

SISTEMA EN CONTINUO DE DOS FASES- HIDRÓLISIS ACIDOGÉNESIS Y
ACETOGÉNESIS METANOGÉNESIS DE LA FRACCIÓN ORGÁNICA DE LOS
RESIDUOS SÓLIDOS URBANOS

LIGIA PATRICIA ARENAS BELTRAN

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE INGENIERIAS FISICOQUÍMICAS
ESCUELA DE INGENIERIA QUIMICA
BUCARAMANGA

2012

SISTEMA EN CONTINUO DE DOS FASES- HIDRÓLISIS ACIDOGÉNESIS Y
ACETOGÉNESIS METANOGÉNESIS DE LA FRACCIÓN ORGÁNICA DE LOS
RESIDUOS SÓLIDOS URBANOS

LIGIA PATRICIA ARENAS BELTRAN

Proyecto de grado presentado como requisito para optar al título de Magister en
Ingeniería química

Director

pH.D. Humberto Escalante Hernández

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE INGENIERIAS FISICOQUÍMICAS
ESCUELA DE INGENIERIA QUIMICA
BUCARAMANGA

2012

A mi Dios,

A Enrique por su comprensión y amor

A mis hijos monica, diego y camilo los tesoros de mi vida

A mis padres victoria y pablo (en memoria),

y a todas las personas que me apoyaron para alcanzar esta meta.

AGRADECIMIENTOS

A mi director, doctor Humberto Escalante Hernández, por su orientación, dedicación y amistad.

A la doctora Marianny Yajaira Combariza, directora del CEIAM y al equipo de trabajo del CEIAM por el apoyo para la realización de esta investigación.

Al grupo de estudiantes de la Unidades Tecnológicas de Santander por la colaboración en el desarrollo de mi investigación.

TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCION	12
1. MARCO TEÓRICO.....	17
1.1 DIGESTION ANAEROBIA	17
1.2 PARÁMETROS DE OPERACIÓN QUE AFECTAN LA DA.....	27
1.3 VARIABLES DE OPERACIÓN EN REACTORES PARA LA DA	31
1.4 REACTORES Y SISTEMAS COMERCIALES PARA DA	37
2. DESARROLLO EXPERIMENTAL	40
2.1 PRE-TRATAMIENTO DEL SUSTRATO	42
2.2. SELECCIÓN DE LOS INÓCULOS	44
2.3 PUESTA EN MARCHA DE LA DA PARA FORSU.....	45
2.4 OPERACIÓN EN CONTINUO	47
2.4.1 Evaluación de la etapa hidrolítica en el reactor R1.....	47
2.4.2 Evaluación de la etapa metanogénica en el reactor R2.....	47
2.4.3 Evaluación de la etapa metanogénica en el reactor R3.....	48
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	49
3.1 PRETRATAMIENTO DEL SUSTRATO.....	49
3.2 ADAPTACIÓN DEL INOCULO	51
3.3 PUESTA EN MARCHA DE LA DA PARA FORSU.....	52
3.4 REACTORES EN OPERACIÓN EN CONTINUO PARA DA DE FRSSOU	59
CONCLUSIONES	69
BIBLIOGRAFIA	71

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Poblaciones de Microorganismos en la DA.....	17
Tabla 2. Energía libre para oxidaciones anaerobias realizadas por bacterias acetogénicas.....	23
Tabla 3. Reacciones de la etapa metanogénica	25
Tabla 4. Grupos de microorganismos y sus preferencias de aceptor, donador de electrones y fuente de carbón.....	26
Tabla 5. Clasificación de los reactores	34
Tabla 6. Reactores según el mecanismo de retención de biomasa.....	35
Tabla 7. Sistemas comerciales de Digestión anaerobia	38
Tabla 8. Producción de biogás en algunas plantas instaladas	39
Tabla 9. Parámetros y técnicas analíticas para la caracterización del sustrato	44
Tabla 10. Condiciones experimentales reactor hidrolítico R1.	47
Tabla 11. Parámetros de seguimiento de proceso de DA para la FORSU	48
Tabla 12. Caracterización fisicoquímica de la FORSU	49
Tabla 13. Caracterización Fisicoquímica de los inóculos.....	51
Tabla 14. Conteos microbiológicos reportados.....	57

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representación esquemática de la DA [26].....	19
Figura 2. Diagrama del proceso para la DA del FORSU con CSTR en la etapa metanogénica	41
Figura 3. Diagrama del proceso para la DA del FORSU con columna lecho fijo en la etapa metanogénica.....	41
Figura 4. Etapas para el desarrollo del proceso DA para FORSU en operación en continuo.	42
Figura 5. pH y Composición del biogás etapa de arranque (R1)	53
Figura 6. pH y composición del biogás en R2 periodo de arranque.....	54
Figura 7. Composición del biogás y pH en R3 periodo de arranque.....	55
Figura 8. Relación de AGV/Alcalinidad en R2 y R3	57
Figura 9. Comportamiento de los AGV en R1 a diferentes FVCO	59
Figura 10. pH en R1 para diferentes FVCO.....	59
Figura 11. Porcentaje de Remoción de AGV para diferentes FVCO	60
Figura 12. Comportamiento del CH ₄ para las diferentes FVCO.....	61
Figura 13. AGV en R1 operación en continuo	62
Figura 14. pH en R1 operación en continuo	63
Figura 15. AGV en los reactores metanogénicos R2 y R3.....	64
Figura 16. pH en los reactores metanogénicos R2 y R3.....	64
Figura 17. DQO en los reactores R1, R2 y R3.....	66
Figura 18. Porcentaje de remoción de la DQO en los reactores R2 y R3.....	66
Figura 19. Porcentaje de CH ₄ en R2 y R3	67

RESUMEN

TITLE: SISTEMA EN CONTINUO DE DOS FASES- HIDRÓLISIS ACIDOGÉNESIS Y ACETOGÉNESIS METANOGÉNESIS DE LA FRACCIÓN ORGÁNICA DE LOS RESIDUOS SÓLIDOS URBANOS*

AUTOR: LIGIA PATRICIA ARENAS**

PALABRAS CLAVES: digestión anaerobia, bioreactores, ácidos grasos volátiles, metanogénica, hidrolítica, acetogénica

RESUMEN

En este estudio se estudio un sistema en continuo de digestión anaerobia para los residuos municipales compuestos por frutas y verduras. La evaluación se llevo a cabo en dos configuraciones de reactores. El sistema I fue diseñado por dos reactores de lecho suspendido (CSTR) para la etapa hidrolítica y para la etapa metanogénica. El sistema II fue conformado por un reactor de lecho suspendido para la etapa hidrolítica y un reactor de lecho empacado para la etapa metanogénica. El sistema I mostro inestabilidad en el pH y baja producción de metano (0.23 ± 0.03 ICH₄/l/día), mientras que el sistema II mantuvo un mejor comportamiento del pH, mejor consumo de Ácidos Grasos Volátiles AGV y mayor producción de metano 0.58 ± 0.05 ICH₄/l/día comparado con el Sistema I.

El mejor rendimiento del sistema II fue debido principalmente a la retención de biomasa y por consiguiente a tiempos de retención celular más altos adicionalmente la Inmovilización de la biomasa permite una mejor respuesta del reactor a sobrecargas y/o a los compuestos orgánicos tóxicos. Los resultados obtenidos para la DA en dos fases en continuo fueron acorde con los resultados reportadas en otras investigaciones evaluados con base en la producción de metano y la estabilidad del proceso.

* Proyecto de grado

** Universidad Industrial de Santander, Facultad de ingenierías fisicoquímicas, Escuela de Ingeniería química, Director: PhD. Humberto Escalante

ABSTRAC

TITLE: TWO-STAGE ANAEROBIC SYSTEM HYDROLYSIS, ACIDOGENESIS AND ACETOGENESIS AND METHANOGENESIS FOR ORGANIC FRACTION MUNICIPAL WASTES TREATMENT*

AUTHORS: LIGIA PATRICIA ARENAS**

KEYWORDS: Anaerobic digestion; Anaerobic digestion; Bioreactors performance, methanogenic, Hydrolytic, acidogénesis, acidogénesis.

DESCRIPTION

This study reports a two-stage continuum system for fruit and vegetable municipal wastes (FVMW) anaerobic digestion. The evaluation was carried out testing two configurations: System I was designed by a suspended-bed reactor for hydrolytic stage and other suspended-bed reactor for methanogenic stage, and System II was formed by a suspended-bed reactor for hydrolytic stage and other fixed-bed reactor for methanogenic stage. System I showed instability pH and low methane production (0.23 ± 0.03 ICH₄/l/day), whereas system II showed stable pH, volatile fatty acids (VFA) adequate consumption and good methane production of 0.58 ± 0.05 ICH₄/l/day. Bacterial attachment to the ceramic support surface in the fixed-bed reactor leads to formation a biofilm in system II, in fact increase the methane production. For these reasons the system II is the most advisable configuration for the anaerobic digestion to FVMW.

These processes differ especially in the way that microorganisms are retained in the bioreactor, and the separation between the acidogenic and the methanogenic bacteria which reduce the anaerobic digestion limitations. Methanogenic bacteria may have long mass doubling times in anaerobic reactors and this makes it very difficult to obtain in a short time, acting reactors without retaining most of the biomass are normally washed out with the effluent. Thence it is possible to conclude that separation phase between two groups of micro-organism involved in anaerobic digestion it is necessary to improve the yield of total process

* Project of Degree

** University Industrial of Santander, Faculty of Enginy Fisicoquimicas, School de Enginy Chemistry, Director: PhD. Humberto Escalante

INTRODUCCIÓN

En el mundo se están generando cerca de 1600 millones de t/año de Residuos Sólidos Urbanos (RSU) de los cuales, el 43% provienen de Asia y Oceanía, el 28% en Norte-América y la Unión Europea [1]. En latinoamérica la producción de RSU asciende a 118 millones t/año. En Colombia según datos de la Superintendencia de Servicios Públicos Domiciliarios la generación de RSU en cabeceras municipales para el año 2000 tuvo una producción per cápita de 0,721 kg/ha/día; mientras que para el año 2004 fue de 0,716 kg/hab/día. La producción de RSU es función de la actividad productiva, la explosión demográfica y la calidad de vida en cada región, por lo tanto tiene relación directa con el desarrollo social y el paso del tiempo.

La gestión de los RSU se puede llevar a cabo mediante alternativas tecnológicas como: la pirolisis, el compostaje, la gasificación, la incineración, el relleno sanitario y la digestión anaerobia de baja y alta concentración de sólidos [2]. Cada una de estas tecnologías posee ventajas y desventajas como solución única al tratamiento de los RSU. Una opción general para el tratamiento de los RSU es el desarrollo y manejo conjunto de diferentes tecnologías. Los RSU en Colombia están compuestos principalmente por materia orgánica 56,44%, plástico 12,22% y residuos peligrosos 6,88% [3]; en la mayoría de los países latinoamericanos el contenido de la Fracción Orgánica de los Residuos Sólidos Urbanos (FORSU), oscila entre un 40 – 75% [4].

La Digestión Anaerobia (DA) es una de las tecnologías más eficientes para el tratamiento de la FORSU, en este proceso por acción microbiana los compuestos orgánicos son solubilizados e hidrolizados en sus compuestos sencillos y en Ácidos Grasos Volátiles (AGV) y estos a su vez en metano y dióxido de carbono. Como productos de la DA se obtiene la recuperación de energía y un biosólido con

buenas características para ser utilizado como acondicionador de suelos [5, 6, 7, 8]. Adicionalmente el uso de la DA permite la reducción en el volumen de residuos que son dispuestos en los rellenos sanitarios [9].

La DA requiere del metabolismo coordinado de los grupos microbianos involucrados en el proceso. Cuando la DA se realiza en una sola etapa, la producción de AGV es más rápida que su tasa de conversión a metano, debido a que la velocidad de crecimiento de las bacterias fermentadoras es mayor en comparación con la velocidad de las acetogénicas y las metanogénicas. Por lo anterior los ácidos acumulados conllevan a la caída del pH y consecuentemente a la inhibición de la metanogénesis [10].

Las primeras investigaciones en DA de FORSU se realizaron utilizando residuos de frutas y verduras en reactores Batch [11]. En estos procesos se presentó inhibición por la acumulación de AGV y la caída del pH. Posteriormente el mismo grupo de investigadores demostraron que la fermentación era estable a valores de pH entre 6,8 y 7,6; sin embargo se observó inhibición de las bacterias metanogénicas en Tiempo de Retención Hidráulico (TRH) menores a 12 días [12].

Durante el proceso de DA en una etapa, los consorcios microbianos responsables de la hidrólisis, la acidogénesis, la acetogénesis y la metanogénesis establecen un equilibrio simbiótico que genera el comportamiento global del sistema y por consiguiente una determinada conversión de carbono orgánico a metano [10]. La modificación de este equilibrio a través de la alteración de las etapas, por medio de su separación, genera la posibilidad de establecer condiciones operacionales que optimicen cada una de ellas y busquen el mejoramiento del proceso global [5].

Los TRH de sistemas de DA en una etapa se han establecido en valores hasta de 18 días, que desde el punto de vista operacional a gran escala es una tecnología robusta. Sin embargo, la diversidad de FORSU, relacionados con su origen,

composición y período de producción, sugieren la necesidad de un tratamiento específico para cada tipo de residuo. Por lo que inicialmente la hidrólisis de cada sustrato puede ser realizada en digestores separados con el fin de obtener el mejor rendimiento de la fermentación de los RSU; de manera que el efluente de los digestores de licuefacción se pueda dirigir hacia procesos de desnitrificación, desfosforización o metanización según sea el caso [13].

En la evaluación de la etapa hidrolítica - acidogénica en la FORSU uno de los principales problemas es la heterogeneidad del sustrato, esto ha llevado a los investigadores a realizar estudios para sustratos específicos, es decir sustratos representativos de las grasas, carbohidratos y proteínas.

La DA en dos etapas ofrece ventajas significativas sobre los procesos convencionales de una etapa, especialmente cuando los microorganismos son retenidos en cada reactor, generando la posibilidad de establecer condiciones operacionales que disminuyan los tiempos de arranque del sistema y la especialización de la microbiota, permitiendo la obtención de una mayor cantidad de productos deseados en cada etapa del proceso [14; 5; 7; 8; 9; 15; 16; 17].

Uno de los factores críticos para la estabilidad de los reactores anaerobios, durante el tratamiento de la FORSU, es lograr mantener una población de bacterias metanogénicas suficientes (debido a los largos tiempos de duplicación, arrastre de biota activa en los efluentes, sobrecargas e inhibición) que garantice una alta producción de metano y la calidad del efluente. De otra parte los bajos TRH no permiten que los microorganismos metanogénicos alcancen a convertir rápidamente los AGV como lo hacen las bacterias acetogénicas.

La aplicación de la tecnología anaerobia depende del desarrollo y uso de reactores anaerobios y está determinada por variables que tienen influencia directa en el metabolismo de las bacterias, la cinética de las reacciones

involucradas en la digestión anaerobia y el diseño del reactor [18, 19, 20]. Para mejorar la velocidad de reacción por unidad de volumen del reactor se han probado diferentes configuraciones como: CSTR, reactor tubular, UASB y filtros anaerobios y formas de operación en batch, semicontinuo y continua en una etapa y en dos etapas. Los tipos de reactores utilizados difieren especialmente en la forma como los microorganismos son retenidos y en la separación entre las bacterias acidogénicas y metanogénicas. Por otra parte la inmovilización de la biomasa incrementa la estabilidad del sistema y la resistencia a cargas tóxicas [21]. Operar los digestores a altas temperaturas produce tasas de digestión más rápidas, TRH más cortos, menores volumen de reactor y eficiente destrucción de patógenos [22]. Sin embargo procesos anaerobios realizados en el rango termofílico demandan un costo energético y son menos estables a sustancias inhibitoras por sustrato o por producto.

Las poblaciones de un reactor metanogénico dependen principalmente del sustrato y de las condiciones operacionales. Cuando el sustrato tiene una alta carga de AGV estos tienden a disminuir el pH [23]. En un reactor anaerobio una inestabilidad puede llevar a una acumulación de AGV, los cuales causan una caída en el pH (acidificación). Sin embargo, no siempre la acumulación de AGV se manifiesta como una caída del pH debido a la capacidad buffer que tienen cierto tipo de residuos.

Uno de los inhibidores más común para el proceso anaerobio es el amoníaco. La concentración de amoníaco en el reactor es producto de la descomposición de nitrógeno que tiene el sustrato, depende de la temperatura y del pH; el cual determina el grado de ionización y la concentración del amoníaco libre. La DA puede ser adaptada para tolerar una concentración de amoníaco libre de 800 mg-N/L. Los niveles de inhibición por amoníaco libre tienen una fuerte dependencia del grado de aclimatación del inóculo. Otros inhibidores son también los altas

concentraciones de ácidos de cadena larga como el oleato y el estearato y algunos metales [22].

Por lo anterior, la DA puede ser una excelente alternativa tecnológica para el tratamiento de la FORSU, dando lugar a la generación de energía a partir de la producción de compuestos que son más amigables con el ambiente. La DA permite reducir la emisión de gases efecto invernadero, en comparación con procesos de incineración y rellenos sanitarios. Sin embargo la DA está limitada por el bajo crecimiento de los microorganismos anaerobios, los elevados tiempos de residencia y los grandes volúmenes de equipamiento. Por consiguiente se requiere para el tratamiento FORSU desarrollar la tecnología de DA, de forma que haga posible establecer condiciones operacionales que disminuyan los tiempos de operación del sistema y la especialización de la microbiota en cada reactor; permitiendo la obtención de una mayor cantidad de productos deseados en cada etapa del proceso. Una de las alternativas tecnológicas, para mejorar el rendimiento en operación en continuo de la DA, es realizar el proceso separando la etapa hidrolítica - acidogénica de la etapa acetogénica - metanogénica.

