



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN  
INGENIERÍA**

**CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN ENERGÍA**

**GENERACIÓN DE BIOGÁS MEDIANTE DIGESTIÓN  
ANAEROBIA DE RESIDUOS ORGÁNICOS EN UN SISTEMA DE  
REACTORES ACOPLADOS**

**T E S I S**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

**MAESTRO EN INGENIERÍA  
ENERGÍA – SOLAR FOTOVOLTAICA**

P R E S E N T A :

**I. Q. LAURA ELENA Verea VALLADARES**

TUTOR:

**DR. SEBASTIAN PATHIYAMATTOM JOSEPH**



**TEMIXCO MORELOS, 2009**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **JURADO ASIGNADO:**

Presidente: Dr. Alvarez Gallegos Alberto Armando

Secretario: Dr. Pathiyamattom Joseph Sebastián

Vocal: Dr. Gamboa Sánchez Sergio Alberto

1<sup>er</sup>. Suplente M.B. Tinoco Valencia Jose Raunel

2<sup>do</sup>. Suplente Dr. Suárez Parra Raúl

Lugar o lugares donde se realizó la tesis:

**CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN ENERGÍA-UNAM**

TUTOR DE TESIS

**Dr. Pathiyamattom Joseph Sebastián**

---

FIRMA

*A Dios, por darme esta vida y a toda la gente que la conforma, por que sin tu mano  
nada es posible.*

*A mi Reina por tu amor, tu cobijo y tu guía.*

*A mi mamá por que todo lo bueno en mi lo aprendí de ti. Por que tu amor, tu  
paciencia, tu esfuerzo tu apoyo son los pilares en mis batallas.*

*A mi papá por tu amor y tus consejos.*

*A mis hermanos por su amor, apoyo, comprensión y ánimo que siempre me dan.*

*A Emilio por que tu llegada cambió la perspectiva de nuestras vidas.*

*A mis abuelos, mis tios y mis primos por su amor y por compartir conmigo esta  
experiencia.*

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi tutor:

Dr. Pathiyamattom Joseph Sebastián

A mis sinodales:

Dr. Alvarez Gallegos Alberto Armando (CIICAp-UAEM)

Dr. Gamboa Sánchez Sergio Alberto (CIE-UNAM)

M.B. Tinoco Valencia Jose Raunel (IBT-UNAM)

Dr. Suárez Parra Raúl (CIE-UNAM)

Al Centro de Investigación en Energía (CIE) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

Al CONACYT por el apoyo económico mediante la beca otorgada para realizar los estudios de maestría.

Al Dr. Sebastián Pathiyamattom por su apoyo y por aceptarme en su grupo de trabajo.

A Tito por tu apoyo, tu ánimo, tu paciencia, tu compañía y tu amistad.

A Francisco, Adriana y Toñis, por su comprensión, su amistad, orientación y apoyo.

A mis amigos y compañeros por sus consejos y solidaridad en todo momento.

Habibi, Eli, Alessa, Kike, Tere, Roger, Sergio, Mayra, Mario, Gerardo, Ulises, Dulce, Rodolfo, Enue, Mau, Juan, Sandra, Set, Sandra, Edgar (Posdoc), Raw, Esteban, Neto, Lupita, Martín.

A Don Fermín y a Carmelo.

---

## ÍNDICE

Página

<b>RESUMEN</b>	<b>3</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>5</b>
<b>OBJETIVOS</b>	<b>7</b>
Objetivo general	7
Objetivo específico	7

### **Capítulo 1**

<b>ANTECEDENTES</b>	<b>8</b>
1.1 Digestión anaerobia	8
1.1.1 Aspectos bioquímicos	9
1.1.2 Parámetros fisicoquímicos que influyen en la digestión anaerobia	10
1.1.2.1 Alcalinidad	10
1.1.2.2 Relación alfa ( $\alpha$ )	11
1.1.2.3 Temperatura	11
1.1.2.4 Tiempo de retención de hidráulica y de sólidos	12
1.2 Tipos de digestores	13
1.2.1 Geometrías de digestores anaerobios de baja tasa	14
1.2.2 Digestores UASB y RE	15
1.3 Carga orgánica	17
1.4 Disposición o uso del lodo residual tratado	17

### **Capítulo 2**

#### **HiDRÓGENO**

2.1 Producción de Hidrógeno	19
2.1.1 Metabolismo molecular del hidrógeno	20
2.2 Inhibición del proceso de metanogénesis	21
2.2.1 Pre-tratamiento térmico en inóculo	23
2.3 Efecto del pH y la Temperatura en la producción de Hidrógeno	24
2.4 Tiempo de retención hidráulica	26

---

---

## **Capítulo 3**

<b>METODOLOGÍA EXPERIMENTAL</b>	<b>27</b>
3.1 Descripción del equipo experimental	28
3.2 Preparación y pretratamiento del inóculo	29
3.3 Agua residual sintética	30
3.4 Técnicas de análisis	30
3.4.1 Demanda química de oxígeno	30
3.4.2 Ácidos grasos Volátiles (AGV) y parámetro alfa ( $\alpha$ )	31
3.4.3 Sólidos totales y volátiles	33
3.4.4 Nitrógeno amoniacal	33

## **Capítulo 4**

<b>RESULTADOS</b>	<b>34</b>
4.1 Arranque	34
4.2 Influencia del pH	36
4.3 Influencia de la temperatura	38
4.4 Ácidos grasos volátiles	39
4.5 Remoción de DQO	41
4.6 Nitrógeno amoniacal	43
4.7 Producción de biogás y contenido de hidrógeno	44

<b>Conclusiones</b>	<b>49</b>
---------------------	-----------

Anexo 1	50
---------	----

Ácidos grasos Volátiles y parámetro alfa  $\alpha$

Anexo 2	52
---------	----

Sólidos totales y volátiles

Anexo 3	53
---------	----

Contenido de hidrógeno en biogás

<b>REFERENCIAS</b>	<b>54</b>
--------------------	-----------

---

---

## RESUMEN

### **Generación de biogás mediante digestión anaerobia de residuos orgánicos en un sistema de reactores acoplados**

El hidrógeno es una fuente de energía alternativa debido a su alto poder calorífico (2.75 veces más energía que los hidrocarburos) y el producto de su combustión sólo produce agua. Estas son unas de las razones por las cuales el interés en su producción ha ido en aumento.

El objetivo de este trabajo es evaluar la factibilidad de la producción de H<sub>2</sub> a través del proceso de digestión anaerobia a partir de aguas residuales de tipo municipales en un sistema de reactores acoplados en los que parte del sustrato sea materia orgánica sólida. Se estudió el efecto de tres cargas orgánicas compuestas de agua residual sintética y glucosa en la producción de biogás y su contenido de hidrógeno. La experimentación se llevó a cabo en un sistema de dos diferentes tipos de reactores acoplados; el iniciador es un reactor de manto de lodos de flujo ascendente (UASB) de 7.1 L conectado a un segundo reactor de tipo empacado (RE) de 34.4 L. Se comparó el efecto de tres cargas orgánicas en la producción de hidrógeno en un tiempo de retención hidráulica de 2.5 h a una temperatura de 37 °C y un pH controlado de 5.5 y tres tiempos de residencia de carga orgánica de 24, 48 y 96 h. El inóculo consistió en una mezcla de inóculos no anaerobios y se sometió a tratamiento térmico a 95°C durante 20 minutos con la finalidad de seleccionar las bacterias esporuladas productoras de hidrógeno. Se observó un tiempo de hidrogénesis franca menor al reportado en estudios con un sistema similar para la producción de hidrógeno por digestión anaerobia en reactores acoplados. La producción de biogás aumentó con el aumento en la carga orgánica al igual que el contenido de hidrógeno excepto con la carga orgánica de 400 gDQO/L. El máximo contenido de hidrógeno en el biogás fue de 39.94% con una carga orgánica de 265 gDQO/L y un tiempo de residencia de 48 h.

---

---

## Abstract

The hydrogen is an alternative energy source due to its high calorific value (2.75 times more energy than hydrocarbons). The product of its combustion produces only water. These are some reasons why the interest in its production has been increasing.

The aim of this study was to evaluate the feasibility of hydrogen production through the anaerobic digestion process of synthetic municipal wastewater in a coupled reactor system in which part of the substrate is solid organic matter. It was studied the effect of the synthetic wastewater as a substrate with different organic loads obtained by the addition of glucose to the influent. The experiment was conducted in a system of coupled reactor, one of them was an up flow sludge blanket reactor (UASB) of 7.1 liters connected to a packed bed reactor (RE) of 34.4 liters. It was compared the effect of three organic loads in the production of hydrogen with an hydraulic retention time of 2.5 hours at 37 degrees centigrade of temperature and a controlled ph of 5.5. Three times of organic loading residence were tested, 24, 48 and 96 hours . The inoculum consisted of a mixture of non-anaerobic inocula and subjected to heat treatment at 95 degrees centigrade for 20 minutes with the aim of selecting the hydrogen-producing spore-forming bacteria. It was obtained a lower time for the sludge stabilization compared with other studies reported with a similar system of coupled reactors. The biogas production increased with the increasing organic load the maximum biogas was obtained with 399.7 grams of chemical oxygen demand per liter. 39.94 percent was the maximum contened of hydrogen in the biogas produced with an organic load of 265 grams of chemical oxygen demand per liter and a residence time of 48 hours.

---

---

## INTRODUCCIÓN

En 2007, el resultado de la evaluación de reservas nacionales probadas de hidrocarburos indica que son suficientes para satisfacer la producción actual de petróleo y gas por 9.6 y 8.6 años respectivamente.(SENER, 2006; OLADE, 2004).

La bioenergía tiene el potencial para convertirse en una pieza sustentable en el sistema de energía además de que los procesos que involucra disminuyen la emisión de gases de efecto invernadero relacionada con los combustibles fósiles, ya que su combustión tiene menores emisiones de CO<sub>2</sub> y bajo contenido de azufre y el carbón diseminado durante la combustión puede ser recapturado durante el crecimiento de las plantas.

En la búsqueda de fuentes renovables de energía y alternativas económica y técnicamente viables para su generación, se ha encontrado que el hidrógeno como portador de energía puede sustituir a los combustibles fósiles (TurnerJA. 2004). Entre los diferentes procesos de producción de hidrógeno, el proceso de fermentación anaerobia es un proceso ahorrador de energía y ambientalmente amigable, además, se ha demostrado que este valioso combustible puede producirse a partir de residuos orgánicos urbanos e industriales (Valdez-Vázquez I et al, 2005).

En México la generación de residuos sólidos urbanos per cápita en el 2007 fué de 0.96 kg diarios de los cuales el 49.7% lo constituye la basura de comida, jardines y materiales orgánicos similares. En este mismo año en México había 114 rellenos sanitarios que satisfacían sólo el 66.7% de la demanda de capacidad para destinar los residuos. En cuanto al tratamiento de aguas residuales durante el 2007, las plantas en operación dieron tratamiento a 79294 L/s que representa el 74.6% de la capacidad instalada, de los cuales 165.02 L/s son tratados con procesos anaerobios (SEMARNAT, 2009).

---

---

El hidrógeno es un combustible que durante su combustión sólo produce agua, posee un alto rendimiento de energía (122 kJ/g) y puede ser directamente usado para producir electricidad a través de celdas de combustible. De los métodos biológicos de producción de hidrógeno actuales, el proceso fermentativo ha sido considerado como un método viable y efectivo (Nikolaos Venetsaneas et al, 2009); debido a la facilidad de operación y bajos costos de inversión que requiere.

El proceso de digestión anaerobia es una alternativa para producir hidrógeno a partir de materia residual, este proceso utiliza a los microorganismos para la degradación de compuestos orgánicos (independientemente de su fuente) para liberar el hidrógeno y los lodos generados durante la digestión pueden ser reciclados como fertilizante natural (H. Odegard et al, 2002).

Con la finalidad de contribuir en el desarrollo de sistemas para la generación de energía de manera sustentable y ambientalmente amigables a partir de fuentes renovables, en este trabajo se presenta un sistema para la producción de biogás a partir de materia residual líquida y sólida en un sistema de reactores acoplados con el objetivo de obtener un contenido de hidrógeno en el biogás producido mayor del 40% que es el porcentaje de hidrógeno reportado en trabajos con un proceso de producción y condiciones de operación similares a las empleadas en este trabajo.

En este trabajo se evaluará la producción de hidrógeno a partir de materia residual en un sistema de reactores de tipo de manto de lodos de flujo ascendente y otro empacado, con un inóculo sometido a un pre-tratamiento para la inhibición de bacterias metanogénicas (generadores de metano). Se trabajará en condiciones mesofílicas (37°C) y con agua residual sintética; se probará el desempeño del sistema con tres cargas orgánicas y con tres velocidades de carga a partir de las cuales se pretende establecer las óptimas para obtener la mayor producción de biogás y el mayor contenido de hidrógeno en este.

---

---

## OBJETIVOS

### General

Demostrar la factibilidad de producción de hidrógeno en un sistema de digestión anaerobia de agua residual y residuos sólidos de comida en un sistema de reactores de tipo manto de lodos de flujo ascendente (UASB) acoplado a un reactor empacado (RE).

### Específicos

- Montar un sistema de reactores acoplados de tipo de manto de lodos de flujo ascendente y un reactor empacado.
- Cuantificar el biogás generado con la digestión anaerobia de los residuos sólidos de comida y agua residual en condiciones mesofílicas.
- Evaluar el efecto de la carga orgánica en la producción de Hidrógeno.
- Identificar la combinación de carga orgánica y velocidad de carga óptimos para obtener una producción estable y el mayor contenido de hidrógeno en el biogás.
- Evaluar los subproductos del proceso de digestión en términos de concentración de gDQO/L.
- Cuantificar el contenido de nitrógeno amoniacal en los lodos generados.

