriz de mayor tamaño que se encuentra en los cerdos, en estado fresco son de color blanco lechoso o rojizas, es un parásito acantocéfalo con su cuerpo ligeramente enrollado y con la cubierta exterior arrugada, el macho puede medir de 5 a 10 cm de largo y la hembra entre 35 a 50 cm, la cual pone huevos con una larva ya formada dentro (huevos larvados) de gran tamaño miden alrededor de 90 a 100 micrómetros, Figura 1.9, es fácilmente reconocible al microscopio. Las hembras del

parásito pueden poner 250, 000 huevos diarios por un período de 10 meses son resistentes a las condiciones ambientales y pueden sobrevivir algunos años.



Figura 1.9 *Macracanthorhynchus hirudinaceus* (College, 2017)

1.4.7 ***Stephanurus dentatus*.**

Estos parásitos se encuentran con frecuencia en la grasa que envuelve los riñones en el interior de los riñones, hígado, páncreas y otros órganos y rara vez en los pulmones, musculatura lumbar y dentro de la médula espinal (canal raquídeo). El macho adulto mide de 20 a 30 mm de largo por 2 mm de ancho y la hembra de 30 a 45 mm por 2 mm de ancho. Los huevos son ovoides y miden aproximadamente 60 por 105 micras, ver Figura 1.10.

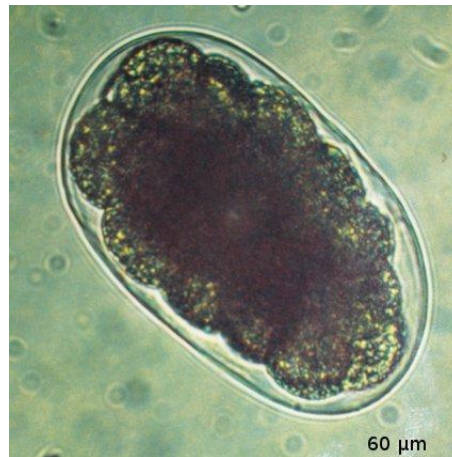


Figura 1.10 *Stephanurus dentatus* (College, 2017)

1.5 Inactivación de huevos de helmintos

Los huevos de helminto poseen un caparazón formado por 3 ó 4 capas, estas capas hacen muy resistentes a los huevos. Las funciones de las diferentes capas del huevo son:

Permeabilidad: la capa lípida es responsable de la extrema impermeabilidad de algunos helmintos. La penetración de colorantes por la destrucción de la barrera permeable de la capa a causa del incremento de la temperatura es evidencia de ello.

Resistencia mecánica y química: la capa quitinosa (estas capas consisten de sustancias químicas resistentes, como por ejemplo selerotin, quitina o queratina) al ataque químico y al estrés mecánico, lo que a su vez previene la destrucción de la barrera permeable.

Resistencia a la desecación: la baja permeabilidad de las capas de los helmintos asegura una baja tasa de pérdida de agua cuando los huevos son puestos a desecación.

Presencia de poros en las capas: estos actúan en conjunto con la capa lipida para controlar la tasa de pérdida de agua del huevo, restringiendo el área a través del cual intercambio gaseoso puede ocurrir (López., 2009).

Los procesos de remoción y de inactivación de huevos de helminto se dividen en dos grandes grupos: biológicos y fisicoquímicos. Dentro del primer grupo se pueden

mencionar: las lagunas de estabilización, los humedales artificiales y los reactores UASB. En el grupo de los procesos fisicoquímicos se tiene a la filtración rápida, embalses, coagulación- floculación, radiación con luz UV. Además de los procesos fisicoquímicos convencionales, destacan los procesos de oxidación avanzada en los que se pueden señalar: el ozono y el reactivo de Fenton. No todos estos procesos son capaces de inactivar los huevos de helmintos, eso depende de los mecanismos y las condiciones de operación de cada uno (Solís-López,2009).

Entre los diferentes procesos de la digestión anaerobia mesofílica (30-40 °C) y termofílica (50-60 °C) son los procesos más comúnmente utilizados. De acuerdo a la ecuación de Arrhenius, la velocidad de muchas reacciones químicas se puede duplicar al incrementar 10 °C la temperatura de la reacción. De este modo la digestión anaerobia termofílica tendría una mayor velocidad metabólica, se ha propuesto como una posible solución para mejorar la eficiencia de todo el proceso. En efecto las ventajas de son el alto grado de reducción de patógenos, incrementa la velocidad de destrucción de sólidos orgánicos y la obtención de altos rendimientos de biogás. Sin embargo, algunos estudios también han indicado que manifiesta una mayor concentración de AGV's (especialmente propianato) en los efluentes. (Guo *et al.*, 2014; Franke-Whittle y Insam, 2013)

1.6 Límites máximos permisibles de patógenos y parásitos en lodos residuales

Para el depósito final de los lodos y biosólidos deben cumplir con los límites máximos permisibles para el contenido de microorganismos patógenos y parásitos de acuerdo con la NOM-004-SEMARNAT-2002 especificados en la Tabla 1.1

1.6.1 Uso y clasificación de biosólidos.

Según la Norma Oficial Mexicana el aprovechamiento de los biosólidos se establece en función del tipo, clase y su contenido de humedad de hasta el 85 %. En la Tabla 1.2 se muestran la clasificación y usos para cada tipo de biosólidos.

Tabla 1.1 Límites máximos permisibles de patógenos y parásitos en los lodos residuales

Clase	Indicador bacteriológico de contaminación		
	Coliformes fecales NMP/g ST	Patógenos <i>Salmonella</i> spp. NMP/g ST	Parásitos Huevos de helminthos/gST
A	Menor de 1000	Menor de 3	Menor de 1(a)
B	Menor de 1000	Menor de 3	Menor de 10
C	Menor de 2000000	Menor de 300	Menor de 35

Tabla 1.2 Uso y clasificación de biosólidos.

TIPO	CLASE	APROVECHAMIENTO
Excelente	A	Usos urbanos con contacto público directo durante su aplicación. Los establecidos para la Clase B y C.
Excelente o bueno	B	Usos urbanos sin contacto público directo durante su aplicación. Los establecidos para la Clase C.
Excelente o bueno	C	Usos forestales. Mejoramiento de suelos. Usos agrícolas.

1.7 Tratamiento de residuos y lodos

De acuerdo a su naturaleza, los lodos deben ser tratados antes de disponerse. Al manejarlos, se deben tener ciertas consideraciones debido a su contenido de sólidos. Antes de poder aprovechar o disponer los lodos, éstos deben ser estabilizados para reducir la atracción de vectores, los olores y los riesgos a la salud.

Actualmente, existen diversos procesos de tratamiento y estabilización de residuos y de lodos como se aprecian en la Figura 1.9, dentro de los convencionales se encuentran la digestión anaerobia, la digestión aerobia, la producción de composta y

la estabilización alcalina; por otro lado, se han desarrollado en los últimos años a nivel laboratorio tecnologías llamadas no convencionales dentro de las cuales se encuentra la estabilización ácida.

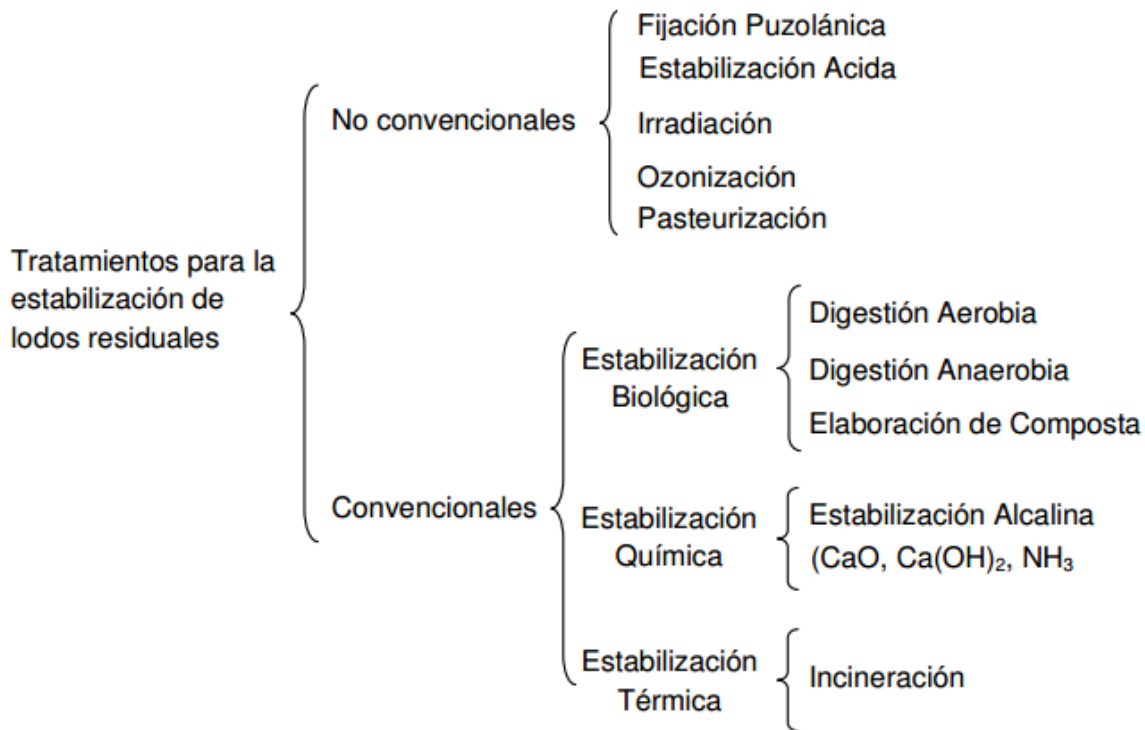


Figura 1.11 Clasificación de tratamientos para la estabilización de lodos residuales

1.8 Digestión anaerobia

Es un método de descomposición de materia orgánica que con la ayuda de una variedad de microorganismos anaerobios en condiciones anaerobias o libres de oxígeno. Los productos finales son el biogás (60-70 % CH₄, 30-40 % CO₂ y el resto de impurezas) y un residuo orgánico que se puede utilizar como mejorador de suelos. Esta tecnología ha sido satisfactoriamente implementada en el tratamiento de residuos agrícolas, alimenticios y lodos de aguas residuales; debido a su capacidad de reducción de la DQO y DBO de los flujos de residuos, además de la producción de energía renovable (Jain *et al.*, 2015).

El proceso de la digestión anaerobia se clasifica de acuerdo en los parámetros de operación y el diseño del reactor como los basados en la continuidad batch o continuo, los basados en la temperatura de operación pueden ser: psicrófilico, mesófilico y termófilico, los basados en el diseño del reactor flujo pistón, mezcla completa y lagunas cubiertas y la basada en contenido de sólidos; base seca y húmeda.

La digestión anaerobia es un proceso sinérgico de un consorcio de microorganismos que pueden ser clasificados a lo largo de las rutas metabólicas.

1.8.1 Hidrólisis

La hidrólisis es el primer paso necesario para la degradación anaerobia de substratos orgánicos complejos. La materia orgánica polimérica no puede ser utilizada directamente por los microorganismos a menos que se hidrolicen en compuestos solubles, que puedan atravesar la membrana celular. La hidrólisis es, por tanto, el primer paso necesario para la degradación anaerobia de substratos orgánicos complejos. La hidrólisis de estas partículas orgánicas es llevada a cabo por enzimas extracelulares excretadas por las bacterias fermentativas. La etapa hidrolítica puede ser la etapa limitante de la velocidad del proceso global, sobre todo tratando residuos con alto contenido en sólidos, incluso en casos donde las fases acidogénicas o metanogénicas son consideradas como pasos limitantes, la hidrólisis puede afectar el conjunto del proceso (Pavlostathis y Giraldo-Gómez, 1991).

Esta etapa es relativamente lenta y por lo tanto puede ser la etapa limitante del proceso global, sobre todo tratando residuos con alto contenido de sólidos. Incluso en casos donde las fases acidogénicas o metanogénicas son consideradas como pasos limitantes, la hidrólisis puede afectar el conjunto del proceso. El grado de hidrólisis y la velocidad del proceso depende de muchos factores, entre otros del pH, la temperatura, la concentración de biomasa hidrolítica, el tipo de materia orgánica particulada (Pavlostathis y Giraldo-Gómez, 1991), y del tamaño de partícula (Hills y Nakano, 1984). Angelidaki et al., (1999) consideran que la tasa de hidrólisis de carbohidratos y proteínas está limitada por la concentración total de ácidos grasos volátiles. Henze et

al., (1995) consideran que la tasa de hidrólisis está inhibida por la concentración de oxígeno y nitrato.

1.8.2 Acidogénesis

También llamada fermentación, es la degradación bacteriana de los sustratos solubles de bajo peso molecular como aminoácidos y azúcares, obtenidos en la etapa anterior que pueden degradarse sin un aceptor o donador de electrón externo; los productos son: bióxido de carbono, gas hidrógeno, ácidos orgánicos, alcoholes, algunos compuestos orgánicos nitrogenados y/o sulfurados.

Las Ácidos Grasos Volátiles (AGV's) son compuestos de cadena carbonada corta que se producen durante la degradación fermentativa, el ácido fórmico, acético, propiónico, butírico, isobutírico, 2-metil butírico, valérico, isovalérico capriónico y caprílico, se consideran generalmente ácidos grasos volátiles, produciéndose en mayor cantidad en el proceso de digestión anaerobia el acético, propiónico y butírico y en menor cantidad el capriónico y el caprílico. El ácido acético, ácido fórmico y el gas hidrógeno producidos pueden ser utilizados por las bacterias metanogénicas mientras que los compuestos orgánicos como ácido láctico, propiónico, butírico y etanol tienen que ser oxidados en la etapa acetogénica para que puedan ser utilizados por las bacterias metanogénicas. Debido a que la acidogénesis puede ocurrir en ausencia de un aceptor de electrón y a que los rendimientos de energía libre son mayores, las reacciones pueden ocurrir en presencia de altas concentraciones de H₂ o formiato con mayor rendimiento de biomasa (Stams, 1994).

1.8.3 Acetogénesis

Mientras que algunos productos de la fermentación pueden ser metabolizados directamente por los organismos metanogénicos (H₂ y acetato), otros (valerato, butirato, propionato, algunos aminoácidos, etc.) necesitan ser transformados en productos más sencillos, acetato e hidrógeno, a través de las bacterias acetogénicas como se muestra en Tabla 1.3. Los procesos acetogénicos son energéticamente difíciles, por lo que necesitan ser “ayudados” por los organismos metanogénicos u

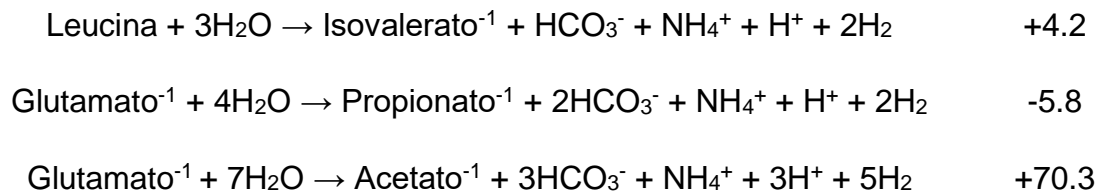
otros organismos consumidores de hidrógeno (Stams, 1994) y la energía libre de la reacción depende de la presión parcial de hidrógeno del medio.

Un tipo especial de microorganismos acetogénicos, son los llamados *homoacetogénicos*, que consumen H_2 y CO_2 , y producen acetato. Los principales exponentes son *Acetobacterium woodii* o *Clostridium aceticum*. Este tipo de bacterias son capaces de crecer heterotróficamente en azúcares, al contrario que los metanogénicos, siendo más parecidos a los fermentativos que a los metanogénicos, a pesar de utilizar los mismos substratos (Madigan *et al.*, 1998).

Reacciones acetogénicas que ocurren en los sistemas anaerobios (Stams, 1994)

Tabla 1.3 Reacciones Acetogénicas

Reacciones acetogénicas	ΔG°(kJ)
Etanol y ácido láctico	
Etanol+ $H_2O \rightarrow$ Acetato + H^+ + $2H_2$	+9.6
Láctico ⁻¹ + $2 H_2O \rightarrow$ Acetato ⁻¹ + H^+ + $2 H_2$ + HCO_3^-	-4.2
Ácidos grasos	
Acetato ⁻¹ + $4H_2O \rightarrow H^+$ + $4H_2$ + $2 HCO_3^-$	+104.6
Propianato ⁻¹ + $3H_2O \rightarrow$ Acetato ⁻¹ + HCO_3^- + H^+ + $3H_2$	+76.1
Butirato ⁻¹ + $2H_2O \rightarrow 2$ Acetato ⁻¹ + H^+ + H_2	+48.1
Valeriato ⁻¹ + $3H_2O \rightarrow 3$ Acetato ⁻¹ + $2H^+$ + $4 H_2$	+96.2
Aminoácidos	
Alanina + $3H_2O \rightarrow$ Acetato ⁻¹ + HCO_3^- + NH_4^+ + H^+ + $2H_2$	+7.5
Aspartato ⁻¹ + $4H_2O \rightarrow$ Acetato ⁻¹ + $2HCO_3^-$ + NH_4^+ + H^+ + $2H_2$	-14.0



El principal inhibidor de la acetogénesis, cuya acumulación provoca la rápida acumulación de los substratos, es el hidrógeno molecular (Ahring y Westermann, 1987 y Fukuzaki *et al.*, 1990). Otros compuestos pueden inhibir también el correcto desarrollo de las poblaciones acetogénicas, como el propio ácido acético (producto de la acetogénesis) (Ahring y Westermann, 1988; Angelidaki *et al.*, 1993; Siegrist *et al.*, 1993; Hyung *et al.*, 1998), o los ácidos grasos de cadena larga (Hanaki *et al.*, 1981; Angelidaki *et al.*, 1999), además de estar muy afectado por el valor de pH (Siegrist *et al.*, 1993; Angelidaki *et al.*, 1993).

1.8.4 Metanogénesis

La metanogénesis es conocida como fase metano/metanogénica es la última fase de la digestión anaerobia, finalmente la mayoría de los productos generados a los largo de las anteriores etapas y sólo un número limitado de compuestos pueden actuar como substratos (acetato, metanol, hidrógeno o dióxido de carbono), estos serán convertidos a metano, dicha conversión se lleva a cabo por bacterias netamente metanogénicas de las que destacan los géneros *methanobacterium*, *methanobacillus*, *methanococcus*, y *methanosarcina*, estas a su vez se pueden dividir en dos grupos; el primero de ellos son aquellos que consumen como sustrato al acetato y que dentro del proceso son conocidas como metanogénicas acetóclásticas, el otro grupo lo componen las bacterias que utilizan como sustrato al hidrógeno y dióxido de carbono y que son conocidas como metanogénicas hidrogenotróficas.

Es importante mencionar que esta ruta metabólica establecida por bacterias hidrogenotróficas requiere de presiones bajas, sin embargo, es bien conocido que la

ruta metabólica establecida por las bacterias acetoclásticas es más común que ocurra en la digestión anaerobia, pero existen limitaciones como los tiempos de generación o crecimiento de las bacterias en cada caso, por ejemplo, para las bacterias acetoclásticas el tiempo mínimo requerido para su crecimiento y multiplicación se estima en no menos de 2.6 días que es superior comparado con el tiempo necesario para duplicarse por las bacterias hidrogenotróficas estimado en 6 horas, además de que el porcentaje de producción de metano por la vía acetoclástica es del 70 %. En realidad, el desempeño y eficiencia del proceso depende mucho de cada etapa del proceso, sin embargo, existen factores que afectan y favorecen (pH, sólidos, alcalinidad, temperatura, mezclado, macro y micronutrientes, configuración del digestor, etc.) el desempeño de esta última etapa, considerada por mucho la más importante en el proceso.