Por lo anterior en este trabajo de investigación se definió como objetivo principal realizar la DA de la FORSU mediante un diseño de proceso en continuo de dos etapas, con el fin de garantizar la mejor bioconversión de este tipo de residuo; a bajos TRH y con mayor estabilidad del pH. El diseño en dos etapas de la DA involucra el desarrollo de dos configuraciones de reactores, uno para la etapa hidrolítica - acidogénica y otro para la etapa acetogénica - metanogénica. Así mismo, la segunda etapa requiere la evaluación de un material soporte, que garantice la adherencia de la microbiota para incrementar la estabilidad del sistema y su resistencia a cargas tóxicas y de esta manera mantener la estabilidad del proceso.

1. MARCO TEORICO

En este capítulo se presentan las bases conceptuales y el estado del arte que permiten abordar la investigación planteada, se describen los conceptos generales de las etapas de la digestión anaerobia, los microorganismos y rutas metabólicas principales así como las condiciones de operación relacionadas y los tipos de reactores y sustratos que han sido estudiados.

1.1 DIGESTION ANAEROBIA

La Digestión Anaerobia (DA) es un proceso biológico en el cual la materia orgánica es metabolizada en un ambiente libre de oxígeno o de otros precursores (ejemplo H_2O_2) a gas metano y dióxido de carbono. La DA puede considerarse como un ecosistema en donde diversos grupos de microorganismos trabajan juntos en la conversión de la materia orgánica en metano, dióxido de carbono, sulfuro de hidrógeno, amoníaco, y nuevas células bacterianas. En Tabla 1 se muestra las poblaciones de microorganismos que participan en la DA

Tabla 1. Poblaciones de Microorganismos en la DA

Grupos	Cell/mL
Hidrolíticas	$10^8 - 10^9$
Proteolíticas	10^7
Celulíticas	10^5
Hemicelulíticas	$10^6 - 10^7$
Acetogénicas productoras de hidrógeno	$10^8 - 10^9$
Homoacetogénicas	10^6
Metanogénicas	$10^5 - 10^6$
Reductoras de sulfato	10^2

Fuente: [24]

Los procesos anaerobios son clasificados como fermentaciones o respiración dependiendo del tipo de receptor de electrones, los cuales son eliminados del donante primario y transferidos a transportadores de electrones intracelulares. Todos los seres vivos capturan energía desprendida de las reacciones de oxidación-reducción [25]. Los procesos químicos en la célula son; el catabolismo que es el conjunto de procesos de oxidación de sustratos o uso de luz solar con el fin de obtener energía y del anabolismo que incluye la síntesis de componentes celulares a partir de fuentes de carbono. El catabolismo suministra la energía requerida para el anabolismo, el movimiento y otros procesos que tienen lugar en la célula y el metabolismo es la suma de estos.

En la fermentación anaerobia, la materia orgánica actúa como donador y aceptor de electrones y es catabolizada en ausencia de un aceptor de electrones externos por anaerobios estrictos o facultativos a través de un equilibrio interno en reacciones de oxidación-reducción. El sustrato es solo parcialmente oxidado y por tanto, sólo una pequeña cantidad de la energía almacenada en el sustrato se conserva. La mayor parte del Adenosín Trifosfato (ATP) o de la energía se genera a través de fosforilación del sustrato. De otra parte la respiración requiere de donadores de electrones externos, los electrones aceptores de electrones pueden ser CO_2 , SO_4^{2-} , o NO_3 . Cuando el CO_2 acepta los electrones es reducido a CH_4 .

En la DA la transformación de macromoléculas complejas como proteínas, carbohidratos (polisacáridos) y lípidos en metano y dióxido de carbono es realizada a través de etapas metabólicas realizadas por varios grupos de microorganismos.

La DA ocurre a través de cuatro etapas y en ellas intervienen diversos grupos tróficos anaerobios facultativos y anaerobios estrictos, los cuales utilizan en forma secuencias los productos metabólicos generados en cada una de las fases. En la

Figura 1 se ilustra esquemáticamente las etapas y los principales grupos de bacterias que están involucradas en la DA.

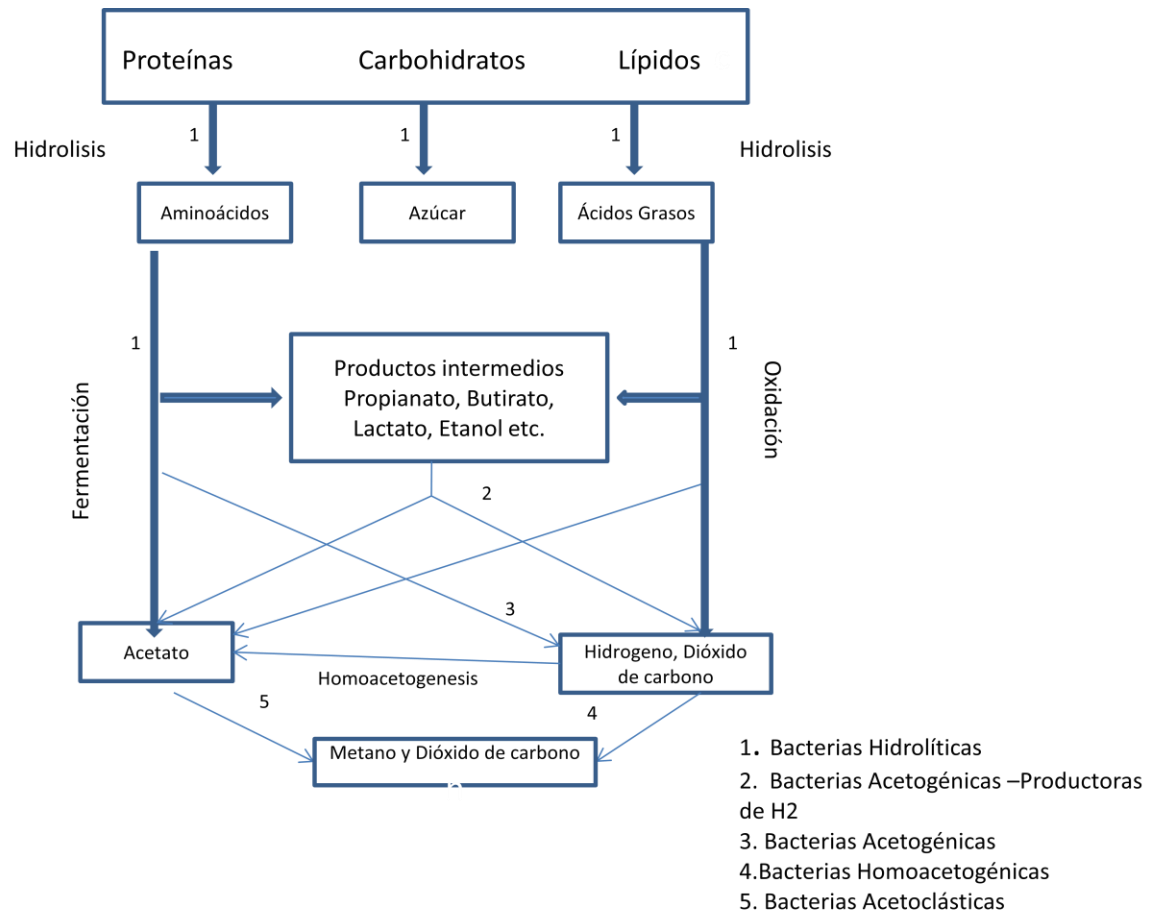


Figura 1. Representación esquemática de la DA [26]

Hidrólisis. En esta etapa los compuestos orgánicos conformados de los tres tipos básicos de macromoléculas: carbohidratos, lípidos y proteínas son transformados en productos solubles simples como aminoácidos, azúcares y ácidos grasos de cadena larga y glicerol, por la acción de enzimas extracelulares llamadas hidrolasas excretadas por las bacterias fermentativa [10]. La materia orgánica polimérica no puede ser utilizada directamente por los microorganismos a menos

que se hidrolice en compuestos solubles, que puedan pasar a través de la membrana celular.

En los residuos sólidos orgánicos los polisacáridos más comunes que se encuentran son la celulosa, la hemicelulosa, el almidón y la pectina, los cuales normalmente están en los cereales y los tubérculos. Los polisacáridos son carbohidratos de alto peso molecular constituidos por un gran número de monómeros unidos por enlaces covalentes con orientación α o β y con las mismas unidades poliméricas, pero con propiedades funcionales diferentes.

La celulosa está constituida por regiones fibrosas altamente organizadas (región cristalina) que alternan con regiones amorfas menos organizadas unidas a través de enlaces β -1-4 glucosídicos. El rompimiento de los enlaces de la celulosa se lleva a cabo mediante la acción de enzimas extracelulares celulasas y su degradación depende del estado en el que se encuentre en los residuos. El rompimiento de los enlaces del almidón y la pectina (enlaces α 1-4) es realizado por acción de amilasas y pectinas los cuales son enzimas de la mayoría de microorganismos [26].

Cuando la celulosa se encuentra incrustada en una matriz de lignina, esta impide el acceso de las celulasas a las fibras de celulosa. Por el contrario, si la celulosa está en forma cristalina, las celulasas pueden atacar fácilmente y como consecuencia la hidrólisis puede ser un proceso rápido [10, 27, 28].

En la hidrólisis de las proteínas las proteasas son las encargadas de producir péptidos de cadena corta y aminoácidos que son rápidamente fermentados a ácidos orgánicos, amonio y CO_2 . Los Aminoácidos producidos son degradados a ácidos grasos volátiles, dióxido de carbono, hidrógeno, amonio y sulfuro reducido. Generalmente la tasa de hidrólisis de la proteína es menor que la de los carbohidratos [10, 29].

Los lípidos (polímeros de ácidos grasos unidos a una molécula de glicerol mediante un enlace éster) son degradados por un grupo de enzimas hidrolíticas (lipasas) en los correspondientes ácidos grasos de cadena larga y moléculas de glicerol, galactosa y colina; los cuales son fermentados a ácidos grasos volátiles por acción de las bacterias fermentativas [10, 29].

Para sustratos complejos con altos contenido de sólidos y lípidos, como lodos de PTAR, estiércol de animal y residuos de alimentos, la hidrólisis se convierte en la etapa limitante de la DA, debido fundamentalmente a la disponibilidad de superficie para la absorción de las enzimas hidrolíticas. Entre las principales estrategias utilizadas para la reducción del tamaño de partícula se encuentran los pretratamientos físico-químicos, los cuales conducen al aumento de la tasa de hidrólisis y por consiguiente a la disminución en los tiempos de retención [30, 15, 26, 28].

La digestión anaerobia de los residuos sólidos requiere de un balance entre la tasa de hidrólisis y la tasa de metanogénesis, debido a que las bacterias metanogénicas son más sensibles a la acumulación de ácidos grasos y la correspondiente caída del pH provocando la acidificación del sistema. La tasa de hidrólisis y la velocidad del proceso dependen de factores tales como el pH, la temperatura, la composición del sustrato, el tiempo de retención hidráulica, el tamaño de partícula y la concentración de productos [10, 29].

Acidogénesis. En esta etapa los productos resultantes de la hidrólisis son degradados principalmente a una mezcla de AGV ($C > 2$), hidrógeno, alcoholes y dióxido de carbono por efecto de una población microbiana heterogénea. Este amplio y diverso grupo de bacterias fermentativas se caracteriza por presentar tasas de crecimiento superiores a las bacterias metanogénicas, que pueden provocar en corto tiempo la acidificación en los reactores anaerobios [29, 31, 32, 33, 27].

Los ácidos grasos volátiles que se forman principalmente son el acético, el propiónico y butírico. En esta etapa las bacterias han asimilado los compuestos producidos en la hidrólisis y se encuentran en proporciones relativas variables que dependen de las condiciones ambientales y de la naturaleza del sustrato, de igual manera como varían ampliamente los productos dependiendo de las condiciones de digestión, el material original y de los microorganismos activos y las proporciones entre los productos de la fermentación varían en función del consumo de H_2 por parte de las bacterias acetogénicas y las bacterias metanogénicas [34, 35]. Cuando el H_2 es eliminado de forma eficiente las bacterias fermentadoras no producen compuestos reducidos como el etanol, favoreciendo la producción de H_2 y la liberación de energía en forma de ATP [10, 29].

En la DA en dos fases; en la primera fase los azúcares se convierten en una mezcla de butirato, acetato, propionato, etanol, CO_2 y H_2 , mientras que para DA en una fase el acetato, H_2 y CO_2 son los productos principales de las bacterias productoras de ácido. En la práctica, solo el acetato está presente como intermedio en la digestión de la mezcla de un reactor de una sola etapa, porque el H_2 es removido efectivamente por las bacterias metanogénicas. Otro aspecto importante a tener en cuenta en la etapa de acidogénesis es la formación de NH_3 , de la degradación de aminoácidos que en altas concentraciones es tóxico para las bacterias y afecta la capacidad pH-buffer del medio.

Acetogénesis. En esta etapa los AGV junto con el etanol se convierten en ácido acético, hidrógeno y dióxido de carbono por las bacterias acetogénicas. Durante esta etapa intervienen las Bacterias Acetogénicas Productoras Obligadas de Hidrógeno (OHPA) y las bacterias homoacetogénicas .

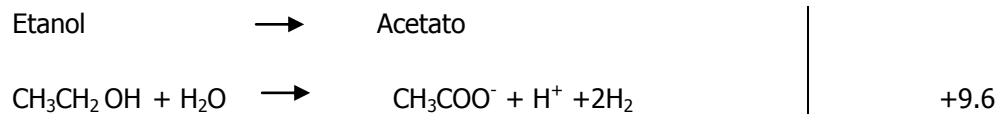
Las bacterias acetogénicas productoras de hidrogeno metabolizan los ácidos orgánicos C3 o superior (propionato, butirato, etc.), el etanol, y algunos

compuestos aromáticos (benzoato) en acetato, CO₂ e H₂. Son bacterias sintróficas obligadas, las cuales necesitan asociarse a microorganismos consumidores de hidrógeno como las bacterias metanogénicas hidrogenofílicas o sulfatorreductoras, debido a que el hidrógeno que producen genera inhibición en su crecimiento bacterial. A esta relación, que permite mantener un balance energético favorable en el sistema se le conoce como transferencia interespecífica de hidrógeno, aunque la transferencia de formato también ha sido considerada como un posible mecanismo. La actividad de las bacterias acetogénicas depende de la concentración de H₂, siendo posible sólo a valores muy bajos de presión parcial de H₂ [36, 37, 34, 38, 27].

Las bacterias homoacetogénicas son anaerobias obligadas y utilizan el CO₂, como aceptor final de electrones, produciendo acetato como único producto de la fermentación anaerobia [37, 34]. Los rendimientos energéticos (ΔG°) de todas las conversiones realizadas en la etapa acetogénica son positivos. Esto significa que la presencia o ausencia de H₂ afectará el rendimiento energético de la reacción. En la Tabla 2 se presentan algunos valores de energía libre para las reacciones de oxidación del propianato, butirato, benzoato y etanol realizadas por bacterias acetogénicas productoras de hidrogeno en condiciones estándar.

Tabla 2. Energía libre para oxidaciones anaerobias realizadas por bacterias acetogénicas

REACCIÓN		ΔG° (KJ/mole)
Propianato	→ Acetato	
CH ₃ CH ₂ COO ⁻ + 3H ₂ O	→ 3CH ₃ COO ⁻ + H ⁺ + HCO ₃ ⁻ + 3H ₂	+76.1
Butirato	→ Acetato	
CH ₃ CH ₂ CH ₂ COO ⁻ + 2H ₂ O	→ 2CH ₃ COO ⁻ + H ⁺ + 2H ₂	+48.1
Benzoato	→ Acetato	
CH ₃ CH ₂ CH ₂ CO ₂ ⁻ + 7H ₂ O	→ 3CH ₃ COO ⁻ + 3H ⁺ + HCO ₃ ⁻ + 3H ₂	+53



Fuente: (41). H_2 en forma gaseosa y los otros compuestos en solución acuosa a 1 mol/kg; 25°C

En una digestión anaerobia estable, las condiciones de las reacciones son controladas por la concentración de propianato, acetato e hidrógeno libre, donde las concentraciones de acetato y propianato oscilan entre 10^{-4} y 10^{-5} molar y las presiones parciales de hidrógeno son inferiores a 10^{-4} atmósferas. Cuando la transferencia de hidrogeno no ocurre, el metabolismo de las bacterias fermentativas se desplaza hacia una mayor producción de compuestos reducidos como el etanol, el lactato, el propianato, el butirato, etc.

Metanogénesis. Consiste en la conversión principalmente del ácido acético hasta metano; mediante la acción de bacterias metanogénicas consideradas las más importantes dentro del consorcio de microorganismos anaerobios, ya que son los responsables de la formación de metano y de la eliminación de los productos intermedios producidos durante la digestión anaerobia. Desde un punto de vista metabólico, la formación de metano es un tipo de respiración anaerobia en la cual, el dióxido de carbono actúa como aceptor de electrones y el hidrógeno es utilizado para reducirlo. El 72% del metano proviene de la descarboxilación del ácido acético y el otro 28% de la reducción del CO_2 . [40].

La formación de metano se lleva a cabo por distintos mecanismos. El primero es la formación de metano a partir de CO_2 y H_2 por microorganismos del grupo de Bacterias Metanogénicas Hidrogenofílicas (BMH_2) que obtienen la energía a través de la oxidación del hidrógeno y el formato en presencia de dióxido de carbono que actúa como aceptor de electrones, por esta vía se produce aproximadamente el 30% del metano generado en un reactor. Al consumir el hidrógeno producido, las BMH_2 mantienen una baja presión parcial de hidrógeno entre 10^{-4} a 10^{-6} atm (< 10

Pa), lo cual es necesario para el funcionamiento de las bacterias acetogénicas productoras obligadas de H₂, regulando la velocidad global de la producción de ácidos por las bacterias acidogénica, y la composición de la mezcla formada [38, 44, 42, 33].

El segundo mecanismo es la producción de metano a partir de acetato, llevada a cabo por microorganismos del grupo de Bacterias Metanogénicas Acetoclasticas (BMA), que crecen muy lentamente, con un tiempo de duplicación de menos 2-3 días, se encuentran dos géneros representativos; Methanosarcina sp y Methanotrix sp, y Methanosarcina sp [41, 36, 43, 44, 45]. Se estima que por esta vía se produce el 70% del total de metano generado en un reactor. En la Tabla 3 se presentan las principales reacciones que ocurren en la etapa metanogénica.