## **ANTECEDENTES**

### **1.1 Digestión anaerobia**

El proceso de digestión anaerobia es utilizado en el tratamiento de lodos residuales, provenientes de granjas, efluentes industriales o cultivos; su función es la producción de biogás para generar energía. Este proceso involucra la descomposición de la materia orgánica y la inorgánica en ausencia de oxígeno. En la actualidad una de sus mayores aplicaciones es en el tratamiento de agua residual proveniente del sector industrial y municipal.

Durante el proceso de digestión anaerobia los materiales orgánicos complejos como proteínas poliméricas y azúcares son hidrolizados y fermentados por bacterias que forman ácidos orgánicos, hidrógeno y dióxido de carbono a partir de monómeros; estos son consumidos por bacterias metanogénicas y convertidos en gas metano y dióxido de carbono. Los nutrientes formados durante el proceso se encuentran disponibles en los lodos digestados lo que permite su uso como fertilizante en cultivos agrícolas (Francese A.P. et al., 2000; S.P. Singh, et al., 2009).

Los factores que afectan directamente el proceso de digestión anaerobia son la temperatura, el pH y el tiempo de retención hidráulica o de masa.

---

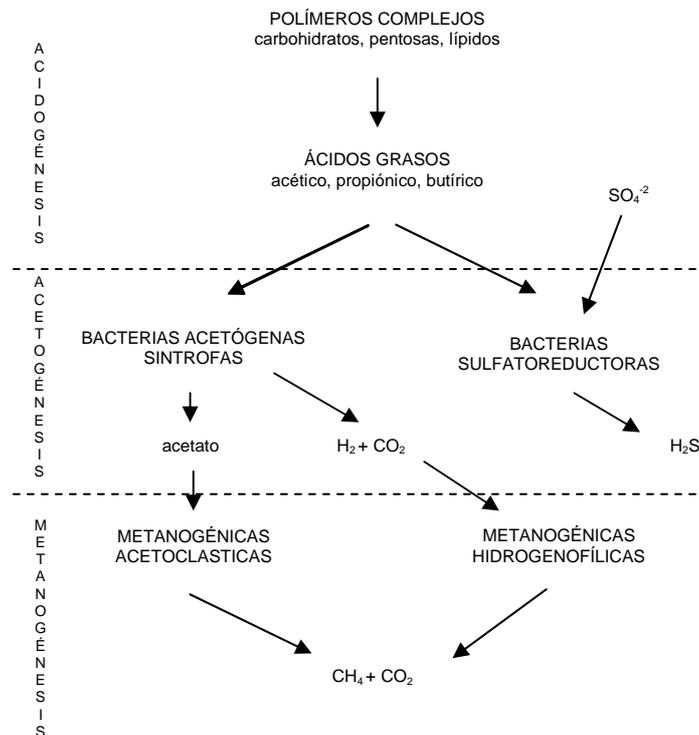
### 1.1.1 Aspectos bioquímicos

Durante la digestión anaerobia el sustrato se degrada en ausencia de oxígeno y la biomasa se transforma principalmente en compuestos inorgánicos, en su mayoría volátiles como:  $\text{CO}_2$ ,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{N}_2$ , y  $\text{H}_2\text{S}$ , y como compuesto orgánico gaseoso  $\text{CH}_4$ .

El proceso se desarrolla en las siguientes etapas:

- Hidrólisis de biopolímeros (proteínas, carbohidratos y lípidos).
- Fermentación de aminoácidos y azúcares.
- Oxidación anaerobia de ácidos grasos de cadena larga y alcoholes.
- Oxidación anaerobia de productos intermedios, como ácidos volátiles.
- Conversión de acetato a metano.
- Conversión de hidrógeno a metano.

Figura 2.1 Proceso de la transformación de la materia orgánica en un proceso de digestión anaerobia.



---

---

Las bacterias fermentativas, acetogénicas y metanogénicas son esenciales para la lograr la degradación completa de la materia orgánica a CO<sub>2</sub> y CH<sub>4</sub> en condiciones anaerobias. Éstas deben existir en relación sintrófica con las metanogénicas que utilizan hidrógeno.

Durante la acidogénesis ocurre una reacción enzimática extracelular en la que macromoléculas como lípidos, proteínas y carbohidratos son hidrolizados. En la acetogénesis las bacterias homoacetógenas utilizan el CO<sub>2</sub> como aceptor terminal de electrones produciendo acetato y las bacterias oxidantes de ácidos grasos volátiles producen hidrógeno.

### **1.1.2 Parámetros fisicoquímicos que influyen en la digestión anaerobia**

#### **1.1.2.1 Alcalinidad**

La digestión anaerobia puede llevarse a cabo dentro de un intervalo de pH comprendido entre 6.2 y 7.8 siendo el óptimo entre 7 y 7.2. Fuera de este último, la digestión puede continuar aunque de forma ineficiente hasta un pH de 6.2, en donde las bacterias metanogénicas son afectadas severamente (Noyola A., 1998).

La alcalinidad es la capacidad de un sistema para mantener un pH determinado en una solución acuosa; tiene un efecto amortiguador (buffer) de pH en el sistema; lo que significa que adiciones de pequeñas cantidades o volúmenes de ácidos o bases no alterarán el pH. Cuanto mayor sea la alcalinidad, pH se podrá mantener a pesar de un aumento en la generación de H<sup>+</sup>.

Debido a la presión parcial del gas en un digestor el CO<sub>2</sub> se solubiliza y forma ácido carbónico; esto lo convierte en el mayor consumidor de alcalinidad. Un

---

indicador de un buen funcionamiento del digestor es una alcalinidad total de 2000 a 5000 mg CaCO<sub>3</sub>/L (Metcalf y Eddy Inc., 2003).

Ante sobrecargas orgánicas la actividad de las bacterias acidogénicas puede provocar la acidificación en el sistema ya que poseen una mayor actividad que las bacterias metanogénicas, este efecto puede evitarse manteniendo en el digestor una óptima capacidad buffer.

En un proceso de digestión anaerobia la alcalinidad del ión bicarbonato es útil para fines de amortiguamiento en valores de operación de pH típicos de 6.0 y 7.5, mientras que la alcalinidad debida a los ácidos grasos volátiles ocurre en un pH de 3.75 y 5.75 por lo tanto es posible cuantificar de manera indirecta la alcalinidad en un sistema con la medición de la alcalinidad debida a los ácidos grasos volátiles mientras el sistema de digestión anaerobia opere dentro de éste último intervalo de pH. La alcalinidad debe mantenerse en el nivel más bajo posible o inapreciable inferior a 100 mg/L para evitar la acidificación en el reactor provocando el fallo del proceso durante la formación de metano. Por el contrario, si existe una fuerte concentración puede provocar inhibición a las bacterias formadoras de metano.

#### **1.1.2.2 Relación alfa ( $\alpha$ )**

La relación alfa es un criterio para verificar que la carga orgánica suministrada al digestor es adecuada para el proceso anaerobio; se obtiene de la división de la alcalinidad debida a los bicarbonatos entre la alcalinidad total. La primera se calcula mediante la titulación de una muestra de lodo, midiendo el consumo de ácido (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.2 N) hasta un pH de 5.75 y la segunda lectura, es la cantidad de ácido utilizado hasta el valor de pH de 4.3 (Jenkins et al., 1983). Ver anexo 1.

---

### 1.1.2.3 Temperatura

El proceso de digestión anaerobia se ha estudiado principalmente en dos intervalos de temperatura; el primero en el intervalo de 30-37°C (digestión mesofílica) y el segundo de 45-55°C (digestión termofílica). En el primero se ha encontrado que la digestión tiende a ser más robusta, requiere digestores más grandes y la producción de biogás es menor comparado con la digestión termofílica; en esta última hay una mayor producción de biogás pero requiere tecnología más cara, mayor energía operacional y de monitoreo.

En los ambientes anaerobios la temperatura define las especies predominantes. Las especies psicrófilas (6-20°C), mesófilas (20-40 °C), termófilas (50-65 °C); todas tienen intervalos de temperatura óptima de crecimiento y actividad definida. La temperatura óptima de crecimiento de las bacterias metanogénas mesofílicas es de 37°C.

La temperatura afecta a las constantes de equilibrio químico por lo tanto tiene efecto en parámetros como la alcalinidad, pH, precipitaciones o redisoluciones de compuestos inorgánicos, cambios en la composición del gas por efecto de la solubilidad, etc.

La temperatura es determinante en la velocidad de digestión y particularmente durante la hidrólisis y la formación de metano.

La determinación de la temperatura de operación establece el tiempo de retención de sólidos (TRS) mínimo requerido para activar la destrucción de una cantidad de sólidos suspendidos volátiles (SSV).

La estabilidad de la temperatura durante el proceso es importante para los formadores de metano que son sensibles a los cambios de esta. Cambios mayores de 1°C por día afecta el desarrollo del proceso. (Metcalf y Eddy Inc., 2003).

---

#### **1.1.2.4 Tiempo de retención de hidráulica y de sólidos**

Para el proceso de digestión anaerobia con sustratos solubles, el tiempo de retención de sólidos (TRS) puede ser determinado dividiendo la masa de los sólidos en el reactor entre la masa de los sólidos removidos diariamente. El TRS está directamente relacionado con las reacciones de hidrólisis, fermentación y metenogénesis; hay un mínimo tiempo para cada una de ellas.

El tiempo de retención hidráulica (TRH) es igual al volumen del líquido en el reactor entre la cantidad de biosólidos removidos. Para sistemas sin recirculación el TRS es igual al TRH.

En la literatura, recientes estudio han demostrado que los bajos TRH favorecen la producción de H<sub>2</sub> (Wen-Hsing et al., 2009). Así mismo algunas investigaciones consideran operar con bajos TRH como parámetro óptimo para la producción fermentativa de hidrógeno (Wan-Qian et al., 2008).

### **1.2 Tipos de digestores**

El dimensionamiento del digestor está basado en proveer suficiente tiempo de contacto entre el sustrato y el consorcio microbiano en los reactores para que ocurra una destrucción significativa de sólidos suspendidos volátiles.

Existen dos grupos de tecnologías para la digestión de altas concentraciones de sólidos suspendidos:

Los digestores de baja tasa son conocidos también como convencionales, en estos la estratificación del fluido se favorece por ausencia de calentamiento o mezclado. La actividad biológica se lleva a cabo en aproximadamente el 50% del volumen del reactor. Para mejorar el proceso en este tipo de reactores se puede

---

---

introducir un sistema de mezclado que incrementa la transferencia de masa en el reactor, tener una completa participación del volumen líquido y permitir una mayor carga de alimentación.

Los TRH para los digestores de baja tasa son de 30 y 90 días, y se recomiendan cargas de 0.5 y 1.6 kg SSV/dm<sup>3</sup>. Tienen baja eficiencia de remoción de contaminantes y alcanzan hasta un 60% de remoción de sólidos suspendidos. (Metcalf y Eddy Inc., 2003).

Los digestores de alta tasa se caracterizan por tener un mezclado durante la reacción; por medio de agitación mecánica, por recirculación de gas o de líquido o ambos; este flujo puede ser el medio de calentamiento en intervalo mesofílico o termofílico. Generalmente los lodos digeridos evacuados son separados y conducidos a otro contenedor. En estos digestores las cargas van de 1.6 a 3.2 kg SSV/dm<sup>3</sup>, con TRH de 10 a 20 días. Este diseño presenta menos inconvenientes en el sistema de recirculación, aunque el material se puede sedimentar, acumular y ocasionar circuitos hidráulicos cortos. Puede diluir compuestos tóxicos y amortiguar cargas imprevistas, homogeneizar la temperatura, el pH y el sustrato. El sistema mezclado es a través de agitación o recirculación de gas comprimido en forma continua o intermitente.

Los contenedores para digestión deben ser calentados y mezclados a fondo para crear las condiciones ideales para que las bacterias conviertan la materia orgánica en biogás (mezcla de dióxido de carbono, metano y otros gases en menor cantidad). Los sistemas de mezclado más comunes en los digestores anaerobios involucran el uso de inyección de gas, agitación mecánica, y bombeo mecánico.

---

### **1.2.1 Geometrías de digestores anaerobios de baja tasa**

La geometría de los digestores tiene entre otros objetivos, el mezclado efectivo de los lodos y evitar la acumulación de sedimentos en las esquinas del digestor. Las geometrías más convencionales para digestores anaerobios de lodos son: geometría clásica, americana, europea y forma de huevo.

La geometría clásica consiste en un cilindro cuya relación de diámetro y altura es de uno, con pendientes en la parte superior e inferior para favorecer el mezclado y la homogenización de los lodos (Water Environment Federation, 1993).

La geometría americana, tiene una cubierta fija o flotante para la captación de biogás y una pequeña pendiente en el fondo del digestor. Debido a su relación diámetro altura que es mayor que uno, se acumulan los sólidos en el fondo y se forman natas lo que dificulta el mezclado.

La geometría europea consiste en un cilindro con relación diámetro altura menor a uno y con poca pendiente en el fondo. Tiene eficiencias de mezclado similares a las obtenidas con la geometría clásica pero limitada por su pendiente baja; su construcción es más económica.

La geometría en forma de huevo es una evolución de la geometría europea. Permite la circulación óptima de los lodos y una mejora en el mezclado, evita la acumulación de sólidos. Su construcción es barata y es de fácil operación.