Los microorganismos metanogénicos pertenecen al grupo Archae, un único grupo de microorganismos filogenéticamente diferentes por el grupo principal de organismos procarióticos. Sólo un número limitado de compuestos pueden actuar como sustratos en la metanogénesis, entre estos está el acetato, H_2/CO_2 , metanol y formiato (Björnsson et al., 2000). Las reacciones acetóclásticas son importantes en la digestión anaerobia en conjunto con la reducción del CO_2 . El 70 % de la producción de CH_4 es generado por la vía acetato. Muy pocas especies pueden realizar esta producción acetóclástica de metano. Considerando que casi todas las especies son capaces de producir CH_4 mediante la asimilación de H_2 , la vía con hidrógeno es más productiva energéticamente que la producción mediante acetato. Esto es de fundamental importancia debido a la facultad de mantener la presión de hidrógeno baja en el sistema. El consumo de hidrógeno de las bacterias metanogénicas permite un crecimiento más rápido de los microorganismos en el proceso de digestión anaerobia.

1.8.5 Clasificación de la digestión anaerobia

Existen diversos criterios para la clasificación de la digestión anaerobia generalmente en función a las condiciones de operación; la más frecuente es la que clasifica al proceso en función de la temperatura, sin embargo, también se puede clasificar de

acuerdo a la carga orgánica tratada, el número de digestores empleados en el proceso y el tipo de sustrato como se muestra en la Tabla 1.4

Tabla 1.4 Clasificación de la digestión anaerobia

Criterio	Clasificación
Temperatura	Psicrofílica Mesofílica Termofílica
Carga orgánica	Baja Media Alta
Número de etapas	Una sola etapa Dos etapas Multi-etapa
Tipo de sustrato	Aguas residuales Lodos residuales RSOM e industriales

1.8.6 Digestión anaerobia termofílica

La digestión anaerobia termofílica es una variante de la digestión anaerobia su principal beneficio es la reducción considerable del contenido de microorganismos patógenos, puede ser una solución mucho más competitiva que la digestión anaerobia mesofílica y el costo de inversión por instalación o modificaciones puede pagarse en poco tiempo (Nielsen y Petersen, 2000). Estudios previos realizados por Rendón (2007) mostraron que la digestión anaerobia termofílica es más eficaz en comparación a la digestión anaerobia mesofílica, ya que es capaz de reducir los SV en un 43 % cumpliendo con el requerimiento de la NOM-004-SEMARNAT-2002 acerca de la reducción de al menos un 38 % de SV y con un TRH de 28 días, además de cumplir con los límites máximos permisibles para biosólidos clase A.

Mientras que en la digestión anaerobia mesofílica a pesar de que alcanzó el 38 % de remoción de SV con un TRH de 31 días, en el ámbito microbiológico necesita un post-tratamiento para poder cumplir con las regulaciones del país. Una de las ventajas de la

digestión anaerobia termofílica es que la producción de metano es aproximadamente dos veces mayor que la producción en la digestión anaerobia mesofílica, por lo tanto, la capacidad volumétrica instalada de un reactor termofílico puede ser la mitad de uno mesofílico y mantener la misma producción de gas.

Se considera capaz de remover huevos de helmintos que son estructuras altamente resistentes, los escasos estudios realizados para remover huevos de helmintos mediante la digestión anaerobia termofílica son de Cabirol *et al.*, (2002), quienes reportan que el proceso logra niveles aproximadamente menores a 0.28 huevos de helmintos viables/g ST en tiempos de retención hidráulica de 20 d. Lo anterior demuestra que esta tecnología se aproxima al cumplimiento de normas sumamente estrictas como la norma de los Estados Unidos (U.S. EPA), por lo que se hace necesario evaluar su efecto en lodos con características específicas como los producidos en México.

La digestión anaerobia en condiciones de operación termofílica (50-55°C) son comúnmente utilizada en Europa para el tratamiento de la fracción orgánica de residuos municipales y en plantas piloto de biogás para el tratamiento de heces. Debido a sus ventajas aparentes en años recientes como son: mayor remoción de materia orgánica, alta producción de metano y la reducción de espuma por estas razones ha obtenido gran atención. Por otra parte, tiene una mayor reducción de organismos patógenos, permitiendo la desinfección de efluentes los cuales pueden ser utilizados en la aplicación de suelos (Gagliano *et al.*, 2015).

Es importante destacar que en México una de las principales limitantes para aplicar esta tecnología es la disponibilidad de inóculo anaerobio termofílico. Prácticamente no existen plantas de las cuales se pueda obtener; por lo tanto, el arranque de digestores termofílicos conlleva la necesidad de fuentes alternas de inóculo; una de ellas es la adaptación progresiva del lodo anaerobio mesofílico (Lepistö y Rintala, 1995).

Sin embargo, las bacterias anaerobias termofílicas tienen tiempos de generación mayores a los de las mesofílicas, y en general, son menos tolerantes, principalmente en cuanto a variaciones de temperatura y presencia de oxígeno. Así los tiempos de

arranque son muy prolongados (Ferry, 1994). Esta limitante, entre otras, puede hacer poco atractiva la inclusión de esta tecnología como un bioproceso factible para la estabilización de lodos, además se tiene poca experiencia a nivel industrial, pero a pesar de todo es una buena opción de tratamiento y aunque el costo de inversión inicial es alto, el costo de operación es bajo y el capital invertido se puede recuperar por la generación de subproductos.

1.8.7 Factores que influyen en la digestión anaerobia

1.8.7.1 Temperatura

Juega un papel vital en la vida y muerte de las bacterias involucradas en el proceso; Cada grupo de bacterias metanogénicas tiene una temperatura óptima de crecimiento en los diferentes rangos de operación en la que se alcanza la máxima actividad microbiana y, en consecuencia, la máxima remoción de los Sólidos Volátiles a ciertas condiciones dadas en el proceso. Los intervalos típicos de temperatura para las bacterias en cada una de las categorías señaladas pueden observarse en la Tabla 1.5.

Tabla 1.5 Temperatura típicas para diversas bacterias (Metcalf y Eddy, 2003)

Tipo	Temperatura °C	
	Intervalo	óptimo
Psicrófilas	-2-30	12 – 18
Mesófilas	20 – 45	25 – 40
Termófilas	45 – 75	55 - 65

Este aspecto es consecuencia de que las reacciones biológicas de transformación de los sustratos en productos, por parte de los microorganismos, son dependientes de la temperatura y requieren, por lo general, menor energía a mayor temperatura, lo que implica un proceso más rápido a mayor temperatura. Si la temperatura llega a fluctuar demasiado las bacterias metanogénicas no pueden desarrollarse adecuadamente y el resultado será una deficiencia en el proceso.

1.8.7.2 pH

El pH se considera un factor clave en el crecimiento de los microorganismos. La mayoría de estos no pueden tolerar niveles de pH por encima de 9.5, o por debajo de 4.0. Por lo general el tratamiento anaerobio trabaja dentro de un rango en el que el pH debe oscilar entre 6.5 y 7.5, con un óptimo entre 7.0 y 7.2. A un pH menor las bacterias se afectan seriamente (Girovich, 1996). Por otra parte, se necesita una alcalinidad del orden de 1000mg/L o mayor como CaCO_3 , para evitar cambios en el pH, que provocarían un desequilibrio. (Jih-Gaw *et al.*, 1997). Es importante señalar que el descontrol del pH es el resultado de un desequilibrio debido a un cambio en el proceso, lo que debe ser corregido mediante la adición de Ca(OH)_2 ó NaHCO_3 para dar tiempo de efectuar la corrección (Luna y Guyot, 1990).

El pH es también una importante variable de diagnóstico de los sistemas anaerobios, pues muchos fenómenos tienen influencia sobre el mismo. Otros autores no consideran el pH como una buena variable de control por resultar demasiado lenta: una vez detectada una variación importante, la falla del sistema puede ser irreversible (Iza, 1995). Por ello, se consideran otras variables como indicadores de estado del proceso anaerobio, como la producción de biogás y su contenido de CH_4 (Hill y Holmberg, 1988), la actividad bacteriana (Angelidaki y Ahring, 1997), los ácidos grasos volátiles o la relación entre ellos (Hill *et al.*, 1987; Ahring *et al.*, 1995).

1.8.7.3 Alcalinidad

La alcalinidad es una medida inespecífica de la capacidad reguladora del medio que puede ser proporcionada por un amplio rango de sustancias como: Bicarbonatos de calcio, magnesio y amonio. En el intervalo de pH de 6 a 8, el principal equilibrio químico que la controla es el CO_2 -bicarbonato.

La relación de alcalinidad se define como la relación entre la alcalinidad por AGV's y la debida al bicarbonato, recomendándose no sobrepasar un valor de 0.3-0.4 para evitar la acidificación (Iza, 1995), aunque Noyola y Tinajero (2005), establecieron valores aceptables de 0.46-0.48 para la estabilidad de la digestión anaerobia.

1.8.7.4 **Carga orgánica**

Es uno de los parámetros más útiles para describir las condiciones de alimentación (concentración y volumen), se expresa típicamente como peso de materia orgánica expresada en concentración de Sólidos Volátiles o Demanda Química de Oxígeno (DQO) por unidad de volumen del reactor por día. Representa la medida exacta de alimento que un digestor necesita. Otros parámetros como el tiempo de retención hidráulica y la concentración de Sólidos Totales resultan engañosos debido a que el primero varía significativamente cuando a la concentración de materia orgánica aumenta y el segundo, aunque contribuye en el volumen de alimentación no lo indica de manera directa; por lo tanto no proveen la información básica para comparar costos de arranque y operación de un digestor (Chynoweth y Pullammanappallil, 1996).

1.8.7.5 **Mezclado**

Generalmente se cree que al hablar de mezclado es incursionar en un ámbito electromecánico, sin embargo, la digestión anaerobia se ve beneficiada por la influencia que ejerce este trabajo electromecánico reforzando el proceso distribuyendo las bacterias, el sustrato, los nutrientes, y la temperatura a lo largo y ancho del digestor evitando zonas muertas y asegurando el contacto de las bacterias con todo el medio. Las bacterias acetogénicas y metanogénicas requieren de un mezclado eficiente para llevar a cabo sus actividades metabólicas.

1.8.7.6 **Nutrientes**

La biodegradación eficiente requiere de nutrientes tales como, nitrógeno, fósforo y metales traza disponibles en suficiente cantidad. Los nutrientes son considerados los más importantes son el nitrógeno y fósforo. Estos nutrientes generalmente están disponibles para las bacterias anaerobias incluyendo las bacterias metanogénicas como nitrógeno amoniacal ($\text{NH}_4^+\text{-N}$) y como ortofosfato de fósforo ($\text{HPO}_4^-\text{-P}$) solo en forma soluble (Gerardi, 2003). Aunque el $\text{NH}_4^+\text{-N}$ es la forma de nitrógeno preferida por las bacterias, también las bacterias metanogénicas pueden obtener nitrógeno de

otra fuente como el N₂ molecular y otras son capaces de usar el nitrógeno de aminoácidos como el de alanina (CH₃CHNH₂COOH).

1.9 Modelo cinético de Michaelis-Menten

El modelo de Michaelis-Menten, Ecuación (1.1) explica el comportamiento cinético de las enzimas. Describe la velocidad de reacción con la concentración de sustrato siempre y cuando la concentración del sustrato sea mayor a la concentración de la enzima, en condiciones de estado estacionario. La velocidad de reacción varía linealmente con la concentración de sustrato en concentraciones bajas, se comporta como una cinética de primer orden respecto al sustrato, y se hace independiente de la concentración del sustrato, orden cero cuando las concentraciones de sustrato son elevadas. El comportamiento se explica en el siguiente mecanismo en la que se deriva la ecuación de Michaelis-Menten.



Las ecuaciones de la velocidad (1.2) y la constante de Michaelis-Menten (1.3) describen la variación de la velocidad de reacción de acuerdo a la variación de concentración del sustrato.

$$v_o = \frac{V_{max}*[S]}{K_m + [S]} \quad (1.2)$$

$$K_m = \frac{k_1 + k_2}{K_1} \quad (1.3)$$

Donde:

V₀= Velocidad inicial de reacción.

V_{max}= Velocidad máxima.

K_m= La constante de Michaelis-Menten.

[S]= La concentración de sustrato.

1.9.1 Gráfico de Lineweaver-Burke

Cuando se grafica la velocidad de reacción V_0 contra la concentración del sustrato ($[S]$) no siempre es factible determinar la condición en que se ha llegado a la velocidad máxima (k_m) debido al incremento de la pendiente en la hipérbola a concentraciones elevadas de sustrato.

Por lo tanto, el gráfico de Lineweaver-Burke, es conocida por gráfico de “dobles recíprocas”, se utiliza para calcular k_m y V_{max} en una línea recta. La ecuación (1.4) describe la gráfica.

$$\frac{1}{v_o} = \frac{K_m}{V_{max}*[S]} + \frac{1}{V_{max}} \quad (1.4)$$

El gráfico de dobles recíprocas distorsiona el error estructural de los datos, por lo tanto no es confiable para la determinación de los parámetros cinéticos de las enzimas. Aunque aún se utiliza para la representación de los datos cinéticos, hay otras alternativas como regresión no lineal o formas lineales de la ecuación de Michaelis-Menten como los gráficos de Hanes-Woolf o Eadie-Hofstee que se usan generalmente para el cálculo de parámetros.

1.9.2 Gráfico de Eadie-Hofstee

Es una representación gráfica de la cinética enzimática en donde la velocidad de reacción se traza en función a la relación entre la velocidad y concentración del sustrato y se puede derivar de la ecuación de Michaelis-Menten. Se muestra en la ecuación (1.5)

$$v = -K_m \frac{v}{[S]} + V_{max} \quad (1.5)$$

Por lo tanto, arroja una representación de velocidad contra sustrato ($\frac{v}{[S]}$) en el eje de las y, por el otro lado $\frac{V_{max}}{K_m}$ en el eje de las X resultando K_m como pendiente negativa. Al igual que otras técnicas que linealizan la ecuación de Michaelis-Menten, la ecuación de Eadie-Hofstee se utilizó históricamente para la identificación rápida de términos cinéticos como K_m y V_{max} . También es más robusto contra datos propensos a errores que el gráfico de Lineweaver-Burk, particularmente da igual peso a los puntos de datos en cualquier rango de concentración de sustrato o velocidad de reacción, aunque ambos gráficos siguen siendo útiles como medio para obtener parámetros cinéticos en forma gráfica (Harvey T., 2017).

1.10 Modelo de Hom

El modelo de Hom es una variante del propuesto de Chick y Watson (Méndez *et al.*, 2004) donde se introdujo una constante empírica como se muestra en la Ecuación (1.6):

$$\text{Log} \frac{N}{N_0} = -kC^n t^m \quad (1.6)$$

Donde:

N= Concentración de microorganismos en el tiempo final.

N_0 = Concentración de microorganismos inicial en el tiempo 0.

K= Constante de velocidad de inactivación de microorganismos.

C= Concentración del reactivo.

n= Coeficiente de transferencia de calor en las fases sólido y líquido del lodo.

t= Tiempo de reacción.

m= Constante de Hom

Este tipo de ecuación cinética puede ser utilizada para evaluar las constantes y el modelo puede simplificarse como la ecuación (1.7):

$$\text{Log} \frac{N}{N_0} = -k^* D^n \quad (1.7)$$

También puede evaluarse el tiempo de contacto a una dosis de desinfectante constante para obtener condiciones de operación óptimas (Méndez *et al.*, 2004). El modelo de Hom puede ser utilizado mediante la ecuación (1.8) modificada:

$$\text{Log} \frac{N}{N_0} = -k^* t^m \quad (1.8)$$

1.10.1 Modelo de Hom modificado para tratamiento térmico.

El tratamiento térmico es una combinación de tiempo-temperatura. Las ecuaciones (1.9) y (1.10) son requeridas para la inactivación de la mayoría de los patógenos resistentes al calor como se muestra en la Figura 1.12.

$$\text{Log} \frac{C}{C_0} = -k^* T^n \quad (1.9)$$

$$k^* = -k^* t^m \quad (1.10)$$

Donde:

C= Concentración de microorganismos en el tiempo final.

C₀= Concentración de microorganismos inicial en el tiempo 0.

k= Constante de velocidad de inactivación de microorganismos.

T= Temperatura para la inactivación.

n= Coeficiente de transferencia de calor en las fases sólido y líquido del lodo.

t= Tiempo de reacción.

m= Constante de Hom.

(Hom,1972)

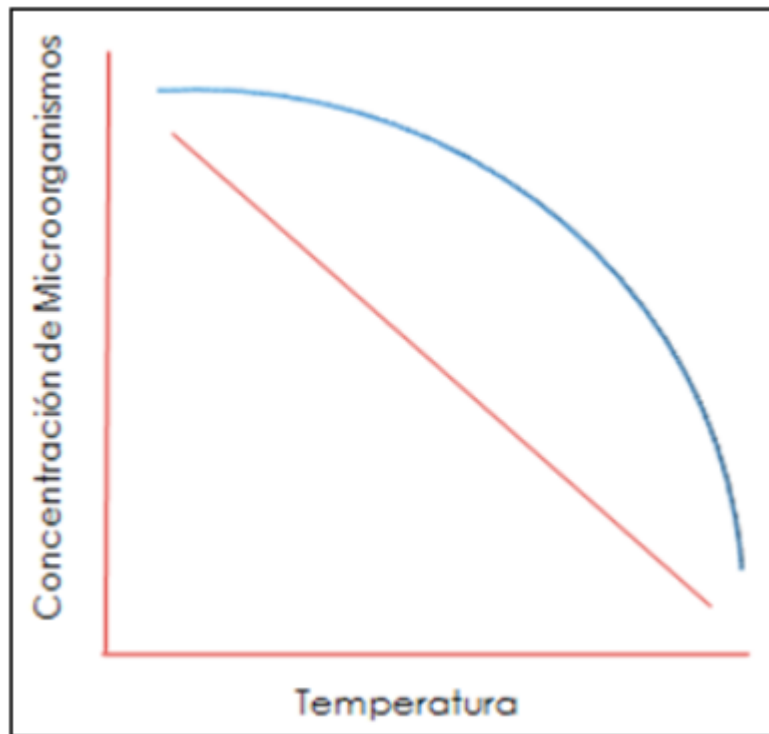


Figura 1.12 Gráfica del comportamiento de la inactivación térmica.

1.11 Estudios relacionados a la inactivación de huevos de helminto

Popat et al., (2010) realizaron cinéticas de inactivación de *Ascaris summ* y una sepa de poliovirus vacuno tipo 1(PVS-1), determinaron que durante la digestión anaerobia termofílica entre 51 a 56 °C obtuvieron una reducción de 2 unidades logarítmicas de *Ascaris summ* y 3 unidades logarítmicas de PVS-1 en dos horas.

Nava (2011) evaluó las estrategias de alto desempeño para la digestión anaerobia termofílica de lodos residuales, adaptó el proceso de la digestión anaerobia mesofílica a un proceso termofílico con una estrategia de adaptación del proceso con un incremento equidistante de temperatura (5°C) cada 15 días y en concluyó que la digestión anaerobia termofílica es un proceso eficiente en el tratamiento de lodos residuales de México, ya que reduce la materia orgánica y los microorganismos patógenos y parásitos presentes, produciendo biosólidos clase A.