Tabla 3. Reacciones de la etapa metanogénica

Reacción	ΔG^0 (kJ/mol)
$\text{CH}_3\text{CO}_2^- + \text{H}^+ \rightarrow \text{CH}_4 + \text{CO}_2$	-36
$\text{CH}_3\text{OH} + \text{H}_2^+ \rightarrow \text{CH}_4 + \text{H}_2\text{O}$	-113
$\text{CO}_2 + 4\text{H}_2 \rightarrow \text{CH}_4 + 2 \text{H}_2\text{O}$	-131
$\text{HCO}_2^- + \text{H}^+ + 3\text{H}_2 \rightarrow \text{CH}_4 + 2 \text{H}_2\text{O}$	-134
$\text{HCO}_3^- + \text{H}^+ + 4\text{H}_2 \rightarrow 9 \text{CH}_4 + 3 \text{CO}_2 + 4 \text{NH}_3$	-136

Fuente: [48].

El grupo de microorganismos que generan el metano desde el acetato se llaman acetotróficas o metanogénicas acetoclasticas. El metano remanente es generado por el H₂ y CO₂ por la metanogénicas hidrogenotróficas. Los microorganismos anaerobios, especialmente los metanogénicos son altamente vulnerables a las condiciones ambientales, por lo cual requiere el monitoreo y mantenimiento

cuidadoso de factores como: Temperatura, concentración de nutrientes, pH, toxicidad y condiciones redóx óptimas.

Algunos anaerobios como los homoacetogénicos también usan el CO_2 como aceptor de electrones [47]. El sulfato en ambiente anaerobio es reducido por un grupo especializado de Bacterias Sulfato Reductoras (BRS), el H_2S es característico de ambientes en los cuales el sulfato actúa como aceptor de electrones.

Cuando el NO_3 actúa como aceptor de electrones se reduce a gas nitrógeno en procesos de desnitrificación o anoxico-desnitrificación. Las bacterias involucradas en este proceso son las llamadas bacterias nitrificantes. En Tabla 4 se presentan los grupos de microorganismos y sus preferencias de aceptor, donador de electrones y fuente de carbón.

Tabla 4. Grupos de microorganismos y sus preferencias de aceptor, donador de electrones y fuente de carbón

Microorganismos		Aceptor de electrones	Donador de electrones	Fuente de carbono
<i>Bacteria productoras de metano</i>	<i>Acetoclasticas</i>	Acetato	Acetato	Acetato
	<i>Hidrogenotroficas</i>	CO_2	CO_2	CO_2
<i>Bacterias nitrificantes</i>	<i>Heterotroficas</i>	NO_3^- , NO_2^-	C. orgánico	C. orgánico
	<i>Autotroficas</i>	NO_3^- , NO_2^-	S^0 o H_2	CO_2
	<i>Acetoclasticas</i>	SO_4^{2-}	Acetato	Acetato
<i>Bacterias sulfato reductoras</i>	<i>Hidrogenotroficas</i>	SO_4^{2-}	H_2	CO_2
	<i>Oxidación del amonio</i>	NO_2^-	NH_4^+	CO_2

Fuente: [50].

1.2 PARÁMETROS DE OPERACIÓN QUE AFECTAN LA DA

Temperatura. Se han reportado DA a rangos de temperatura de: Psicrófilico 5–15°C, Mesófilico 35–40°C y Termófilico 55°C, sin embargo el intervalo más utilizado en los reactores anaerobios para el tratamiento de residuos sólidos es el mesófilico (39°C), aunque en la actualidad existe una fuerte tendencia a utilizar el tratamiento termófilico debido a ventajas como; capacidad para tratar altas cargas, cortos tiempos de retención, baja producción de lodos y destrucción de agentes patógenos. Sin embargo, el tratamiento termófilico puede presentar problemas de estabilidad en los reactores y generar un efluente de baja calidad comparado con el proceso mesófilico [29, 49, 50].

Existe dependencia de la temperatura con la velocidad de utilización del sustrato; la actividad biológica se duplica por cada 10°C de aumento con respecto a su valor óptimo dado que a medida que aumenta la temperatura se incrementa la actividad metabólica de las bacterias y en consecuencia se produce una disminución en los tiempos de retención [51, 49].

Se recomienda que los tratamientos anaerobios se diseñen para operar con cambios de temperatura que no exceden entre 1,6 y 1,2 °C [52]. Por consiguiente los sistemas a gran escala presentan deterioro en su funcionamiento cuando la temperatura varían entre 2 a 3°C, atribuido a factores como mezcla, limitaciones de difusión de sustrato y estratificación en el reactor [53].

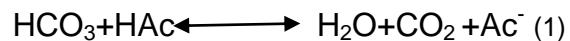
Alcalinidad y pH. Hay dos grupos de bacterias en términos de pH, las productoras de ácido (acidogénicas) y las productoras de metano (metanogénicas). Las bacterias acidogénicas se desarrollan mejor a valores de pH entre 5,5 - 6,5; mientras que las bacterias metanogénicas presentan mayor actividad en el rango de 7,8 - 8,2. En ambientes donde se desea la coexistencia

tanto las bacterias acidogénicas como las metanogénicas el pH debe estar entre 6,8 y 7,4., con un valor óptimo cercano al neutro.

Los bajos pH son frecuentemente causados por la acumulación de AGV y/o excesiva generación de dióxido de carbono. Una de las primeras opciones para resolver este problema es reducir la velocidad de carga orgánica volumétrica. Una vez el exceso de ácidos grasos es retirado el pH del reactor vuelve a su normalidad. El pH también puede ser controlado a través de la adición de químicos.

Una alta capacidad buffer (alcalinidad) permite mitigar los cambios de pH en el sistema. Procesos de digestión estables son regulados por la alcalinidad producida por el sustrato. Algunos compuesto que contienen alto nitrógeno orgánico (proteínas) pueden contribuir a la alcalinidad sin embargo compuesto ricos en carbohidratos (almidón, cebada, papa, melaza) que carecen de nitrógeno no aportan alcalinidad al sistema y requieren adición de sustancias que suplan este déficit.

Cuando inicia la acumulación de los AGV estos son neutralizados por la alcalinidad presente en el reactor y se mantiene a pH estable con la siguiente reacción



La reducción de la alcalinidad va acompañada con la generación de dióxido de carbono. Esta pérdida de alcalinidad y generación de CO₂ ocasiona el decrecimiento del pH [55]. Para valores de CO₂ menores del 10% la alcalinidad es de 250 mg/L de CaCO₃ es suficiente para mantener el pH en valores cercano a 6.8. El CO₂ puede exceder los valores del 30% dependiendo de las características del sustrato. Cuando la alcalinidad alcanza los 1000 mg/l de CaCO₃ es necesario

mantener el pH superior a 6.8. Normalmente la alcalinidad varía entre 1000 y 5000 mg/l de CaCO_3 . En algunos casos es necesario adicionar bicarbonato de sodio, amonio, hidróxido de potasio para tener el pH en el reactor [54].

El valor y la estabilidad del pH en un reactor anaerobio es un parámetro extremadamente importante ya que la metanogénesis se lleva a cabo cuando este se mantiene en valores cercanos a la neutralidad (6.8 y 7.2). Los desequilibrios entre la producción y el consumo de los ácidos grasos volátiles en los reactores anaerobios conducen al descenso del pH, produciéndose la acidificación del reactor. La disminución del pH trae como resultado la inhibición de las poblaciones metanogénicas y por consiguiente una disminución en la producción de metano, aumento del contenido de dióxido de carbono y el sulfuro de hidrógeno. Muchos aspectos del metabolismo microbial son ampliamente influenciados por variaciones del pH, entre los cuales se encuentran, la utilización de fuentes de carbono y energía, la eficiencia en la degradación del sustrato, la síntesis de proteínas y la liberación de productos metabólicos de la célula. A pesar de esto, el pH no se considera una variable de control óptima, ya que se requiere de un tiempo considerable para detectar una variación importante del mismo en el sistema [55, 31, 56, 57].

Requerimientos nutricionales de la DA. La DA requiere de macronutrientes (nitrógeno y fósforo) y micronutrientes (trazas de minerales) para la síntesis de nueva biomasa. Las cantidades de nitrógeno y fósforo pueden ser calculadas asumiendo la fórmula empírica de la bacteria anaerobia ($\text{C}_5\text{H}_7\text{O}_2\text{N}$) [58].

La masa celular contiene el 12% de nitrógeno, cerca de 12 gramos de nitrógeno son necesarios para producir 100 gramos de biomasa. La cantidad de fósforo necesario es $1/7$ a $1/5$ de la demanda de nitrógeno. Esto significa que cerca del 10% de la materia orgánica removida (0,10 Kg de SSV/ Kg de DQO removido) es utilizado para síntesis celular. La relación mínima teórica de DQO/N/P es 350:7:1

para cargas entre (0,8 y 1,2 kg de DQO/KgSSVdía) y 1000:7:1 para cargas menores de 1,5 KgDQO/KgSSVdía [59].

El Nitrógeno y el Fosforo junto con los nutrientes trazas son esenciales para los microorganismos anaerobios. Entre los metales están: Hierro, Cobalto, Molibdeno, Selenio, Calcio, Magnesio, Sulfuro de Zinc, Cobre, Manganeso, Tungsteno, Boro, Vitamina B₁₂.

Los principales nutrientes requeridos por los microorganismos anaerobios para su desarrollo y crecimiento, son el carbono (C) y el nitrógeno (N). Sin embargo, si el contenido de nitrógeno es muy alto, la reproducción de las bacterias se inhibe debido a la alta alcalinidad. Lo ideal es una relación C/N de 20:1 a 30:1; una relación menor de 8:1 inhibe la actividad bacteriana por el excesivo contenido de amonio. El proceso microbiológico no solo requiere de estos nutrientes, sino que también deben estar presentes en un cierto equilibrio otros minerales como el azufre, el fósforo, el potasio, el calcio, el magnesio, el hierro, el magnesio, el zinc, el selenio, entre otros [29, 31].

Toxicidad e inhibición. Los microorganismos anaerobios pueden ser inhibidos por sustancias presentes en el sustrato y/o por los subproductos metabólicos, el amonio, algunos metales pesados, compuestos halogenuros, los cianuro y el fenol son ejemplo de sustancias que ingresan al reactor en el sustrato mientras que el amonio, los sulfito y los ácidos grasos volátiles son inhibidoras por producto. Algunos microorganismos son capaces de degradar compuestos recalcitrantes y refractarios orgánicos [60].

En general la velocidad de crecimiento bacteriano aumenta con la concentración de sustrato, sin embargo, a concentraciones altas un sustrato pueden resultar tóxicos o inhibidor para la actividad microbiana. Los fenómenos de antagonismo y sinergismo también están en función de la concentración. El antagonismo es la

reducción del efecto tóxico de un sustrato en presencia de otro y el sinergismo es el aumento de la toxicidad de una sustancia causada por la presencia de otra. La formación de complejos resulta, también, fundamental. Si una sustancia no está en solución, no puede penetrar dentro de la célula, y por tanto no podrá afectar el metabolismo del organismo. La magnitud del efecto tóxico de una sustancia puede minimizarse por la aclimatación de los microorganismos al tóxico; durante este proceso las bacterias logran reorganizar las rutas metabólicas que han sido bloqueadas por la presencia del material tóxico [29, 30].

Potencial de oxido reducción (ORP). Morris [63] reportó que para obtener el crecimiento de las bacterias anaerobias estrictas en cualquier medio los valores de ORP debían mantenerse entre - 200 a - 300 mV en pH de 7. Las bacterias metanogénicas requieren ambientes con valores menores de -400 mV [62, 63].

1.3 VARIABLES DE OPERACIÓN EN REACTORES PARA LA DA

La selección de un apropiado tipo de reactor es un parámetro crítico para la producción de energía y/o subproductos deseados y maximizar el metabolismo de los microorganismos presentes en el proceso. La eficiencia de los reactores metanogénicos se relaciona con el contacto entre la masa bacteriana y el efluente a tratar [64]. Es importante seleccionar una configuración de reactor que separe el Tiempo de Retención Hidráulico TRH del Tiempo de Retención de Sólidos TRS y mantenga una alta relación TRS/TRH para prevenir pérdidas en la actividad de la biomasa, otras consideraciones a tener en cuenta incluyen: el tipo de residuo (sólido, líquido o gaseoso), productos de inhibición, limitaciones en la transferencia de masa entre otros.

Los principales factores de operación que influyen en los procesos de digestión anaerobia son: flujo de carga orgánica, producción de biomasa, utilización del

sustrato, TRH y el TRS, tiempo de arranque, poblaciones presentes de microorganismos y configuración del sistema.

Flujo volumétrico de Carga Orgánica (FVCO). Es uno de los factores más importante para el diseño de los reactores y depende de la biomasa, del sustrato a tratar y de la cinética del proceso. Los procesos anaerobios se caracterizan por manejar altas cargas volumétricas orgánicas. Los reactores para el tratamiento de agua residual generalmente tratan cargas entre 10 a 40 kg DQO/m³.dia, sin embargo reactores de lecho fluidizado en ocasiones pueden exceder los 100 kg DQO/m³.dia.

La FVCO está dada por la siguiente expresión

$$FVCO = \frac{c_i Q}{V} \quad (2)$$

Donde:

- Ci: Concentración de Demanda Química de Oxígeno (DQO) o de Sólidos Volátiles (SV) de entrada (mg/l)
- Q: Flujo volumétrico (m³/día)
- V: Volumen del reactor (m³)

Producción de biomasa. Es la medida del crecimiento celular en el sistema. El término que representa la producción de biomasa es el coeficiente de producción (Y) la expresión matemática que la representa es:

$$Y = \frac{\Delta X}{\Delta S} \quad (3)$$

ΔX : Incremento de la concentración de biomasa (mg SSV/L)

ΔS : Decrecimiento en la concentración del sustrato (mg DQO/L)

La producción de biomasa por mol de ATP es de 10,5 gr de Sólidos Suspendidos Volátiles (SSV) para ambos procesos aerobios y anaerobios [59]. Sin embargo cuando se considera los procesos metabólicos aerobios la generación por ATP es de 38 mol, mientras que para anaerobio es solo de 4 mol de ATP /mol de glucosa, siendo la producción de biomasa considerablemente más baja comparada con los procesos aerobios.

Actividad Biológica Específica (ABE). Indica la habilidad de la biomasa para utilizar el sustrato. Los procesos anaerobios presentan ABE en un rango de 0,75 - 1,5 Kg DQO/Kg SSV día, siendo el doble que en los procesos aerobios. Henze *et al.*, [59] reportó valores de 1,0 Kg DQO/Kg SSV día, asumiendo que el 50% de los SSV eran activos La actividad biológica específica está representada por:

$$ABE = \frac{Kg\ DQO\ removido}{Kg\ SSV.dia} \quad (4)$$

Tiempo de Retención Hidráulico (TRH) y Tiempo de Retención de Masa (TRS). El TRH corresponde al tiempo que permanece el residuo en contacto con la biomasa dentro del reactor. El TRH se expresa como el volumen del reactor sobre el flujo volumétrico de entrada. Dependiendo de la composición del sustrato (azúcares, lignina, celulosa y hemicelulosa) TRH presenta valores altos o bajos; ya que este depende de la velocidad metabólica de los microorganismos.

El TRS es una medida de la capacidad biológica del sistema para lograr las especificaciones del efluente. Operar un reactor con elevados TRS produce un funcionamiento más estable, mejor tolerancia a sobrecargas y/o carga tóxica y una rápida recuperación de la toxicidad. La carga permisible en un reactor es también dada por el TRS.

El TRH es un factor decisivo en el diseño del proceso de tratamiento de los contaminantes orgánicos complejos y lentamente degradable, mientras que el TRS lo es para los compuestos orgánicos fácilmente degradables [63]. Elevados TRH requieren volúmenes de reactor mas grandes con altos costos para el proceso. No obstante hay una amplia variedad de reactores en los que se tienen altos TRS debido a la inmovilización o aglomeración de la biomasa y cortos TRH. Todo reactor anaerobio requiere de un tiempo inicial de arranque, que garantice la aclimatación de la biomasa y la estabilidad del sistema.

A partir de los años 70 se desarrollaron nuevas configuraciones de reactores y se demostró que la eficiencia de remoción de los procesos anaerobios eran comparables con los procesos aerobios. En términos generales, se registraron tres generaciones en los cuales fue mejorando el contacto entre la biomasa y el sustrato y por ende se disminuyo los tiempos de retención hidráulico. En la Tabla 5 se presenta una de las primeras clasificaciones de los reactores anaerobios

Tabla 5. Clasificación de los reactores

Reactores de 1 ^a Generación	Reactores de 2 ^a Generación	Reactores de 3 ^a Generación
Tanque Séptico	Filtro Anaerobio	Reactor Anaerobio de lecho fluidizado
Tanque Imhoff	Reactor Anaerobio de lecho expandido y Flujo Ascendente (UASB)	Reactor Anaerobio de Lecho Expandido
Lagunas Anaerobias		
Reactor Convencional de mezcla continúa CSTR.		
Reactor Anaerobio de Contacto		

Fuente: Bezama et al., [66]

Los reactores de primera generación tienen TRH mayores de 30 días, actualmente son poco utilizados. Los reactores de segunda y tercera generación tienen

independiente el TRH del TRS e incorporan elementos para mejorar el contacto entre la materia orgánica y la biomasa [67, 68] como:

- Aumentar la concentración de la biomasa en el reactor mediante la recirculación de los lodos separados en el sedimentador secundarios.
- Fijar biomasa a un soporte de material inerte (carbón, grava, plástico, etc) con gran área superficial para el desarrollo de la biopelícula.
- Desarrollar un granulo cuyas características de sedimentación y actividad metanogénica permitan el desarrollo de todos los grupos bacterianos involucrados en el proceso de digestión anaerobia.

En la DA la capacidad de retención de biomasa es importante para la selección del tipo de reactor; debido a que el crecimiento de los microorganismos metanogénicos es muy lento. En la Tabla 6 se presentan los tipos de reactores anaerobios según el mecanismo de retención de biomasa.