### **1.2.2 Digestores UASB y RE**

La estabilidad y el funcionamiento de los reactores anaerobios se puede mejorar reteniendo el consorcio microbiano en el reactor. Dos medios para lograrlo es el uso de gránulos densos de bacterias como en los digestores anaerobios de manto de lodos de flujo ascendente (UASB) o en una biopelícula microbiana

---

---

adjunta a los acarreadores inertes en los reactores empacados (RE). El medio de empacamiento en el RE y el lodo granular en el UASB sirven como un filtro para proveer el lavado y una superficie más grande para desarrollar la biopelícula con mayor velocidad e incrementar la generación de metano.

En el RE el área de superficie específica, porosidad, rugosidad de la superficie, tamaño de poro, y orientación del material de empacado juegan un papel importante en el desempeño de un reactor anaerobio. La formación de la biopelícula en los materiales acarreadores incrementa las velocidades de conversión al reducir la sensibilidad a las variaciones de concentración y sustancias inhibitoras (P. Singh et al., 2009).

Diferentes materiales (PVC, anillos Pall, espuma de poliuretano, de fieltro de carbono, las fibras de nylon, paja, virutas de madera) han sido provadas como material para empacar, dependiendo de su disponibilidad y demás especificaciones. Estos materiales de para empaque ayudan a reducir el tiempo de retención hidráulica y costos. El tamaño del poro fué uno de los parámetros más importantes para los requerimientos microbianos e ingenieriles en lechos de alta eficiencia (Breitenbqcher K et al., 1990).

El aumento en la producción de biogás es explicada por el aumento en la cantidad de metanógenos inmovilizados en el material de empacamiento. En un estudio se encontró que el medio de soporte plástico como los tubos de PVC son mas efectivos para reducir los tiempos de retención hidráulica.

El digestor UASB es un reactor diferente a los descritos anteriormente, su principal aplicación es en el tratamiento de aguas residuales. En este tipo de digestor los lodos son recirculados en forma ascendente. El influente entra por el fondo del reactor y atraviesa el lecho de lodos (biomasa) donde se encuentran los microorganismos en forma de gránulos o flóculos. La producción del biogás también contribuye al mezclado generando una circulación interna del lecho de lodos. El biogás es captado y evacuado para su aprovechamiento.

---

### **1.3 Carga orgánica**

La carga orgánica es la cantidad de materia orgánica en digestión. Si ésta cantidad rebasa el límite de degradación de las bacterias que convierten los ácidos a acetatos y metano, el medio se acidifica ( $\text{pH} < 6.0$ ) inhibiendo el crecimiento y actividad de las bacterias metanogénicas hasta que el proceso de degradación de la materia se detiene.

En la producción de hidrógeno, los reactores deben retener las bacterias productoras de hidrógeno para obtener una mayor capacidad catalítica y soportar grandes tasas de carga orgánica. La mayoría de los sistemas con inmovilización de bacterias productoras de hidrógeno han mostrado eficiencias superiores en comparación con los sistemas en suspensión, incluso cuando se operan en TRH bajos. En este sentido los principales sistemas de lecho empacado con biomasa inmovilizada utilizados para la producción fermentativa de  $\text{H}_2$ , son el reactor anaerobio de lecho ascendente (UASB), a pesar de que técnicamente la biomasa no se encuentra inmovilizada, actúa como tal. (Lin C.Y., Chang R-C., 2004).

Es importante tener en cuenta que la producción de hidrógeno es un proceso intermedio durante la digestión anaerobia y por ello no busca disminuir la materia orgánica presente en las aguas, simplemente la transforma en ácidos orgánicos que pueden ser fácilmente degradados por otros microorganismos posteriormente en un sistema anaerobio para la producción de metano (Carvajal Monroy Carolina, 2009) que opera en condiciones de pH entre 6 y 7.2.

### **1.4 Disposición o uso del lodo residual tratado**

Los lodos tratados tienen la capacidad de incrementar la retención de agua y mejorar el suelo cultivable, además de proveer nutrientes como nitrógeno y fósforo y micronutrientes como manganeso, cobre, molibdeno, hierro y zinc. A

---

pesar de no tener estos elementos en concentraciones bien balanceadas como en un fertilizante comercial, los suelos responden favorablemente.

Las autoridades mexicanas tomando como referencia la norma para los biosólidos de la Environmental Protection Agency (EPA, 1996a), crearon la NOM-004-SEMARNAT-2002 (SEMARNAT, 2003) que establece las especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes de lodos y biosólidos para su aprovechamiento y disposición final de los lodos de desecho provenientes de las plantas tratadoras de agua residual en nuestro país.

### PRODUCCIÓN DE HIDRÓGENO

El hidrógeno puede ser producido por métodos químicos, electroquímicos, como subproducto de procesamiento de aceite o carbón o por el uso de microorganismos.

Actualmente el hidrógeno es producido por combustibles fósiles como el gas natural y las naftas. Sin embargo, esta práctica implica la generación de un combustible limpio a partir de una fuente contaminante y limitada. Por lo tanto, es necesario usar otras fuentes y métodos para obtener hidrógeno de forma renovable, sustentable y ambientalmente amigable. (Valdez-Vazquez et al., 2008).

La producción biológica de hidrógeno es una alternativa a los procesos actuales de producción. Esta se puede clasificar en dos procesos: La fotofermentación y la fermentación oscura.

La fotofermentación utiliza las algas fotosintéticas que producen hidrógeno, usando luz y compuestos reducidos a la forma de ácidos orgánicos que generalmente se encuentran en sustancias de desecho.

En la fermentación oscura participan bacterias anaerobias que crecen en oscuridad y usan sustratos ricos en carbohidratos; los subproductos de esta son los ácidos acético y butírico.

En este trabajo se propone la producción de hidrógeno por medio de la fermentación oscura o digestión anaerobia de una mezcla de residuos sólidos orgánicos y agua residual debido a las ventajas que este proceso representa,

---

---

como son las altas tasas de producción de biogás con alto contenido de hidrógeno.

### 2.1.1 Metabolismo molecular del hidrógeno

Durante el proceso de fermentación oscura o digestión anaerobia, las enzimas directamente involucradas en el metabolismo molecular del hidrógeno son las hidrogenasas y efectúan la oxidación reversible de hidrógeno molecular.

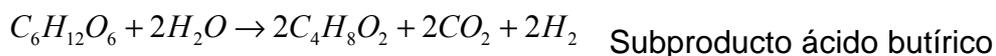
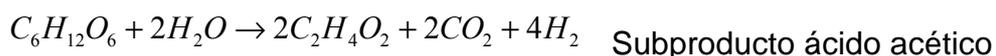


La oxidación del hidrógeno es acompañado de la reducción de los aceptores de electrones como el oxígeno, nitrato, sulfato, dióxido de carbono y fumarato.

Es sabido que los factores ambientales pueden afectar la actividad de la enzima en el proceso de producción del hidrógeno. Estudios han encontrado que factores como el pH y la Temperatura tienen una influencia directa en la actividad de la enzima (Valdez-Vazquez et al., 2008).

En la mayoría de ambientes anaerobios, el consumo de hidrógeno se lleva a cabo muy rápidamente por diferentes grupos microbianos. Contrario a este hecho natural, el interés de este estudio es propiciar la acumulación de hidrógeno para usarlo como combustible; para ello es necesaria la inhibición de microorganismos consumidores de hidrógeno tales como los metanógenos y acetógenos que son los principales en ausencia de nitratos y sulfatos (Valdez-Vazquez et al., 2008).

Los metabolitos más comúnmente formados durante la fermentación de carbohidratos para obtener hidrógeno son, en mayor proporción: Acetato y butirato y en menor proporción: propionato, etanol y butanol según las siguientes reacciones (Lay JJ et al 1999).



La producción de hidrógeno por procesos de fermentación con cultivos anaerobios acidogénicos, tiene ventajas sobre la producción de hidrógeno con bacterias fotosintéticas o algas ya que con la primera se obtienen altas tasas de producción y utiliza la materia orgánica de desecho para convertirla en una fuente de energía.

## 2.2 Inhibición del proceso de metanogénesis

Estudios han demostrado que bajo las mejores condiciones de crecimiento para todos los consumidores de H<sub>2</sub>, la mayor capacidad para utilizar el H<sub>2</sub> está relacionada a la reacción bioquímica más favorable energéticamente.

Tabla 2.1 Reacciones de producción y consumo de hidrógeno presentes en el proceso anaerobio. (a) Condiciones estándar. (b) Condiciones prevalcientes en ecosistemas anaerobios (Valdez-Vazquez I et al., 2005).

Ec.	Tipo de reacción	Reacción	Energía libre de Gibbs (KJ/reacción)	
			$\Delta G^{\circ}$ (a)	$\Delta G^{\circ}$ (b)
1	Fermentación	$C_6H_{12}O_6 + 2H_2O \rightarrow 2H_2 + \text{butirato} + 2HCO_3^- + 3H^+$	-135	-248
2	Fermentación	$C_6H_{12}O_6 + 4H_2O \rightarrow 4H_2 + 2\text{acetato} + 2HCO_3^- + 4H^+$	-207	-319
3	Oxidación anaerobia	$\text{Butirato} + 2H_2O \rightarrow 2H_2 + 2\text{acetato} + H^+$	+48.2	-17.6
4	Oxidación anaerobia	$\text{Propionato} + 3H_2O \rightarrow 3H_2 + \text{acetato} + HCO_3^- + H^+$	+76.2	-5.5
5	metanogénesis hidrogenotrófica	$4H_2 + HCO_3^- + H^+ \rightarrow CH_4 + 3H_2O$	-136	-3.2
6	Acetogénesis del CO <sub>2</sub> y H <sub>2</sub>	$4H_2 + 2HCO_3^- + H^+ \rightarrow \text{acetato} + 4H_2O$	-105	-7.1
7	Reducción de sulfato	$4H_2 + SO_4^{-2} \rightarrow HS^- + 3 H_2O + OH^-$	NA	-165

---

Para lograr la acumulación del H<sub>2</sub> para su uso como combustible es necesario la inhibición de los microorganismos consumidores de este, tales como los metanógenos hidrogenotróficos y acetógenos autotróficos. Esta inhibición metanogénica es posible con el control biocinético, tratamiento térmico y compuestos químicos.

El método de inhibición tiene que ser continuo. En la literatura, los principales metanógenos inhibidores son compuestos químicos tales como: 2-bromoethanosulfonato, acetileno, etileno, etano, metil cloro y metil flúor. Trabajos recientes han usado la adición de nitrato (1000 mg-KNO<sub>3</sub> / L) para la inhibir la metanogénesis y aumentar la producción de hidrógeno (Kim JO et al., 2006).

Otros tipos de inhibidores metanogénicos han sido utilizados como control biocinético que consiste en la aplicación de condiciones ambientales en las que los metanógenos no pueden crecer; por ejemplo pH bajo, grandes tasas de dilución causando un lavado completo de los metanógenos, el pre-tratamiento térmico aproximadamente a 100°C durante varios minutos causando la total destrucción de los metanógenos entre otros microorganismos.

Hay muchas opciones para la inhibición de la metanogénesis; la selección del método de inhibición dependerá de los costos operacionales y de inversión, la factibilidad técnica y complejidad, la efectividad de la inhibición durante el tiempo de fermentación, tiempos de estabilización del inóculo, la relación con los microorganismos productores de H<sub>2</sub>, la compatibilidad con el metabolismo, el origen del inóculo y el tipo de sustrato, entre otros.

Investigadores han usado uno o mas de estos métodos en estudios de producción de H<sub>2</sub> por consorcios anaerobios, aunque no está claro cual es el mejor. Posiblemente el método mas simple y el más económico es el control biocinético, principalmente con el uso de pH < 6.0. (Eun JS et al., 2004).

---

### 2.2.1 Pre-tratamiento térmico en inóculo

Clostridium, Bacillus y Enterobacter entre otros, son los principales microorganismos presentes en los sistemas de fermentación para la producción de hidrógeno, en cultivos puros y mixtos (Davila-Vazquez G et al., 2008).

Los organismos de tipo clostridium, estrictamente anaerobios y formadores de esporas, han sido ampliamente estudiados para la producción fermentativa de hidrógeno, con muy buenos resultados. Algunas especies puras estudiadas son C. butyricum (Yokoi et al., 2001); C. thermolacticum (Collet et al., 2004); C. pasteurianum (Liu y shen, 2004) también se han realizado estudios con organismos facultativos anaerobios de género Enterobacter, E. coli y Citrobacter (Nakashimada et al., 2002; Yokoi et al., 1998; Tanisho et al., 1994)

Algunos cultivos mixtos utilizados para la producción de hidrógeno provienen de diferentes fuentes, suelo, sedimentos, composta, lodos aerobios y anaerobios. Estos son sometidos a diferentes pre-tratamientos con el fin de seleccionar las bacterias productoras de hidrógeno alterando la comunidad microbiana presente en la población inicial mixta (Cheong y Hasen, 2006).

Algunas especies microbianas como las Bacilus y las Clostridium tienen la capacidad de esporular cuando las condiciones del ambiente se vuelven hostiles tales como un calentamiento repentino, cambios en el estado de los nutrientes, presencia de químicos inhibidores, entre otros (Foster SJ et al., 1990).

Las esporas son metabólicamente latentes y resistentes al calor, radiación, desecación y pH extremos y químicos tóxicos (Setlow P. et al., 2003). En ambientes anaerobios, los principales microorganismos formadores de esporas son varios géneros de bacterias acidogénicas.

El tratamiento térmico que consiste en calentar el inóculo a una temperatura aproximada a 100°C por un tiempo de 15 a 120 min es usado para eliminar

---

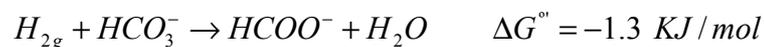
---

esporas no formadoras de microorganismos, principalmente las metanogénicas. Este tratamiento simultáneamente selecciona las esporas de bacterias acidogénicas que germinarán, produciendo hidrógeno cuando las condiciones son otra vez favorables para el crecimiento (Lay JJ et al., 2005).