Tian et al., (2015) realizaron un estudio de una estrategia de arranque de una digestión anaerobia mesofílica a termofílica. El experimento se llevó a cabo en un reactor CSTR con un volumen útil de 6 L, el reactor fue inoculado con lodo proveniente de una planta de tratamiento de aguas residuales de Gaobeidian, el reactor fue alimentado con una mezcla de lodo primario y secundario. El reactor fue alimentado por de 300 ml/día con un tiempo de residencia hidráulica de 20 días. Fue operado a estas condiciones durante 100 días hasta que de repente la temperatura la incremento drásticamente a 55 °C, cada día se removió 300 ml de lodo y se alimentó 300ml para mantener el mismo tiempo de retención de sólidos. Mientras tanto se agregó bicarbonato de sodio durante los primeros 20 días para evitar la caída de pH. Esta estrategia de aumento de temperatura aseguró que los termófilos podrían crecer bajo su temperatura preferida desde el principio, que fue el factor clave para el establecimiento rápido de la comunidad termofílica metabólica.

Zhang et al., 2015 Estudiaron el valor inicial del pH tuvo un efecto obvio sobre la producción de metano y el proceso en la co-digestión anaeróbica termofílica. Cinco diferentes niveles de pH inicial con tres diferentes proporciones de estiércol fueron probados. Todos los digestores en diferentes pH iniciales mostraron una diversa producción de metano después de 35 días. La relación de VFA / alcalinidad de la condición de reacción óptima para la actividad metanogénica estaba en el intervalo de 0,1-0,3 y la condición óptima es la proporción de estiércol del 70 % y pH inicial de 6,81 se esperaba lograr la máxima producción total de biogás (146,32 mL / g VS).

Murillo (2016) realizó un estudio en donde realizó un pretratamiento térmico a los lodos de residuos porcícolas a temperaturas de tratamiento de 70, 80 y 90 °C durante 60, 90 y 120 min, encontró que a una temperatura de 80 °C y tiempo de exposición de 120 min es posible inactivar huevos de helminto; los cuales presentaron daños internos y daños en la membrana lipoproteica permitiendo la entrada de agua y aire y de esta manera cumplir con las características de biosólido clase A. Utilizó el modelo de Hom modificado concluyó que los huevos de helminto *Trichuris suis* presentan una

resistencia al tratamiento térmico. Igualmente se obtuvo una remoción de 30 % de SV en 12 días de operación.

CAPÍTULO 2

MATERIALES Y MÉTODOS

CAPÍTULO 2 MATERIALES Y MÉTODOS

Se describe la metodología utilizada para desarrollar los objetivos de esta investigación en la Figura 2.1 se muestra esquemáticamente las etapas metodológicas

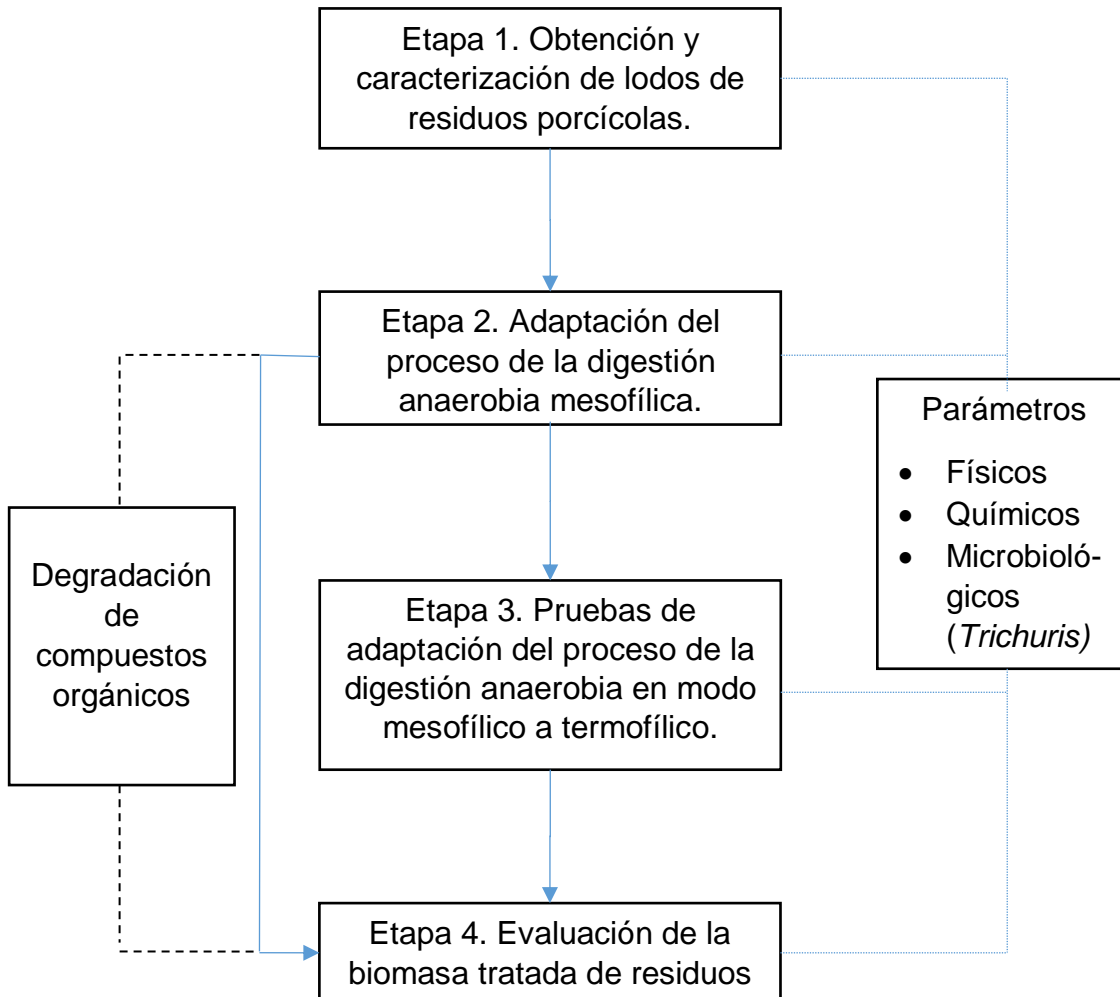


Figura 2.1 Esquema de bloques de la metodología.

2.1 Etapa 1. Obtención y caracterización de lodos residuales porcícolas.

Las muestras de residuos porcícolas se obtuvieron de una granja traspatio de la Ciudad de Córdoba, se procedió a retirar cualquier tipo de residuo ajeno a las excretas como: clavos, piedras, trozos de madera, etc. Se realizó una dilución 1:6 con la finalidad de obtener una muestra aproximadamente entre 2.5-3 % ST. Se utilizó Lodo de Residuos Sólidos Orgánicos Municipales (RSOM) proveniente de un reactor EGSB de la planta piloto del Instituto Tecnológico de Orizaba como inóculo. Se almacenó el lodo generado en la dilución y se mantuvo a 4 °C para su posterior caracterización utilizando las determinaciones descritas en la tabla 2.1.

Tabla 2.1 Parámetros de caracterización del lodo generado.

Físicos	Unidad	Método
pH	-	Potenciométrico.
Temperatura	°C	Termopar
Sólidos Totales	% m/m	2540 B SM
Sólidos Totales Volátiles	% m/m	2540 E SM
Químicos	Unidad	Método
Nitrógeno Total	mg/kg ST	4500-NTK C SM
Nitrógeno amoniacal	mg/kg ST	4500-NH ₃ B SM
Proteínas	%	Micro Kjeldhal
Microbiológicos	Unidad	Método
Coliformes fecales	NMP/g ST	NOM-004-SEMARNAT-2002
<i>Salmonella</i> spp.	NMP/g ST	NOM-004-SEMARNAT-2002
Huevos de helmintos	HH/g ST	NOM-004-SEMARNAT-2002

2.1.1 Determinación de pH

El pH es el parámetro que indica la concentración de iones hidrógeno en una disolución, este parámetro se midió de forma directa en la muestra con un potenciómetro Orión 250^a (Figura 2.2) el cual se calibró con soluciones tampón 4.0 y 7.0, la resolución de la lectura es de 0.01 unidades de pH y la precisión es de ± 0.01



Figura 2.2 Potenciómetro Orión 250

2.1.2 Determinación de Sólidos totales

Los Sólidos Totales se definen como el material residual después de evaporación y secado de una muestra a cierta temperatura, esta determinación se realizó mediante la técnica gravimétrica descrita en el método estándar 2540 G de la APHA-AWWA-WPFC (1999). Se evapora la muestra en un crisol a peso constante en una estufa (Figura 2.3) a 103-105°C por un lapso de 24 horas. El aumento de peso sobre el peso del crisol vacío representa los Sólidos Totales; y el cálculo se realiza con la siguiente ecuación:

$$\% ST = \frac{p3 - p1}{p2 - p1} \cdot 100 \quad (2.1)$$

Donde:

p1= Peso del crisol a peso constante.

p2=Peso del crisol a peso constante + peso de la muestra antes de evaporación.

p3=Peso del crisol a peso constante + peso del residuo seco.

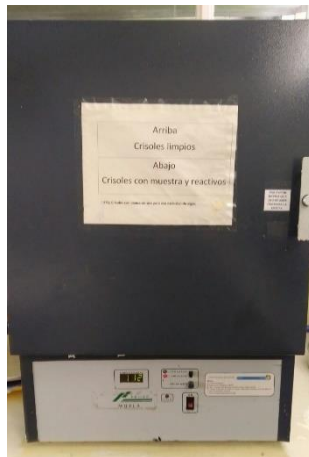


Figura 2.3 Estufa Marca Felisa

2.1.3 Determinación de SV

El residuo producido en la determinación de Sólidos Totales según el método descrito anteriormente se calcina a 550°C (Figura 2.4), durante dos horas. El peso perdido en el crisol tras la incineración del residuo seco representa el contenido en Sólidos Volátiles. De la misma forma que los Sólidos Totales, esta técnica analítica se realizó de acuerdo con el método estándar 2540 G de la APHA-AWWA-WPFC (1999), y el porcentaje se calcula utilizando la siguiente ecuación:

$$\%SV = \frac{p3 - p4}{P3 - p1} * 100 \quad (2.2)$$

Donde:

p1= Peso del crisol a peso constante.

p3=Peso del crisol a peso constante + peso del residuo seco.

p4=Peso del crisol a peso constante + peso de la muestra calcinada.



Figura 2.4 Mufla marca Thermo Scientific.

2.1.4 **Nitrógeno total**

El nitrógeno total se midió siguiendo la técnica analítica del método 4500-NTK C de la APHA-AWWA-WPFC (1999), el cual determina el nitrógeno en estado tri-negativo y se basa en convertir el nitrógeno disponible como amino presente en la materia orgánica, en amonio, en presencia de ácido sulfúrico, sulfato de potasio y sulfato cúprico como catalizador, sin tomar en cuenta el nitrógeno en otras formas como: nitrato, nitrito, nitrilo, nitroso, etc.

2.1.5 **Nitrógeno amoniacal**

Este parámetro se analizó por destilación siguiendo el método 4500-NH₃ B de la APHA-AWWA-WPFC (1999), que es similar a la determinación de nitrógeno total sin la previa digestión y utilizando óxido de magnesio como base; mientras el contenido de nitrógeno orgánico es la diferencia entre los valores de nitrógeno total y nitrógeno amoniacal.

2.1.6 **Coliformes fecales**

Para esta determinación se utilizó el método descrito en el anexo III de la NOM-004-SEMARNAT-2002, en el cual se describe la técnica para la cuantificación del grupo coliformes fecales en lodos y biosólidos. La combinación de resultados positivos y

negativos permite realizar una estimación de la densidad bacteriana reportada como NMP. El NMP de coliformes fecales se obtiene a partir del código compuesto por los tubos con resultado positivo en el medio EC. Si se inoculan tres series de tres tubos y si se utilizan volúmenes decimales diferentes, se obtiene el código formado por el número de tubos con resultados positivos en las tres series consecutivas, verificando el valor del NMP correspondiente, siguiendo la ecuación 2.4

$$NMP = \frac{NMP \text{ tablas} * 10}{\text{mayor volumen inoculado}} \quad (2.4)$$

2.1.7 **Salmonella spp.**

Su determinación se basó, en el enriquecimiento de la muestra con medios selectivos, que contienen sustancias inhibitoras, que favorecen el crecimiento de *Salmonella* spp.; reconstituyendo a su vez la vitalidad de las células dañadas y, de igual forma, impidiendo el desarrollo de bacterias coliformes asociadas. Una vez realizada la selección, las bacterias presentes en una muestra pueden ser separadas por agitación, dando por resultado una suspensión de células bacterianas, uniformemente distribuidas, a través de diluciones sucesivas de la muestra.

2.1.8 **Huevos de helmintos**

El método se tomó del anexo II de la NOM-004-SEMARNAT-2002, la cual tiene por objeto establecer la enumeración, determinación y la viabilidad, en caso requerido, de huevos de helmintos en muestras de lodos y biosólidos, con el fin de evaluar la calidad de estos subproductos y la eficiencia mediante la viabilidad de los huevos de helminto en los sistemas de tratamiento a los que están sujetos. Se utilizó para la cuantificación de los huevos de helminto una cámara de conteo Sedgewick Rafter marca PYSER-SGI de plástico con capacidad de 1 mililitro cuenta con un cubreobjetos de cristal de la misma marca. Se puede observar la cámara de conteo utilizada en la Figura 2.5

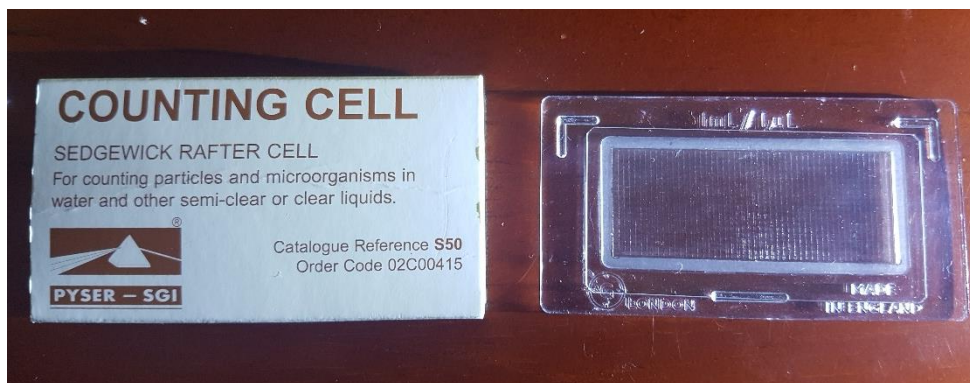


Figura 2.5 Cámara de conteo Sedgewick Rafter.

2.2 Adaptación del proceso de la digestión anaerobia mesofílica.

2.2.1 Arranque del reactor anaerobio-mesofílico en modo batch.

Para el arranque del proceso de la digestión anaerobia se utilizó un prototipo “Reactor de cierre hermético para la estabilización química y microbiológica de lodos residuales”, el prototipo fue construido con recursos del proyecto SEP Ciencia básica “MODELACIÓN MATEMATICA DE INACTIVACIÓN DE MICROORGANISMOS PATOGENOS EN EL PROCESO DE ESTABILIZACIÓN ALCALINA DE LODOS RESIDUALES MEJORADA CON RECIRCULACIÓN DE AMONIACO”. Con clave: 129520

El reactor prototipo está formado por:

- Un reactor de acero inoxidable con capacidad de 6 litros.
- Una resistencia eléctrica helicoidal de 1500 watts, 127 volts.
- Un motor de agitación de 220/440 volts, 1.9/1 amperes, 0.5 hp, 60 hz., Marca WEG.
- Control de temperatura Marca Honeywell de 0 a 300° C, 127 volts
- Termopar tipo J de 1.5 metros.
- Un Convertidor de Frecuencia CFW10 WEG 420, monofásico y trifásico, 2.5-15Hz

El prototipo de un reactor (Figura 2.2) está ubicado en el laboratorio de investigación ambiental II se utilizó como inóculo lodo proveniente de un reactor EGSB que trata RSOM en la planta piloto del Instituto Tecnológico de Orizaba, que cuenta con un volumen de alimentación de 250 L, una CVA de 17 g-DQO/L·d y un tiempo de residencia de 3 días. El reactor del laboratorio de investigación ambiental II se operó en modo batch a temperatura mesofílica cuenta con un volumen de 6 L (volumen útil de 4.5 L) se trabajó con una relación de $S_0 / X_0 = 1$ como parámetro de control que relaciona la cantidad de SV del sustrato entre los SV del inóculo; dicha relación da como resultado 70 % v/v inóculo y 30 % v/v de acuerdo con los sólidos volátiles así como con una agitación continua a 268 rpm fue regulado por el convertidor de frecuencia WEG que varió la frecuencia del motor de la marca WEG. Se utilizó el sustrato porcícola obtenido en el punto 2.1 y el inóculo del reactor EGSB. La operación del reactor mesofílico en modo batch fue con una carga de 1 kg SV/m³·d fue operado en condiciones mesofílicas (35°C ±1.5) durante 15 días en modo batch monitoreando la reducción de materia orgánica respecto a los % ST y % SV hasta alcanzar la remoción de 38 % de acuerdo con la NOM-004-SEMARNAT-2002.



Figura 2.6 Reactor escala laboratorio con control de temperatura y agitación.

2.2.2 Operación del proceso de la digestión anaerobia en semicontinuo.

El reactor cambió el modo de operación batch a semicontinuo cuando logró la remoción indicada por la NOM-004-SEMARNAT-2002 de 38 % de SV que logró alcanzar en 12 días. Se alimentó con una carga de 1 kg SV /m³ .d durante 36 días a las condiciones de operación que se muestran en la Tabla 2.2 a su vez se realizó la caracterización de los parámetros mencionados en la Tabla 2.1 principalmente en términos de contaminación microbiológica como Coliformes fecales, Salmonella spp. y huevos de helminto.

Además de la producción de biogás a partir del método de desplazamiento de agua que consta de una bandeja lleno a la mitad con agua dentro de ella se coloca un bote lleno de agua con volumen conocido para realizar el cálculo del biogás generado cada día por el reactor.

Tabla 2.2 Condiciones de operación modo semicontinuo a 35°C

Tiempo (Días)	Carga orgánica (kg SV / m ³ .d)	Agitación (rpm)	Temperatura (°C)
1-36	1	268	35° ±1.5

2.3 Pruebas de adaptación del proceso de la digestión anaerobia en modo mesofílico a termofílico.

El reactor mesofílico (35°C) después de haber sido operado durante 36 días a carga orgánica de 1 kg SV/m³.d se duplicó la carga ya que se va a realizar el incremento de temperatura hasta 55°C el reactor necesitará mayor materia orgánica para degradar, así como para iniciar con la estrategia de incremento gradual de temperatura a 55°C.

Se operó durante 25 días más en carga orgánica de 2 kg SV/m³.d para que posteriormente se aplique el aumento equidistante de temperatura, las condiciones de operación durante esta fase se observan en la Tabla 2.3.