Tabla 6. Reactores según el mecanismo de retención de biomasa

Tipo de reactor	Mecanismo de retención de biomasa
Filtros anaerobios, contactor rotatorio anaerobio, reactor de flecho expandido o fluidizado	Sistemas de inmovilización de biomasa Microorganismos atrapados en un medio de soporte (Plástico, arena, grava, carbón activado) para formar biofilm.
UASBR, reactor de lecho granular, reactor secuencial btch, reactor de baffles.	Formación de floc o granulación. Microorganismos aglomerados formando gránulos y flocs que se asientan en el reactor
Reactores de contacto, clarificadores	Recirculación de la biomasa. Sólidos suspendidos altos que se recirculan al reactor. Los microorganismos son atrapados en los sólidos, a través de la formación de flocs
Bioreactor de membrana anaerobia	Retención de biomasa Membranas para retención de biomasa

Fuente. Bezama et al., [66]

Para sistemas con sustratos que poseen alto contenido de sólidos, se dificulta separar el TRH del TRS. En estos casos es frecuente utilizar reactores de mezcla completa en los cuales el TRH es igual al TRS.

CSTR. La geometría y el funcionamiento de este digestor es similares a los reactores químicos de este tipo, con la diferencia de que los esfuerzos cortantes generados por la agitación debe ser reducido considerablemente para evitar el daño en la actividad microbiológica. El sustrato y efluente se introduce y retira de forma continua.

En este tipo de reactores la agitación puede ser mecánica o mediante la recirculación de los gases producidos. La característica básica del reactor CSTR es que las concentraciones de sustrato y los microorganismos sean las mismas siempre, de manera que el Tiempo de Retención Celular (TRC) sean igual al tiempo de retención hidráulico (TRH). Las cargas orgánicas más comunes en estos reactores son del orden de 1 a 10 gDQO/Ldía para un TRH de 20 a 30 días

Filtros anaerobios. Son reactores que tienen depósitos llenos de un material soporte inerte (piedra, plástico, cerámica, etc.), también llamada la cama, que permanece inmóvil, en el que los microorganismos crecen tanto en los espacios vacíos como en la superficie del material soporte en donde forma una capa de biofilm en la superficie, proporcionando así una alta retención de la biomasa en el reactor, es deseable que el material inerte tenga una gran superficie por unidad de volumen, lo que favorece la fijación de una mayor cantidad de biomasa [69] tipo de relleno utilizado es un factor determinante en cuanto a la viabilidad de este sistema, ya que debe ser ligero e inerte, poseen grandes superficies que tienen gran cantidad de huecos y se la reducción de costos [70].

1.4 REACTORES Y SISTEMAS COMERCIALES PARA DA

En la Tabla 7 se presenta una revisión de las diferentes tecnologías y sistemas comerciales de digestión anaerobia a escala industrial existentes y emergentes en países como Japón, Suiza, España, Austria, Alemania, Francia, China, Italia Bélgica [71].

Tabla 7. Sistemas comerciales de Digestión anaerobia

Desarrollo Industrial para DA	N° de plantas ¹	Capacidad miles (t/año) ²	N° de etapas		Sólidos Totales		Temperatura	
			1	2	< 20 %	> 20 %	35 °C	55 ° C
AAT	8	3 a 55	x		x		x	
ArrowBio	4	90a 180		x	x		x	
BTA	23 ⁴	1 a 150	x	x	x		x	x
Biocel	1	35	x			x	x	
Biopercolat	1	100		x		x	x	
Biostab	13	10a 90	x		x			x
DBA-Wabio	4	6a 60	x		x		x	
DRANCO	17	3a 120	x			x		x
Entec	2	40a 150	x		x		x	
Haase	4	50a 200		x	x		x	x
Kompogas	38	1a 110	x			x		x
Linde-KCA/BRV	8	15a 150	x	x	x	x	x	x
Preseco	2	24a 30						
Schwarting-Uhde	3	25a 87.6		x	x			x
Valorga	22	10a 270	x			x	x	x
Waasa	10+	3a 230	x		x		x	x

Fuente: Nichols [71].

¹ Incluye plantas en funcionamiento o en proyecto, RSU, residuos de cocina, comida residuos, desechos de jardín, o residuos verdes.

² Toneladas métricas.

³ Plantas instaladas que utilizan los servicios de la empresa y / o componentes

Plantas típicas a escala industrial presenta producciones de biogás entre 0,10 a 0,15 m^3/kg de residuo húmedo, en estos sistemas el biogás contiene del 50% al 70% de metano por volumen. En la Tabla 8 se muestran algunos reportes de literatura que indica el funcionamiento de los digestores en términos de producción de biogás por peso de sustrato seco tratado.

Tabla 8. Producción de biogás en algunas plantas instaladas

Referencia	Planta	Localización	Promedio de producción de Biogás(L/g SV)
[72]	Valorga	Francia	0,144
		Países bajos	0,93
		Alemania	0,127
[73]	Valorga	Italia	0,18
		Italia	0,60
		Francia	0,145
		Países bajos	0,92
		Alemania	0,126
	Dranco	Alemania	0,147
		Bélgica	0,103
		Austria	0,135
[74]	BTA (wet process)	Alemania	0,92
[75]	Kompogas	Suiza	0,9
	ISKA	Alemania	0,40
Overall Average			0,112

Fuente: [71].

2. DESARROLLO EXPERIMENTAL

En este capítulo se presenta la metodología empleada para la digestión anaerobia de la FORSU haciendo énfasis en la descripción de las pruebas experimentales, las variables de operación y las configuraciones de los reactores utilizados.

La DA de los FORSU se realizó en dos etapas utilizando dos reactores CSTR para la hidrolítica y dos configuraciones para la metanogénica, un CSTR y una columna empacada. En la etapa hidrolítica los reactores CSTR (R1) se construyeron a volumen de 30 litros (volumen de trabajo de 24 litros), en acero inoxidable, de 30 centímetros de diámetro interno y 38,5 centímetros de altura. Estos reactores se acondicionaron con; un agitador helicoidal de tornillo sinfín, resistencia eléctrica para el calentamiento, control y registro de temperatura y válvulas para la alimentación, toma de muestras y salida de gases.

En la etapa metanogénica el CSTR (R2) se diseñó y construyó con iguales características de los reactores utilizados en la etapa hidrolítica. La columna lecho fijo (R3) se construyó en acero inoxidable con una capacidad de 9 litros (1,45 m de altura y 4 pulgadas de diámetro) y operación a flujo descendente mediante un plato distribuidor de flujo con 24 orificios para asegurar la uniformidad. El sistema de empaque de esta columna consistió en un arreglo de ocho (8) canastillas donde se ubicó el material de soporte [76]. Se utilizó ladrillo cerámico como soporte para R4 [77]. En la Figura 2 y Figura 3 se presenta el diagrama del proceso para la DA del FORSU.

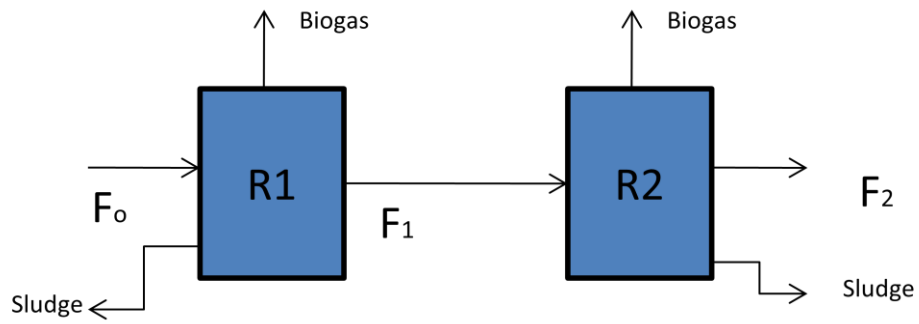


Figura 2. Diagrama del proceso para la DA del FORSU con CSTR en la etapa metanogénica

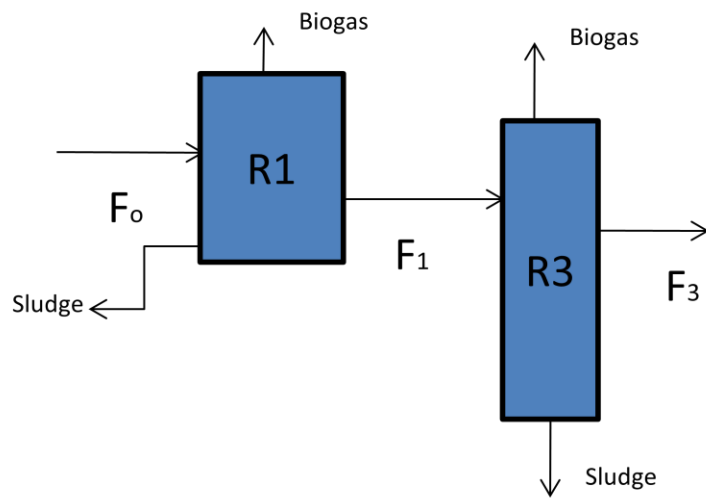


Figura 3. Diagrama del proceso para la DA del FORSU con columna lecho fijo en la etapa metanogénica.

Las etapas metodológicas utilizadas para el desarrollo del presente trabajo se esquematizan en la Figura 4.

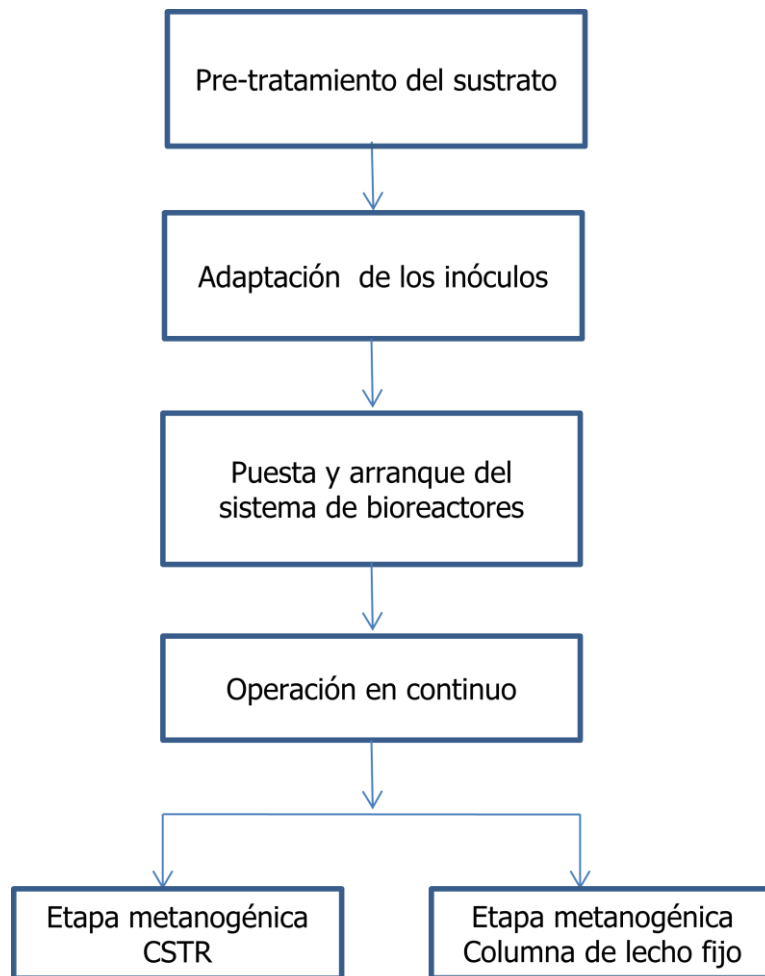


Figura 4. Etapas para el desarrollo del proceso DA para FORSU en operación en continuo.

2.1 PRE-TRATAMIENTO DEL SUSTRATO

De los residuos orgánicos que llegan a los vertederos de las ciudades, una fracción importante la constituyen los residuos de las plazas de mercado; por lo anterior en el presente trabajo se optó por utilizar como sustrato este tipo de residuo. Estos residuos orgánicos son derivados principalmente de los desechos de frutas y verduras producidos en grandes cantidades en los supermercados o plazas de mercado y tiene alta humedad lo cual garantiza biodegradación [78, 79].

En los países latinoamericanos la fracción orgánica de los residuos urbanos es del 40 al 75% [79]; en el caso concreto de Bucaramanga estos oscilan entre el 40 al 80% [80].

El sustrato fue tomado de los sitios de preparación de alimentos de la plaza de mercado de la Bucaramanga, de forma que representara los hábitos de alimentación de la población. La toma de la muestra de residuos se realizó de acuerdo al protocolo del laboratorio del Centro de Estudios e Investigaciones ambientales CEIAM – UIS. Las muestras se trasladaron al laboratorio y se mantuvieron preservadas a 4 °C.

Con el objeto de incrementar la superficie disponible del sustrato, durante la hidrólisis, el residuo fue mezclado y triturado para reducir su tamaño de partícula a valores menores a 10 mm [81, 82]. Se ha comprobado que la velocidad de producción de metano es inversamente proporcional al tamaño de las partículas, sustratos como la glucosa tienen mayor degradación (29%) al disminuir su tamaño de 840 hasta 350 μm [83]. Materiales ricos en fibras de difícil digestión (lignina) cuyo limitante es la velocidad de hidrólisis la reducción mecánica de tamaño es un parámetro eficaz para mejorar el potencial de producción de biogás. La celulosa y hemicelulosa son mucho más accesibles a la síntesis enzimática representada por la presencia de glucosa o azúcares metabolizables [84, 85, 821, 82, 86, 87, 88].

En la Tabla 9 se muestra los parámetros y técnicas para la caracterización de los residuos

Tabla 9. Parámetros y técnicas analíticas para la caracterización del sustrato

Parámetros	Unidades	Técnica	Norma ASTM
Densidad real	kg/m ³		Standard Methods 2520C
Humedad	%	Gravimétrica	NTC 35
Sólidos Totales (ST)	mg/L %p/p	Gravimétrica	Standard Methods 2540 B
Sólidos Volátiles (SV)	mg/L %p/p	Gravimétrica	Standard Methods 2540 E
Carbono Organico Total	%p/p	Combustión Infrarroja	Standard Methods 5310B
Nitrogeno Total	%p/p	Kjeldahl	Standard Methods 4500
Potasio	%p/p	Absorción atómica	Standard Methods 4500K
Fosforo	%p/p	Espectrofotometro	Standard Methods 4500-P
Celulosa	%p/p	Gravimétrica-Libre de Extraibles	Klason
Hemicelulosa	%p/p	Gravimétrica-Libre de Extraibles	Kurschnel y Hoffer
Lignina	%p/p	Gravimétrica-Libre de Extraibles	Standard Methods 5550B
Cenizas	%p/p		AOAC 7009-84.94205/90

2.2. SELECCIÓN DE LOS INÓCULOS

Para los reactores hidrolíticos se seleccionó como inóculo (Mezcla) una mezcla compuesta de un lodo proveniente de una Planta de Tratamiento de Aguas residuales PTAR y un lodo proveniente de un biodigestor porcicola PIG, en proporción 1:1 (v / v) [9].

El inóculo seleccionado proviene de procesos anaerobios y por ende se espera tenga una elevada actividad metanogénica y una población microbiana suficiente. Estas características permiten disminuir los tiempos de retención hidráulica de los

reactores anaerobios que normalmente son elevados por la baja tasa de crecimiento de los microorganismos que ocasiona problemas operacionales que dificultan el arranque y la puesta en marcha de los reactores anaerobios.

En el caso de los reactores metanogénicos estos fueron inoculados con una cepa de bacterias metanogénicas seleccionada del inóculo de los reactores hidrolíticos que fue previamente aislada y bioaumentada en laboratorio (Mezcla-A). El bioaumento fue realizado en un tubo de ensayo al cual se adiciono caldo Tioglicolato y se sembró el microorganismo metanogénico aislado (500 ml durante 15 días a 38°C). Posteriormente la mezcla fue llevada a un reactor de 20 litros que contenía agua residual esterilizada (40% v/v), melaza (6% v/v), de ácido acético (1% v/v), de solución de vitaminas de complejo B, ácido fólico, macroelementos y microelementos (0,001% v/v). El inóculo en los reactores hidrolíticos y metanogénicos fue el 16,7% del volumen efectivo de operación [89]. Es importante mencionar que para el caso del reactor de masa adherida antes de ser introducido el material de soporte este fue sumergido en el inóculo y colocado en incubadora a 38 °C por dos semanas.

2.3 PUESTA EN MARCHA DE LA DA PARA FORSU

Inicialmente, el arranque del proceso se realizó en operación discontinua. Con el fin de acondicionar el inóculo mezcla a la FORSU se adicionó una solución de melaza del 1% p/v a R1 y 4 litros de inóculo. Progresivamente la concentración de melaza se fue reduciendo y se fue adicionando sustrato hasta completar el 100%. La adaptación del inóculo al sustrato fue evaluado con base en la estabilidad del potencial de hidrógeno, el porcentaje de CO₂ en el biogás y la producción constante de AGV. El pH se determinó con un pH metro manual marca Hanna calibrado con patrones de laboratorio. La composición del gas (%O₂, %CO₂ y % CH₄) se determinó usando un analizador de gases marca Bacharach GA-94 con celdas electroquímicas y de infrarrojo y los AGV por medio de titulación Acido – Base.

El efluente de R1 se constituyo en el sustrato para R2 y R3. Estos reactores se inocularon con mezcla-A, e inicialmente se realizó una etapa de adaptación utilizando como alimentación una solución de ácido acético. El material de soporte antes de ser dispuesto en la columna fue inmerso en el inoculo mezcla-A durante dos semanas a temperatura de 38C con el fin de facilitar la formación de biofilms en los soportes y reducir el tiempo de colonización de las bacterias durante la fase de arranque, después R3 fue llenado hasta 1/3 de su volumen y colocada en flujo de recirculación. Así mismo en esta etapa se controlaron los parámetros de pH, CH₄ y AGV.