### 2.3 Efecto del pH y la Temperatura en la producción de hidrógeno

En varios estudios se ha reportado que el inicio de la producción de hidrógeno se lleva a cabo cuando el sistema se encuentra en un pH de alrededor de 5.5 ya que en el intervalo de pH 6.5 a 7 se favorece la esporulación de bacterias metanogénicas y en intervalo de pH cercanos a 4.5 la actividad enzimática disminuye aproximadamente 2.2 veces (Vijayaraghavan K et al., 2006). El control de un pH bajo está ligado a la activación de rutas metabólicas y la actividad de la hidrogenasa; por esto el pH va mas allá de ser un parámetro de control durante la fermentación.

En digestores anaerobios se ha observado que la acumulación de precursores metanogénicos como el formiato, H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> y los ácidos grasos volátiles son resultado de un desbalance entre su producción y su consumo. La producción de hidrógeno se incrementa bajo condiciones acidogénicas en reactores anaerobios. Voolapalli RK propone un análisis teórico de equilibrio entre formiato e hidrógeno a través de las siguientes ecuaciones (Voolapalli RK et al., 2001):



Basado en el equilibrio químico, la ecuación puede ser escrita como:

$$\frac{[HCOO^-]}{H_{2aq}} = K K_{CO_2} pCO_2 K_A / K_{H_2} [H^+]$$

---

Donde  $K_{H_2}$  es la constante de Henry para el hidrógeno ( $7.4e^{-9}$  mol/L Pa),  $K$  es la constante de equilibrio (1.31 a 35 °C),  $K_{CO_2}$  es la constante de Henry para el dióxido de carbono ( $2.46e^{-7}$  mol/L Pa) y  $K_A$  es la primera constante de disociación para el ácido carbónico ( $4.8e^{-7}$ ).

Se puede ver que la razón del formiato con el hidrógeno varía exponencialmente con el pH y linealmente con la concentración de  $CO_2$ . Como consecuencia, la producción de hidrógeno es más probablemente dominante bajo condiciones acidogénicas de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\frac{[HCOO^-]}{H_{2aq}} = \frac{K K_{CO_2} pCO_2 K_A}{K_{H_2}} \times 10^{PH}$$

Adams y Mortenson determinaron el efecto de la Temperatura en la velocidad de catálisis del hidrógeno por la hidrogenasa I y II de las *C. pasteurianum* mesofílica. Los autores obtuvieron la gráfica de Arrhenius para calcular los valores de la energía de activación (EA) y las temperaturas óptimas para la reacción. Con ambas enzimas en ambos sistemas de análisis, las gráficas fueron lineales en el intervalo de 15-50 °C. La velocidad de la reacción disminuyó entre los 50-70 °C (Adams MW, Mortenson LE., 1984).

Se ha observado en estudios con sustratos solubles y sólidos en diferentes sistemas que la velocidad de producción específica del hidrógeno y el porcentaje de éste en el biogás aumenta en temperaturas mayores de 40°C. En ambos casos una óptima velocidad de producción de hidrógeno se obtuvo a los 55°C y un porcentaje máximo de hidrógeno en el biogás mayor de 60% (Shin HS et al., 2004).

---

## 2.4 Tiempo de retención hidráulica

El tiempo de retención hidráulica (TRH) está definido como la razón entre el volumen del reactor y el flujo volumétrico y también conocido como el inverso en la velocidad de dilución (D). Altas velocidades de dilución (cortos TRH) pueden causar un lavado completo de los metanógenos desde que las velocidades de crecimiento específico de los metanógenos son mucho más cortos que las de las bacterias productoras de hidrógeno  $0.0167$  y  $0.083 \text{ h}^{-1}$  respectivamente (Chen CC et al., 2001). Estudios han demostrado que el rendimiento mas alto de hidrógeno está ligado a cortos TRH (6 h) o altas velocidades de dilución (Lin CY, Chang RC, 1999).

En un estudio para evaluar la producción biológica de hidrógeno a partir de residuos orgánicos con alto contenido de carbohidratos en reactores discontinuos secuenciales anaerobios se reportó un 37% de hidrógeno en el biogás operando con un TRH de 16 h durante un ciclo de 4 h y se observó la disminución de este porcentaje con el incremento de la duración del ciclo. (Wen-Hsing C et al., 2009).

En otro estudio sobre el efecto de la tasa de dilución en la producción de hidrógeno a partir de residuos de alimentos se obtuvo el 50% de reducción en DQO, el 70% de eficiencia en la formación de hidrógeno y 100 L de este acumulado, con un TRH de 5.3 h (Han S-K., Shin H-S., 2004).

### METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

En este capítulo se describe la metodología para la evaluación de los principales parámetros del proceso de digestión anaerobia en el sistema de reactores acoplados UASB-RE para la generación de biogás. Se describe el sistema de reactores, el proceso de preparación y pre-tratamiento del inóculo, el arranque y el acoplamiento de los reactores.

La experimentación se dividió en cuatro etapas. La primera que comprendió la construcción de dos reactores UASB y RE con las características de los reactores reportados por Alzate-Gaviria (Alzate-Gaviria LM et al., 2003).

En la segunda etapa se evaluó el tiempo de hidrogénesis franca durante el proceso de estabilización de la mezcla de inóculo con agua residual sintética (ARS) en el reactor iniciador.

El tiempo de hidrogénesis franca (THF) se determinó cuando los siguientes parámetros alcanzaron los valores de: alfa 0.5, ácidos orgánicos  $< 1500 \text{ mgL}^{-1}$  de ácido acético, y pH estable en un intervalo de 5.5-6.5 (Alzate-Gaviria LM et al., 2007).

La tercera etapa consistió en el análisis del acoplamiento del reactor iniciador UASB al reactor empacado con una mezcla de inóculo, residuos sólidos de comida y agua residual sintética. Una vez acoplados se evaluó el período de estabilización hasta alcanzar el THF.

En la cuarta etapa se inició la alimentación de tres cargas orgánicas (CO) 133 gDQO/L, 265.0 gDQO/L, 400 gDQO/L. Cada una de las CO se evaluó en tres

---

tiempos de residencia que se refiere al tiempo entre una alimentación y otra; se experimentó con 24, 78 y 96h.

El proceso de digestión anaerobia desarrollado en este trabajo se operó bajo condiciones mesofílicas ( $37^{\circ}\text{C} \pm 2$ ) con un tiempo de retención hidráulica de 2.5 h a una velocidad de recirculación de 0.2 L/s.

### **3.1 Descripción del equipo experimental.**

El reactor UASB consistió en un reactor iniciador con fase líquida de flujo ascendente construido con un tubo de policloruro de vinilo de 10 cm de diámetro, y 90 cm de altura con capacidad para 7.1 L. En la parte superior del reactor se acondicionó un termómetro para monitorear la Temperatura y una válvula para la obtención de muestras. El reactor se envolvió con material aislante para mantener la Temperatura en  $37^{\circ}\text{C}$ .

El RE consistió en un contenedor con geometría de prisma cuadrangular de 20 cm por lado y altura de 86 cm con capacidad para 34.4 L. Para el material de empaque se cortaron anillos de tubo de PVC de 1.27 cm de diámetro y 1 cm de ancho. A una altura de 20 cm se acondicionó un filtro en el interior del reactor con la finalidad capturar los residuos sólidos de comida y evitar obstrucciones en el circuito de recirculación.

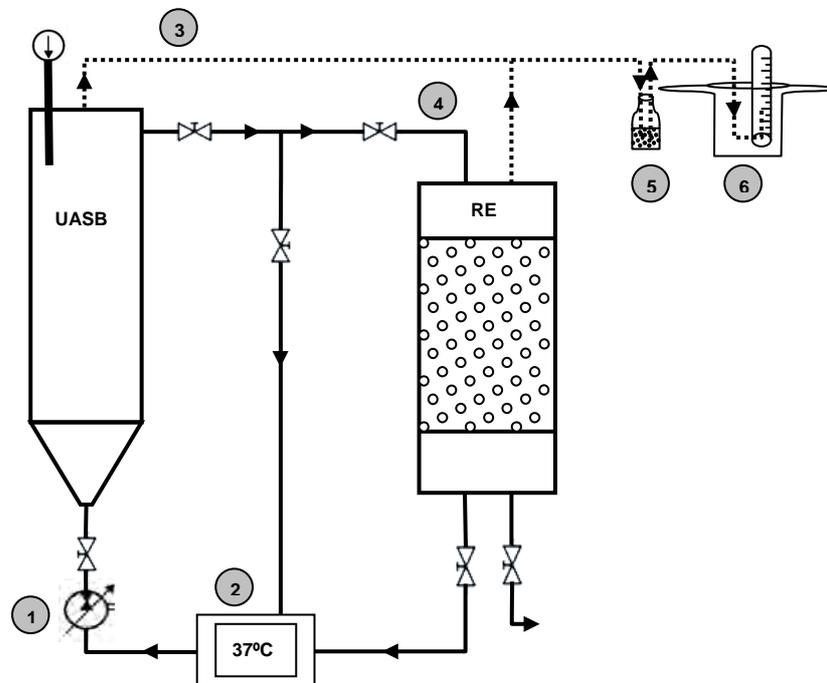
En ambos reactores se acondicionó un sistema de desgasificación para la cuantificación del biogás. Este sistema se conectó a un recipiente con una solución de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0.05 M y posteriormente a un recipiente graduado de 2 L. El biogás producido se cuantificó por medio de un sistema de desplazamiento volumétrico de agua.

---

Para el sistema de recirculación se utilizó una bomba de diafragma de Hypalon marca Milton Roy para caudal máximo de 1500L/día y una temperatura máxima de 107°C.

Para mantener la Temperatura en 37°C, se hizo pasar parte del sistema de recirculación que alimenta al UASB a través de un sistema de calentamiento (baño termostático).

Figura 3.1 Sistema experimental. 1 Bomba para recirculación. 2 Baño termostático. 3 sistema de desgasificación. 4 Sistema de alimentación al RE. 5 Solución de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. 6 Sistema de desplazamiento de agua.



### 3.2 Preparación y pretratamiento del inóculo

Para inocular, se preparó una mezcla de inóculos no anaerobios compuesto de 300 g/L de excreta vacuna, 150 g/L de excretas de cerdo, 1 g/L de carbonato de sodio y 1 L de agua.

---

---

El estiércol se sometió a tratamiento térmico a 95°C durante media hora para inhibir la esporulación de las bacterias metanogénicas y permitir el desarrollo de las bacterias productoras de hidrógeno del género clostridium. La solución obtenida se filtró para evitar obstrucciones en el sistema de recirculación.

### **3.3 Agua residual sintética**

El agua residual sintética consistió en una solución con la siguiente composición: 5 g/L de glucosa, 1 g/L de cloruro de amonio ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ), 1 g/L de bicarbonato de sodio ( $\text{NaHCO}_3$ ), 1 g/L de carbonato de sodio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), 0.2 g/L de fosfato monoácido de potasio ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ) y agua de la llave. (Alzate-Gaviria LM et al., 2007).

### **3.4 Técnicas de análisis**

#### **3.4.1 Demanda química de oxígeno**

Se define Demanda Química de Oxígeno (DQO) como la cantidad de oxígeno necesaria para oxidar completamente por medios químicos los compuestos orgánicos a  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$ . Una de sus ventajas es que cuantifica la materia disuelta y particulada.

Para su determinación se utilizaron tubos HACH con dicromato de potasio y ácido sulfúrico en un rango de 0 – 1500 mg DQOL<sup>-1</sup>. A cada vial se le adicionaron 0.2 ml del sobrenadante de una muestra previamente centrifugada. Se colocaron los tubos dentro del reactor digestor HACH precalentado a una temperatura de 150°C, se dejó en digestión por 2 horas. La concentración de DQO en los viales se leyó en un espectrofotómetro HACH.

---

---

Para cada medición se tomaron muestras por triplicado. El blanco se preparó con el mismo procedimiento descrito para las muestras de solución digestada pero en lugar de esta se agregó 0.2 ml de agua desionizada.

### 3.4.2 Ácidos grasos Volátiles (AGV) y parámetro alfa ( $\alpha$ )

La cuantificación de los ácidos grasos volátiles permiten identificar los principales productos durante la digestión anaerobia; es un parámetro de control que permite evitar de manera oportuna el descenso del pH debido a su acumulación.

Los ácidos grasos volátiles fueron cuantificados según el método 2320 publicado en el “*Standard methods for examination of water and waste water*” (APHA, 1995); este consiste en la titulación de una muestra de lodo con un ácido fuerte hasta un pH de 4.3. Según Hill y Jenkins et al (1989) en este pH más del 99% del bicarbonato del sistema es convertido en CO<sub>2</sub> y con esto se considera aproximadamente el 80% de ácidos grasos volátiles; por ello propusieron la titulación a un pH de 4.75 que se ajusta mejor a la alcalinidad debida al bicarbonato. (Hill y Jenkins et al., 1989 ).