Tabla 2.3 Condiciones de operación a 35°C carga 2 kg SV/m³.d

Tiempo (Días)	Carga orgánica (kg SV / m³.d)	Agitación (rpm)	Temperatura (°C)
1-25	2	268	35 ±1.5

Después de haber sido estabilizada la operación a 35°C se dio comienzo al incremento equidistante de temperatura como se muestra en la Tabla 2.4

Tabla 2.4 Estrategia de adaptación del reactor mesofílico a termofílico.

Tiempo (días)	Temperatura (°C)
1-15	40
16-30	45
31-45	50
46-60	55

De manera tal que las condiciones de operación del reactor ser muestran en la Tabla 2.5, así como los parámetros evaluados en cada temperatura de trabajo se muestran en la Tabla 2.1 así también se cuantifico la producción de biogás mediante el desplazamiento volumétrico de un contenedor de volumen conocido.

Tabla 2.5 Condiciones de operación de la adaptación de la digestión anaerobia.

Tiempo (días)	Carga orgánica (kg SV/ m³.d)	Agitación (rpm)	Temperatura (°C)
1-15	2	268	40
16-30	2	268	45
31-45	2	268	50
46-60	2	268	55

2.4 Diseño experimental

Se aplicó un diseño experimental unifactorial en la operación del reactor en modo semicontinuo a las temperaturas que se utilizaron en la investigación con el objetivo de comparar cual es la mejor temperatura de operación que tiene la mayor remoción de sólidos volátiles y producción de biogás en la carga orgánica de 2 kg SV/m³.d. Las condiciones de operación del reactor son las mencionadas en la Tabla 2.5. Las condiciones que se utilizaron para llevar a cabo el diseño unifactorial se muestran en la Tabla 2.6

Tabla 2.6 Diseño unifactorial.

Temperatura (°C)	% remoción SV	Producción biogás (L/d)
35		
40		
45		
50		
55		

2.5 Evaluación de la biomasa tratada de residuos.

Al haber finalizado la adaptación de la operación del reactor anaerobio se compararon los resultados obtenidos de las caracterizaciones para observar el comportamiento de

la operación del reactor anaerobio con los incrementos de temperatura en los intervalos de tiempo establecidos en la Tabla 2.2.

Se comparará la calidad del biosólido producido en la etapa del reactor mesofílico en modo batch, semicontinuo y del reactor con los incrementos de acuerdo con la NOM-004-SEMARNAT-2002, realizar los gráficos de Lineweaver-Burke y Eadie-Hofstee para observar el comportamiento de los parámetros cinéticos obtenidos en la digestión anaerobia mesofílica en modo batch.

CAPÍTULO 3

Resultados

CAPÍTULO 3 Resultados.

En este capítulo se presentan los resultados obtenidos durante las 4 etapas experimentales a lo largo de la investigación, los resultados se describen de acuerdo con el orden que fueron mencionados en el capítulo anterior.

3.1 Obtención y caracterización de lodos residuales porcícolas

La muestra fue recolectada, preparada y almacenada de acuerdo con la norma NMX-AA-052-1985 titulada "Preparación de muestras en el laboratorio para su análisis".

Después de la preparación de la muestra de residuos porcícolas y el inóculo del reactor EGSB fueron caracterizados, los resultados se muestran en la tabla 3.1

Tabla 3.1 Caracterización del residuo porcícola e inóculo.

Físicos	Residuo Porcícola	Inóculo	Unidad
pH	7.59	7.38	-
Sólidos Totales	4.73	2.48	% ST
Sólidos Totales Volátiles	77.93	65.56	% SV
Químicos			Unidad
Nitrógeno Total	1.59	-	gNTK/kg ST
Nitrógeno amoniacal	0.59	-	gNH ₃ /kg ST
Proteínas	20.98	-	%
Microbiológicos			Unidad
Coliformes fecales	2.4 x 10 ¹¹	-	NMP/g ST
<i>Salmonella</i> spp.	2.4 x 10 ⁶	-	NMP/g ST
<i>Huevos de helmintos</i>	100	-	HH/ g ST

Como se había mencionado en la Tabla 3.1 el valor del pH de la muestra diluida 7.59 fue menor a la obtenida por Borowski *et al.*, (2014) de 7.76 ya que utilizaron una codigestión de sustrato porcícola y lodo residual, sin embargo el valor de pH obtenido no se encuentra muy alejado del rango óptimo propuesto por Jain *et al.*, 2015 de 6.5 y 7.5 pH para la digestión anaerobia.

En la concentración de Nitrógeno total Kjeldahl fue menor que la reportada por Borowski *et al.*, (2014) de 6.40 gN/kg de excreta porcína.

De acuerdo a la los sólidos totales que presentó un valor de 4.73 % considerando que una dilución de 1:6 se notó una alta cantidad de sólidos contenidos a pesar de haber realizado la dilución antes mencionada, igual se observa la alta cantidad de materia orgánica por el valor de 77.93 % SV.

En cuanto a términos de contaminación microbiológica son muy importantes ya que se tratan de excretas porcinas procedentes de una granja traspatio. Se encontró valores que rebasan los límites máximos permisibles establecidos por la NOM-004-SEMARNAT-2002 para la clasificación de un lodo clase C, para el caso de coliformes fecales el límite es de 2×10^6 NMP/g ST y se obtuvieron 2.4×10^{11} NMP/g ST, para *Salmonella* spp. el límite es de 3×10^2 NMP/g ST se determinó 2.4×10^6 NMP/g ST, por otro lado Borowski *et al.*, (2014) obtuvo 1.80×10^6 UFC/g ST para coliformes fecales y no se detectó *Salmonella* spp. en excretas porcícolas por lo que se compara la diferencia en contaminación microbiológica.

De acuerdo a cuantificación de huevos de Helminths, que representan los microorganismos más resistentes a la inactivación por diferentes tipos de tratamientos. La NOM-004-SEMARNAT-2002 establece como límite 35 HH/gST para un biosólido clase C, se obtuvo un valor de 100 HH/gST en los residuos porcícolas de una granja tipo traspatio tal valor corresponde a un alto índice de contaminación como lo reportado por Atenodoro-Alonso *et al.*, (2015) que determinaron 100 HH/ g ST en lodos residuales de un rastro de aves de corral.

3.2 Adaptación del proceso de la digestión anaerobia mesofílica.

3.2.1 Arranque del reactor anaerobio-mesofílico en modo batch.

Para el arranque de un reactor a escala laboratorio ubicado en el laboratorio de investigación ambiental II, se utilizó inóculo de un reactor EGSB con un volumen de alimentación de 250 L, una CVA de 17 g·DQO/L·d y un tiempo de residencia de 3 días. El reactor escala laboratorio del laboratorio de investigación ambiental II se operó en modo batch a temperatura mesofílica de 35°C con una agitación de 264 rpm, cuenta con un volumen de 6 L un volumen útil de 4.5 L se trabajó con una relación de $S_0 / X_0 = 1$ como parámetro de control que relaciona la cantidad de SV del sustrato entre los SV del inóculo; dicha relación da como resultado 70 % v/v inóculo y 30 % v/v de acuerdo a los sólidos volátiles. Se utilizó sustrato porcícola e inóculo del reactor EGSB los parámetros evaluados se muestran en la Tabla 3.1. El proceso de la digestión anaerobia inició en modo batch con residuos porcícolas e inóculo con los parámetros de control antes mencionados.

La remoción del 38 % de SV de acuerdo a la NOM-004-SEMARNAT-2002 se logró en aproximadamente 12.5 días como se muestra en la Figura 3.1, se obtuvo esta remoción en un menor tiempo debido a la estrategia utilizada de 70 % inóculo y 30 % sustrato porcícola, ya que otros autores como Borowski *et al.*, (2014) trabajaron con digestión anaerobia mesofílica en modo batch con 30 % residuos porcícolas y 70 % lodos de depuradora obteniendo una reducción de SV de 45.26 % en 90 días, por lo cual al utilizar esta estrategia de arranque se logra alcanzar la remoción del 38 % de acuerdo a la normativa mexicana en menor tiempo a su vez saltar al modo semicontinuo en menor tiempo.

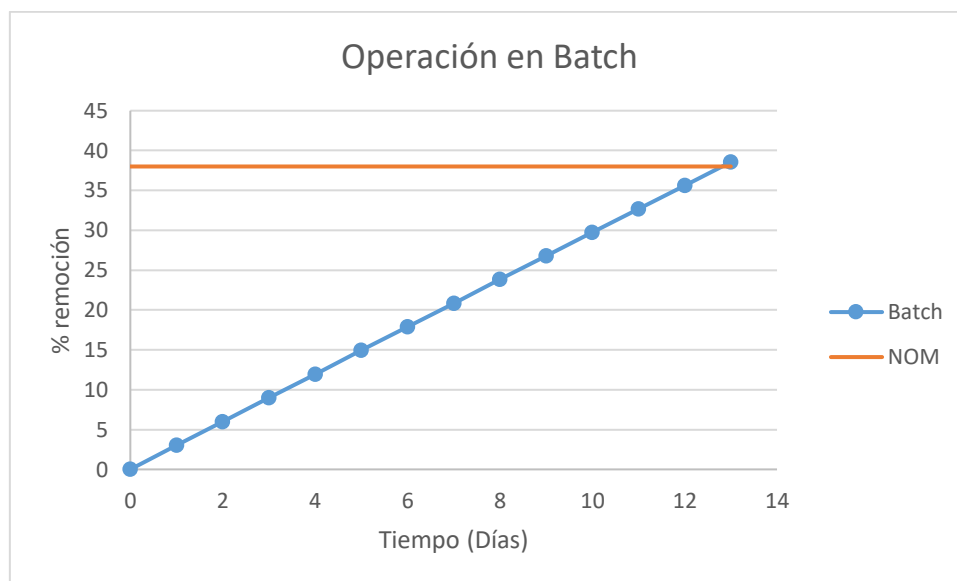


Figura 3.1 Digestión anaerobia mesofílica en modo batch

3.2.1.1 Determinación de V_{max} y K_m de residuos porcícolas mediante los gráficos Lineweaver-Burke y Eadie-Hofstee.

Con los parámetros obtenidos de la digestión anaerobia se realizó el modelo cinético de Michaelis-Menten para calcular la velocidad de reacción, en la Figura 3.1 se observa la degradación de sólidos volátiles hasta llegar a un 38 % de remoción durante 13 días presentan un modelo de primer orden, sin embargo no se puede determinar la Velocidad máxima al graficar la velocidad de reacción (V_r) contra la concentración de sustrato (C_0) debido al incremento exponencial de las muestras, por lo que el gráfico de Lineweaver-Burke se utiliza como una transformación matemática conocida como dobles recíprocas que grafica la inversa de la velocidad de reacción contra la inversa del sustrato, la cual resulta una línea recta.

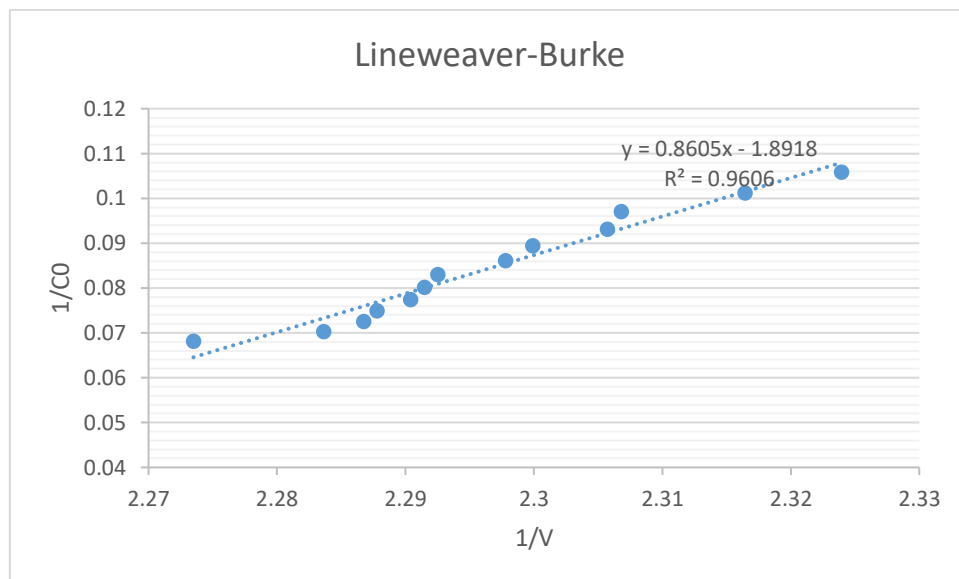


Figura 3.2 Gráfico Lineweaver-Burke

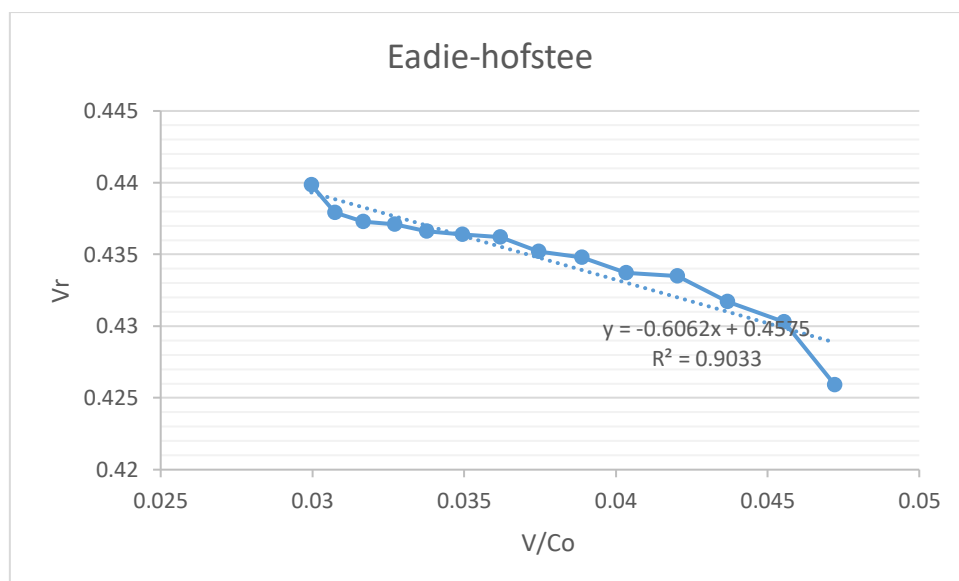


Figura 3.3 Gráfico Eadie-hofstee

El gráfico de Lineweaver-Burk es propenso a errores, ya que el eje “y” toma el recíproco de la velocidad de reacción, lo que a su vez aumenta cualquier pequeño error en la medición. Además, la mayoría de los puntos de la gráfica se encuentran a la derecha del eje y (debido a la limitación de la solubilidad que no permite grandes

valores de $[S]$ y por lo tanto valores pequeños para $1 / [S]$, lo que requiere una gran extrapolación volver para obtener intersecciones “x” y “y”.

También es más robusto contra datos propensos a errores que el gráfico de Lineweaver-Burk, particularmente porque da igual peso a los puntos de datos en cualquier rango de concentración de sustrato o velocidad de reacción (el gráfico de Lineweaver-Burk pondera de forma desigual dichos puntos). Tanto las tramas de Eadie-Hofstee como Lineweaver-Burk siguen siendo útiles como medio para presentar datos de forma gráfica (Harvey T., 2017).

Debido a lo antes mencionado de que se pueden obtener ciertos errores al graficar los datos experimentales se utilizaron ambos gráficos para comparar los resultados obtenidos, en la Figura 3.2 y 3.3 observamos el gráfico Lineweaver-Burke y Eadie-hofstee respectivamente podemos confirmar que no existe una gran variación en los parámetros de V_{max} y K_m .

Tabla 3.2 Parámetros obtenidos en ambos gráficos.

Gráfico	$V_{max}(gSV/L.d)$	$K_m(gSV/L)$
Lineweaver-Burke	0.5285	0.4548
Eadie-hofstee	0.4575	0.6062

3.2.2 Operación del proceso de la digestión anaerobia en semicontinuo.

Después de haber alcanzado el 38 % remoción de SV se calculó la carga orgánica aplicada a $1 \text{ kg SV/ m}^3.d$, operó a $35^\circ\text{C} \pm 1.5$ y con una agitación de 264 rpm. La operación de la digestión anaerobia se llevó a cabo en 62 días como se muestra en la Figura 3.4, desde el día 1 hasta el día 37 se operó con una carga de $1 \text{ kg SV/m}^3.d$, se observa que alcanza en promedio 53.81 % de remoción con una remoción máxima de 66.23 en el día 25 por el contrario 41.48 % de remoción en el día 3. Se optó por aumentar la carga ya que se observó que el reactor podía trabajar con una mayor carga, en la operación del reactor a una carga de $2 \text{ kg SV/m}^3.d$ se observa que se obtuvo en promedio 50.47 % de remoción con un máximo en el día 40 de 56.82 % y

un mínimo de 45.03 % el día 50. Borowski *et al.*, (2014) obtuvieron una remoción de 32.46 y 23.9 % a 1.27 y 1.91 kg SV/m³•d respectivamente en experimentos a condiciones de operación similares con sustrato porcícola con lodos de depuradora. Por lo que la remoción obtenida en este trabajo es mucho mayor debido a la agitación aplicada, ya que Borowski *et al.*, (2014) no mencionan sobre este parámetro de operación.

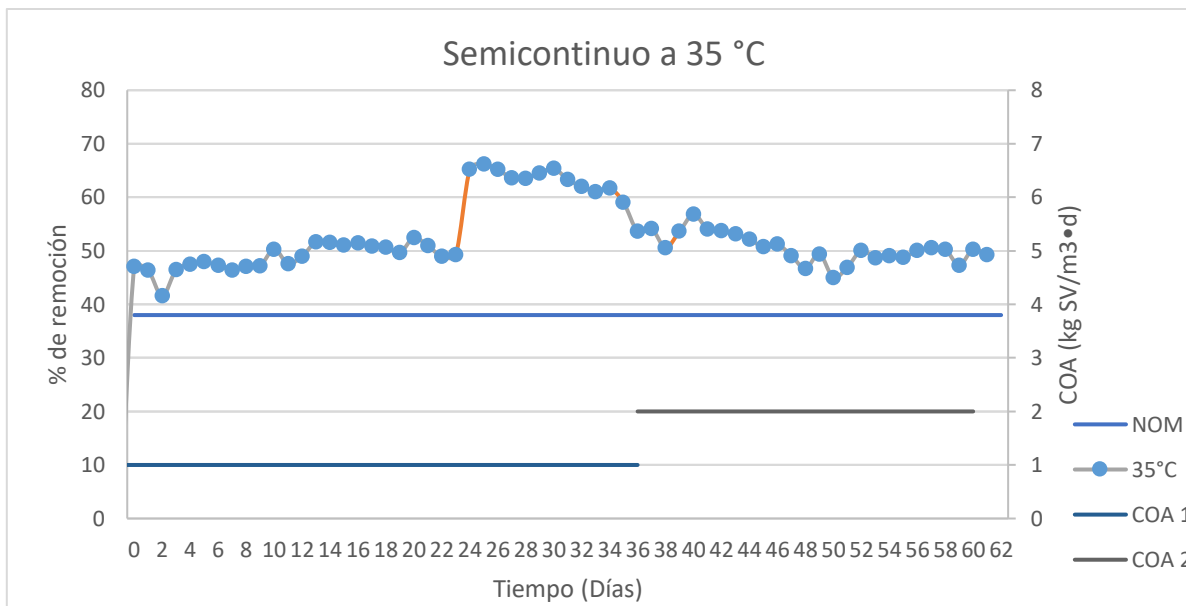


Figura 3.4 Porcentaje de remoción.