Análisis microbiológico. Se realizó un análisis microbiológico a las mejores condiciones de operación con la finalidad de conocer las poblaciones de bacterias presentes en la biomasa del reactor hidrolítico y en la biopelícula del R3. La técnica utilizada fue Número Más Probable (NMP) (n=3) de acuerdo con los grupos metabólicos [90, 91]. Se realizó un conteo, para los grupos de Bacterias Fermentadoras de la Glucosa (BFG) y el Lactato (BFL); las Bacterias Sulfatorreductoras del Acetato (BSRA), el Lactato (BSRL); las Bacterias Metanogénicas del Acetato, y el Formato.

2.4 OPERACIÓN EN CONTINUO

Después de dos meses de estabilización de los reactores, se procedió a determinar los flujos máxicos para la operación en continuo, tanto en CSTR como para la columna de lecho fijo. Dado que la DA de FORSU puede ser realizada a condiciones de temperatura de 27 a 39 °C en el rango mesofílico y con porcentajes de ST entre 9 - 18% [92] y que según reportado en varios estudios la condición mesofílica tiene mayor estabilidad a la presencia de compuestos inhibidores comparada con la condición termofílica requiriendo menores consumos de energía. [93]. En el presente estudio se optó por trabajar con una temperatura de 35°C, con un porcentaje de sólidos totales de 18%.

2.4.1 Evaluación de la etapa hidrolítica en el reactor R1. Con el fin de determinar la FVCO que permitiera la operación en continuo de la DA en dos etapas se evaluó la hidrólisis a tres diferentes FVCO de FORSU (Tabla 10).

Tabla 10. Condiciones experimentales reactor hidrolítico R1.

Experimento	g SV/Ldía
1	5.4
2	3.24
3	2.16

2.4.2 Evaluación de la etapa metanogénica en el reactor R2. El reactor metanogénico R2 fue evaluado a una temperatura de 35 °C [94] y al mejor FVCO gr DQO/L día. El reactor fue monitoreado midiendo los parámetros: pH, AGV, alcalinidad, composición y volumen del gas, DQO, ST y SV (Tabla 11).

Tabla 11. Parámetros de seguimiento de proceso de DA para la FORSU

Variable	Técnica y método	Periodicidad
Volumen de gas	Desplazamiento de líquido	Diaria
CH ₄ (%)	Instrumental (Analizador de gases)	Diaria
CO ₂ (%)	Instrumental (Analizador de gases)	Diaria
ST	Gravimétrica - 2540 E	Semana
SV	Gravimétrica- 2540 E	Semana
AGV	Volumétrica	Diaria
Alcalinidad	Volumétrica -2320 B	Diaria
pH	Instrumental	Diaria
DQO	Reflujo Cerrado	Semana

2.4.3 Evaluación de la etapa metanogénica en el reactor R3. El reactor de lecho fijo R3 se evaluó a temperatura ambiente y a la mejor FVCO gr DQO/L día. El reactor fue monitoreado midiendo los parámetros: pH, AGV, alcalinidad, composición y volumen del gas, DQO, ST y SV (Tabla 11).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 PRETRATAMIENTO DEL SUSTRATO

La FORSU fue conformada por una mezcla de cáscara de papa, banano, yuca y vegetales en porcentajes en peso de 4%, 16%, 30% y 30% respectivamente. Las cantidades de cada compuesto correspondieron con los volúmenes dispuestos durante un día normal en una plaza de mercado de la ciudad [94].

En la Tabla 12 se presentan la caracterización fisicoquímica de la FORSU comparándola con otros tipos de residuos orgánicos. Los valores de los parámetros se encuentran dentro de los rangos reportados por la literatura para este tipo de sustrato. Para el tratamiento biológico de un residuo orgánico es recomendable que los porcentajes de humedad se encuentren entre 74 -90%, la relación de SV/ST entre 80 – 97% y la relación carbón/ nitrógeno alrededor de 14,7- 36,4 [95, 96, 77, 97]. Como se puede observar la FORSU tiene contenido de humedad, relación SV/ST y C/N dentro del rango apto para ser sometido al proceso de DA.

Tabla 12. Caracterización fisicoquímica de la FORSU

Parámetros	Unidades	FORSU ¹	RFV ²	FRSU (99)	RFV (101)	RFV (79)	FORSU (100)
Densidad real	kg/m ³	1100	NR	NR	NR	NR	NR
Humedad	%	82	NR	85	NR	NR	NR
ST	%p/p	16 - 18	11	15	90,4	84,4	88
SV/ST	%p/p	94,4	87	88,5	82,9	77,5	91
Nitrógeno Total	%p/p	1,19	2,3	1,1	2	2,7	23
C/N	ppm/ppm	32,77	23,25	36,36	NR	NR	NR

Potasio	%p/p	2,46	NR	NR	NR	NR	3,7
Fosforo	%p/p	0,22	3,3	NR	NR	NR	NR
MFB	%p/p	81,2	NR	NR	NR	NR	NR
Celulosa	%p/p	6,1	NR	15,50	9,2	NR	NR
Hemicelulosa	%p/p	2,73	NR	9,50	NR	NR	NR
Lignina	%p/p	4,95	NR	8,50	4,5	NR	NR
Cenizas	%p/p	5,02	NR	11,5	NR	NR	NR
DQO	gr/kg	120	NR	40	104,5	NR	102

¹ Sustrato de este estudio

² RFV: residuo de frutas y verduras

NR: no reportado

La alta humedad (80%) y relaciones C/N entre 20 a 35 son parámetros determinantes en la producción de CH₄. Así mismo la relación de DQO/N en valores de 100/4 y nutrientes como el Potasio y el Fosforo son componentes esenciales en los procesos celulares y en la síntesis de nuevo tejido. Cuando el sustrato no tiene estos elementos su biodegradabilidad se ve afectada por el bajo crecimiento y actividad de la biomasa presente en el reactor [79, 97, 98, 13].

Mshandete *et al.*, [99] obtuvo conversiones del 59% CH₄ utilizando un residuo de pescado y bagazo en relaciones 1:1 con contenido de lípidos de 7,3. También se citan trabajos realizado con residuos de vegetales y frutas con ST entre 8-18%, SV alrededor del 87%, contenidos de azúcares y hemicelulosa del 75%, celulosa del 9% y lignina del 5% que presentan remociones de DQO entre valores de 68 al 90% y porcentajes de CH₄ superiores al 70% [100]. Por lo anterior se observa que la FORSU posee contenidos de hemicelulosa, celulosa y lignina que permiten la DA y por ende la producción de biogás.

3.2 ADAPTACIÓN DEL INOCULO

En la tabla 13 se presenta la caracterización fisicoquímica de los inóculos utilizados para la FORSU.

Tabla 13. Caracterización Fisicoquímica de los inóculos

Parámetro	Unidades	Lodo porcicola	Lodo PTAR	Lodo mezcla
pH		8	7	6,63
ST	g/l	106	35	325,3
SSV	g/l	52	22	104,3
Alcalinidad	gCaCO ₃ /l	1,7	2,1	2,03
AGV	g/l	2,5	2,3	2,91

El contenido de ST, SV representa la cantidad de materia orgánica y microbiana presente en el inóculo; es de esperarse que a mayor contenido de SV, mejor sea la actividad microbiana y la producción de metano. Una cantidad grande de inóculo durante el proceso de arranque permite una DA sin el ajuste del pH. Estudios realizados con residuo de comida en los cuales se evaluaron la influencia de la relación de inóculo/residuo muestran que valores entre 0,5 y 2,3 gSV sustrato/gSV inóculo previenen la acidificación y no producen cambios significativos en la producción de CH₄ [101].

El incremento en la relación residuo/inóculo puede controlar las sobrecargas por la acumulación de AGV. Lodos granulares por su estructura protegen a la bacterias de compuestos tóxicos, la proximidad entre los diferentes grupos de bacterias mejora el flujo metabólico de los intermediarios y productos, especialmente la transferencia del hidrógeno; proceso realizado por las bacterias acetógenicas hidrogenotróficas. [43].

Los mayores valores de alcalinidad favorecen la DA por el suministro de capacidad buffer una vez se inicie la producción de AGV. Los dos inóculos escogidos para la mezcla tienen alcalinidades dentro del rango recomendado

para la digestibilidad de este tipo de residuos [101]. El lodo PTAR tiene mayor alcalinidad comparados con el lodo porcícola.

De acuerdo con los ensayos de la Actividad Metanogénica Específica (AME) reportados por Sandoval [102] el lodo mezcla presentó una conversión del acetato de 0,66 gDQO-CH₄/gSSV.día. Diferentes investigadores han reportado AME para lodo domestico entre 0,02 a 0,2 gCH₄-DQO/gSSV día, con SSV de 15-40 g/l y para lodo porcícola de 0,02 a 0,08 con g/l SSV de 40 a 140 g/l [103]. Estudio de consorcios para la degradación anaerobia del fique reportaron valores de AME para lodo PTAR 0,017 gCH₄-DQO/gSSV día y para lodo porcícola de 0,146 gCH₄-DQO/gSSV día [104].

3.3 PUESTA EN MARCHA DE LA DA PARA FORSU

3.3.1 Arranque de R1. La adaptación del inóculo al sustrato en R1 fue evaluado con base en la estabilidad del potencial de hidrógeno, el porcentaje de CO₂ en el biogás y la producción constante de AGV. En la figura 5 se presenta la evolución de estos parámetros.

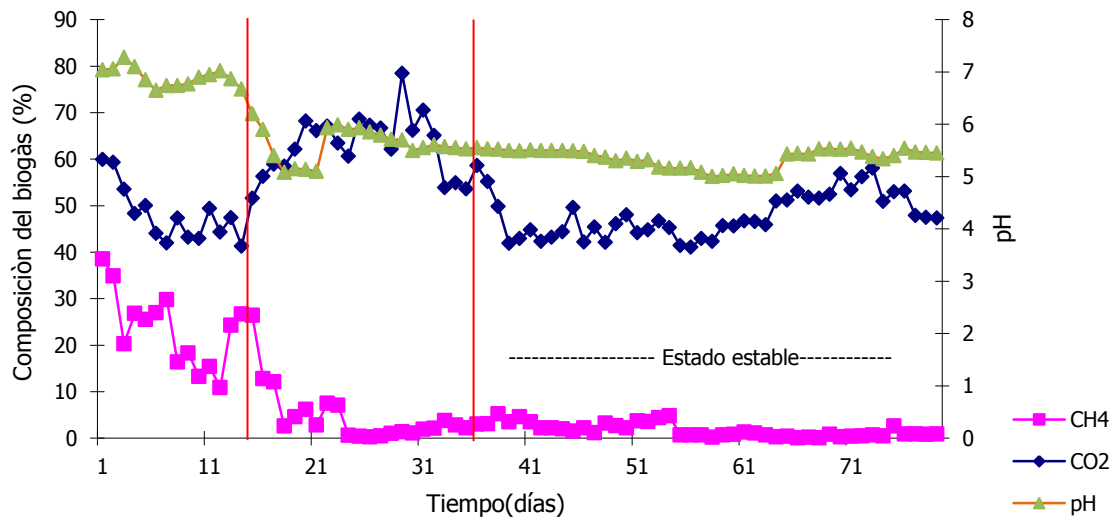


Figura 5. pH y Composición del biogás etapa de arranque (R1)

Inicialmente el R1 fue alimentado con melaza, la cual posee compuestos fácilmente degradables, dando lugar a producción de metano por parte del inóculo; la adición de FRSU se realizó de manera gradual (de 10% hasta un 100%). A partir del día 15 la producción de CH₄ se disminuye totalmente, debido a reducción del pH y a la mayor producción de AGV (Figura 5). Vavilin *et al.*, [105] realizaron el modelamiento de la descomposición de residuos sólidos municipales y concluyeron que la inhibición de la metanogénesis se presenta cuando en la hidrólisis de la materia orgánica de fácil degradación se generan valores de pH de 5,6 para DA en una etapa, no obstante una vez se adiciona inóculo metanogénico decrece la concentración de AGV.

Después del primer mes R1 funcionó de forma hidrolítica con un TRH de 15 días, y FVCO de 1,35 grSV/Ldía. La estabilidad de esta etapa se corrobora por los niveles de CO₂ detectados que pueden ser atribuidos a la presencia de una población balanceada de bacterias acidogénicas que transforman la FORSU. El pH óptimo para una buena hidrolisis y actividad de la batería acidogénica está

comprendido entre 5 y 6. La evolución del pH en este trabajo para la etapa de hidrólisis reportó valores de 5,3 a 5,6 y una producción de AGV en el rango de 15 a 20 g ácido acético/L, estos resultados se encuentran en este rango y son acordes con los obtenidos en otra investigaciones similares [77, 99, 68, 106].

Los rangos de pH y producción de CO₂ de R1 permiten afirmar que este reactor durante la etapa de aclimatación operó de forma hidrolítica y que el inóculo se adaptó a la FRSU.

3.3.2 Arranque de R2 y R3. En la etapa de adaptación se utilizó como alimentación inicial, a los reactores R2 y R3, una solución de ácido acético que fue remplaza a medida que se adicionaba lentamente el efluente de R1. En la Figura 6 se presenta el comportamiento del R2 y R3, bajo la evolución de los parámetros: composición del biogás y pH. El TRH de R2 y R3 fue de 15 y 4,5 días respectivamente.

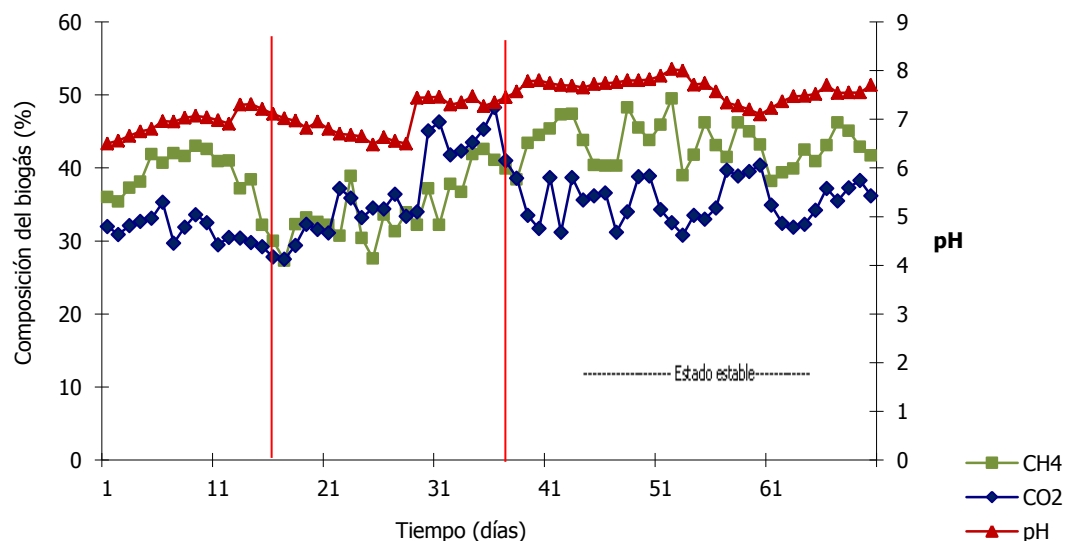


Figura 6. pH y composición del biogás en R2 periodo de arranque

En la operación de R2 se distinguen tres periodos; el primero se ve ampliamente influenciado por la presencia de ácido acético puro que ocasiona un considerable aumento en la producción de CH₄. Después de los primeros 15 días, se observó un segundo periodo, el cual inicia con la desestabilidad del pH dada por la alimentación de R1. Así mismo la producción de CO₂ y CH₄ se fue incrementando gradualmente indicando la adaptabilidad de la microbiota a la nueva alimentación. Finalmente a partir del día 40 el reactor adquirió un desempeño con mayor estabilidad en la producción de CH₄ y menor variabilidad del pH.

En general R2 presento un comportamiento del pH con un valor promedio de 7,3 valor que se encuentra dentro del rango favorable para la actividad de la población metanogénica y una buena capacidad amortiguadora. [30]. La producción de CH₄ en el biogás estuvo en el rango de 27a 50% y con un valor promedio de CO₂ de 35%.

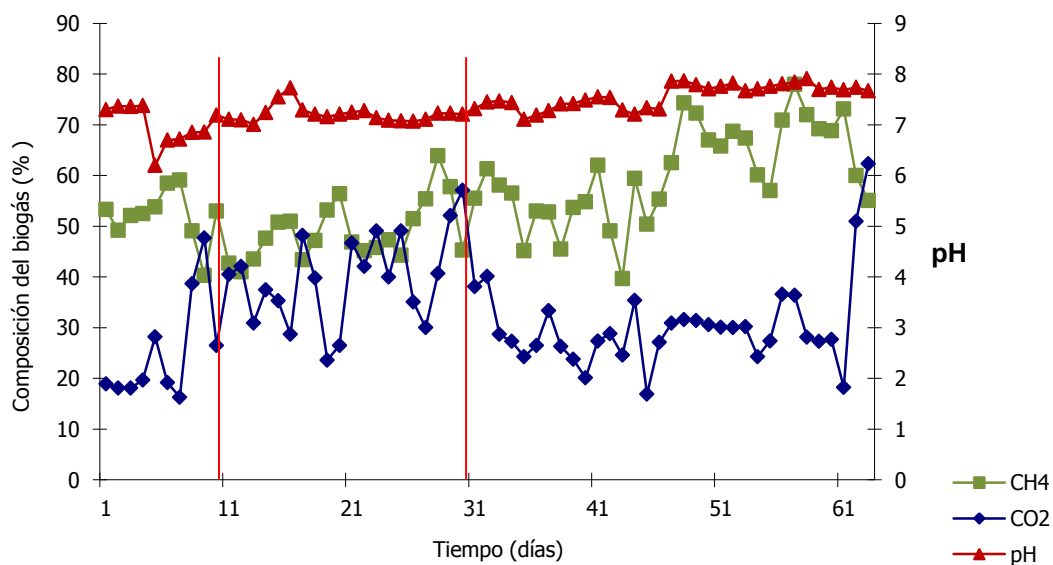


Figura 7. Composición del biogás y pH en R3 periodo de arranque

La composición del biogás durante el periodo de arranque permite observar tres regiones; la primera comprendida entre inicio y el día 15, en esta el comportamiento del pH fue más fluctuante y el CH₄ disminuyó. En la segunda región el pH y la producción de CH₄ fueron más homogéneos y acordes con los cambios en el CO₂. Finalmente se observa menores porcentajes de CO₂ y aumento de CH₄.