En el presente trabajo se realizó una titulación de la muestra con ácido sulfúrico 0.1 normal . La alcalinidad total (AT) definida en un pH de 4.3 y la alcalinidad parcial (AP) en 4.75 y la alcalinidad intermedia (AI) asociada a la concentración de ácidos grasos volátiles estimada como la diferencia de las dos anteriores según las siguientes ecuaciones:

$$A_T = \frac{(V_3 * 50000)}{V_1}$$

$$A_P = \frac{(V_2 * C * 50000)}{V_1}$$

---

---

$$A_I = A_T - A_P$$

$$AGV = (V_3 - V_2) * C * 60 * 20$$

$$\alpha = \frac{A_I}{A_P}$$

Donde:

AT : Alcalinidad total

Ap : Alcalinidad parcial

Al : Alcalinidad intermedia

C : Concentración de la solución titulante, 0.1 N de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

V1 : Volumen de la muestra

V2 : Volumen de la solución titulante gastada hasta un pH de 4.75

V3 : Volumen de la solución titulante gastada hasta un pH de 4.3

AGV: Concentración de ácidos grasos volátiles en mgAc/ L

$\alpha$  : Alfa

El método anteriormente descrito, cuantifica todos los ácidos grasos volátiles presentes en el sistema; según E. Castello et al., el ácido acético (Ac), butírico y propiónico son los más abundantes (E. Castello et al., 2009). Este método se validó con el método de cromatografía líquida de alta resolución en un equipo localizado en el Instituto de Biotecnología (UNAM) en Cuernavaca Morelos. Las muestras para el análisis fueron escogidas al azar y se encontró que en promedio el 70% de los ácidos grasos volátiles cuantificados con el método anterior corresponden precisamente a la concentración del ácido acético (Ver anexo 1).

---

### **3.4.3 Sólidos suspendidos totales y volátiles**

La medición de los sólidos suspendidos totales y volátiles se realizó según el método descrito en "*Standard methods for examination of water and waste water*" (APHA, 2005). Los cálculos se describen en el anexo 2.

### **3.4.4 Nitrógeno amoniacal**

El nitrógeno amoniacal se analizó por el método de Hach basado en espectrofotometría, de Hach Methods Ammonium 0-50 ppm. Los resultados se expresan en ppm NH<sub>3</sub>.

### RESULTADOS

En este trabajo, se evaluó la producción de hidrógeno por digestión anaerobia de materia orgánica residual líquida y sólida. Se evaluó la producción de hidrógeno con tres cargas orgánicas diferentes, alimentadas en forma ascendente. Cada una de las cargas orgánicas fué evaluada en tres tiempos de residencia de carga orgánica.

En este capítulo se muestra el efecto de cada una de los parámetros de operación analizados durante el proceso de digestión anaerobia desarrollado en este trabajo, la cantidad de biogás obtenido y su contenido de hidrógeno.

#### 4.1 Arranque

Se puso en recirculación 3.7 L de inóculo filtrado y 1.9 L de agua residual en el reactor UASB a un flujo volumétrico de 1.2 L/h y una temperatura a 37°C.

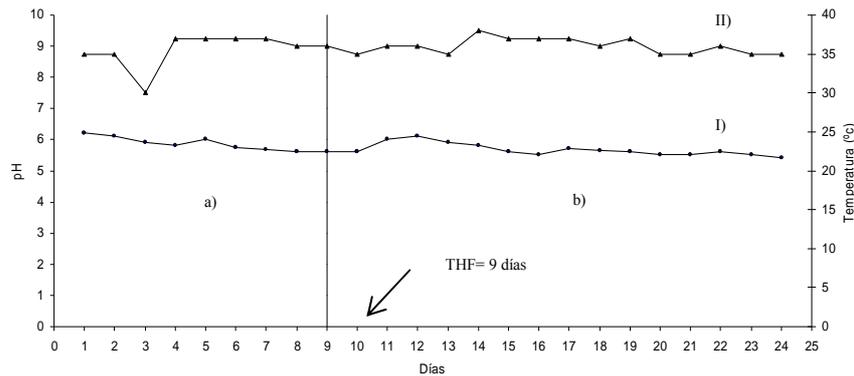
Se observó un pH inicial de 6.2. En el noveno día con las características del efluente de pH 5.6, alfa 0.5, AGV 1320 mg Ac/L y 35% hidrógeno en el biogás se inició la recirculación hacia el RE.

El reactor RE se llenó con 15.5 L de inóculo, 7 L de agua residual sintética y 2 Kg de residuos orgánicos de comida (triturados) provenientes de la cafetería del Centro de Investigación en Energía. Previo al llenado se introdujeron tubos de PVC de 1" de diámetro y ¾" de ancho como material de empaque para facilitar la percolación de los lixiviados.

---

El sistema ya acoplado se dejó en operación durante 13 días para la estabilización de los lodos hasta obtener una producción constante de biogás. En la siguiente figura se muestra la evolución del pH durante este periodo.

Figura 4.1 I) Comportamiento de pH. II) Comportamiento de la Temperatura. a) Período de estabilización en el UASB. b) Período de estabilización en el sistema de reactores acoplado



Durante el acoplamiento del UASB al RE se observó una disminución en el contenido hidrógeno en el biogás a un 21%, restableciéndose el 35% de hidrógeno en el biogás 13 días después.

En trabajos con condiciones de operación similares a este se han reportado THF de 7 días en un reactor UASB con un efluente de pH 6.15, un contenido del 40% de hidrógeno en el biogás y en un reactor RE un THF de 20 días con un contenido de hidrógeno también del 40% (Liliana M. Alzate-Gaviria et al.,, 2007). En comparación con este trabajo, el RE alcanza un THF en menos tiempo al ser alimentado por los lixiviados estabilizados en un UASB.

En cuanto al pH inicial de 6.2 en el UASB no se observó gran acumulación de biogás como se ha reportado en otros trabajos en los que se ha tenido un pH inicial de 7, un contenido de hidrógeno en el biogás de 45% y un contenido de CH<sub>4</sub> insignificante usando un método de acidificación previa del sustrato (Mao-Lin Zhanga et al.,, 2007).

Yao-Ting Fan et al.,, (2006) reporta que valores de pH iniciales de 6.0-7.0 pueden representar el pH “óptimo” y 5.5-7.5 el pH “aceptable” en el sustrato mientras que

---

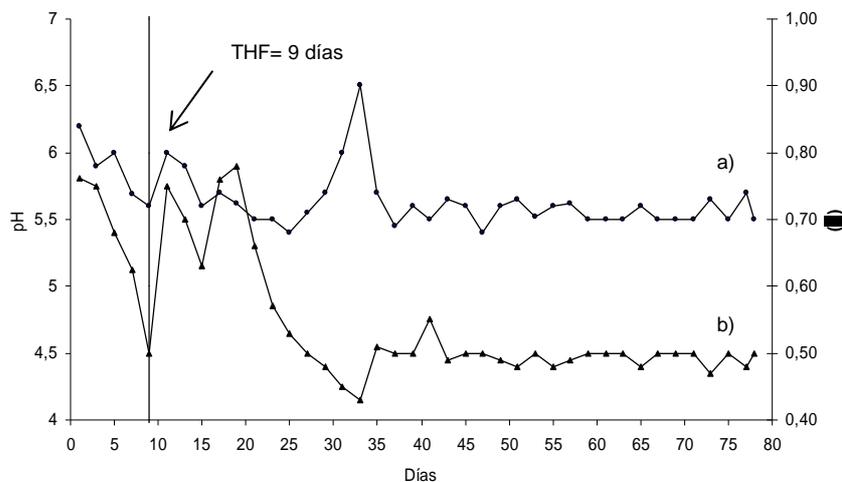
durante la producción de hidrógeno el rendimiento disminuye en pH inferiores a 5.5 y mayores de 7.5 (Yao-Ting Fana et al., 2006).

Sin embargo, publicaciones recientes reportan un acuerdo de pH 5.5-6 como el pH inicial óptimo para la producción de hidrógeno (Juan Wei et al., 2009).

## 4.2 Influencia del pH

El pH se mantuvo a  $5.5 \pm 0.2$  adicionando soluciones de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0.1N cuando el pH en el sistema aumentara 0.5 unidades y NaOH 0.1N cuando el pH en el sistema disminuyera en 0.5 unidades. Con el aumento del pH (en 0.5 unidades) y de la carga orgánica se observó una disminución en la velocidad de producción de biogás. Este efecto ocurrió principalmente en las primeras horas después de la alimentación de carga orgánica. Esto se debe a que la velocidad de formación de ácidos grasos es mayor que la velocidad en la que estos son convertidos en biogás. En la siguiente gráfica se muestra la evolución del pH durante un período de digestión de 78 días.

Figura 4.2 a) Comportamiento del pH. b) Comportamiento de alfa ( $\alpha$ ) durante la digestión de 78 días.



Como se observa el pH se mantuvo en un promedio de 5.5 y a partir del día 35 se mantuvo estable.

En la siguiente tabla se muestran los resultados de algunos estudios en los que los pH bajos, favorecen la producción de hidrógeno.

Tabla 4.1 Determinación del pH óptimo en cultivos mixtos en condiciones mesofílicas.

Intervalo de pH probado	pH óptimo	Inóculo	sustrato	TRH (h)	T (°C)	Rendimiento mol hidrógeno/mol hexosa	Referencia
4.0-6.0	5.2	Lodos anaerobios tratados térmicamente	Almidon	17	37	2.15	(Lay J-J, 2000)
4.0-7.0	5.5	Lodos de producción de hidrógeno	Glucosa	6	36	2.1	(Fang HHP, 2002)
5.7 y 6.4	5.7	Lodos de aguas residuales	Glucosa	6	35	1.7	(Lin CY, Chang R-C, 1999)
5.0-6.5	5.5	Composta de estiércol de vaca	Residuos de cervecería	18	37	43 mlg/COD	(Fan k-S, 2006)
5.0-6.5	5.8	Composta de hierba tratada térmicamente	Residuos de levadura de cerveza	32	40	NA	(Lay JJ, 2005)
4.5-6.0	5.5	Suelo tratado térmicamente	glucosa	10	30	2.5	(Van Ginkel S, 2005)
NA	5.5	Mezcla de estiércol de vaca y cerdo tratados térmicamente	glucosa	2.5	37	NA	Este estudio

En los resultados de la tabla anterior se observa un mayor rendimiento en la producción de hidrógeno cuando se emplearon inóculos tratados térmicamente y condiciones de pH cercanos a 5.5.

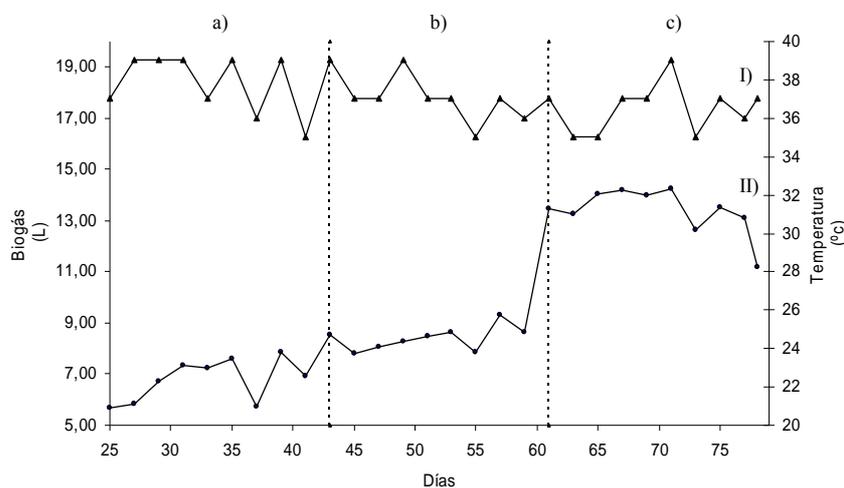
### 4.3 Influencia de la temperatura

Se observó que en un promedio de temperatura de 37°C la producción de biogás se mantuvo estable y se obtuvieron las mayores cantidades de biogás. En la siguiente figura 4.3 se muestran los promedios de la temperatura en cada día de

---

digestión y la evolución en la producción de biogás respecto a cada carga orgánica alimentada.

Figura 4.3 I) Comportamiento de la Temperatura. II) Producción de biogás. a) CO de 133 gDQO/L  
b) CO de 265.0 gDQO/L c) CO de 400 gDQO/L.



En la figura 4.3 se observa el aumento de en la producción de biogás con el aumento en la temperatura.

La temperatura constituye uno de los factores más importantes en la producción de hidrógeno, influye en la degradación del sustrato, la distribución de los subproductos, el crecimiento de bacterias y la comunidad microbiana.

Algunas investigaciones orientadas a evaluar las condiciones de temperatura óptima para la producción de hidrógeno, han obtenido grandes diferencias en los resultados. Montes Moncivais et al.,, (2007), obtuvieron una máxima producción de hidrógeno de 1.17mmol hidrógeno/mmol glucosa durante un proceso de digestión que operó a una temperatura constante de 26°C y no se observó alguna dependencia de la producción de hidrógeno con el pH estudiado (5.5 y 6.5).

Otro estudio realizado por Lee et al.,, (2006), en un reactor de lodo granular inducido usando sacarosa como sustrato y operando en un intervalo de temperatura de 30-45°C, encontró la mayor eficiencia para la producción de hidrógeno a 40°C (condiciones mesofílicas), especialmente con un TRH de 0.5h.

---

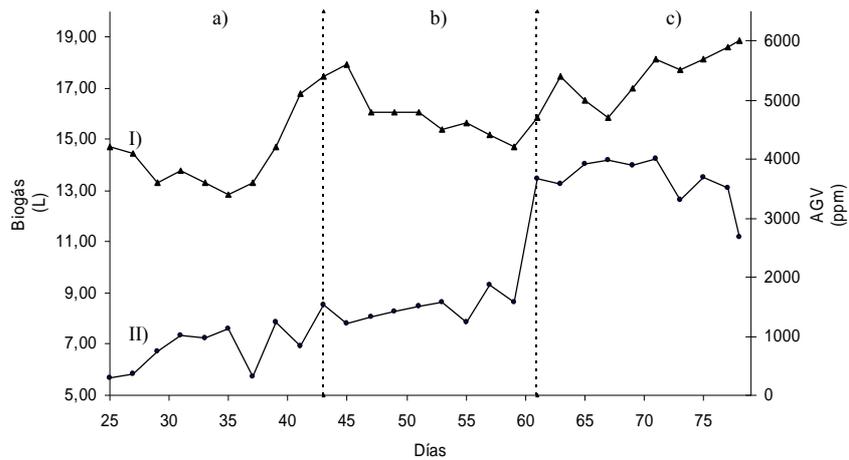
Valdez-Vázquez et al., (2005) obtuvieron una producción de hidrógeno, 60%, mayor en condiciones termofílicas que mesofílicas. Sugirieron que este comportamiento estaba relacionado con la temperatura óptima de la enzima hidrogenasa que está entre 50 y 70°C y con las condiciones óptimas de temperatura para el crecimiento de las bacterias clostridium.