3.2.2.1 Comportamiento del pH en la operación de la digestión anaerobia mesofílica.

Se observa el comportamiento del pH la Figura 3.5 en la carga de 1 kg SV/m³•d tenemos en promedio 7.67 de pH y en 2 kg SV/m³•d un promedio de 7.67 aunque estos valores no se alejan considerablemente a valores óptimos dichos por Jain *et al.*, (2015) de 6.5 a 7.5 en los cuales las bacterias se encuentran activas y la digestión se lleva eficientemente. Los valores obtenidos de pH no se encuentran tan alejados del intervalo dicho por el autor. El aumento del pH durante el proceso de la digestión anaerobia es causado por la generación de amonio de acuerdo con Pandey *et al.*, (2016) por esta razón se observa que al duplicar la carga orgánica aumenta el valor

de este, obteniendo valores mayores (7.5) a los iniciales en la carga de 1 (7.3). Moset *et al.*, 2015 utilizaron excretas vacunas en la digestión mesofílica en dos diferentes TRH de 16 y 20 días obteniendo valores de 7.6 y 7.7 respectivamente.

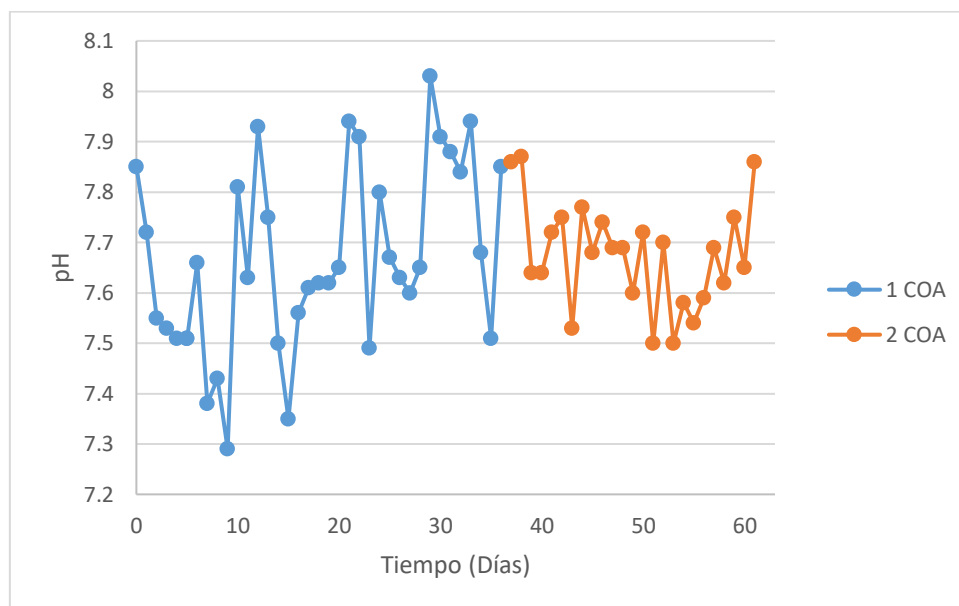


Figura 3.5 Comportamiento del pH.

3.2.2.2 Producción de biogás en la operación de la digestión anaerobia mesofílica a diferentes cargas.

En la Figura 3.6 se muestra el volumen de biogás producido durante la digestión a 1 y 2 kg SV/m³·d. La producción de biogás a carga 1 kg SV/m³·d tuvo un promedio 1.9 L/d, un máximo de 2.5 L/d y mínimo de 1.05 L/d. En la carga 2 se obtuvo un promedio de 2.85 L/d, un mínimo de 1.2 L/d y máximo de 3.8 L/d como se observa en esta carga se obtuvo mayor producción de biogás es debido al aumento de carga las bacterias obtienen mayor alimento y producen aumenta la tasa de producción de biogás. Deng *et al.*, (2014) realizó un experimento de digestión de agua residual porcícola en botes de 1 L en la que vario las cargas aplicadas y las temperaturas de digestión, en la carga

de 1.21 g SV/m³•d obtuvo 0.35 L/d y a carga de 2.17 g SV/m³•d obtuvo hasta 1.1 L/d ambos a 35°C.

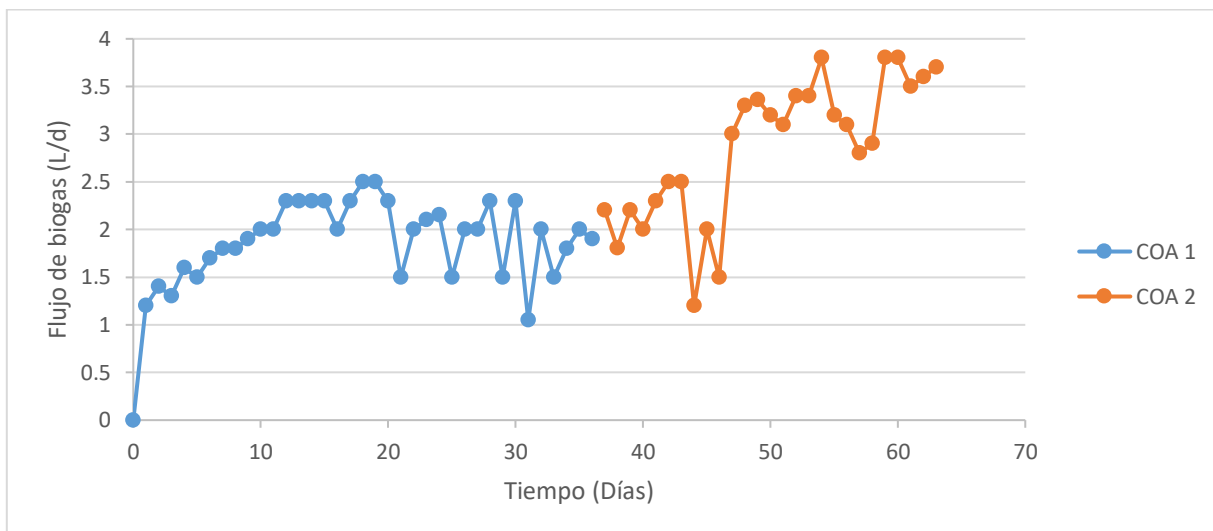


Figura 3.6 Producción de biogás a 35 °C.

3.3 Pruebas de adaptación del proceso de la digestión anaerobia en modo mesofílico a termofílico.

La estrategia consistió en la adaptación del proceso mesofílico aclimatado a un proceso semicontinuo a condiciones termofílicas y operación semicontinuo con carga orgánica media aumentando gradualmente la temperatura, el tiempo total fue de 60 días.

3.3.1 Porcentaje de remoción de SV.

En la Figura 3.7 muestra el porcentaje de remoción de SV durante la operación a 40 °C que se llevó a cabo durante 15 días se alimentó con una carga de 2 kg SV/m³•d, durante la operación la remoción de SV se mantuvo en valores por encima del 38% sugerido por la Norma Oficial Mexicana, alcanzando un promedio de 52 % SV; Moset *et al.*, (2014) trabajaron la digestión anaerobia mesofílica (40 °C) obtuvieron 29.5 y 28.2 % remoción de SV en TRH de 16 y 20 días, mucho menor a la obtenida en este trabajo, sin embargo cuando se aumentó la temperatura a 45 °C (Figura 3.8) el

promedio del % de remoción de materia orgánica se dedujo a 40.8 %, algunos valores fueron inferiores al requerido (38 %) y se atribuye a que este rango de temperatura está considerado límite superior para la sobrevivencia de las bacterias mesofílicas y límite inferior para bacterias termofílicas, por lo que la tasa de crecimiento y desarrollo de las bacterias no se ve favorecida Nava (2011); además obtuvo en promedio 39.86% de remoción de SV y algunos valores obtenidos fueron menores a los requeridos por la Norma oficial mexicana.

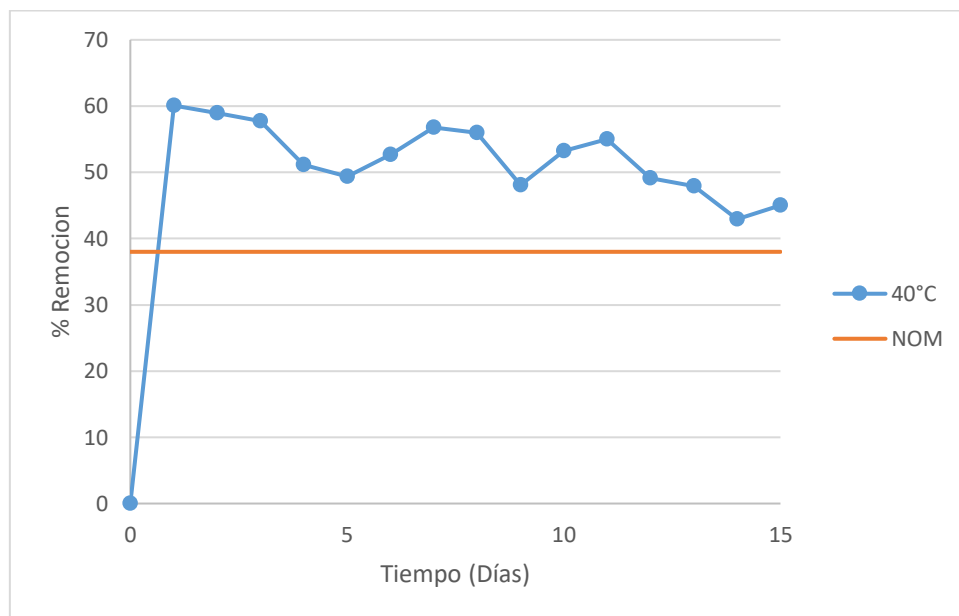


Figura 3.7 Porcentaje de remoción a 40 °C

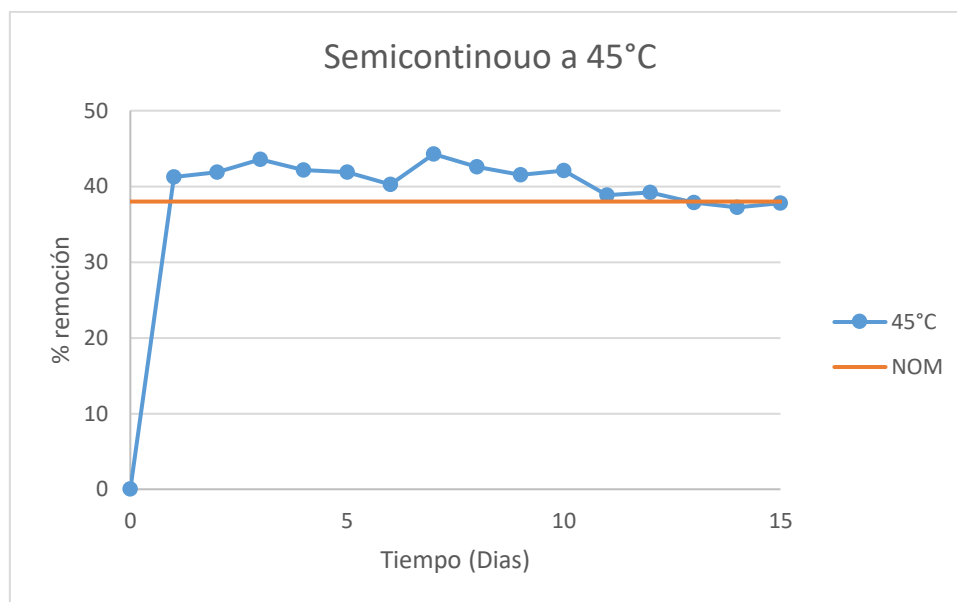


Figura 3.8 Porcentaje de remoción a 45 °C

Se observa en la Figura 3.9 la operación a 50°C la cual obtuvo 51.9 % de remoción de SV en promedio que supera al 38 % de remoción de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana, además se observó que aumento la remoción debido al cambio de temperatura de trabajo a 50°C; que es el límite inferior de crecimiento de las bacterias termofílicas, por lo que el proceso al inicio del cambio de temperatura la remoción fue de menor a mayor debido a la adaptación del proceso. Moset *et al.*, (2015) utilizaron excretas vacunas en la digestión anaerobia termofílica a 50 °C con un reactor d 16 L a 2 TRH de 16 y 20 días , obtuvieron 36.8 y 33.6 % remoción de SV respectivamente, que fueron menores a los a los obtenidos en este trabajo.

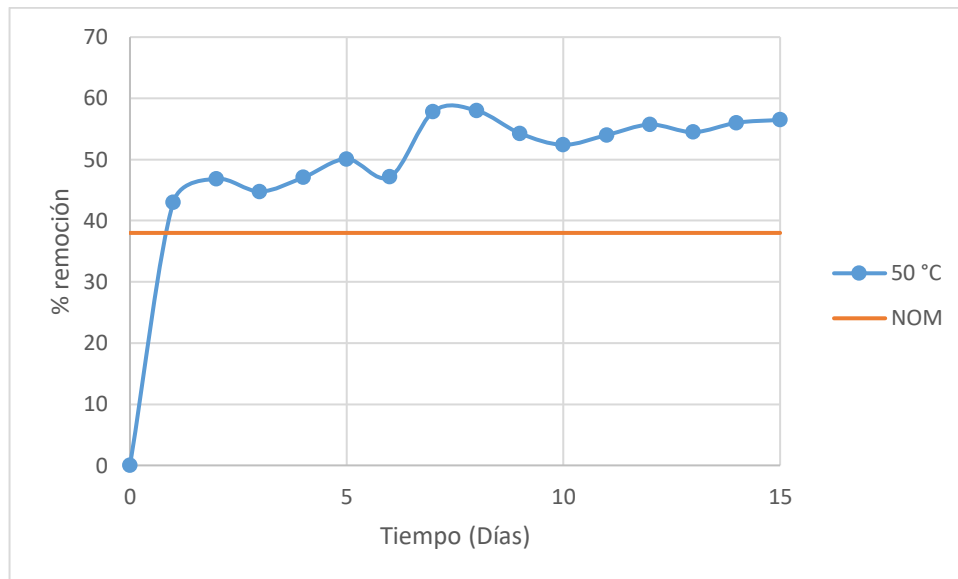


Figura 3.9 Porcentaje de remoción a 50 °C

En la Figura 3.10 se observa el comportamiento de la remoción a 55 °C la cual obtuvo un promedio de 49.25 % que fue ligeramente menor a la obtenida por Nava (2011) de 49.72 % en la digestión aguas residuales provenientes de un rastro de aves que fue favorecido debido al pretratamiento térmico a 80 °C durante 1 h, por otro lado se obtuvo una remoción cercana sin haber utilizado ningún pretratamiento térmico. Ferrer *et al.*, 2008 estudiaron el efecto del pretratamiento térmico a 70 °C en 4 diferentes tiempos para la eficiencia de la digestión anaerobia termofílica de lodo residual primario y secundario, obtuvieron una remoción de 36.55% en el pretratamiento térmico a 9 h.

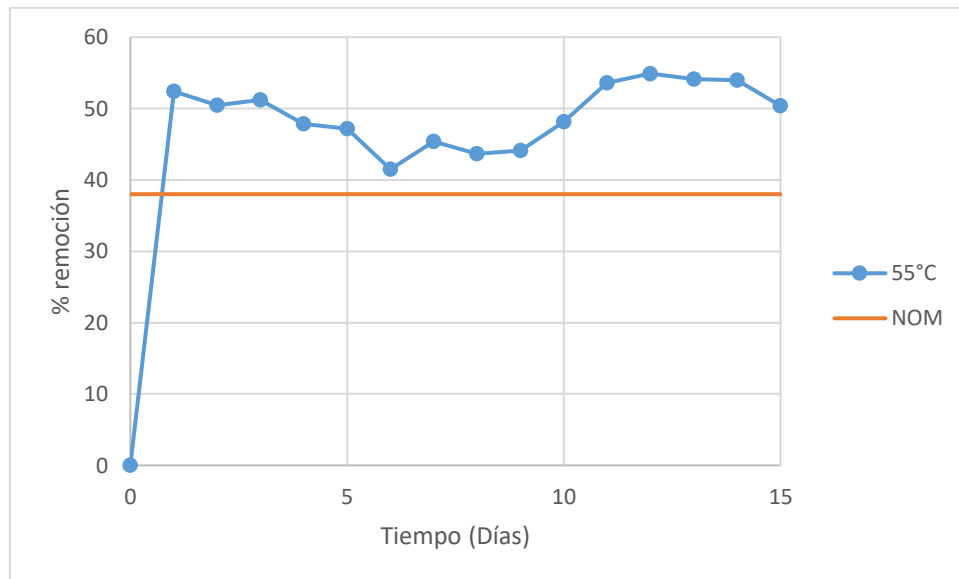


Figura 3.10 Porcentaje de remoción a 55 °C

3.3.2 Comportamiento del pH

La Figura 3.11 presenta el comportamiento que en promedio fue 7.72 con un máximo de 8.54 y un mínimo de 6.9 a 40°C y se encuentran cercanos a los valores óptimos de la digestión anaerobia (Jain *et al.*, 2015). Además Wijesinghe *et al.*, (2018) agregaron zeolitas a la digestión anaerobia mesofílica de residuos porcícolas a 37 °C obtuvieron en promedio 7.79 muy cercanos a los obtenidos en este trabajo. En la figura 3.12 presenta el comportamiento a 45°C que en promedio fue 7.46 con un máximo de 7.69 y un mínimo de 7.27.