Durante el periodo de arranque de los reactores metanogénicos se presentó una menor fluctuación en la composición del biogás y en el comportamiento del pH en R2 comparado con R3, situación que puede explicarse debido a que en R3 posiblemente requirió un mayor tiempo de fijación y crecimiento de la biomasa al soporte, como también la transferencia del gas a través del lecho empacado pudo ser menos uniforme que en R2.

Es importante resaltar que el intervalo de pH de los reactores metanogénicos estuvo entre 6.5 y 8 rango favorable para la actividad de la población metanogénica y una buena capacidad amortiguadora [31].

3.3.3 Relación de AGV/ Alcalinidad en reactores metanogénicos. Un criterio para determinar la estabilidad de un digestor metanogénico es la relación AGV/alcalinidad la cual mide la capacidad tapón, si la relación aumenta lo hace también el CO₂ y el pH baja. Hay tres valores críticos; si relación es inferior a 0,4 el digestor está estable, si está entre 0,4 y 0,8 indica un poco de inestabilidad, sin embargo si es mayor de 0,8 indica una inestabilidad considerable [22]. Otros investigadores afirman que relaciones cercanas a 0,09 indican procesos mesofílicos estables cuando se ha operado con lodos provenientes de plantas de agua residual municipales a escala piloto [106].

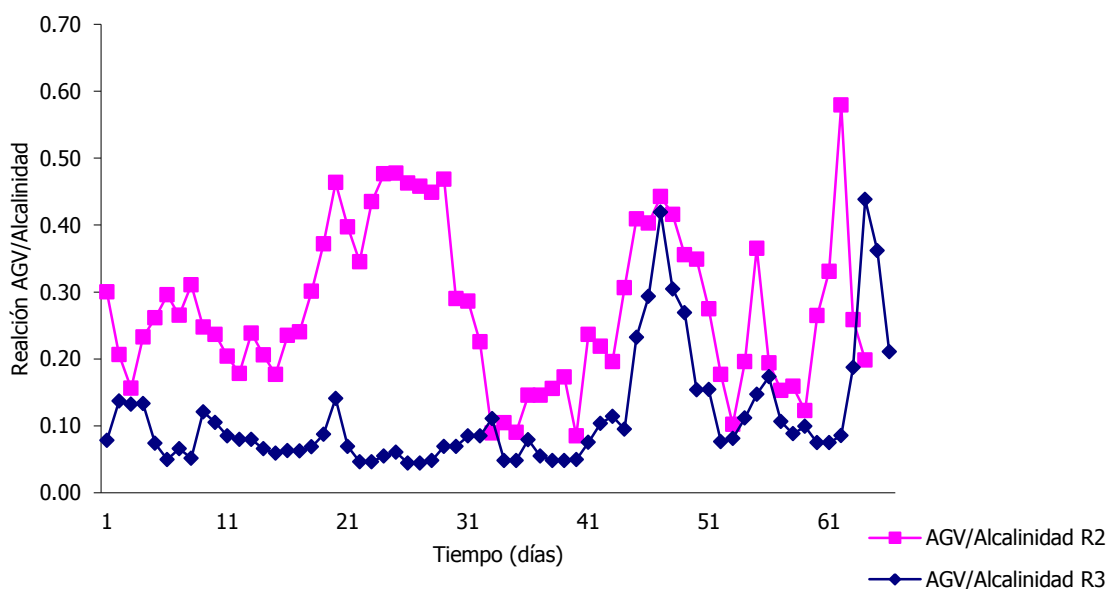


Figura 8. Relación de AGV/Alcalinidad en R2 y R3

R3 presentó una mayor respuesta amortiguadora, controlando las fluctuaciones del pH ocasionadas por el alimento como lo muestra la relación de AGV/Alcalinidad durante los primeros 41 días: Así mismo R2 presento una mayor oscilación, observándose un periodo menos estable durante los primeros días, posiblemente por mayores variaciones en los AGV. No obstante después del día 41 los dos reactores presentaron un comportamiento similar. La relación de R2 oscilo entre 0,09 y 0,58 y entre 0,04 y 0,44 para R3, hallándose dentro del rango recomendado para estos sistemas (Figura 8).

3.3.4 Análisis microbiológico de los biorreactores. En la Tabla 14 se presentan los conteos microbiológicos realizados a los reactores R1, R2 y R3.

Tabla 14

Tabla 14. Conteos microbiológicos reportados

Grupo	Sandoval (105)	En este estudio		Sandoval (105)	
		Reactor	NPM	Reactor	NPM
BFL	$1,1 \times 10^5$	R1	$9,5 \times 10^8$	R1	$1,1 \times 10^4 - 1,1 \times 10^6$

BFG	$2,9 \times 10^5$	R1	$3,5 \times 10^8$	R1	$1,1 \times 10^4 - 2,4 \times 10^5$
BSRA	$2,7 \times 10^3$	R3	$6,0 \times 10^7$	R2	$2,9 \times 10^4 - 2,4 \times 10^5$
BSRL	$3,6 \times 10^3$	R3	$2,0 \times 10^8$	R2	$7,4 \times 10^4 - 7,5 \times 10^4$
BMA	$9,5 \times 10^5$	R3	$9,5 \times 10^8$	R2	$4,6 \times 10^5 - 9,3 \times 10^5$
BMF	$2,6 \times 10^4$	R3	$9,5 \times 10^8$	R2	$1,1 \times 10^5 - 8,0 \times 10^5$
BMM	$1,1 \times 10^4$	R3	$9,5 \times 10^8$	R2	$3,0 \times 10^3 - 1,1 \times 10^5$

Según los valores de BFL y BFG reportados por Sandoval [102] para el inoculo mezcla se puede deducir que estas poblaciones se mantuvieron y aumentaron durante la operación de R1. En los reactores metanogénicos las poblaciones BMA, BMF Y BMM presentaron un comportamiento similar, sin embargo se observó una mayor población en R3. También se evidenció un mayor número de bacterias sulfatoreductoras en los reactores metanogénicos posiblemente por una fuente de sulfatos en el sustrato .

3.4 REACTORES EN OPERACIÓN EN CONTINUO PARA DA DE FRSOU

En la Figura 9 y Figura 10 se presenta la evolución de las concentraciones de AGV y pH para la etapa hidrolítica de R1 a tres FVCO seleccionadas.

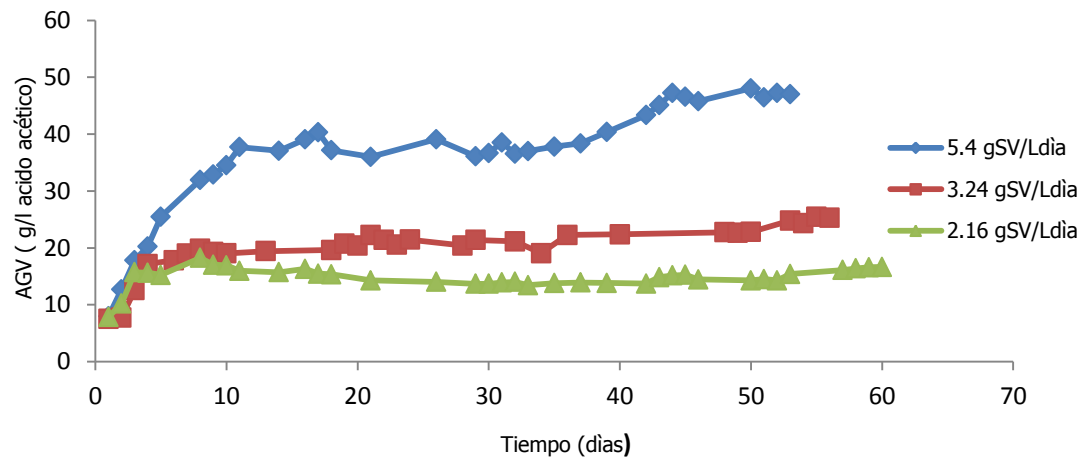


Figura 9. Comportamiento de los AGV en R1 a diferentes FVCO

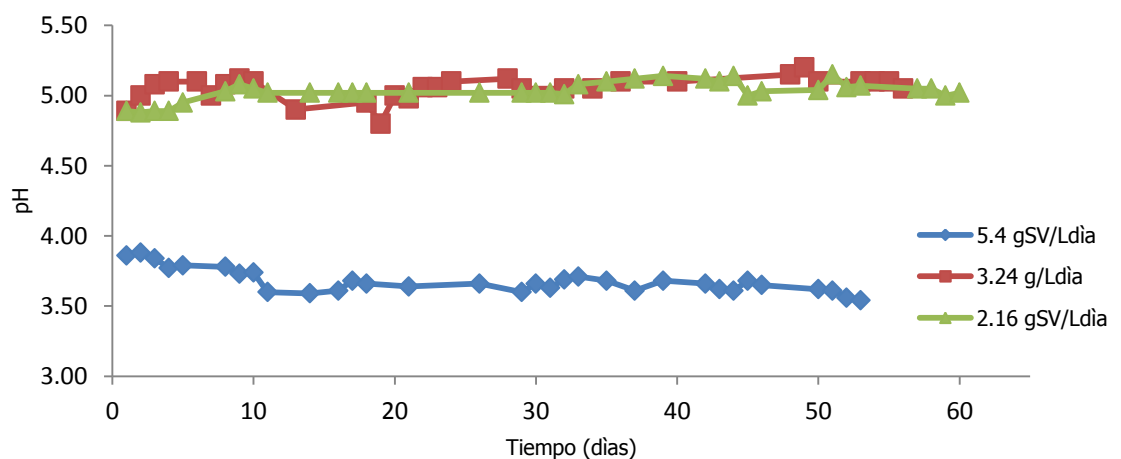


Figura 10. pH en R1 para diferentes FVCO

Para mayores cargas FVCO se observa un incremento en la producción de AGV; los cuales son precursores de la formación de CH₄ en R2. Sin embargo elevadas concentraciones de AGV pueden llegar a ocasionar inhibición por producto en el reactor ocasionando descensos significativos en el pH como se observa la Figura 9. Estos resultados concuerdan con las apreciaciones de Veecken *et al.*, [30] quien concluye que se presenta una completa inhibición de las bacterias a niveles de AGV de 40-50 g/L; como se observa en la Figura 10 para 5,4 gSV/Ldía. Para 3,24 gSV/Ldía y 2,16 gSV/Ldía el comportamiento del pH fue similar, sin embargo se observo una mayor producción de AGV para 3.24 gSV/Ldía.

En la Figura 11 y Figura 12 se presenta los valores de remoción de AGV y el porcentaje de CH₄ en el biogás en R2 para las FVCO estudiadas.

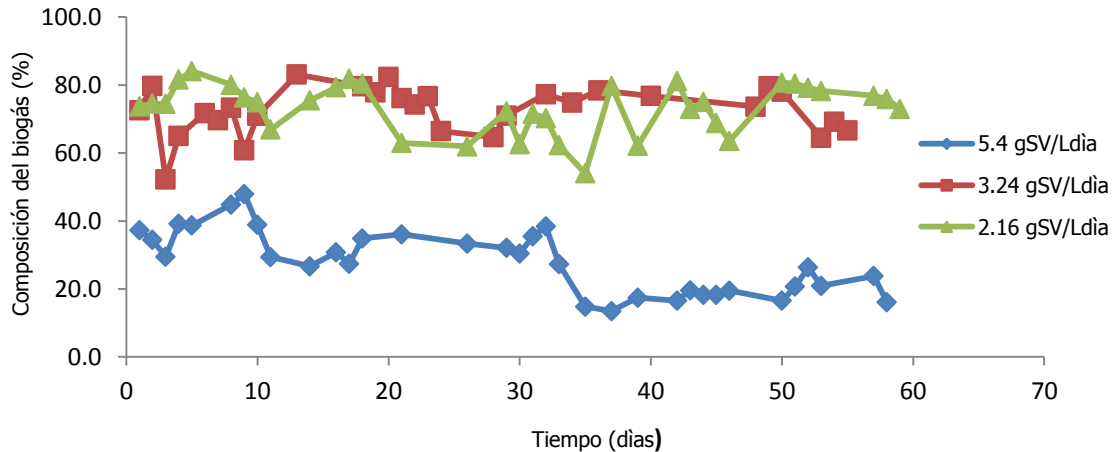


Figura 11. Porcentaje de Remoción de AGV para diferentes FVCO

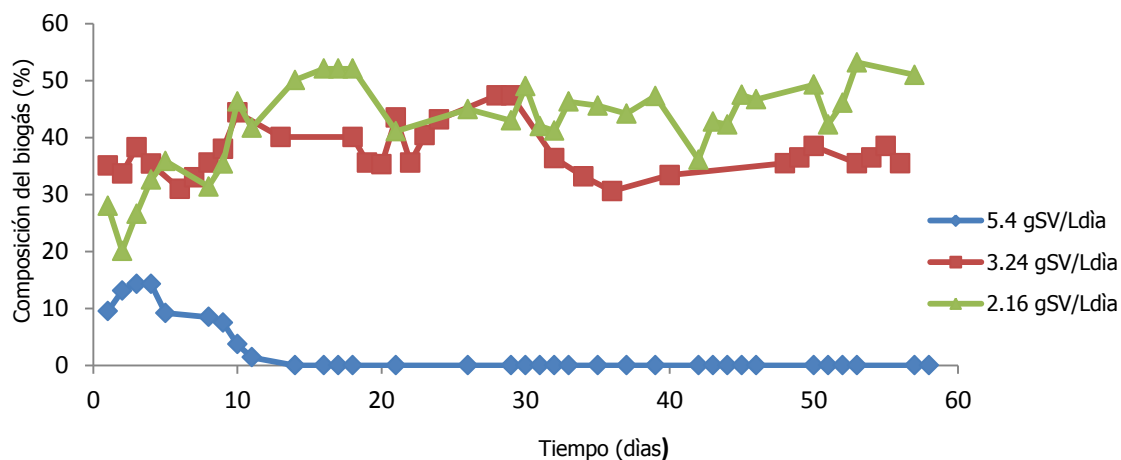


Figura 12. Comportamiento del CH₄ para las diferentes FVCO

Según los estudios realizados por Lane *et al.*, [107] una sobrealimentación del biodigestor por encima de 4 gSV/Ldía ocasiona una caída en el pH y un aumento en el contenido de CO₂ de los gases producidos. Los resultados obtenidos concuerdan con las recomendaciones de Lane *et al.*, ya que los porcentajes de remoción de AGV para 5,4 gSV/Ldía fueron bajos (Menores al 40%) debido a las altas concentraciones de AGV alimentadas a R2, lo cual ocasiono la inhibición de la metalogénesis, como se puede corroborar con la ausencia de CH₄. Para los flujos de carga de 3,24 gSV/Ldía y 2,16 gSV/Ldía la remoción de AGV estuvo en un rango de 50 a 80%, siendo más estable para 3,24 gSV/Ldía. El porcentaje de CH₄ para los dos flujos de alimentación fue similar, sin embargo para 3,24gSV/Ldía tuvo mayores valores promedio.

En el proceso global de DA se espera obtener la mayor cantidad posible de masa de AGV por masa de sustrato alimentado, con el fin de tener una mayor proporción de materia orgánica hidrolizada o soluble para la posterior fase de metanogénesis. Mata *et al.*, [5] estudio el comportamiento de los consorcios mesófilos, en un CSTR para la FRSU, encontrando los mejores desempeños del

reactor a FVCO menores a 3 gSV/L día; mientras que la FVCO de 6 gSV/Ldía fue una condición límite de la digestión. Por otra parte estudios de DA con biorreactores de película fija han mostrado mayores remociones de carga organica comparada con otros reactores de masa suspendida; debido principalmente a la retención de biomasa y tiempos de retención celular mas altos. La Inmovilizacion de la biomasa permite una mejor respuesta del reactor a sobrecargas y/o a los compuestos orgánicos tóxicos [109]. Por lo anterior se seleccionó la FVCO de 3,24 g SV/L día, para el proceso de DA en continuo de R2 y R3.

3.5 ESTUDIO COMPARATIVO DEL DESEMPEÑO OPERACIONAL DE R2 Y R3

La evaluación de las dos configuraciones de la DA para la operación en continuo (R1-R2 y R1-R3) se realizó durante 100 días. En la Figura 13 y Figura 14 se muestra la producción de AGV y la evolución del pH de la etapa hidrolitica (R1).