#### 4.4 Ácidos grasos volátiles

En la literatura se reporta que la producción de hidrógeno está acompañada de formación de ácido acético y butírico. En la fermentación de ácido acético se producen 4 moles de hidrógeno a partir de 1 mol de glucosa, mientras que en la fermentación de ácido butírico se producen 2 mol de hidrógeno. También se puede producir hidrógeno por la combinación de la fermentación de ácido acético y ácido butírico a partir del cual se generan 2 mol de hidrógeno. La producción estequiométrica de ácido acético y butírico es de 1.5 mol /mol. Por lo tanto el mayor rendimiento de la producción de hidrógeno es obtenido a través de la fermentación de acético.

En la figura 4.4 se observa la evolución de la concentración de ácidos grasos volátiles respecto a cada carga orgánica alimentada y su efecto en la producción de biogás.

Figura 4.4 I) Ácidos grasos volátiles II) Producción de biogás. a) CO de 133 gDQO/L b) CO de 265.0 gDQO/L c) CO de 400 gDQO/L.



Las altas concentraciones de los ácidos grasos generados como productos intermedios del proceso de digestión anaerobia, asociado con la baja concentración de CH<sub>4</sub> casi indetectable en el biogás, son evidencia de la baja concentración de bacterias metanogénicas que son los principales consumidores de estos productos.

Recientes estudios han demostrado que existen varias correlaciones entre el porcentaje de hidrógeno en el biogás y los productos de la fermentación en la fase acuosa. Altas producciones de hidrógeno están relacionadas con altos niveles de producción de etanol y bajas cantidades de ácido propiónico (Yang et al., 2007; Wan-Qian et al., 2008). Otro estudio mostró que el ácido propiónico representa cerca del 20% de los subproductos metabólicos en la producción mesofílica de hidrógeno, a partir de sacarosa, usando lodo granular (Lee et al., 2006).

La concentración de otros metabolitos como el ácido isobutírico, acetona y etanol no es significativa respecto a las concentraciones de ácido acético, propiónico y butírico en un sistema de digestión anaerobia.

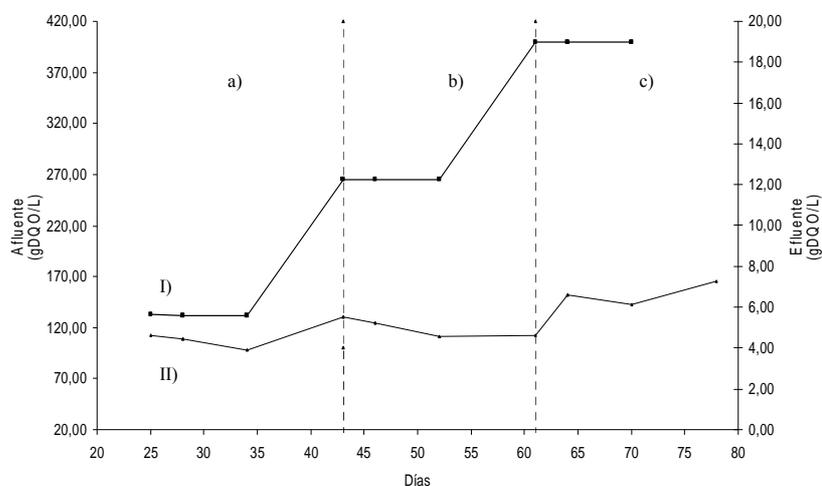
Los resultados obtenidos con el análisis de HPLC muestran que la concentración de ácido propiónico en los ácidos grasos volátiles varió fué de un 64.50 % ± 6.65. (Ver anexo 1)

## 4.5 Remoción de DQO

El sistema de reactores fue alimentado con una solución de ARS mas una concentración variable de glucosa para obtener diferentes cargas orgánicas, iniciando con una carga de 133 gDQO/L con un tiempo de residencia inicial de 24h, y posteriormente con tiempos de residencia de 48h y 96h.

Para la alimentación de las cargas de 265 gDQO/L y 400 gDQO/L se repitió el mismo procedimiento descrito anteriormente. La evolución del proceso se ilustra en la figura 4.5.

Figura 4.5 I) Carga orgánica en el afluente II) Carga orgánica en el efluente. a) CO de 133 gDQO/L b) CO de 265.0 gDQO/L c) CO de 400 gDQO/L.



Se observa que la concentración de DQO en el afluente se mantiene estable independientemente de las CO y los tiempos de residencia de la carga orgánica.

El porcentaje máximo de remoción de materia orgánica se obtuvo con el tiempo de residencia de 96h; estos resultados se muestran en la tabla 4.2 en función de las cargas orgánicas .

Tabla 4.2 Remoción de DQO

---



---

Carga Orgánica	Remoción
gDQO/L	%
133 gDQO/L	15.3
265.0 gDQO/L	16.3
400 gDQO/L	21.1

A pesar de que la producción de hidrógeno es un proceso intermedio de la degradación de la materia orgánica, los resultados muestran que contribuye en menor proporción a la disminución de la demanda química de oxígeno que se manifiesta en la generación de CO<sub>2</sub> e incremento de la biomasa.

Se han reportado porcentajes de remoción de DQO excedentes al 60% en investigaciones con reactores UASB empleando aguas de desecho de una fábrica de ácido cítrico con una carga orgánica volumétrica de 38.4 KgDQO/m<sup>3</sup>\*d a una temperatura de 35°C a 38°C y un TRH de 12 h (Haijun et al., 2006); la gran diferencia en la remoción comparada con los resultados obtenidos en este trabajo se debe a que el TRH de 2.5 h estimuló el lavado de las bacterias y con esto disminuyó el tiempo de actividad para metabolizar la carga orgánica.

En otros estudios realizados en la industria de alimentos se produjo hidrógeno con aguas residuales de la industria procesadora de manzana y de papa, obteniéndose porcentajes de remoción de DQO de 5 y 11% respectivamente con una conversión a hidrógeno de 0.9 Lhidrógeno/L de agua procesada. En este mismo estudio se hizo un análisis económico y se concluyó que el tratamiento de esta agua residual en el sitio donde es generada se pueden obtener ganancias de hasta \$650 000.00 anuales (Steven et al., 2005).

#### 4.6 Nitrógeno amoniacal

---

---

Altas concentraciones de amoníaco inhibe la producción de metano (Cruz et al.,, 2000), sin embargo su efecto en la producción de hidrógeno no ha sido bien estudiado. Se ha encontrado que concentraciones <0.14 g/L no afecta negativamente a la producción de hidrógeno por actividad de bacterias clostridium (Zhu et al.,, 2001).

La concentración de nitrógeno amoniacal depende del pH.

La concentración de nitrógeno amoniacal en este trabajo se analizó antes de la alimentación de una carga orgánica diferente. Los resultados se pueden observar en la tabla 4.3.

Tabla 4.3 Concentración de nitrógeno amoniacal

Carga Orgánica	Concentración de nitrógeno amoniacal
gDQO/L	ppm
133 gDQO/L	19.1
265.0 gDQO/L	13.9
400 gDQO/L	9.7

En estudios sobre el efecto de la concentración de nitrógeno amoniacal en los sistemas de digestión se ha encontrado que esta tiende a aumentar con el aumento de la carga orgánica sugiriendo que el nitrógeno amoniacal sea parte de los productos finales de la digestión (Salerno MB et al.,, 2006).

La razón principal de la disminución de su concentración es que durante la alimentación del reactor no se alimentó nutrientes de amoníaco y que no fué uno de los subproductos de la digestión.

#### **4.7 Producción de biogás y contenido de hidrógeno**

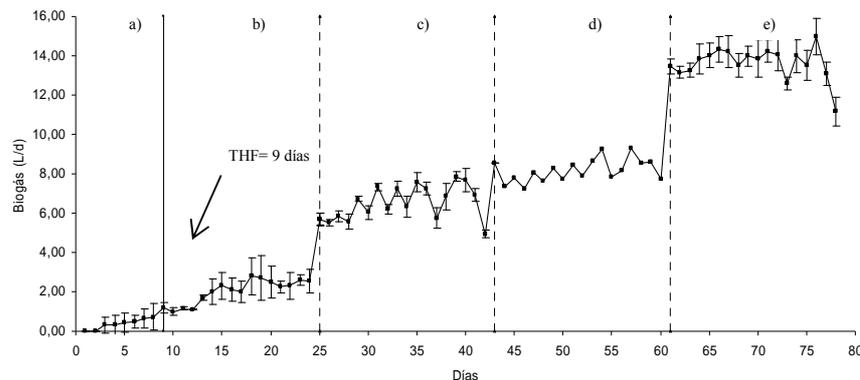
---

El biogás producido se midió con la técnica de desplazamiento de agua a presión atmosférica en contenedores de vidrio graduados de 2 litros. Al salir el biogás del reactor UASB pasa a través de una solución de NaOH que se renovó de manera constante.

Después de un periodo de estabilización de 13 días con cargas orgánicas ascendentes empezando 133 gDQO/L, 265.0 gDQO/L y 400 gDQO/L en un volumen de 0.3 L.

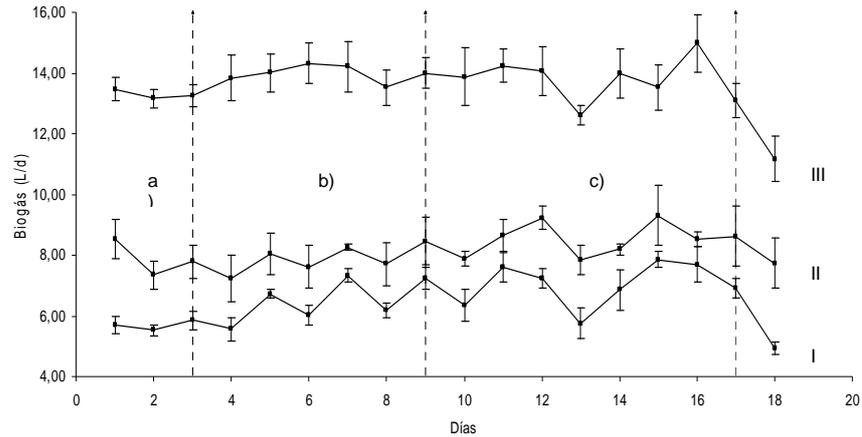
En la figura 4.6 se muestra la evolución en la generación de biogás. Se observa claramente el aumento de la cantidad de biogás con el aumento de la CO.

Figura 4.6 Evolución en la producción de biogás respecto a la CO. a) Estabilización en el reactor UASB. b) Estabilización de los reactores acoplados. c) Alimentación de carga orgánica 133 g/L DQO. d) Alimentación de carga orgánica 265 g/L DQO. e) Alimentación de carga orgánica 400 g/L DQO.



Simultáneamente a la experimentación del efecto de la carga orgánica, se evaluó el efecto de la velocidad de carga orgánica. La producción de biogás con las diferentes CO y los diferentes tiempos de residencia (24 h, 48 h, 96 h) se muestran en la figura 4.7.

Figura 4.7 Evolución en la producción de biogás respecto a las cargas orgánicas de 133, 265 y 400 gDQO/L en tres tiempos de residencia a) 24h b) 48 h c) 96 h



En un estudio sobre el efecto de la tasa de dilución sobre la producción de hidrógeno a partir de residuos de alimentos se obtuvo un 50% de reducción en DQO y el 70% de eficiencia en la formación de hidrógeno, con TRH de 5.3 h (Han y Shin, 2004); estos resultados son comparables con los obtenidos en este estudio ya que a medida que la carga orgánica aumenta, también aumenta la producción de biogás.

Tabla 4.4 Producción de biogás promedio en L/d respecto a cada CO y tiempo de residencia.

Carga orgánica Afluente 0.3 L		Tiempos de residencia de la carga orgánica		
No.	gDQO/L	24 h	48 h	96 h
1	133 gDQO/L	5.68 L/d $\pm$ 0.06	6.51 $\pm$ 0.70	6.79 $\pm$ 0.97
2	265.0 gDQO/L	7.88 L/d $\pm$ 0.05	7.88 $\pm$ 0.45	8.44 $\pm$ 0.58
3	400 gDQO/L	13.29 L/d $\pm$ 0.04	13.98 $\pm$ 0.29	13.50 $\pm$ 1.11

Como se puede observar en la gráfica 4.7 y tabla 4.4; el aumento en la carga orgánica, aumenta la producción de biogás. Se presenta un aumento en la variabilidad de producción de biogás conforme disminuye el tiempo de residencia siendo con 24 h la de producción más estable.

El aumento en la producción de biogás con la carga 2 fue de un 38.73% respecto a la carga 1, de la carga 3 un 68.65% respecto de la 2 y de 133% respecto a la 1. Esto se debe al crecimiento de la biomasa.

---

---

La mayor cantidad de litros de biogás por día se obtuvo con un tiempo de residencia de 96 h, y también la mayor variabilidad ya que en las mediciones de las últimas 24 h se observa una disminución en la producción.