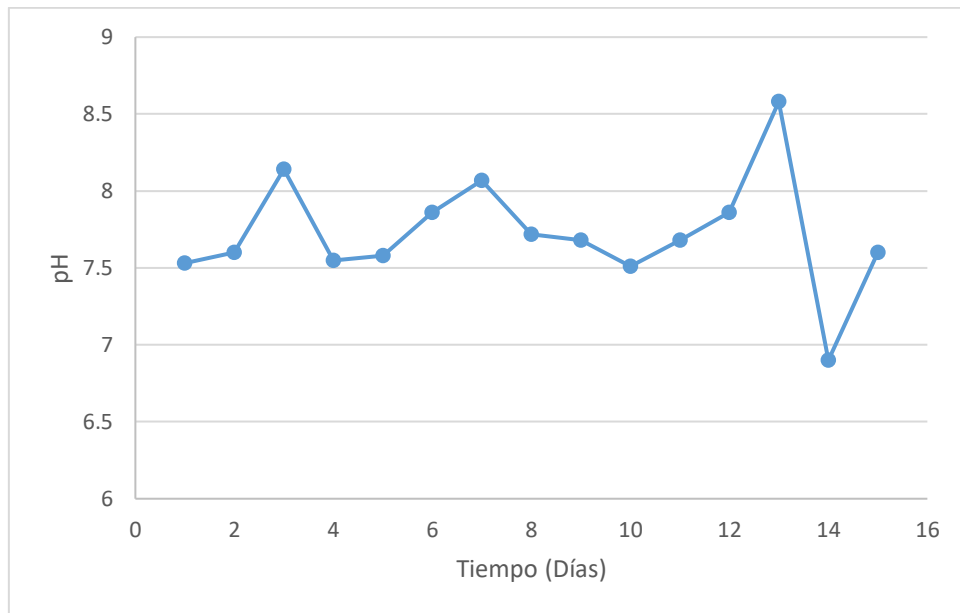


Figura 3.11 Comportamiento del pH a 40 °C

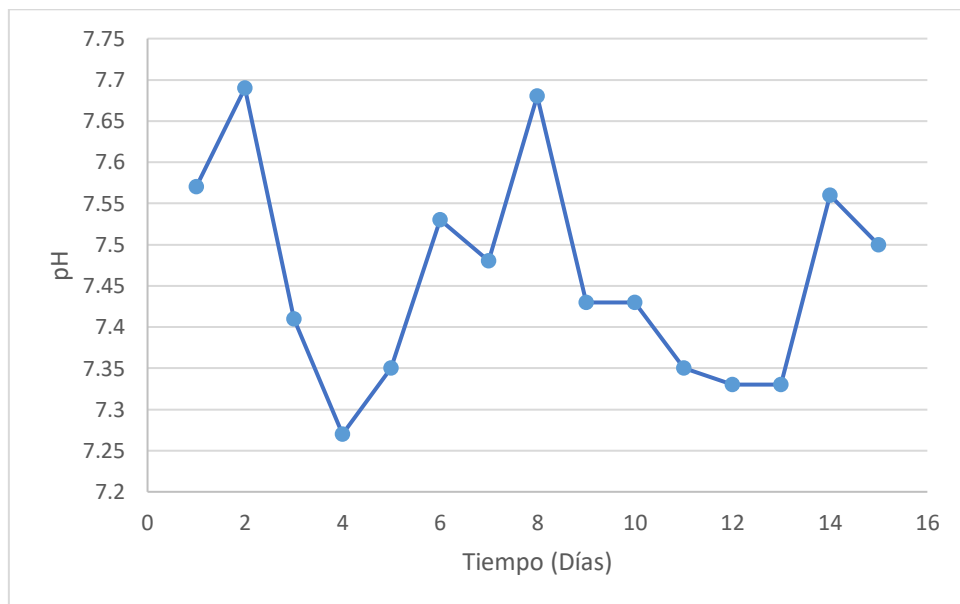


Figura 3.12 Comportamiento del pH a 45 °C

En la Figura 3.13 observamos el comportamiento del pH en la operación del reactor anaerobio, el comportamiento del pH a 50°C fue de 7.8 en promedio con un máximo y mínimo de 8.33 y 7.58 respectivamente. Moset *et al.*, 2014 obtuvieron en promedio en la digestión anaerobia a 50°C un 7.8 en diferentes experimentos en reactores CSTR, no presentaron desestabilización en el proceso. Popat *et al.*,(2010) realizaron cinéticas de la digestión anaerobia termofílica a 51.3 °C obtuvieron en promedio 7.6 pH el cual es cercano al obtenido en este trabajo así como no hubo una desestabilización del proceso de la digestión.

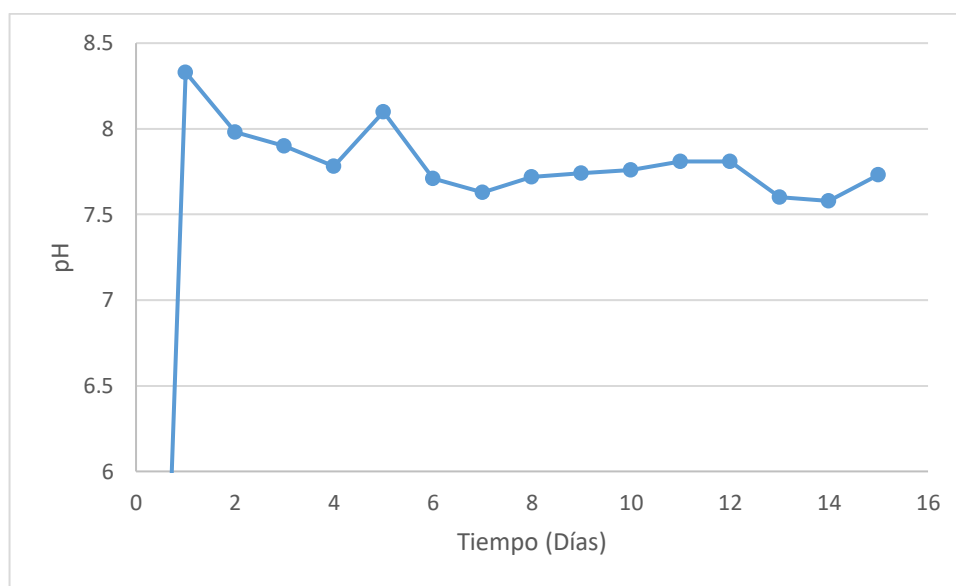


Figura 3.13 Comportamiento del pH a 50 °C

En la Figura 3.14 se observa que en promedio tiene 8.23 con un máximo y mínimo de de 9.46 y 7.73 pH. Aunque los valores son mayores a los propuestos por Jain *et al.*,(2015) (6.5-7.5 pH) el proceso se mantuvo estable durante los 15 días de operación sin embargo Hansen *et al.*,(1998) tuvieron una inhibición por pH de la digestión anaerobia de residuos porcícolas a 55°C en 8. Skillman *et al.*,(2009) obtuvieron un pH de 7.9 en la digestión anaerobia termofílica de agua residual porcícola a 55 °C y Ferrer *et al.*, (2008) en el pretratamiento térmico a 70 °C de lodos residuales primarios y secundarios a 4 TRH

diferentes; obtuvieron valores de pH arriba de 8.22 hasta 8.32 sin ninguna presencia de desestabilización de la digestión anaerobia o baja producción de biogás.

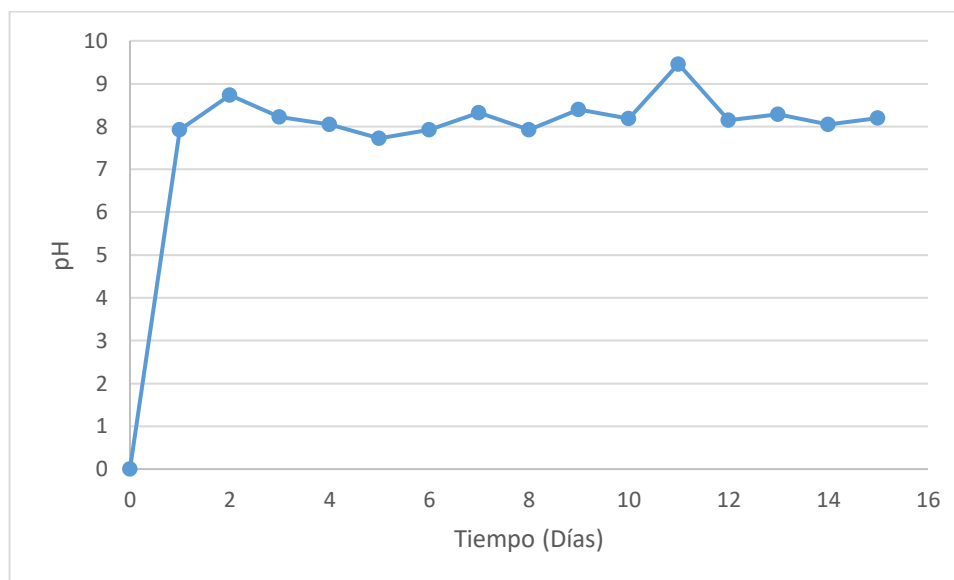


Figura 3.14 Comportamiento del pH a 55 °C

3.3.3 Producción de biogás.

En la Figura 3.15 se muestra el flujo de biogás, la producción promedio a 40°C fue de 2.65 L/d al aumentar la temperatura a 45°C (Figura 3.16) la producción de biogás disminuyó a 1.8 L/d debido a que es la temperatura superior de supervivencia de las bacterias mesofílicas y el límite inferior de crecimiento de las bacterias termofílicas por lo que provoca una desestabilización en la producción de biogás, así como en el desempeño del proceso; Nava (2011) describió que Boušková *et al.*, (2005) observó una fuerte perturbación en la producción de biogás al incrementar la temperatura de 42°C a 47°C (de 1500mL a 800 mL) lo atribuye a que se encuentra en un umbral crítico superior de la temperatura óptima para el desarrollo de las bacterias mesofílicas por lo tanto estas condiciones no pueden ser muy adecuadas para las bacterias termofílicas, posteriormente realizó otro incremento de temperatura de 47°C a 51°C y la producción de biogás disminuyó inmediatamente (590 mL/d), sin embargo la recuperación en la

producción de biogás se dio a partir del tercer día de operación a en temperatura termofílica y aumentó durante el experimento en comparación con el nivel inicial de la digestión mesofílica (de 1500 mL a 2000 mL).

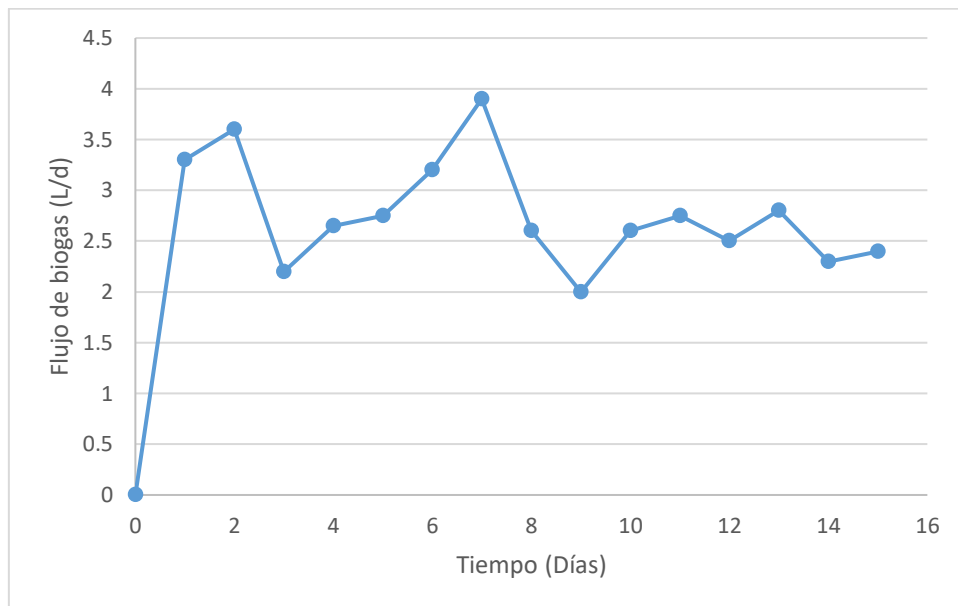


Figura 3.15 Producción de biogás a 40 °C.

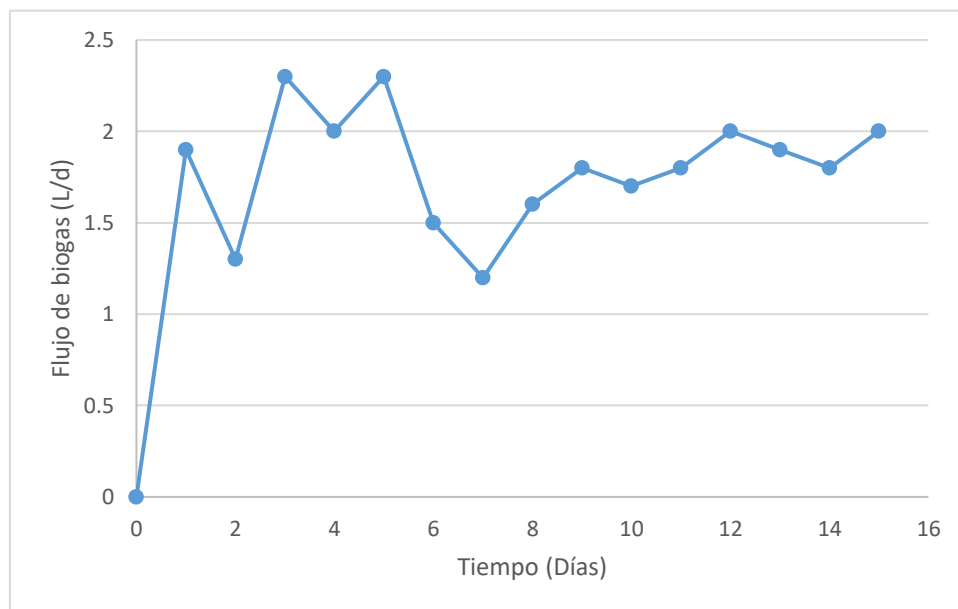


Figura 3.16 Producción de biogás a 45 °C.

En la Figura 3.17 se observa la producción de biogás promedio de 3.5 L/d en la temperatura de operación a 50 °C con un máximo y mínimo de 3.8 y 3.2 L/d respectivamente. Por otro lado en la producción de biogás a 55°C obtuvo un promedio de 3.53 L/d con un máximo y mínimo de 3.65 y 3.3 respectivamente. Aunque no hubo una gran diferencia en la producción de biogás en 50 y 55 °C Tzun-Wen Shaw *et al.*, (2017) en la digestión termofílica de residuos porcícolas en un reactor CSTR de 3 L de volumen útil obtuvieron hasta 1.4 L/d, Zhang *et al.*, 2015 obtuvo una producción de 1.7 L/d en una codigestión de 70 % sustrato porcícola y 30 % tallos de maíz y Guo *et al.*, (2014) obtuvieron hasta 1.7 L/d utilizando digestión anaerobia termofílica de residuos de comida como sustrato.

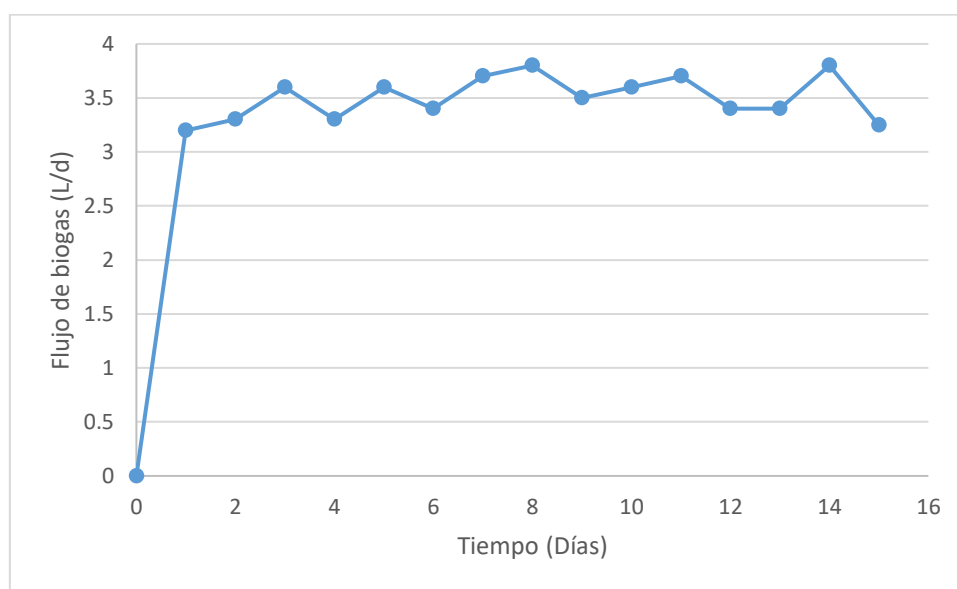


Figura 3.17 Producción de biogás a 50 °C

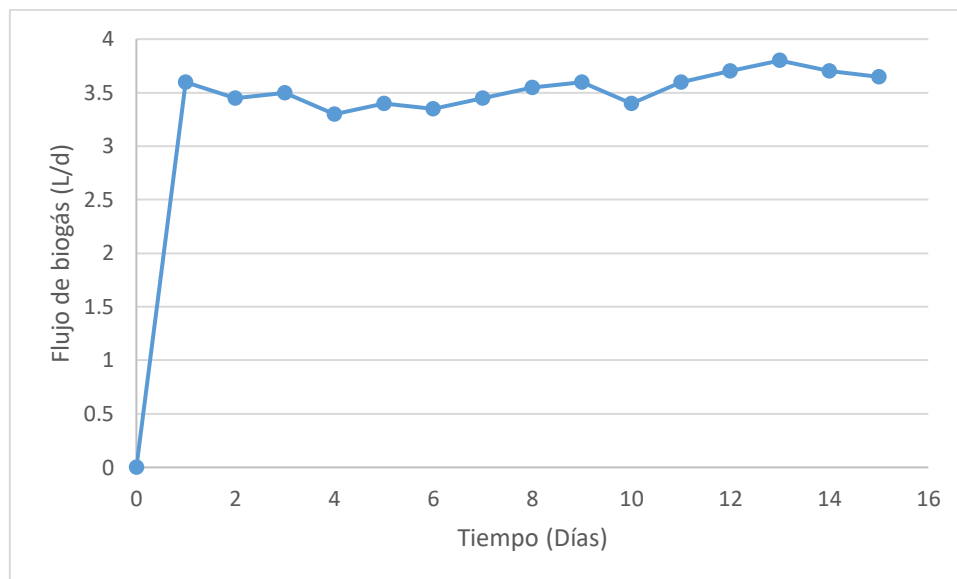


Figura 3.18 Producción de biogás a 55 °C

3.3.4 Inactivación de *Trichuris suis*, Coliformes fecales y Salmonella Durante las etapas equidistantes de temperatura.

En la Tabla 3.3 se puede observar la inactivación de microorganismos patógenos durante el aumento equidistante de temperatura como se mencionó en la Tabla 2.4, al iniciar la operación, la concentración de la contaminación microbiológica fue mucho mayor de acuerdo a la NOM-004-SEMARNAT-2002, ya que no alcanza una clasificación tipo C de 2×10^6 NMP/g ST en Coliformes fecales, 300 NMP/ gST *Salmonella spp.* y 35 HH/g ST.

La digestión anaerobia Termofílica a 55°C logró la inactivación de microorganismos patógenos para obtener un biosólido clase A (Avery *et al.*, 2014; Hashimoto 1983; Jain *et al.*, 2015) y que puede ser aprovechado para usos agrícolas, forestales, mejorador de suelos y tener usos urbanos con contacto público durante la aplicación.

Tabla 3.3 Inactivación de microorganismos patógenos durante el proceso de la digestión anaerobia.

Parámetro	Sustrato porcícola	35 °C	40°C	45°C	50°C	55°C
Coliformes fecales (NMP/g ST)	2.4 x 10 ¹¹	2.4 x 10 ⁸	2.1 x 10 ⁷	7.5 x 10 ⁵	9.3 x 10 ³	700
Salmonella spp. (NMP/g ST)	2.4 x 10 ⁵	2.4 x 10 ⁴	2.3 x 10 ³	900	300	3
Huevos de helmintos (HH/g ST)	100	97	70	55	13	0

3.3.5 Determinación de parámetros cinéticos en la inactivación de Coliformes fecales, *Salmonella spp.* y *Trichuris suis*.

En la Tabla 3.4 observamos la comparación de los parámetros cinéticos obtenidos utilizando el modelo de Hom modificado durante la adaptación del proceso de la digestión anaerobia mesofílica a termofílica mediante incrementos de temperatura y los tiempos de operación equidistantes que fueron mencionados en la Tabla 2.4

Tabla 3.4 Parámetros cinéticos para el modelo de Hom modificado.