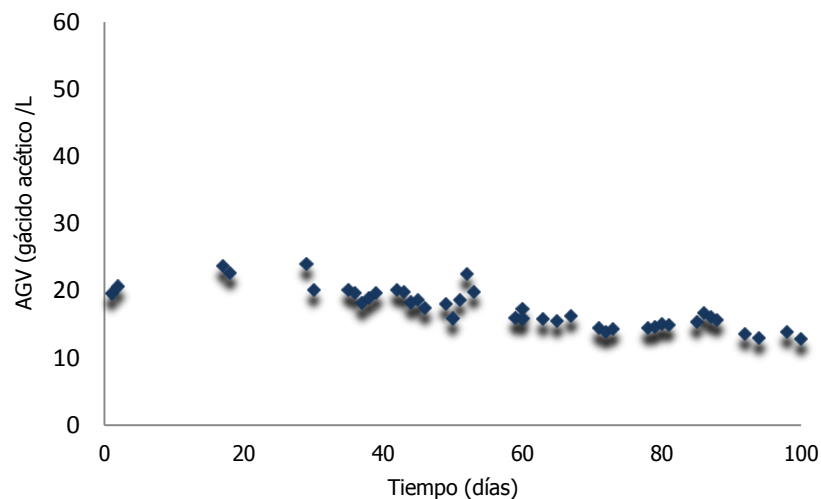


Figura 13. AGV en R1 operación en continuo

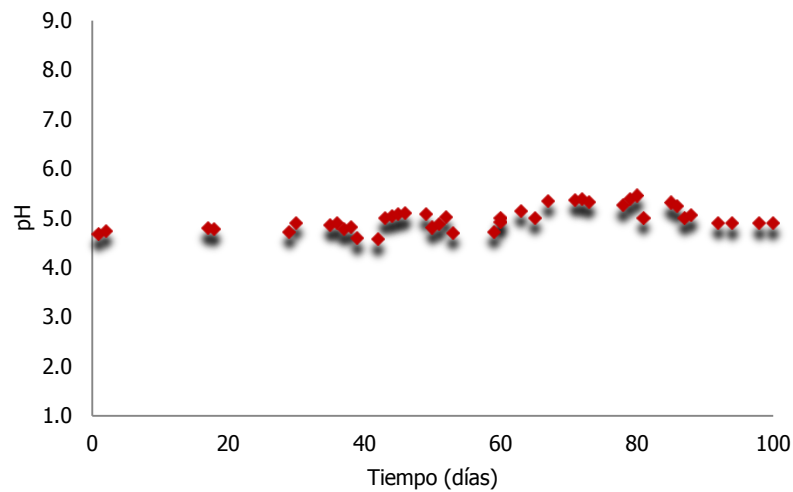


Figura 14. pH en R1 operación en continuo

La producción de AGV tuvo un promedio de 17 g ácido acético /L; este valor indica que en proceso de hidrólisis se llevo a cabo una buena degradabilidad de los nutrientes presentes en FORSU. Algunos autores han sugerido que el pH optimo de trabajo para la etapa hidrolítica acidogénica oscila en el rango valores de 5 a 6 favoreciendose la DA [108]. En el presente estudio, como se observa en la Figura 14, el pH se mantuvo en un valor aproximado de 5, sin requerir ajuste de alcalinidad. Por lo anterior indica que el desempeño de los consorcios hidrolíticos es acorde con lo esperado durante esta etapa.

En la Figura 15 se ilustra la evolución del pH y en la Figura 16 el comportamiento de los AGV para R2 y R3.

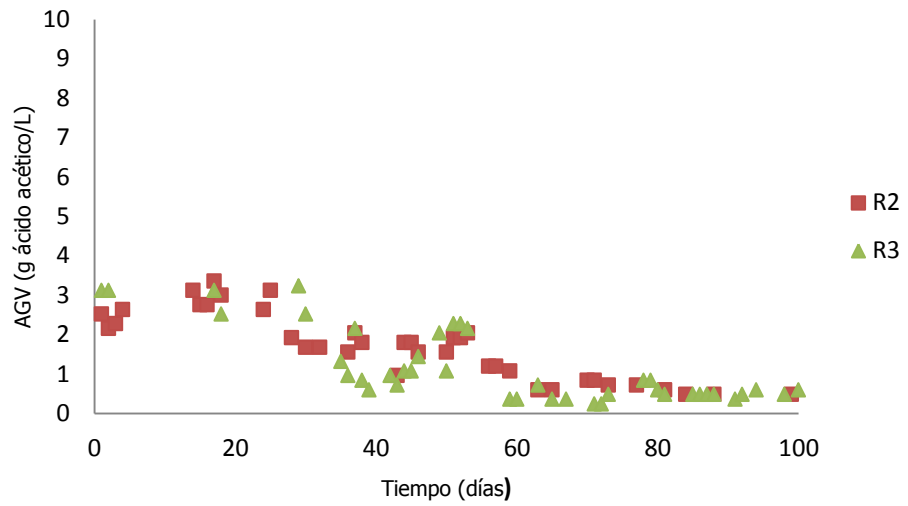


Figura 15. AGV en los reactores metanogénicos R2 y R3

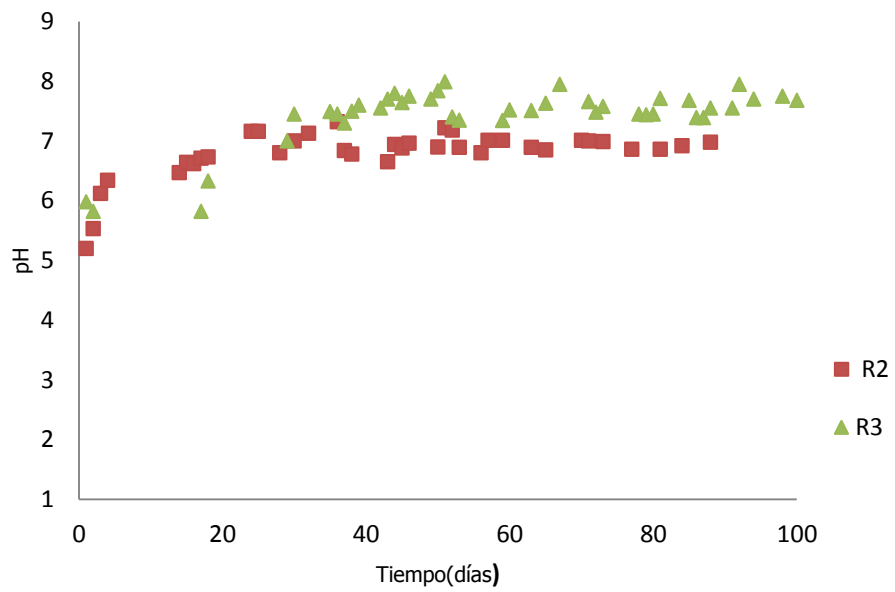


Figura 16. pH en los reactores metanogénicos R2 y R3

Dado que el reactor R1 entregó concentraciones promedio de AGV de 17 g ácido acético/L a los reactores R2 y R3, el comportamiento observado en la Figura 15 demuestra que la etapa metanogénica se llevo a cabo satisfactoriamente. Así mismo se observa un periodo inicial de acondicionamiento de la carga orgánica, representado en los mayores concentraciones de AGV, mientras que a partir del día 40 se presento una operación más estable de los reactores. Concentraciones de mayores de 8000 inhiben las bacterias metanogénicas y producen la disminución de la producción de metano [109].

Los resultados obtenidos en este estudio son coherentes con los reportados por Fernandez *et al.*, [109] quienes determinaron que la metanización de FRSU con concentraciones de sólidos totales de 20 y 30% mostraron máximas concentraciones de AGV de 2,3 y 2,7 g ácido acético/L sin presentar inhibición por AGV. Por otra parte la evolución del pH (Figura 16) fue estable después de los primeros 15 días, manteniéndose en valores promedio de 7 y 7,42 respectivamente, sin requerir la adición de soluciones estabilizadoras. La estabilidad del comportamiento del pH es un indicativo del correcto desempeño de la etapa metanogénica.

En la Figura 19 y Figura 18 se puede observar la concentración de DQO y porcentaje de remoción global de materia orgánica en los reactores R3 y R4.

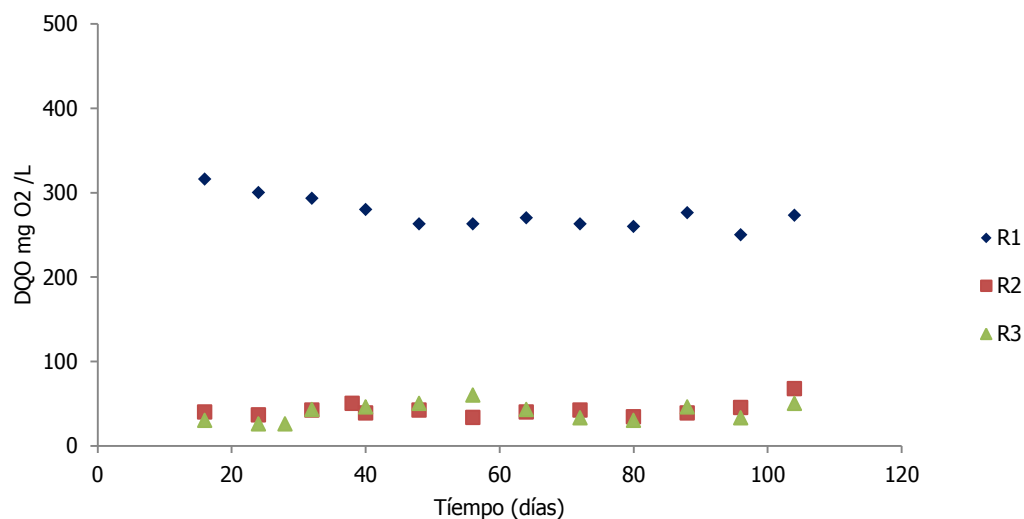


Figura 17. DQO en los reactores R1, R2 y R3

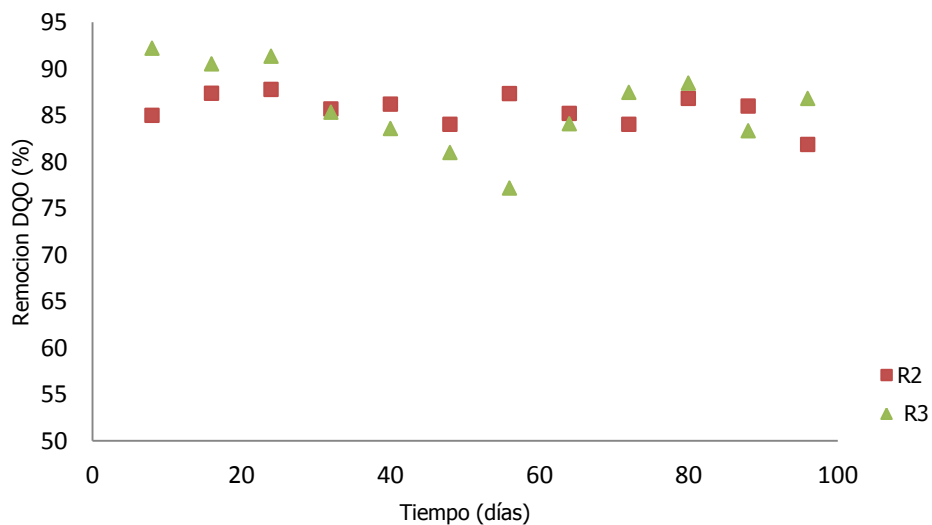


Figura 18. Porcentaje de remoción de la DQO en los reactores R2 y R3

Las concentraciones de DQO a la salida de R1 oscilaron entre valores en el rango de 316 y 233 g O₂/L. El efluente de los reactores R2 y R3 presentó DQO promedio de 41 y 51,5 g/l respectivamente, con remociones mayor el 80%

observándose valores máximos de 88% para R2 y 92% para R3. Estos valores concuerdan con los estudios realizados por Demirer et al., [16] quienes trabajaron con un tiempo de retención hidráulica de 10 días y obtuvieron producciones de biogás entre 50% y 67% con una carga orgánica de 5 a 6g SV/Ldía.

En la Figura 19 se puede observar el porcentaje de CH₄ en los reactores R2 y R3

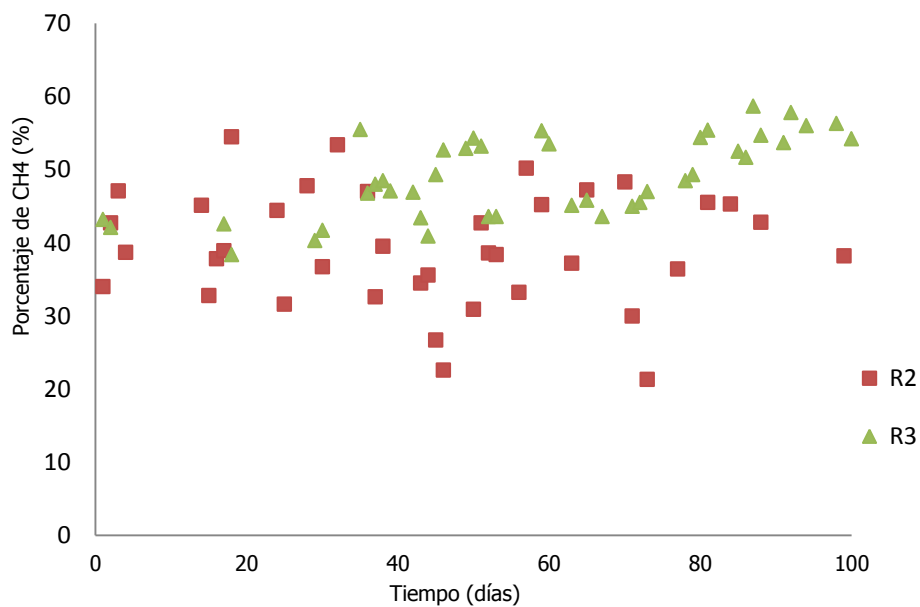


Figura 19. Porcentaje de CH₄ en R2 y R3

La producción de metano presento valores promedio de 39.4% en R2 y 50% en R3 con volúmenes de metano de $0,58 \pm 0.05$ LCH₄ / L reactor día de y $0,23 \pm 0.03$ LCH₄ / L reactor día, respectivamente. Bouallagui *et al.*, [108] informó de que un volumen de metano de 0,3 a 0,52 LCH₄/día para carga orgánica de 3,7 a 10 gDQO/Ldía.

Como se puede concluir el reactor R4 (lecho suspendido) mostró mayores concentraciones de metano en el biogás y un mayor (50%, $0,58 \pm 0.05$ LCH₄/díaL reactor), estos resultados están acordes con lo propuesto por Cresson *et al.*, [110] quienes evaluaron la formación de biofilms, variando la concentración de carga orgánica de 0,5 gDQO/Ldía hasta llegar a 20gDQO/Ldía obteniendo una remoción promedio de DQO del 80%, junto con el crecimiento continuo del biofilms. Procesos con biomasa retenida han mostrado mayores estabilidades y menores TRH favorecidos por el mayor contacto de la biomasa con el sustrato.

CONCLUSIONES

1. Se logro mantener la estabilidad y eficiencia de los reactores hidrolíticos-acidogénico y acetogénico-metanogénico con los inóculos mezcla y mezcla-A, lo que garantizó una buena producción de metano y menores concentraciones de DQO en el efluente y sin observarse inhibición en el proceso.
2. Se obtuvo una producción de 17 gAGV's /Ldía en el reactor hidrolítico bajo condiciones de TRH de 15 días y temperatura de 35 °C, que correspondió a la condición de operación más favorable de desempeño de la etapa hidrolítica- acidogénica.
3. Los resultados obtenidos para la DA en dos fases en continuo cuando se alimento con FRSOU de 3,24 gSV/Ldía fueron acorde con los resultados reportadas en otras investigaciones evaluados con base en la producción de metano y la estabilidad del proceso.
4. Finalmente fue posible incrementar la conversión de la fracción orgánica de los residuos urbanos municipales a un biogás rico en metano, realizando la digestión anaerobia en forma separada y con operación en continuo de las fases hidrólisis acidogénesis y acetogénesis metanogénesis

RECOMENDACIONES

1. Llevar el proceso de DA en dos fases a escala piloto para evaluar la producción de biogás y la reducción de la carga orgánica en FRSOU
2. Evaluar el efecto de la adición de cosustrato en la DA de FRSOU
3. Estudiar otros inoculos a la relación de estos en el proceso de digestión anaerobia de FRSOU

BIBLIOGRAFIA

1. Valdez, E., Ríos, F., Esparza, F., Cecchi, H.M., Poggi, V. Pisa, Hydrogen production from the organic fraction of municipal solid waste using semi-continuous solid substrate anaerobic reactors: influence of the temperature, Proceedings of the H₂-Age , 2004, 1383-1391.
2. Zevenhoven, R., Saeed, L., Two-stage combustion of high-PVC solid waste with HCL recovery. Toronto, World Congress on Recovery Reintegration. Canada 2000, 1212-1217.
3. Segunda Comunicación Nacional de Colombia ante la Convención Marco de las Naciones Unidas sobre Cambio Climático Inventario Nacional de gases de efecto invernadero. Bogotá Colombia, 2009.
4. Ağdağ, O., Sponza,D., Anaerobic/aerobic treatment of municipal landfill leachate in sequential two-stage up-flow anaerobic sludge blanket reactor (UASB)/completely stirred tank reactor (CSTR) systems Process Biochemistry, 2005, 895-902.
5. Mata, A., Macé, S., Llabrés,P., Anaerobic digestion of organic solid wastes. An overview of research achievements and perspectives, Bioresource Technology, 2000, 3-16.
6. Borzacconi, L., López,I., Viñas,M., Application of anaerobic digestion to the treatment of agroindustrial effluents in Latin America Original Research Article, Water Science and Technology, 1995, 32, 105-111.
7. Yu, H., Samani,Z., Hanson,A., Smith,G., Energy recovery from grass using two phase anaerobic digestion, Waste Management, 2002, 22, 1-5.
8. Sachs, J., Meyer,U., Rys,Paul., Feitkenhauer,H., New approach to control the methanogenic reactor of a two-phase anaerobic digestion system, Water research, 2003, 37, 973-982.
9. Castillo, E., Cristancho,D., Arellano,V., Study of the operational conditions for anaerobic digestion of urban solid wastes, Waste Management, 2006, 546-556.

10. Pavlostathis, S., Giraldo,G., Kinetics of anaerobic treatment, *Water Science and Technology*, 1991, 35-59.
11. Bouallagui, H., Ben Cheikh,R., Marouani,L., Hamdi, M., Fermentation méthanique des déchets solides en Batch, *Les Premières journées de l'Association Tunisienne de Biotechnologie*, Sousse le, 2001, 9-11.
12. Bouallagui, H., BenCheikh, R., Marouani, L., Hamdi, M., Mesophilic biogas production from fruit and vegetable waste, *Bioresource Technology*, 2003, 85-89.
13. Raynal, J., Delgenés, J,P., Moletta,R.,Two-Phase Anaerobic Digestion of Solid Waste By a Multiple Liquefaction Reactors Process, *Bioresource Technology*, 1998, 97-103.
14. Borzacconi, L., Lopez,I., Viñas,M., Application of anaerobic digestion to the treatment of agroindustrial effluents in Latin America, *Water Science and Technology*, 1995, 105-111.
15. Bouallagui, H., Touhami,Y.,Cheikh,R., Hamdi,M., Bioreactor performance in anaerobic digestion of fruit and vegetable wastes, *Process Biochemistry*, 2005, 989-995.
16. Demirer, G., Chen,S., Two Phase anaerobic digestion of unscreened dairy manure, *Process biochemistry*, 2005, 3542-3549.
17. Demirel, Burak., Yenigun,O., Changes in microbial ecology in an anaerobic reactor, *Bioresource technology*, 2006, 1201-1208.
18. Alvarez, J., Cecchi,F., Fazzini,G., *Bioresource Technology*, 1992.
19. William, P.B., David, C.S., The use of the anaerobic baffled reactor (ABR) for wastewater treatment: a review, *Water Research*, 1999, 1559-1578.
20. Archana, S., Unni, B.G., Devendra Singh, H., A novel fed-batch digestion system for biomethanation of plant biomasses *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 1999, 678–682.
21. Bohlmann, U., Bohner, M., Improvement of process stability of microbiological quinoline degradation in a three-phase fluidized bed reactor. *Chemical Engeniere Technology*, 2001, 24-91.
22. Angelidaki, I., Ahring,B., Anaerobic Thermophilic digestion of manure at different ammonia loads: Effect of temperature, *Water Research*, 1994, 727-731.