Yang et al., (2007) obtuvo concentraciones de hidrógeno en el biogás que van de 3% al 30% en medida que se aumentó la carga orgánica, usando un cultivo mixto de bacterias, en un reactor continuo para la degradación de aguas residuales de suero de queso a 35°C y un TRH de 24 h.(Yang P. et al., 2007).

Krishnan y Desa (2006) con una carga de 59.3 g DQO/L y un TRH obtuvieron un contenido del 57% de hidrógeno en el biogás libre de metano en experimentos en un reactor anaerobio de contacto con estiércol de vaca. (Krishnan, V. y Desa, A. 2006).

Sang-Hyoun et al., (2004) reporta que la producción de hidrógeno a partir de desperdicios de comida es mayor a la obtenida a partir únicamente de lodos de aguas residuales teniendo en cuenta como factor importante la relación entre la concentración de carbohidratos, proteínas en la producción de hidrógeno. Los desperdicios de comida son considerados como la principal fuente de sustrato y los lodos de aguas residuales como el sustrato auxiliar. (Sang-Hyoun et al., 2004).

En estudios con un reactor de tipo UASB se alcanzaron porcentajes de hasta el 51% V/V de hidrógeno con un TRH de 24 h y en un reactor tipo RE un porcentaje de 47% v/v con un tiempo de retención másica de 50 días. (Alzate-Gaviria, et al., 2007).

En la producción de hidrógeno con melazas con una carga orgánica de 68.21gDQO/L reactor\*día se obtuvo un biogás con el 52% de hidrógeno y el 40% de CO<sub>2</sub>. (Nanqi et al., 2006).

Bajo las condiciones de operación desarrolladas en este trabajo, el biogás producido se compone principalmente de CO<sub>2</sub> y hidrógeno, con trazas de metano

y nitrógeno. En intervalo mesofílico el porcentaje de hidrógeno en el biogás es de 40% (Poggi et al., 2004).

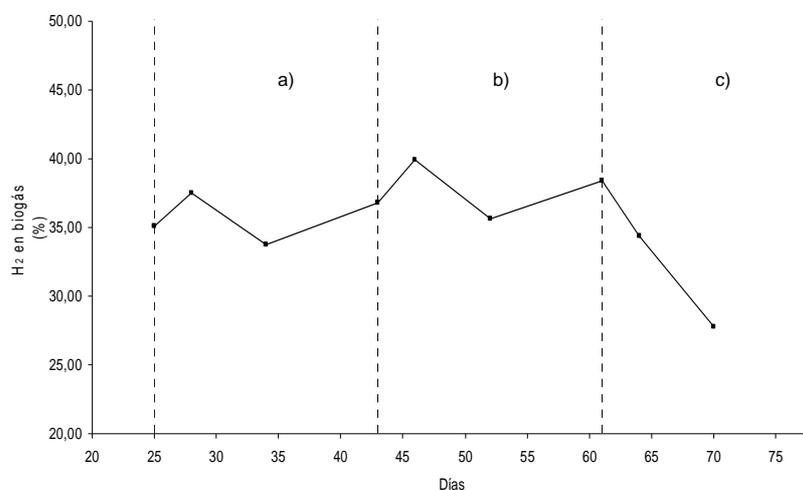
Para calcular el contenido de hidrógeno en el biogás, por medio de cromatografía de gases, se realizó una curva de calibración con diferentes volúmenes (0.5 ml, 1 ml, 1.5 ml y 2 ml) de muestras de hidrógeno de alta pureza. Ver anexo 3.

En la siguiente tabla se muestran los resultados obtenidos del análisis por cromatografía de gases de las muestras de biogás.

Tabla 4.5 Áreas obtenidas del análisis de biogás con cromatografía de gases y porcentaje de hidrógeno.

Muestras de biogás		Volumen Inyectado	Área Promedio	Contenido promedio de hidrógeno
CO	VCO	(ml)	(U2)	(%)
1	24 h	1	675054.4 ± 2545.51	35.10
1	48 h	1	721173.6 ± 985.41	37.50
1	96 h	1	649794.9 ± 968.37	33.78
2	24 h	1	706996.7 ± 783.60	36.76
2	48 h	1	768175.3 ± 1523.68	39.94
2	96 h	1	685813.5 ± 2038.22	35.66
3	24 h	1	738887.4 ± 1206.83	38.42
3	48 h	1	660785.6 ± 1661.06	34.36
3	96 h	1	534456.8 ± 1347.50	27.79

Figura 4.8 Procentaje del contenido de hidrógeno en el biogás. a) CO de 133 gDQO/L b) CO de 265.0 gDQO/L c) CO de 400 gDQO/L.



Como se muestra en la tabla y gráfica anteriores, el contenido de hidrógeno en el biogás aumentó a medida que aumentó la carga orgánica excepto con la tercer carga orgánica de 400 gDQO/L que el contenido de hidrógeno disminuyó. Montes-Moncivais et al., (2007) concluyen que la generación de metabolitos como ácidos grasos y solventes pueden presentar una inhibición en la generación de hidrógeno por la acumulación de los subproductos (Montes-Moncivais A., et al., 2007) También se observa una disminución del contenido de hidrógeno a medida que la VCO disminuye. Se puede observar que la mayor producción de biogás se obtuvo con la CO de 400 pero no así el mayor contenido de hidrógeno; por lo tanto se deduce que con una mayor concentración de carbono disponible se produce un aumento en la biomasa y a pesar de que los microorganismos continúan degradando la materia a la misma velocidad no lo hacen siguiendo las mismas rutas metabólicas.

---

## Conclusiones

Si es factible la producción de hidrógeno a través de la digestión anaerobia de residuos orgánicos líquidos y sólidos de manera simultánea. El máximo contenido de hidrógeno en el biogás obtenido en este trabajo es de 39.94% que es comparable con los porcentajes obtenidos en trabajos anteriores con condiciones de operación y sustrato similares a los empleados en este trabajo.

La disminución del contenido de hidrógeno en el biogás con la CO de 400 gDQO/L puede asociarse a la generación de bacterias metanogénicas debido al efecto del tiempo de retención másica (>60 días) de los residuos sólidos orgánicos en el RE; por esto se sugiere un estudio para evaluar el efecto las mismas cargas usando un sustrato fresco con cada una.

El TRH de 2.5 h resultó favorable para la producción de hidrógeno y no así para la degradación de la materia orgánica debido al efecto de “lavado” de las bacterias que inhibe el crecimiento de los principales consumidores de H<sub>2</sub> que son las bacterias metanogénicas quienes completan el proceso de degradación de materia. Para esto se sugiere la integración de un sistema de producción de metano seguido del proceso descrito en esta tesis con la finalidad de seguir obteniendo un biocombustible y obtener la mayor degradación orgánica posible.

Se observó que en un intervalo de temperatura de 37-39°C se alcanza la estabilidad en la producción de hidrógeno.

El mayor contenido de hidrógeno en el biogás se obtuvo con un tiempo de residencia de la carga orgánica de 48 h con las tres cargas orgánicas.

---

## Anexo 1

### Ácidos grasos Volátiles y parámetro alfa $\alpha$

En el presente trabajo se cuantificó los ácidos grasos volátiles por medio de titulación de la muestra con ácido sulfúrico 0.1 normal . La alcalinidad total (AT) definida en un pH de 4.3 y la alcalinidad parcial (AP) en 4.75 y la alcalinidad intermedia (AI) asociada a la concentración de AGV's estimada como la diferencia de las dos anteriores según las siguientes ecuaciones:

$$A_T = \frac{(V_3 * 50000)}{V_1}$$

$$A_P = \frac{(V_2 * C * 50000)}{V_1}$$

$$A_I = A_T - A_P$$

$$AGV = (V_3 - V_2) * C * 60 * 20$$

$$\alpha = \frac{A_I}{A_P}$$

Donde:

AT : Alcalinidad total

Ap : Alcalinidad parcial

AI : Alcalinidad intermedia

C : Concentración del la solución titulante, 0.1 N de H2SO4

V1 : Volumen de la muestra

V2 : Volumen de la solución titulante gastada hasta un pH de 4.75

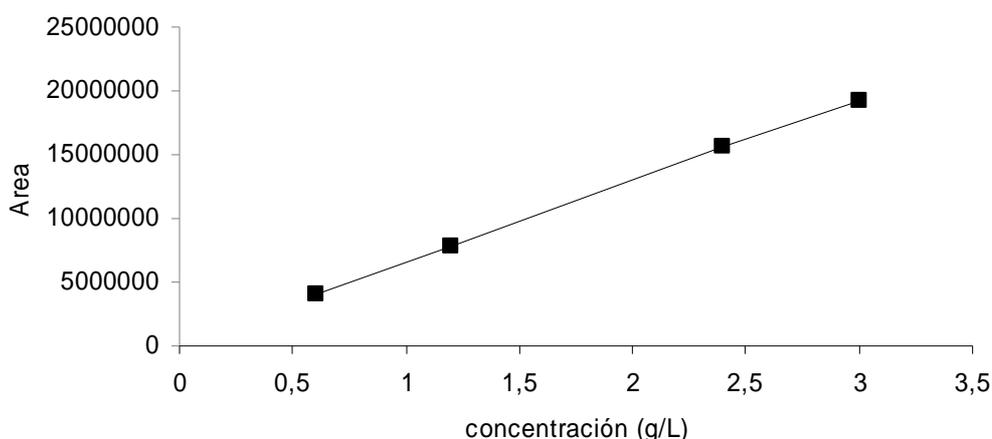
V3 : Volumen de la solución titulante gastada hasta un pH de 4.3

AGV: Concentración de ácidos grasos volátiles en mgAc/ L

$\alpha$  : Alfa

Para conocer la proporción del ácido acético en los AGV se hizo la cuantificación de este en un equipo de HPLC en el Centro de Investigación en Biotecnología (IBT) con una columna para ácidos grasos. Se hizo una curva de calibración con cuatro concentraciones conocidas de ácido acético y el área de cada uno de los picos del cromatograma. Se analizaron 5 muestras y se calculó el porcentaje de ácido acético en ellas.

Figura A1.1 Curva de calibración en HPLC con ácido acético.



En la siguiente tabla se muestran los datos obtenidos durante el análisis de HPLC para cuantificar el contenido de ácido acético. Las muestras fueron tomadas en diferentes días de la digestión para comparar con los resultados obtenidos por el método gravimétrico.

Tabla A1.1 Análisis de HPLC para cuantificar el contenido de ácido acético.

Área U <sup>2</sup>	Ac. acético (g/L)	AGV (método gravimétrico) (g/L)	Ac. acético en AGV (%)
19129246	3,15	4,5	70
13099246	2,14	3,9	55
14917246	2,44	3,6	68
14269246	2,34	3,6	65

---

## Anexo 2

### Sólidos totales y volátiles

La medición de los sólidos totales y los volátiles, se realizó según el método descrito en *Standard methods for examination of water and waste water* (APHA, 2005).

Para la medición de sólidos totales la técnica consistió en evaporar una muestra correctamente mezclada en una placa pesada y secada a peso constante en un horno a 103-105°C durante una hora. El aumento de peso sobre el de la placa vacía representó los sólidos totales.

El cálculo se realizó con la siguiente fórmula.

$$\text{mg de sólidos totales / l} = \frac{(A - B) \times 1000}{\text{volumen de muestra, ml}}$$

Donde:

$A$  = peso de residuo seco + placa, mg.

$B$  = peso de la placa, mg.

Para la medición de sólidos volátiles se realiza el mismo procedimiento que para los sólidos totales pero a una temperatura de 550°C ± 50°C durante media hora. La pérdida de peso durante la ignición, representa la cantidad de sólidos volátiles.

El cálculo se realizó con la siguiente fórmula.

$$\text{mg de sólidos volátiles / l} = \frac{(A - B) \times 1000}{\text{volumen de muestra, ml}}$$

Donde:

---

---

$A$  = peso de residuo + placa antes de la incineración, mg.

$B$  = peso de residuo + placa después de la incineración, mg.

### Anexo 3

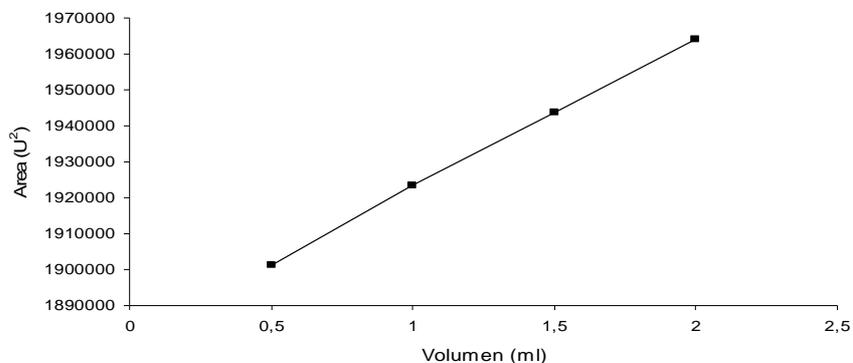
#### Contenido de hidrógeno en biogás

Para calcular el contenido de hidrógeno en el biogás, por medio de cromatografía de gases, se realizó curva de calibración con diferentes volúmenes (0.5 ml, 1 ml, 1.5 ml y 2 ml) de muestras de hidrógeno de alta pureza; las áreas obtenidas se muestran en la siguiente tabla.

Tabla A3.1 Áreas obtenidas del análisis de H<sub>2</sub> puro con cromatografía de gases.

Volumen (ml)	Area (U <sup>2</sup> )
0.5	1963999
1	1943666
1.5	1923352
2	1901252

Figura A3.1 Curva de calibración en cromatógrafo de gases con H<sub>2</sub> de alta pureza.



---

## REFERENCIAS

Adams MW, Mortenson LE. The physical and catalytic properties of hydrogenase II of *Clostridium pasteurianum* a comparison with hydrogenase I. *J Biol Chem* 1984;259(11):7045–55.