Microorganismo	Tiempo (días)	k^*	n^*	R ²
Coliformes fecales	15	7.99x10 ⁻⁴	2.321	0.99
<i>Salmonella spp.</i>	15	1.002x10 ⁻⁵	3.256	0.94
<i>Trichuris suis</i>	15	3.507x10 ⁻¹⁶	9.054	0.99

Los parámetros cinéticos obtenidos en la conversión de la digestión anaerobia mesofílica a termofílica son similares a los obtenidos por Atenodoro-Alonso *et al.*, (2015) realizaron tratamientos térmicos antes y después de la digestión anaerobia de

lodos residuales provenientes de un matadero de aves; obtuvieron $k^*=5.86 \times 10^{-7}$, $n^*=3.923$ y $R^2=0.98$ en términos de Coliformes fecales, $k^*=2.58 \times 10^{-8}$, $n^*=4.516$ y $R^2=0.91$ en términos de *Salmonella spp.* y $k^*=1.311 \times 10^{-2}$, $n^*=1.276$ y $R^2=0.79$ en términos de Huevos de helminto, se observa que el valor de k^* obtenidos en Coliformes fecales y *Salmonella spp.* en este trabajo están más cercanos a cero por lo que significa que los microorganismos son menos resistentes a la inactivación debido a la estrategia de adaptación de la digestión anaerobia mesofílica de 35 °C con incrementos equidistantes de temperatura de 5 °C cada a 15 días hasta alcanzar temperatura termofílica de 55 °C, sin embargo en caso de la k^* en este trabajo está más alejada de cero ($k^*=3.507 \times 10^{-16}$) se atribuye que fue calculada durante el proceso de adaptación de la digestión anaerobia mesofílica a termofílica, por otro lado cuando se calculan estos parámetros cinéticos en tratamientos térmicos se obtienen valores de k^* cercanos a cero debido a que estos tratamientos son aplicados en horas como Murillo (2016) que obtuvo $k^*=4.405 \times 10^{-3}$, $n^*=1.585$ y $R^2=0.89$ en la inactivación de *Trichuris suis*.

En la Figura 3.19, 3.20 y 3.21 se observan las curvas de inactivación de Coliformes fecales, *Salmonella spp.* y Huevos de helminto respectivamente. Se observa en las tres figuras que tiene el comportamiento de hombros lo que muestra la resistencia de los parásitos al proceso de adaptación de la digestión anaerobia mesofílica termofílica en incrementos equidistantes de temperatura.

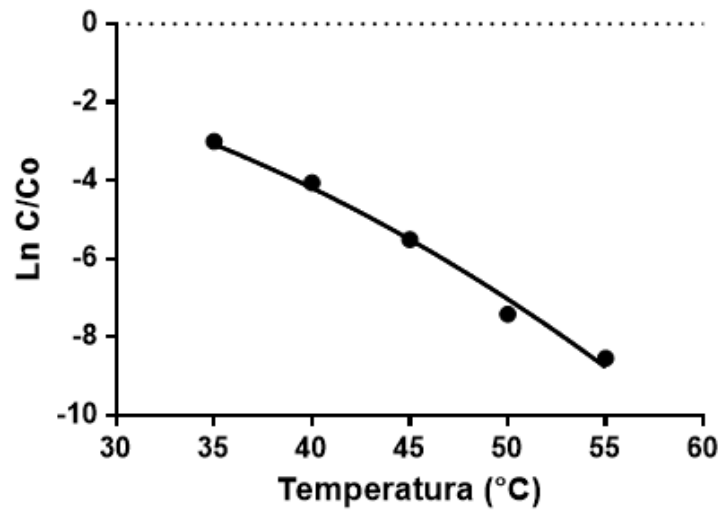


Figura 3.19 Curva de inactivación de Coliformes fecales durante la adaptación de la digestión anaerobia mesofílico-termofílico.

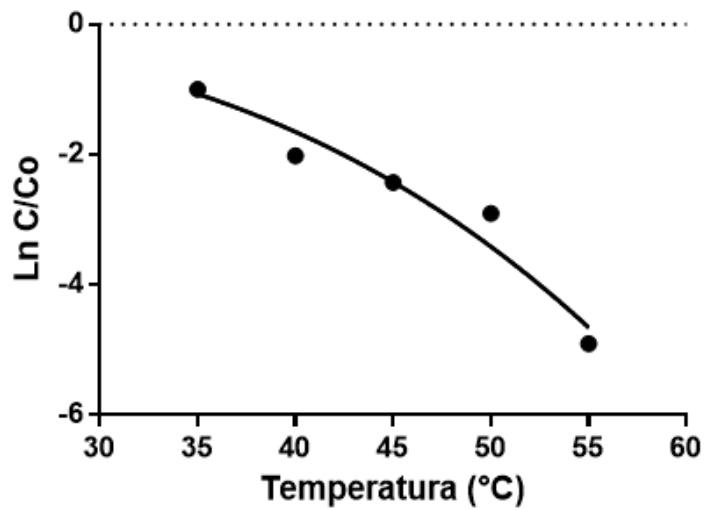


Figura 3.20 Curva de inactivación de Salmonella spp. durante la adaptación de la digestión anaerobia mesofílico-termofílico.

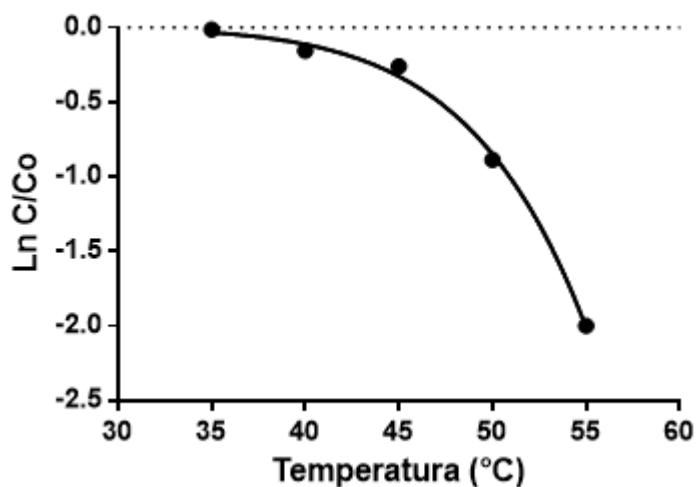


Figura 3.21 Curva de inactivación de Huevos de helminto durante la adaptación de la digestión anaerobia mesofílico-termofílico.

3.4 Diseño experimental

Se realizó un análisis de varianza en NCSS 2007 y Minitab 18 del diseño unifactorial que se muestra en la Tabla 2.6 en las cuales se confirma la mejor temperatura de operación para la producción de biogás, así como en % remoción de SV a su vez de realizar un comparativo entre ambas herramientas computacionales. En el anexo A tabla A.1 se muestra el ANOVA obtenido en NCSS 2007 que nos indica que existe una diferencia significativa en las temperaturas de operación en el porcentaje remoción de SV.

En la Figura 3.22 se muestra los promedios calculados de las 5 temperaturas de operación en la que se observa que el % de remoción de SV en 40 y 50°C es muy similar 52.26 y 51.87 % respectivamente, aunque es ligeramente mayor en 40°C.

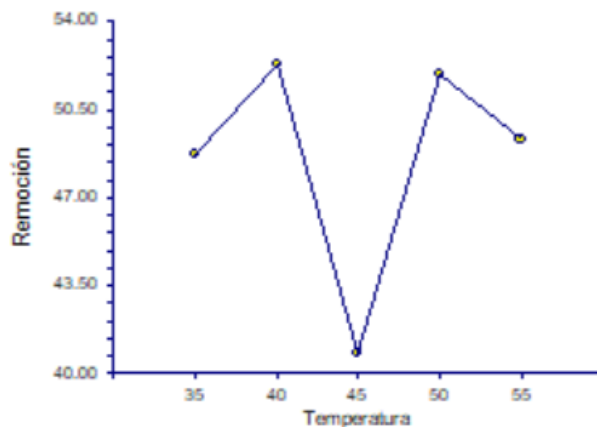


Figura 3.22 porcentaje de remoción de SV en cada temperatura.

En la Tabla A.2 se observa las pruebas de comparación de medias en las que se confirma que con la temperatura de 40 °C se obtiene la menor remoción de SV y que estadísticamente se obtiene la misma remoción de SV con cualquiera de las 4 temperaturas de trabajo restantes.

En la Figura A.3 se observa el ANOVA de NCSS 2007 en el cual se observa que hay diferencia significativa en la producción de biogás en cada temperatura de operación.

En la Figura 3.23 observamos el promedio de producción de biogás en cada temperatura de trabajo, se puede confirmar que a 50 y 55 °C producen mayor biogás 3.50 y 3.53 L/d respectivamente.

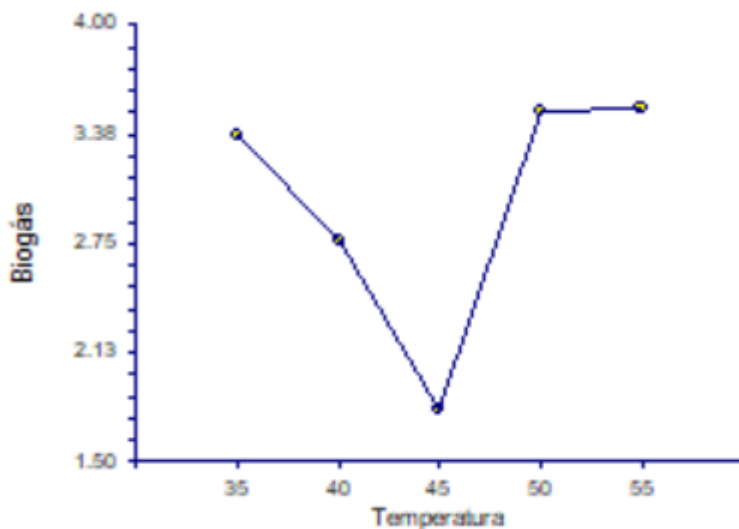


Figura 3.23 Producción de biogás promedio en las temperaturas de operación.

En la Tabla A.4 podemos observar las pruebas de comparación de medias en la producción de biogás las cuales muestran que no existe diferencia significativa en las temperaturas 35, 50 55°C que es indistinto la producción en cualquiera de estas tres temperaturas, sin embargo, en 40 y 45 °C son diferentes y se obtiene la menor producción de biogás.

Se puede observar que con la herramienta estadística Minitab 18 obtenemos los mismos resultados que en NCSS 2007, En la Tabla A.5 podemos observar que hay diferencia significativa en el porcentaje de remoción de SV al variar la temperatura de operación.

En la figura 3.24 observamos los promedios obtenidos en el porcentaje de remoción de SV, los mayores porcentajes son en 40 y 50°C los cuales presentan 52.26 y 51.87 % respectivamente.

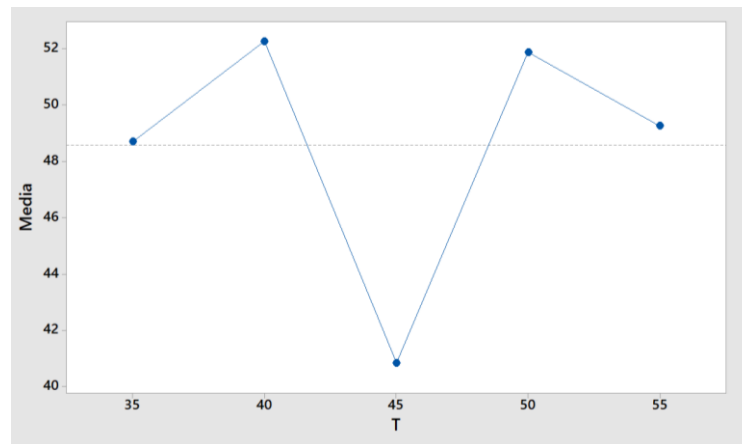


Figura 3.24 Promedios de porcentaje de remoción de SV en Minitab 18

En la Tabla A.6 observamos la prueba de comparación de medias Tukey en la cual nos confirma que no hay diferencia significativa en la remoción de SV, solo la única diferente es en la temperatura de operación a 45 °C que se obtiene la menor remoción 40.83 %.

Se observa en la Tabla A.7 el ANOVA de la producción de biogás en las diferentes temperaturas de trabajo en la cual confirma que existe una diferencia significativa al utilizar cada temperatura de trabajo.

En la Figura 3.25 se observa la producción de biogás promedio en las diferentes temperaturas de trabajo se puede confirmar que las dos temperaturas que producen mayor biogás son en 50 y 55°C 3.50 y 3.53 L/d respectivamente.

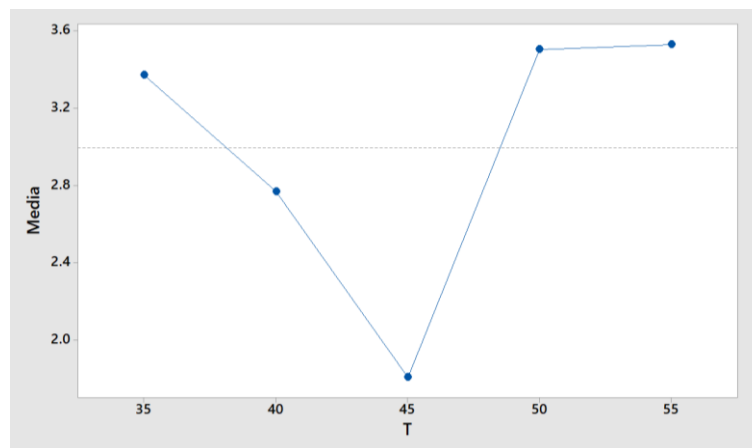


Figura 3.25 Producción promedio de biogás en diferentes temperaturas de trabajo en Minitab 18

Se observa que en la Tabla A.8 se observa la prueba de comparación de medias, que muestra que no existe diferencia significativa en la producción de biogás en las temperaturas de 35, 50 y 55 que es indistinto la producción en cualquiera de estas tres temperaturas, sin embargo, en 40 y 45 °C son diferentes y se obtiene la menor producción de biogás.

3.4.1 Conclusiones a partir de los 2 datos softwares estadísticos.

Al haber comparado estos 2 softwares estadísticos se concluye en la Tabla 3.5 que no existe diferencia significativa en el porcentaje de remoción de SV en cualquier temperatura de operación; menos en 45°C aplica para ambos estadísticos y respecto a la producción de biogás la temperatura de operación de 40 y 45°C son diferentes a las otras. Por lo tanto, con estos datos obtenidos utilizando la temperatura de operación a 55°C nos va a dar proporcionar buenos porcentajes de remoción, biogás y remoción de microorganismos patógenos de acuerdo a la Tabla.

Tabla 3.5 Comparativa de estadísticos.

Temperatura (°C)	NCSS 2007				Minitab 18			
	%Rem	Tukey	Biogás	Tukey	%Rem	Tukey	Biogás	Tukey
35	48.7	A	3.37	A	48.7	A	3.37	A
40	52.26	A	2.77	B	52.26	A	2.77	B
45	40.83	B	1.80	C	40.83	B	1.80	C
50	51.87	A	3.5	A	51.87	A	3.5	A
55	49.26	A	3.53	A	49.26	A	3.53	A

3.5 Evaluación de la biomasa tratada

La Tabla 3.6 presenta los datos obtenidos durante la caracterización del residuo porcícola, la operación en semicontinuo a 35°C y los incrementos equidistantes para la adaptación de un proceso mesofílico a termofílico.

Como podemos observar que en la operación la concentración de NTK se observó una disminución apreciable en 35 a 50°C sin embargo el Nitrógeno amoniacal aumento a de 50 y 55°C a que el residuo porcícola a temperaturas termofílicas presenta una inhibición debido a la producción de nitrógeno amoniacal (Hansen *et al.*,1998 y (Rajagopal *et al.*, 2013).

Parámetros	Residuo Porcícola Inicial	35°C	40°C	45°C	50°C	55°C
pH	7.15	7.75	7.76	7.37	7.81	8.2
Sólidos Totales (%)	3.91	2.54	2.34	2.92	2.22	2.48
Sólidos Totales Volátiles (%)	76.7729	69.13	70.50	75.60	68.22	68.68
Nitrógeno Total (gNTK/kgST)	1.59	1.24	1.05	1.18	1.06	1.12
Nitrógeno amoniacal (gNH₃/kgST)	0.59	0.39	0.35	0.28	0.54	0.71
Proteínas(%)	20.98	28.87	27.76	20.15	30.18	32.5
Coliformes fecales (NMP/gST)	2.4 x 10 ¹¹	2.4 x 10 ⁸	2.1 x 10 ⁷	7.5 x 10 ⁵	9.3 x 10 ³	700
Salmonella spp. (NMP/gST)	2.4 x 10 ⁶	2.4 x 10 ⁴	2.3 x 10 ³	900	300	3
Huevos de helminto (HH/gST)	100	97	70	55	13	0

Tabla 3.6 Evaluación de los biosólidos obtenidos.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

- Los residuos porcícolas provenientes de granjas traspatio del municipio de Córdoba, Veracruz son altamente contaminados respecto a contaminación microbiológica, se cuantificaron 100 HH / g ST lo que representa una alta contaminación para cualquier tipo de actividad agropecuaria. Además de tener un alto contenido en Coliformes fecales y Salmonella spp. de 2.4×10^{11} NMP/ g ST y 2.4×10^6 NMP/ g ST respectivamente.
-
- Se cuantifico una presencia 60% de *Trichuris suis* y 40% de *Ascaris suum*, ambos son parásitos propios del cerdo aunque en un estudio anterior se menciona de un posible brote de esta especie.
- Resultó beneficioso haber utilizado el inóculo de RSOM de la planta piloto del Instituto en una relación de 70 % v/v y 30 % residuos porcícolas para el cumplimiento del 38 % de remoción de materia orgánica de acuerdo a la NOM-004-SEMARNAT-2002 ya que en tan solo en 12.5 días cumplió dicho criterio.
- La estabilización del proceso a 35 °C se prolongó hasta aumentar la carga a 2 kg SV / m³ d (día 38-62 de operación) ya que al aumentar la temperatura hasta el rango termofílico la eficiencia de degradación es mayor, por lo tanto se utilizó esta carga para poder hacer una comparación entre los diferentes temperaturas de trabajo.
- El proceso de la digestión anaerobia termofílica es una alternativa viable para obtener lodos clasificación A de acuerdo a la norma ya que se logró inactivar los huevos de *Trichuris suis* completamente en el proceso.

- Los parámetros cinéticos del modelo de Hom reflejan la resistencia de *Trichuris suis* y *Ascaris suum* a la adaptación del proceso de la digestión anaerobia mesofílica a termofílica, pero a pesar de esto cuando se opera a temperaturas arriba de 50 °C se observa que los parásitos están siendo inactivados hasta la completa inactivación en 55 °C, obteniendo biosólidos clase A debido a que cumplen con los límites máximos permisibles de organismos patógenos en los criterios mencionados en la NOM-004-SEMARNAT-2002

RECOMENDACIONES

- ❖ Realizar una cogestión con otro residuo del sustrato porcícola con otro tipo de sustrato como: residuos de comida, RSOM o residuos de manzana Para aumentar la relación C/N y observar el comportamiento que produce este arreglo.
- ❖ Efectuar la dualidad de operación de digestión anaerobia termofílica- mesofílica de residuos porcícolas, debido que al final de la operación a 55° C el reactor comenzó a desestabilizarse debido a la acumulación de AGV.
- ❖ Realizar una identificación y mejora por medio de la manipulación genética de una especie de bacteriana para que mejore la producción de biogás.

ANEXOS

ANEXO A

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Tabla A.1 ANOVA de porcentaje de remoción en las 5 temperaturas de trabajo.

Analysis of Variance Table						
Source		Sum of	Mean		Prob	Power
Term	DF	Squares	Square	F-Ratio	Level	(Alpha=0.05)
A: Temperatura	4	1273.871	318.4678	20.69	0.000000*	1.000000
S	70	1077.435	15.39192			
Total (Adjusted)	74	2351.306				
Total	75					

* Term significant at alpha = 0.05

Tabla A.2 Pruebas de comparación de medias de porcentaje de remoción de SV.