23. Marchaim, U., Krause, C., Propionic to acetic acid ratios in overloaded anaerobic digestion, *Bioresource technology*, 1993, 195-203.
24. Khanna, S., Mohan, K., *Wealth from waste*. S.I., Tata Energy Research Institute, 1995.
25. Rittmann, B., McCarty, P., *Biología del medio ambiente, Principios y Aplicaciones*, España, 2001.
26. Lettinga, G., Hulshoff, L., Zeeman, G. *Biological Wastewater Anaerobic Treatment*, Sub-department of Environmental Technology Part 1, 2000.
27. Kotsyurbenko, O.R., Trophic interactions in the methanogenic microbial community of low-temperature terrestrial ecosystems, *Fems microbiology Ecology*, 2005, 3-13.
28. Gallert, C., Fund, K., Winter, J., Antibiotic resistance of bacteria in raw and biologically treated sewage and in groundwater below leaking sewers. *Springer applied microbiology and biotechnology*, 2005, 106-112.
29. Campos, A., Optimización de la digestión anaerobia de purines de cerdo mediante codigestión con residuos orgánicos de la industria agroalimentaria, Universitat de Lleida. Tesis de doctorado. Escola tècnica superior d'Enginyeria Agrària Departament de Medi Ambient i Ciències del Sòl Laboratori d'Enginyeria Ambiental (LEA), 2001.
30. Veeken A, Kalyuzhnyi S, Scharrff H, Hamelers B., Effect of pH and Hydrolysis of Organic Solid Waste, *Journal of Environmental Engineering*, 2000, 1076-1081.
31. Diaz, M., Espitia, V., Molina, P., *Anaerobic Digestion. One approximation to technology (Digestión Anaerobia. Una aproximación a la Tecnología)*, Universidad Nacional de Colombia, Instituto de Biotecnología, Bogotá, Colombia, 2002.
32. Schink, B., *Anaerobic digestion: concepts, limits and perspective*, *Water science and Technology*, 2002, 1-8.
33. Bok, F., Plugge, C., Stams, A. Interspecies electron transfer in methanogenic propionate degrading consortia, *Water Research*, 2004, 1368 - 1375.
34. Zinder, S., Conversion of acetic acid to methane by thermophiles.. In press *Anaerobic Digestion*, 1988, 1-12.

35. Zapata-Bacri, A., Burstein, C., Enzyme electrode composed of the pyruvate oxidase from *Pediococcus* species coupled to an oxygen electrode for measurements of pyruvate in biological media. *Biosensors*, 1988, 227-237.
36. Garcia, J., Taxonomy and ecology of methanogens. *Fems Microbiology Reviews*, 1990, 297-308.
37. Wheatley, A. Anaerobic digestion: A waste treatment technology. *Critical reports on Applied Chemistry*. 1990.
38. Valdez-Vazquez, I., Ríos-Leal, E., Esparza-García, F., Cecchi, F., Poggi-Varaldo, H., Semi-continuous solid substrate anaerobic reactors for H₂ production from organic waste: Mesophilic versus thermophilic regime. *International Journal of Hydrogen Energy*, 2005, 1383-1391.
39. Dolfing, J., G.B.M. Bloeman, W., Acitivity measurements as a tool to characterize the microbial composition of methanogenic environments. *Journal of Microbiological Methods*, 1985, 1-12.
40. McCarty, P. L., Anaerobic waste treatment fundamentals. *Public Works*, 1964, 91-94.
41. Fukuzaki, S., Nishio, N., Nagai, S., Kinetics of the methanogenic fermentation of acetate, *Applied and Environmental Microbiology*, 1990, 3158-3163.
42. Voolapalli, R., Stuckey, D., Relative importance of trophic group concentrations during anaerobic degradation of volatile fatty acids. *Applied and Environmental Microbiology*, 1999, 5009-5016.
43. Coates, J., Coughlan, M., Colleran, E., Simple method for the measurement of the hydrogenotrophic methanogenic activity of anaerobic sludges. *Journal of Microbiological Methods*, 1996, 237-246.
44. Garcia, J., Patel, B.K.C., Ollivier, B., Taxonomic, phylogenetic, and ecological diversity of methanogenic archaea, 2000, 205-226.
45. Rozzi, A., Remigi, E., Methods of assessing microbial activity and inhibition under anaerobic conditions: *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 2004, 93-115.
46. Klass, Donald L., *Organic Commodity Chemicals from Biomass, Biomass for Renewable Energy, Fuels, and Chemicals*, 1998, 495-546.
47. Muller, V., Bacterial fermentation. In *Encyclopedia of Life Sciences*, 2001, 1-7.

48. Kumar, S. Anaerobic Biotechnology for Bioenergy Production: Principles and Applications . Iowa,USA : John Wiley & Sons, Ltd., Publication, 2008.
49. Van Lier, J. B.,Rebac, S., Lens, P., and Lettinga, G., Anaerobic treatment of partly acidified wastewater in a two-stage expanded granular sludge bed (EGSB) system at 8°C, Water Science Technology, 1997, 317–324.
50. Wu, C., Chang,H., Chern,J., Basic dye decomposition kinetics in a photocatalytic slurry reactor . Journal of Hazardous Materials, 2006, 336-343.
51. Lettinga, G., Rebac, S., and Zeeman, G., Challenges of psychrophilic anaerobic wastewater treatment. Trends Biotechnol, 2001,363-370.
52. Manual of practice – Water Pollution Control Federation (WPCF), 1987.
53. Grady, C. P. L., Jr, Daigger, G. T., and Lim, H. C. Biological Wastewater Treatment. New York, USA , 1999.
54. Sawyer, C. N., McCarty, P. L., and Parkin, G. F. Chemistry for Environmental Engineering and Science,. New York, USA : 2003.
55. Miron, Y., Zeeman, G., Van Lier,J., Lettinga, G., The role of sludge retention time in the hydrolysis and acidification of lipids, carbohydrates and proteins during digestion of primary sludge in CSTR systems, Water Research, 2002, 1705-1713.
56. Horiuchi, J., Shimizu,T., Tada, K., Kanno,T., Kobayashi, M., Selective production of organic acids in anaerobic acid reactor by pH control, Bioresource Technology, 2002, 209-213.
57. Hu, z., Yu, H., Application of rumen microorganisms for enhanced anaerobic fermentation of corn stover, Process Biochemistry, 2005, 2371-2377.
58. Speece, R. E., and McCarty, P. L., Nutrient requirements and biological solids accumulation in anaerobic digestion, Water Pollution Control Res, 1964, 2:305-322.
59. Henze, M., Harremoes, P., Anaerobic treatment of wastewater in fixed film reactors, Water Science and Technology, 1983, 15:1-101.
60. Stronach, S. M., Rudd, T., and Lester, J. N., Anaerobic Digestion Processes in Industrial Wastewater Treatment. Berlin, Germany,1986.
61. Morris, J., The physiology of obligate anaerobiosis. Microbiology. Physiol, 1975, 169-246.

62. Archer, D. B., and Harris, J. E., Methanogenic bacteria and methane production in various habitats, In *Anaerobic Bacteria in Habitats Other Than Man*, 1986, 185-223.
63. Hungate, R. E. A roll tube method for cultivation of strict anaerobes. In *Methods in Microbiology*. New York, USA : J. R. Norris and D. W. Ribbons, 1967.
64. Van Haandel, A., Influence of the digested COD concentration on the alkalinity requirement in anaerobic digesters. *Water Science and Technology*, 1994, 12-24.
65. Speece, R. E. *Anaerobic biotechnology for industrial wastewater treatments*. Nashville, TN, USA, 1996.
66. Bezama, A., Aguay, P., Konrad, O., Navia, R. and Lordor, K., Investigations on mechanical biological treatment of waste in South America: Towards more sustainable MSM management strategies, *Waste Management*, 2007, 228-237.
67. Lettinga, G., Hulshoff, P., Zeeman, G., *Biological Wastewater treatment. Part 1: Anaerobic Wastewater treatment*, Wageningen, 1999.
68. Van, Haandel., Lettinga, G., *Tratamento anaerobio de esgotos em regioes de clima quente*. . Campina Grande : Editorial Epgraf, 1994.
69. Rajeshwari, K., Balakrishnan, M., Kansal, A., Lata, K., Kishore, V, *State-of-the-art of anaerobic digestion technology for industrial wastewater treatment*, *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 2000, 135-156.
70. Soares, M., Braester, C., Belkin, S., Abeliovich, A, *Denitrification in laboratory sand columns: Carbon regime, gas accumulation and hydraulic properties*, *Water Research*, 1991, 325-332.
71. Nichols, C.E, *Overview of anaerobic digestion technologies in Europe*, *BioCycle*, 2004, 47-53.
72. Saint-Joly, C., Desbois, S., Lotti, P., *Determinant impact of waste collection and composition on anaerobic digestion performance: industrial results*. *Water Science and Technology*, 2000, 291-297.
73. Bolzonella, D., Pavan, P., Mace, S., Cecchi, F., *Dry anaerobic digestion of differently sorted organic municipal solid waste: a full-scale experience*, *Water Science and Technology*, 2006, 23-32.

74. Gallert, C., Henning, A., Winter, J, Scale-up of anaerobic digestion of the biowaste fraction from domestic wastes, *Water Research*, 2003, 1433-1441.
75. Beck, R.W. Final report: Anaerobic digestion feasibility study for the Bluestem Solid Waste Agency and Iowa Department of Natural Resources, Bluestem Solid Waste Agency, 2004.
76. Martinez, G., Rodriguez, C.,Castillo,E., Diseño y construcción de un biodigestor anaerobio de lecho fijo para operación en continuo a escala piloto con control de temperatura y pH, UIS Editorial, Bucaramanga, Colombia : 2007.
77. Vergara, M.,Torres,R., Influencia del medio de soporte sobre el funcionamiento de reactores anaerobios, Memorias IX Taller y Simposio Latinoamericano de Digestión Anaerobia, Isla de pascua, Chile, 2008.
78. Viturtia, A., Mata-Alvarez, J., Cecchi, F., Fazzini, G., Two-phase anaerobic digestion of a mixture of fruit and vegetable wastes, *Biol Wastes*, 1989, 189-199.
79. Misi, S., Forster, C.,. Semi-continuous anaerobic co-digestion of agro-waste., *Environmental Technology*, 2002,51-35.
80. Cogán, A., Rodriguez, I., Diagnostico, análisis y planteamiento de alternativas ambientales para minimizar la contaminación originada por los residuos tóxicos y peligrosos en el vertedero municipal "El Carrasco". UIS Editorial, Bucaramanga :Colombia, 2000.
81. Lissens, G., Vandevivere, P., De Baere I., Solid waste digester process performance and practice for municipal solid waste digestion, *Water Science Technology*,. 2001, 91-102.
82. Bayer, E., Chanzy, H., Lamed, R., Shoham, Y., Cellulose, cellulases and cellulosomes, *Current Opinion in Structural Biology*, 1998, 548-557.
83. Wen, Z., Liao, W., Chen, S., Hydrolysis of animal manure lygnocellulosics for reducing sugar production, *Bioresource Technology*, 2004, 31–39.
84. Palmowski, L., Muller, J., Influence of the size reduction of organic waste on their anaerobic digestion, *Water Science Technology*, 2000, 155–162.
85. Hartmann, H., Angelidaki, I., Ahring, B.K., Increase of anaerobic degradation of particulate organic matter in full-scale biogas plants by mechanical maceration, *Water Science Technology*, 2000, 145–153.

86. Palmowski, L., Muller, J., Anaerobic degradation of organic materials significance of the substrate surface area, *Water Science Technology*, 2003, 231–238.
87. Delgenes, J.P., Penaud, V., Moletta, R., Pretreatments for the enhancement of anaerobic digestion of solid wastes, *Biomethanization of the Organic Fraction of Municipal Solid Wastes UK* : IWA Publishing, 2003, 201–228.
88. Kayhanian, M., Hardy, S., The impact of four design parameters on the performance of high solids anaerobic digestion of municipal solid waste for fuel gas production. *Environmental Technology*, 1994, 557–567.
89. Griffin, M.E., McMahon, K.D., Mackie, R.I., Raskin, L., Methanogenic population dynamics during start-up anaerobic digesters treating municipal solid waste and biosolids. *Biotechnology and Bioengineering*, 1998, 342-355.
90. Balch, W.E., Fox, G.E., Magrum, L.J., Woese, C.R., Wolfe, R.S Methanogens: reevaluation of a unique biological group... 1979, *Microbiological Reviews*, 260–296.
91. McGrady. *Bacteriological Analytical Manual Online*, Food Safety & Applied US, 2001.
92. Castillo, J., Matínez, A., Castillo, E. Estudio de la hidrólisis enzimática en la fracción orgánica de residuos sólidos urbanos mediante la digestión anaerobia. UIS Editorial, Bucaramanga-Colombia, 2005.
93. Zabranska, J., Dohanyos, M., Jenicek, P., Zaplatilkova, P., Kutil, J, .The contribution of thermophilic anaerobic digestion to the stable operation of wastewater sludge treatment, *Water Science Technology* 2002, 447–53.
94. Cristancho, D., Castillo, E. Estudio del efecto del tiempo de retención hidráulico, la temperatura y el contenido de carga orgánica en la digestión anaerobia en dos fases de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos. UIS Editorial, Bucaramanga-Colombia, 2005.
95. Bouallagui, H., Haouari O, Touhami, Y., Cheikh, B., Marouani, L., Hamdi, M., Effect of temperature on the performance of an anaerobic tubular reactor treating fruit and vegetable waste. *Process Biochemistry*, 2004, 2143-2148.
96. Rao, M, Singh, S. Bioenergy conversion studies of organic fraction of MSW:kinetic studies and gas yield–organic loading relationships for process optimization, *Bioresource Technology*, 2004, 173–185.

97. Traverso, P., Pavan, P., Bolzonella, D., Innocenti, L., Acidogenic fermentation of source separated mixtures of vegetables and fruits wasted from supermarkets. *Biodegradation*, 2000, 407- 411.
98. Verrier, D., Ray, F., Albagnac, G., Two-phase methanization of solid vegetable wastes. *Biol Wastes*, 1987, 163-77.
99. Mshandete, A., Kivaisi, A., Rubindamayugi, M., Mattiasson, B., Anaerobic batch co-digestion of sisal pulp and fish wastes, *Bioresource Technology*, 2004, 19–24.
100. Bouallagui, H., Torrijos, M., Godon, J., Moletta, R., Ben,R.,Touhami, T., Delgenes, J., Hamdi, Mi., Two phase anaerobic digestion of fruit and vegetable wastes: bioreactors performance. *Biochemical Engineering Journal*, 2004, 193-197.
101. Neves, L., Oliveira, R., Alves, M., Influence of inoculum activity on the biomethanization of a kitchen waste under different waste/inoculum ratios, *Process Biochemistry*, 2003, 2019-2024.
102. Sandoval, C., Caracterización microbiológica de lodos durante la digestión anaerobia de la fracción orgánica de residuos sólidos urbanos para la producción de gas metano. UIS Editorial, Bucaramanga, 2007.
103. Diaz, M., Espitia, S., Molina, F., Digestión Anaerobia una aproximación a la tecnología, Universidad Nacional de Bogotá Instituto de Biotecnología, Bogotá Colombia, 2002.
104. Quintero, M. Estudio de consorcios microbianos para la producción de biogás a partir de residuos de fique. UIS Editorial, Bucaramanga- Colombia, 2011.
105. Vavilin, V., Rytov, S., Lokshina, L., Description of hydrolysis kinetics in anaerobic degradation of particulate organic matter. *Bioresource Technol*, 1996, 229-237.
106. Convert, i A., DelBorghi, A., Zilli, M., Arni, S., DelBorghi, M., Anaerobic digestion of the vegetable fraction of municipal refuses: mesophilic versus thermophilic conditions. *Bioprocess Eng*, 1999, 371–376.
107. Lane, G., Laboratory scale anaerobic digestion of fruit and vegetable solid waste..1996, 245-259.

108. Bouallagui, H., Lahdheb, H., Ben, R., Rachdi, B., Hamdi, M., Improvement of fruit and vegetable waste anaerobic digestion performance and stability with co-substrates addition, *Journal of Environmental Management*, 2009, 1844–1849.
109. Fernández, J., Pérez, M., Romero, L., Effect of substrate concentration on dry mesophilic anaerobic digestion of organic fraction of municipal solid waste (OFMSW), *Bioresource Technology*, 2008, 6075–6080
110. Raposo, F., Banks, C., Siegert, I., Heaven, R. Borja., Influence of inoculum to substrate ratio on the biochemical methane potential of maize in batch tests, *Process Biochemistry*, 2006, 1444-1450.
111. De la Rubia, M., Perez, M., Romero, L., Sales, D. Effect of solids retention time on pilot scale anerobic thermophilic sludge digestion,. *Process Biochemistry*, 2005, 79-86.
112. Cresson, R., Carrère, H., Delgenès, J., Bernet, N., Biofilm formation during the start-up period of an anaerobic biofilm reactor Impact of nutrient complementation, *Biochemical Engineering*, 2006, 55-62.