Alzate-Gaviria LM, P.J. Sebastian, Antonino Pérez-Hernández, D. Eapen Comparison of two anaerobic systems for hydrogen production from the organic fraction of municipal solid waste and synthetic waste.... *Int J Hydrogen Energy* (2007) doi: 10.1016/j.ijhydene.2006.02.034

Alzate-Gaviria LM, Pérez- Hernández A, Nevárez-Morillón VG, Rinderknecht-Seijas N, Poggi-Varaldo HM. Comparación de dos sistemas anaerobios acoplados para la biometanización de la fracción orgánica de residuos sólidos urbanos. *Interciencia* 2003;28:436–42.

APHA. Standard methods for the examination of water and wastewater, 19th ed. New York: American Public Health Association (APHA); 1995.

Breitenbqcher K, Siegl M, Knqpfner A, Radke M. Open-pore sintered glass as a high-efficiency support medium in bioreactors: new results and long-term experiences achieved in high-rate anaerobic digestion. *Water Sci Technol* 1990;22:25– 32

Carvajal Monroy Carolina, 2009. Tesis: Efecto de la temperatura en la producción de hidrógeno a partir de las aguas residuales. Maestría en Ingeniería, 2009. Instituto de Ingeniería. UNAM

Chen CC, Lin CY, Chang JS. Kinetics of hydrogen production with continuous anaerobic cultures utilizing sucrose as the limiting substrate. *Appl Microbiol Biotechnol* 2001;57:56–64.

Cheong D.Y., Hansen C.L. (2006). Acidogenesis characteristics of natural, mixed anaerobes converting carbohydrate – rich synthetic wastewater to hydrogen. *Proces Biochem.* 41,1736 -1745.

Collet C., Adler N., Schwitzguébel J.P, Péringer P. (2004). Hydrogen production by *Clostridium thermolacticum* during continuous fermentation of lactose. *International Journal of Hydrogen Energy*, 29, 1479-1485.

Cruz, H.J., Freitas, C.M., Alves, P.M., Moreira, J.L., Carrondo, M.J.T., 2000. Effects of ammonia and lactate on growth, metabolism, and productivity of BHK cells. *Enzyme Microb. Technol.* 27, 43–52.

Davila-Vazquez G, Arriaga S, Alatrístre-Mondragón F, de León-Rodríguez A, Rosales-Colunga LM, Razo-Flores E. Fermentative biohydrogen production: trends and perspectives. *Rev Environ Sci Biotechnol* 2008;7:27–45.

E. Castello C. García y Santosa, T. Iglesiasb, G. Paolinob, J. Wenzelb, L. Borzacconia. Feasibility of biohydrogen production from cheese whey using a UASB reactor: Links between microbial community and reactor performance. *Etchebeherb international journal of hydrogen energy* 34(2009) 5674 – 5682)

Eun JS, Fellner V, Gumpertz ML. Methane production by mixed ruminal cultures incubated in dual-flow fermentors. *J Dairy Sci* 2004;87:112–21.

Fan K-S, Kan N-R, Lay J-J. Effect of hydraulic retention time on anaerobic hydrogenesis in CSTR. *Bioresource Technol* 2006;97:84–9.

Fang HHP, Liu H. Effect of pH on hydrogen production from glucose by a mixed culture. *Bioresource Technol* 2002;82:87–93.

Foster SJ, Johnstone K. Pulling the trigger: the mechanism of bacterial spore germination. *Micro review.* *Mol Microbiol* 1990;4(1):137–41.

Francese AP, Aboagye-Mathiesen G, Olesen T, Co´ rdoaba PR, Sineriz F. Feeding approaches for biogas production from animal wastes and industrial effluents. *World J Biotechnol* 2000;16:147–50.

---

H. Odegaard, B. Paulsrud, I. Karlsson, Wastewater sludge as a resource: sludge disposal strategies and corresponding treatment technologies aimed at sustainable handling of wastewater sludge, *Water Sci. Technol.* 46 (9) (2002) 295–303.

Haijun, Y. y Jianquan, S.2006. Effect of ferrous iron concentration on anaerobic bio-hydrogen production from soluble starch. *International Journal of Hydrogen Energy.* 31(15):2137-2146.

Han S-K., Shin H-S. (2004). Biohydrogen production by anaerobic fermentation of food waste. *International Journal of Hydrogen Energy*, 29, 569 - 577

Hawkes F.R., Hussy I. Kyazze G., Dinsdale R., Hawkes D.L. (2007). Continuous dark fermentative hydrogen production by mesophilic microflora: Principles and progress. *International Journal of Hydrogen Energy*, 32(2) 172- 184

Jenkins, S. R., Morgan, J. M., Sawyer, C. L. (1983). Measuring anaerobic sludge digestion and growth by a simple alkalimetric titration. *Jour. Of Wat. Pollut. Cont. Fed.* 55., 448-453

Juan Wei, Zuo-Tao Liu, Xin Zhang. Biohydrogen production from starch wastewater and application in fuel cell. *International Journal of Hydrogen Energy* xxx ( 2 0 0 9 ) 1 – 4

Kim JO, Kim YH, Yeom SH, Song BK, Kim IH. Enhancing continuous hydrogen gas production by the addition of nitrate into an anaerobic reactor. *Process Biochem* 2006;41:1208–12.

Lay JJ, Fan KS, Hwang JI, Chang JI, Hsu PC. Factors affecting hydrogen production from food wastes by *Clostridium*-rich composts. *J Environ Eng* 2005;131(4):595–602.

Lay JJ, Lee YJ, Noike T. Feasibility of biological hydrogen production from organic fraction of municipal solid waste. *Water Res* 1999;33(11):2579–86

Lay JJ, Tsai CJ, Huang CC, Chang JJ, Chou CH, Fan KS. et al. Influences of pH and hydraulic retention time on anaerobes converting beer processing wastes into hydrogen. *Water Sci Technol* 2005;52(1–2): 123–9.

Lay J-J. Modeling and optimization of anaerobic digested sludge converting starch to hydrogen. *Biotechnol Bioeng* 2000;68:269– 78.

Lee K-S, Lin P-J y Chang J-S (2006). Temperature effects on biohydrogen production in a granular sludge bed induced by activated carbon carriers. *International Journal of Hydrogen Energy*, 31, 465-472.

Liliana M. Alzate-Gaviria, P.J. Sebastian, Antonino Pérez-Hernández, D. Eapen Comparison of two anaerobic systems for hydrogen production from the organic fraction of municipal solid waste and synthetic wastewater. *International Journal of Hydrogen Energy*, Volume 32, Issue 15, October 2007, Pages 3141-3146).

Lin C.Y., Chang R-C. (2004) Fermentative hydrogen production at ambient temperature. *International Journal of Hydrogen Energy*, 29, 715-720

Lin CY, Chang RC. Hydrogen production during the anaerobic acidogenic conversion of glucose. *J Chem Technol Biotechnol* 1999;74:498–500.

Liu G. and Shen J. (2004). Effects of culture medium and medium conditions on hydrogen production from starch using anaerobic bacteria. *J Biosci Bioeng.*, 98, 251-256.

Mao-Lin Zhanga, Yao-Ting Fana,\_, Yan Xinga, Chun-Mei Pana, Gao-Sheng Zhanga, Jiunn-Jyi Layb. Enhanced biohydrogen production from cornstalkwastes with acidification pretreatment by mixed anaerobic cultures. *Biomass and Bioenergy* 31 (2007) 250–254).

Metcalf y Eddy Inc. (2003). *Wastewater Engineering: Treatment, Disposal and Reuse*. 4Rd Ed. Mc Graw-Hill. USA.

---

Montes-Moncivais A., Moreno G., Buitrón G. (2007). Influence of inoculum source, pH and temperature on hydrogen production. Oral presentation. 11<sup>th</sup> World Congress Anaerobic Digestion Bio-energy for our Future. 23-24/Sept/2007. Brisbane, Australia.

Nakashimada Y., Rachman M.A., Kakizono T. and Nishio N. (2002). Hydrogen production of *Enterobacter aerogenes* altered by extracellular and intracellular redox states, *Int J Hydrogen Energy* 27, 1399-1405.

Nikolaos Venetsaneas, Georgia Antonopoulou, Katerina Stamatelatu, Michael Kornaros, Gerasimos Lyberatos. Using cheese whey for hydrogen and methane generation in a two-stage continuous process with alternative pH controlling approaches. *Bioresource Technology*, Volume 100, Issue 15, August 2009, 3713-3717.

Noyola A., 1998 Digestión anaerobia de lodos. Memorias del curso "Digestión anaerobia de lodos y aguas residuales". Federación Mexicana de Ingeniería Sanitaria y Ciencias Ambientales, A. C. México.

OLADE, (Organización Latinoamericana de Energía). Energy statistics, vol. 16. Quito, Ecuador, 2004.

S.P. Singh, Pandey Prerna. Treating waste to yield fuel while recycling nutrients constitutes a sustainable cycle. Review of recent advances in anaerobic packed-bed biogas reactors. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Volume 13, Issues 6-7, August-September 2009, Pages 1569-1575.

Salerno MB, Park W, Zuo Y, Logan BE. Inhibition of biohydrogen production by ammonia. *Water Res* 2006;40(6):1167-72.

SEMARNAT (2003). Norma Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002. Protección ambiental.

SEMARNAT. [www.semarnat.gob.mx](http://www.semarnat.gob.mx). Información ambiental. Generación de residuos sólidos urbanos. Fuentes: Secretaría de Desarrollo Social, Dirección General de Equipamiento e Infraestructura en Zonas Urbano-Marginadas. Abril 2009.

SENER, (Secretaría de Energía). Reservas probadas de petróleo. Ciudad de México, 2006.

Setlow P. Spore germination. *Curr Opin Microbiol* 2003;6:550-6

Shin HS, Youn JH, Kim SH. Hydrogen production from food waste in anaerobic mesophilic and thermophilic acidogenesis. *Int J Hydrogen Energy* 2004;29: 1355-63.

Tanisho S., Shiwata Y. (1994), Continuous hydrogen production from molasses by bacterium *Enterobacter aerogenes*. *International Journal of Hydrogen Energy*, 19, 807-812.

Turner JA. Sustainable hydrogen production. *Science* 2004; 305:972-4

Valdez-Vazquez I, Ríos-Leal E, Esparza-García F, Cecchi F, Poggi-Varaldo HM. Semi-continuous solid substrate anaerobic reactors for H<sub>2</sub> production from organic waste: mesophilic versus thermophilic regime. *Int J Hydrogen Energy* 2005;30:1383-91.

Valdez-Vazquez I., Sparling R., Risbey D., Rinderknecht-Seijas N., Poggi-Varaldo H. Hydrogen generation via anaerobic fermentation of paper mill wastes *Bioresource Technology* 96 (2005) 1907-1913

Valdez-Vazquez, I., Poggi-Varaldo, H.M., Hydrogen production by fermentative consortia, *Renew Sustain Energy Rev* (2008), doi:10.1016/j.rser.2008.03.003

Van Ginkel S, Logan B. Inhibition of biohydrogen production by undissociated acetic and butyric acids. *Environ Sci Technol* 2005;39: 9351-6.

---

Vijayaraghavan K, Ahmad D, Khairil Bin Ibrahim M, Naemmah Binti Herman H. Isolation of hydrogen generating microflora from cow dung for seeding anaerobic digester. *Int J Hydrogen Energy* 2006;31(6):708–20.

Voolapalli RK, Stuckey DC. Hydrogen production in anaerobic reactors during shock loads— influence of formate production and H<sub>2</sub> kinetics. *Water Res* 2001;35(7):1831–41.

Wang-Qian G., Nan-Qi R., Xiang-Jing W., Wen-Sheng X., Zhao-Hui M., Jie D., Yuan-Yuan Q., Lu-Si Z. (2008). Biohydrogen production from ethanol-typefermentation of molasses in an expanded granular sludge bed (EGSB) reacto. *International Journal of Hydrogen Energy*, 33, 4981-4988.

Wen Hsing C., Shihwu S., Shen-Yi C. (2009). Biological hydrogen production in an anaerobic sequencing batch reacto: pH and cyclic duration effects. *International Journal of Hydrogen Energy*, 34, 227-234.

Wen-Hsing C., Shihwu S., Shen-Yi C. (2009). Biological hydrogen production in an anaerobic sequencing batch reactor: pH and cyclic duration effects. *International Journal of Hydrogen Energy*, 34, 227-234

Yang P., Zhang R., McGarvey J. A., Benemann J.R. (2007). Biohydrogen production from cheese processing wastewater by anaerobic fermentation using mixed microbial communities. *International Journal of Hydrogen Energy*, 32, 4761-4771.

Yao-Ting Fana, Gao-Sheng Zhanga, Xin-Yong Guob, Yan Xinga, Mao-Hong Fanc. Biohydrogen-production from beer lees biomass by cow dung compost. *Biomass and Bioenergy* 30 (2006) 493–496)

Yokoi H., Saitsu A.S., Uchida H, Hirose J., Hayashi S., Takasaki Y. (2001). Microbial hydrogen production from sweet potato starch residue. *J Biosci Bioeng.*, 91, 58-63

Yokoi H., Tokushige T., Hirose I., Hayashi S. and Takasaki Y. (1998). H<sub>2</sub> production from starch by mixed culture of *Clostridium buytricum* and *Enterobacter aerogenes*. *Biotechnol Lett*, 20, 143-147.

Zhu, H., Wakayama, T., Asada, Y., Miyake, J., 2001. Hydrogen production by four cultures with participation by anoxygenic phototrophic bacterium and anaerobic bacterium in the presence of NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. *Int. J. Hydrogen Energy* 26, 1149–1154.