Duncan's Multiple-Comparison Test			
Response: Remoción			
Term A: Temperatura			
Alpha=0.050 Error Term=S(A) DF=70 MSE=15.39192			
Group	Count	Mean	Different From Groups
45	15	40.83009	35, 55, 50, 40
35	15	48.69606	45
55	15	49.25889	45
50	15	51.87152	45
40	15	52.26173	45
Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test			
Response: Remoción			
Term A: Temperatura			
Alpha=0.050 Error Term=S(A) DF=70 MSE=15.39192 Critical Value=3.9600			
Group	Count	Mean	Different From Groups
45	15	40.83009	35, 55, 50, 40
35	15	48.69606	45
55	15	49.25889	45
50	15	51.87152	45
40	15	52.26173	45

Tabla A.3 ANOVA de la producción de biogás en las 5 temperaturas.

Analysis of Variance Table						
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob Level	Power (Alpha=0.05)
A: Temperatura	4	32.21695	8.054236	73.73	0.000000*	1.000000
S	70	7.647003	0.1092429			
Total (Adjusted)	74	39.86395				
Total	75					

* Term significant at alpha = 0.05

Tabla A.4 Pruebas de comparación de medias en la producción de biogás

Duncan's Multiple-Comparison Test			
Response: Biogás			
Term A: Temperatura			
Alpha=0.050 Error Term=S(A) DF=70 MSE=0.1092429			
Group	Count	Mean	Different From Groups
45	15	1.806667	40, 35, 50, 55
40	15	2.77	45, 35, 50, 55
35	15	3.370667	45, 40
50	15	3.503333	45, 40
55	15	3.529333	45, 40
Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test			
Response: Biogás			
Term A: Temperatura			
Alpha=0.050 Error Term=S(A) DF=70 MSE=0.1092429 Critical Value=3.9600			
Group	Count	Mean	Different From Groups
45	15	1.806667	40, 35, 50, 55
40	15	2.77	45, 35, 50, 55
35	15	3.370667	45, 40
50	15	3.503333	45, 40
55	15	3.529333	45, 40

Tabla A.5 ANOVA del porcentaje de remoción de SV en Minitab 18

Análisis de Varianza					
		SC			
Fuente	GL	Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
T	4	1274	318.47	20.69	0.000
Error	70	1077	15.39		
Total	74	2351			

Tabla A.6 Prueba de comparación de medias de porcentaje de remoción en Minitab 18.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%			
T	N	Media	Agrupación
40	15	52.26	A
50	15	51.87	A
55	15	49.26	A
35	15	48.696	A
45	15	40.830	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

ICs simultáneos de 95% de Tukey

Tabla A.7 ANOVA de la producción de biogás en Minitab 18.

Análisis de Varianza					
Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
T	4	32.217	8.0542	73.73	0.000
Error	70	7.647	0.1092		
Total	74	39.864			

Tabla A.8 Prueba de comparación de medias de producción de biogás en Minitab 18.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

T	N	Media	Agrupación
55	15	3.5293	A
50	15	3.5033	A
35	15	3.3707	A
40	15	2.770	B
45	15	1.8067	C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

ICs simultáneos de 95% de Tukey

**REFERENCIAS
BIBLIOGRÁFICAS**

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ahring, B. K. and Westermann, P. 1987. Thermophilic anaerobic degradation of butyrate by a Butyrate-utilizing bacterium in coculture and triculture with methanogenic bacteria. *Applied Environmental Microbiology*. **53**(2):434-439.

Ahring, B. K. and Westermann, P. 1988. Product inhibition of butyrate metabolism by acetate and hydrogen in a thermophilic coculture. *Applied Environmental Microbiology*. **54**(10):2393-2397.

Angelidaki, I., Ahring, B.K., 1994. Anaerobic thermophilic digestion of manure at different ammonia loads: effect of temperature. *Water Research* 28 (3), 727–731.

Angelidaki, I. and Ahring, B.K. 1993. Thermophilic anaerobic digestion of livestock waste: the effect of ammonia. *Applied Microbiological biotechnology*. **38**(1): 560-564.

Ahring, B. K., Sandberg, M. and Angelidaki, I. 1995. Volatile fatty acids as indicators of process imbalance in anaerobic digesters. *Applied microbiological Biotechnology*. **43**(3):559-565.

Angelidaki, I. and Ahring, B.K. 1997. Anaerobic digestion in Denmark. *Past, Lleida*.

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

APHA, AWWA and WPCF (1999) Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20th Edition, American Public Health Association, Washington DC.

Atenodoro-Alonso, J., Ruíz-Espinoza, J. E., Alvarado-Lassman, A., Martínez-Sibaja, A., Martínez-Delgadillo, S. A. y Méndez-Contreras, J. M. 2015. The enhanced anaerobic degradability and kinetic parameters of pathogenic inactivation of wastewater sludge using pre-and post-thermal treatments part 2. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, **14**(2): 311-319.

Avery, L., Anchang, K., Tumwesige, V., Strachan, N y Goude, P. 2014. Potential of pathogen reduction in anaerobic digestion and biogas generation in Sub-Saharan Africa. *Biomass and bioenergy* 70: 112-124.

- Björnsson, L., Murto, M., Mattiasson, B. 2000. Evaluation of parameters for monitoring an anaerobic co-digestion process. *Applied Microbiological Technology*. **54**(6):844-849
- Borowski, S., Domański, J., y Weatherley, L. 2014. Anaerobic co-digestion of swine and poultry manure with municipal sewage sludge. *Waste Management*. **34**(2):513–521
- Cabirol, N., Rojas, O. M. and Noyola, A. 2002b. Fecal removal of helminth eggs and coliforms by anaerobic thermophilic sludge digestion. *Water Science and Technology*. **45**(10): 264–274.
- Carrillo, L. y Audisio, M. C., 2007. Capítulo 2: Bacterías. En: L. Carrillo., ed. *Manual de microbiología de alimentos*. Jujuy, Argentina: Asociación Cooperadora de la Facultad de Ciencias Agrarias., pp. 19-30.
- Chynoweth, D.P. and Pullammanappallil, P. 1996. *Microbiology of solid waste*. A.C. Palmisano and M. A. Barlaz editors, Florida, U.S.A.
- College, R. V., 2017. RVC. [En línea] Available at: https://www.rvc.ac.uk/review/parasitology_spanish/pigEggs/Common.htm [Último acceso: 16 04 2016].
- Domínguez-Araujo, G., Galindo-Barboza, A. J., Salazar-Gutiérrez, G., Barrera-Camacho, G. y Sanchez-García, F. J. 2014. Las excretas porcinas como materia prima para procesos de reciclaje utilizados en actividades agropecuarias., México: Folleto Técnico 6.
- D.Thushari N.Wijesinghe, Kithsiri B.Dassanayake, Peter J.Scales, Sven G.Sommer, Deli Chen. 2018. Effect of Australian zeolite on methane production and ammonium removal during anaerobic digestion of swine manure, *Journal of Environmental Chemical Engineering*. **6**(1):1233-1241
- Escobar, S. I., Sánchez, L.D., Nájera, H. A., Gutiérrez, J. y Rojas, M. 2014. *Ciencia y Desarrollo*. [En línea] Available at: <http://www.cyd.conacyt.gob.mx/272/articulos/destruccion-huevos-helminthos.html> [Último acceso: 11 11 2016].
- Ferry, J. G. 1994. Methanogenesis. Ecology, physiology & genetics. Chapman & Hall. USA.
- Franke-Whittle, I.H. y Insam, H. 2013. Treatment alternatives of slaughterhouse wastes, and their effect on the inactivation of different pathogens: A review. *Critical Reviews in Microbiology*. **39**(2):139-151.

Fukuzaki, S., Nishio, N., Shobayashi, M. y Nagai, S. 1990. Inhibition of fermentation of propionate to methane by hydrogen, acetate, and propionate. *Applied and Environmental Microbiology*, **56**(3): 719-723.

Gagliano, M. C., Braguglia, C. M., Gianico, A., Mininni, G., Nakamura, K. y Rossetti, S. 2015. Thermophilic anaerobic digestion of thermal pretreated sludge: Role of microbial community structure and correlation with process performances. *Water research*, **68**:498-509.

Gerardi, M. H. 2003. The microbiology of anaerobic digesters. Wiley-interscience. USA.

Girovich, M. J. 1996. Biosolids Treatment and Management. Ed Marcel Decker, Inc . N. Y., E.U.A.

Guo, X., Wang, C., Sun, F., Zhu, W. y Wu, W. 2014. A comparison of microbial characteristics and mesophilic anaerobic digesters exposed to elevated food waste loadings. *Bioresource Technology*, **152**:420-428.

Hanaki, K., Matsuo, T y Nagase, M. 1981. Mechanism of inhibition caused by long-chain fatty acids in anaerobic digestion process. *Biotechnology and Bioengineering*. **23**:1591-1610.

Hansen, K., Angelidaki, I y Ahring, B. 1998. Anaerobic digestión of swine manure inhibition by ammonia. *Water Reserch*, **32**:5-12.

Harvey T., D., 2017. Chemistry LibreTexts. [En línea] Available at:[https://chem.libretexts.org/Textbook_Maps/Physical_and_Theoretical_Chemistry_Textbook_Maps/Map%3A_Physical_Chemistry_for_the_Biosciences_\(Chang\)/10%3A_Enzyme_Kinetics/10.2%3A_The_Equations_of_Enzyme_Kinetics](https://chem.libretexts.org/Textbook_Maps/Physical_and_Theoretical_Chemistry_Textbook_Maps/Map%3A_Physical_Chemistry_for_the_Biosciences_(Chang)/10%3A_Enzyme_Kinetics/10.2%3A_The_Equations_of_Enzyme_Kinetics) [Último acceso: 12 05 2018].

Hashimoto, A. 1983. Thermophilic and mesophilic Anaerobic Fermentation of Swine Manure. *Agricultural Wastes* **6**: 175-191.

Henze, M., Gujer, W., Mino, T., Matsuo, T., Wentzel, M. and Marais, G. 1995. Activated Sludge model n° 2. IAWQ Scientific and Technical Report n°3. Int. assoc. Water Qual. Londres.

Hernández M, C.L. 2007. Remoción de Huevos de Helminthos y Sólidos Suspendidos Totales en un Tratamiento Primario Avanzado que emplea una floculación lastrada.

Tesis de grado. Maestría en Ingeniería Ambiental. Universidad Nacional Autónoma de México

Hill, D. T., Cobb, S. A. y Bolte, J. P. 1987. Using volatile fatty acid relationships to predict anaerobic digester failure. Transactions of the ASAE. **30**(2):496-501.

Hill, D. T. y Holmberg, R. D. 1988. Long chain volatile fatty acid relationship anaerobic digestion of swine waste. Biological wastes., **23**:195-214.

Hills, D.J. y Nakano, K. 1984. Effects of particle size on anaerobic digestion of tomato solid wastes. Agricultural Wastes. **10**:285-295.

Hom, L.W. 1972. Kinetics of chlorine disinfection in an ecosystem. J. Sanit. Engrg.Div., ASCE. **98**(1): 183-193.

Hyung, S. H., Young, J.C., and Kim, Y.S. 1998. Inhibition kinetic for propionate degradation using propionate enriched mixed cultures. Water science and technology. **38**(8-9): 443-452.

INEGI, 2013. *Cría y explotación de animales en Veracruz de Ignacio de la Llave (Censo agropecuario 2007)*. México: INEGI.

Iza, J. 1995. Control del proceso anaerobio. I curs d'enginyeria ambiental. Universitat de Lleida. Lleida.

Jain, S., Jain, S., Wolf, I. T., Lee, J. y Tong, Y. W. 2015. A comprehensive review on operating parameters and different pretreatment methodologies for anaerobic digestion of municipal solid waste. Renewable and Sustainable Energy Reviews. **52**:142-154.

Jih-Gaw, L., Cheng-Nan, Ch. and Shou-Chung, Ch. 1997. Enhancement of anaerobic digestion of waste activate sludge by alkaline solubilization. Bioresource Technology., **62**: 85-90.

Lepistö, S.S. and Rintala, J.A., 1995. Thermophilic Anaerobic Digestion of the Organic Fraction of Municipal Solid Waste: Start-Up with Digested Material from a Mesophilic Process. Environmental Technology. **16**(2): 157-164.

Leva, M. R. y de Mier, A., 2016. Proyecto biósfera. [En línea] Available at: <http://recursos.cnice.mec.es/biosfera/alumno/1ESO/clasica/contenidos12.htm> [Último acceso: 14 03 2016].

López E, L. A. 2009. Tratamiento ácido y alcalino para inactivación de huevos de helmintos presentes en lodos fisicoquímicos de origen agroindustrial. Tesis de grado. Maestría en Ingeniería Ambiental. Universidad Veracruzana.

López R. Hánica M y Romero C. Flor de M. 2015. “Prevalencia de nematodos gastrointestinales en cerdos de traspatio de la comunidad Jorge Barreto del municipio Larreynaga-Malpaisillo, León, Nicaragua en el mes de abril 2015”. Tesis de grado. Médico Veterinario. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León.

Luna, H. R. G. y Guyot, P. J. 1990. Arranque de un reactor anaerobio con lodos adaptados como inóculo y un influente industrial de la industria agroalimenticia (ingenio azucarero). Reporte técnico realizado en el laboratorio de microbiología ambiental Depto. Biotecnología, UAM-I.

Mandigan, M. T., Martinko, J. M. y Parker, J. 1998. Biología de los microorganismos. Edit. Prentice Hall International (UK) Ltd.lo

Méndez J. M., Jimenez, B. y Maya C. 2004. Disinfection kinetics of pathogens in physicochemical sludge treated with ammonia. *Water Science and Technology*. **50**(9): 67-47.

Metcalf & Eddy 2003. *Wastewater Engineering: Treatment and Reuse*. 4th Edition, McGraw-Hill.

Molina, L.J y Uribarren, B.T. 2015. Generalidades de bacterias. Departamento de microbiología y parasitología. Recursos en bacteriología. Facultad de medicina. UNAM. <http://www.facmed.unam.mx>

Moset, V., Poulsen, M., Wahid, R., Højberg, O., y Møller, H. B. 2015. Mesophilic versus thermophilic anaerobic digestion of cattle manure: Methane productivity and microbial ecology. *Microbial Biotechnology*. **8**(5): 787–800.

Moset, V., Bertolini, E., Cerisuelo, A., Cambra, M., y Olmos, A. 2014. Start-up strategies for thermophilic anaerobic digestion of pig manure. *Energy*. **74**:389-395

Murillo E, M. 2016. Determinación de parámetros cinéticos en la inactivación de *Trichuris suis* y remoción de compuestos orgánicos a nivel planta piloto. Tesis de grado. Maestría en Ciencias en Ingeniería Química. Instituto Tecnológico de Orizaba.

Nava V, N. 2011. "Evaluación de estrategias de alto desempeño para la digestión anaerobia termofílica de lodos residuales". Tesis de grado. Maestría en Ciencias en Ingeniería Química. Instituto Tecnológico de Orizaba.

Nielsen, B. and Petersen, G. 2000. Thermophilic anaerobic digestion and pasteurization. Practical experience from Danish wastewater treatment plant. *Water Science and Technology*. **42**(9): 65-72.

Norma Oficial Mexicana nmx-aa-52-1985. Protección al ambiente- contaminación del suelo-residuos sólidos municipales-preparación de muestras en el laboratorio para su análisis. diario oficial de la federación.

Norma Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002. Protección ambiental. Lodos y biosólidos. Especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final. Diario Oficial de la Federación.

Noyola, A., and Tinajero, A. 2005. Effect of biological additives and micronutrients on the anaerobic digestion of physicochemical sludge. *Water Science and Technology*. **52**(1-2):275–281.

Obregón C, J. 2015. Efecto de la administración de huevos de *Trichuris suis* en la reparación del tejido intestinal y producción de citocinas en un modelo murino de colitis. Tesis de grado. Maestría en Ciencia Animal.

Pavlostathis, S.G. y Giraldo-Gómez, E. 1991. Kinetics of anaerobic treatment: a critical review. *Critical reviews in environmental control*. **21**(5-6):411-490.

Peláez, D., Guzmán, B., Rodríguez, J., Acero, F. y Nava, G. 2016. Presencia de virus entéricos en muestras de agua para el consume humano en Colombia: desafíos de los sistemas de abastecimiento. *Biomédica* **36** (Supl.2):169-178.

Popat, S. C., Yates, M. V., Deshusses, M. A. 2010. Kinetics of inactivation of indicator pathogens during thermophilic anaerobic digestion. *Water Research*, **44**(20), 5965–5972.

Puerta-García, A., y Mateos-Rodriguez, F. 2010. Enfermedades infecciosas. *Medicine*, **10** (51):3426-3431.

Rajagopal, R., Massé, D. y Singh, G. 2013. A critical review on inhibition of anaerobic digestion process by excess ammonia. *Bioresource Technology*, **144**:632-641.

- Rendón, J. A. 2007. Evaluación de la digestión anaerobia mesofílica y termofílica para la producción de biosólidos a partir de lodos residuales combinados generados en una planta de tratamiento de aguas residuales. Tesis de grado. Maestría en Ciencias en Ingeniería Química. Instituto Tecnológico de Orizaba.
- Sánchez, J. M. 2002. Etiología y epidemiología de la ascariosis porcina. *Mundo Ganadero*. **06**:1-10.
- Siegrist, H., Renggli, D. y Gujer, W. 1993. Mathematical modelling of anaerobic mesophilic sewage sludge treatment. *Water Science and Technology*. **27**(2):25-36.
- Skillman, L. C., Bajsa, O., Ho, L., Santhanam, B., Kumar, M., y Ho, G. 2009. Influence of high gas production during thermophilic anaerobic digestion in pilot-scale and lab-scale reactors on survival of the thermotolerant pathogens *Clostridium perfringens* and *Campylobacter jejuni* in piggery wastewater. *Water Research*, **43**(13):3281–3291.
- Solís-López, M. 2009. Inactivación de huevos de *Ascaris suum* presentes en agua mediante el proceso de fenton y con luz UV. Tesis de maestría. UNAM. México.
- Stams, A. J. M. 1994. Metabolic interactions between anaerobic bacteria in methanogenic environments. *Antoine Van Leeuwenhoek*. **66**: 271-294.
- Tian, Z., Zhang, Y., Li, Y., Chi, Y., Yang, M. 2015. Rapid establishment of thermophilic anaerobic microbial community during the one-step startup of thermophilic anaerobic digestion from a mesophilic digester. *Water Research*. **69**: 9–19.
- Tzun-Wen Shaw, G., Liu, A. C., Weng, C. Y., Chou, C. Y., & Wang, D. 2017. Inferring microbial interactions in thermophilic and mesophilic anaerobic digestion of HOG waste. *PLoS ONE*, **12**(7): 1–22.
- Vejzagic, N., Thamsborg, S. M., Kringel, H., Roepstorff, A., Bruun, J. M. y Kapel, C. M. O. 2015. In vitro hatching of *Trichuris suis* eggs. *Parasitol Res.***114**: 2705-2714.
- Zhang, T., Mao, C., Zhai, N., Wang, X., Yang, G. 2015. Influence of initial pH on thermophilic anaerobic co-digestion of swine manure and maize stalk. *Waste Management*. **35**:119–26.