



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

Influencia del inóculo granular y disgregado en la
digestión anaerobia húmeda y seca de la fracción
orgánica de los residuos sólidos urbanos para la
producción de metano

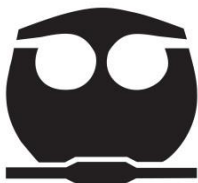
T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERO QUÍMICO

P R E S E N T A:

IVÁN RODRIGO GUEVARA PEDRAZA



MÉXICO, D.F.

2014



Universidad Nacional
Autónoma de México



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: Profesor: I.Q. Rodolfo Ruíz Trejo

VOCAL: Profesor: Dr. Alfonso Duran Moreno

SECRETARIO: Profesor: Dra. Luz María Lazcano Arriola

1er. SUPLENTE: Profesor: M. en I. Sergio Adrián García González

2° SUPLENTE: Profesor: M en C. Alejandra Mendoza Campos

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

Departamento de Ingeniería Ambiental, Facultad de Química, UNAM

ASESOR DEL TEMA:

Dr. Alfonso Duran Moreno

SUPERVISOR TÉCNICO:

M. en I. Sandra Carlos Pinedo

SUSTENTANTE:

Iván Rodrigo Guevara Pedraza

CONTENIDO

	Página
1. INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVOS	3
□ <i>Objetivo General</i>	3
□ <i>Objetivos Particulares</i>	3
2. MARCO TEÓRICO.....	4
2.1 PANORAMA GENERAL DE LA GENERACIÓN Y COMPOSICIÓN DE LOS RSU EN EL DISTRITO FEDERAL.....	4
2.1.1 <i>Residuos sólidos urbanos en el Distrito Federal</i>	5
2.1.2 <i>Composición y clasificación de los residuos sólidos urbanos</i>	6
2.1.3 <i>Valorización de los RSU</i>	8
2.2 DIGESTIÓN ANAEROBIA.....	10
2.2.1 <i>Etapas de la digestión anaerobia</i>	11
2.2.1.1 Hidrólisis.....	13
2.2.1.2 Acidogénesis	14
2.2.1.3 Acetogénesis.....	16
2.2.1.4 Metanogénesis	18
2.2.2 <i>Factores que afectan a la degradación anaerobia</i>	20
2.2.2.1 pH	20
2.2.2.2 Temperatura.....	21
2.2.2.3 Nutrientes	23
2.2.2.4 Tóxicos e inhibidores	25
2.2.3 <i>Tecnologías para la digestión anaerobia</i>	27
2.2.3.1 Régimen de alimentación	28
2.2.3.2 Etapas del proceso.....	28
2.2.3.3 Contenido en sólidos en la alimentación	30
2.2.3.4 Temperatura de operación	30
2.2.4 <i>Actividad metanogénica específica</i>	31
2.3 INÓCULO GRANULAR ANAEROBIO	33

2.3.1 Reactores UASB	34
2.3.2 Composición química de los gránulos de inóculo anaerobios	36
2.3.3 Composición microbiana de los gránulos	36
2.4 TÉCNICAS DE DISGREGACIÓN DEL GRÁNULO ANAEROBIO	38
3. METODOLOGÍA	40
3.1 TRATAMIENTOS FÍSICOS AL INÓCULO	41
3.2 CARACTERIZACIÓN Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS	42
3.2.1 FORSU	42
3.2.2 Inóculo	44
3.3 DETERMINACIÓN DEL TAMAÑO DE PARTÍCULA	45
3.4 POTENCIAL BIOQUÍMICO DE METANO	46
3.5 MÉTODOS ANALÍTICOS	47
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	49
4.1 CARACTERIZACIÓN DE LA FRACCIÓN ORGÁNICA DE LOS RESIDUOS SÓLIDOS URBANOS	49
4.2 TRATAMIENTOS FÍSICOS AL INÓCULO	51
4.3 CARACTERIZACIÓN DE LOS INÓCULOS TRATADOS	51
4.4 DETERMINACIÓN DEL TAMAÑO DE PARTÍCULA DE LOS INÓCULOS TRATADOS	51
4.5 PRUEBA DE POTENCIAL BIOQUÍMICO DE METANO	56
4.6 RESULTADOS DE LA AME Y FACTOR DE EFECTIVIDAD	63
CONCLUSIONES	65
REFERENCIAS	68
ANEXO 1. CANTIDAD DE SV DE INÓCULO Y SUSTRATO AGREGADOS A LA PRUEBA DE PBM	78

LISTA DE TABLAS

	Página
Tabla 2-1. Composición de los RSU en el Distrito Federal (Datos de INEGI, 2010).....	8
Tabla 2-2. Reacciones acetogénicas (Stams, 1994).	17
Tabla 2-3. Principales reacciones metanogénicas (Stams, 1994; Ferguson <i>et al.</i> , 1987).....	19
Tabla 2-4. Resumen de artículos relacionados con la desintegración del gránulo anaerobio	38
Tabla 3-1. Técnicas analíticas	48
Tabla 4-1. Resultados de la caracterización de la FORSU.	50
Tabla 4-2. Resultados de la caracterización del inóculo.....	52
Tabla 4-3. Mayor volumen por tamaño de partícula en cada muestra.....	53
Tabla 4-4. Resultados de alcalinidad, pH, índice tampón y parámetro α	62
Tabla 4-5. Resultados de la actividad metanogénica específica y factor de efectividad	64
Tabla A-0-1. SV de inóculo y sustrato agregados a la prueba de PBM.....	78

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 2-1. Diagrama Nacional de flujo de los RSU (SEMARNAT, 2012).	5
Figura 2-2. Delegaciones con mayor recolección de RSU y recolección per cápita diaria (INEGI, 2013)	6
Figura 2-3. Generación de residuos sólidos en el Distrito Federal por fuente (SMADF, 2012).	7
Figura 2-4. Opciones para valorizar los RSU (Elaboración propia).	9
Figura 2-5. Proceso de digestión anaerobia (Adaptado de Gujer y Zehnder, 1983).	12
Figura 2-6. Simplificación de las rutas metabólicas de degradación de la glucosa por las bacterias acidogénicas (Mosey, 1993).	16
Figura 2-7. Dependencia de la rapidez específica de crecimiento con la temperatura (Romero <i>et al.</i> , 2002).	23
Figura 2-8. Esquema básico del reactor UASB.	35
Figura 2-9. Inóculo granular anaerobio. Microscopía de fluorescencia confocal (verde: bacterias; rojo: arqueas).	37
Figura 2-10. Estructura propuesta del arreglo de la población microbiana del gránulo de inóculo anaerobio (Guiot <i>et al.</i> , 1992).	37
Figura 3-1. Esquema general de la metodología	41
Figura 3-2. Tratamientos físicos al inóculo.	42
Figura 3-3. Muestras de FORSU en bolsas herméticas y congeladas a -20 °C ...	43
Figura 3-4. Caracterización de la FORSU.	43
Figura 3-5. Muestras de digestión húmeda 10% ST (izquierda) y digestión seca 25% ST (derecha).	44
Figura 3-6. Caracterización del inóculo.	44
Figura 3-7. Microscopio digital.	45
Figura 3-8. Analizador Mastersizer 2000	45
Figura 3-9. (a) Reactores con FORSU, (b) Reactor conectado al tanque de N ₂ para crear atmosfera anaerobia.	47
Figura 3-10. Equipo AMPTS II para la determinación de potencial de metano	47

Figura 4-1. Resultados de pruebas de tratamientos físicos al inóculo	51
Figura 4-2. Distribución promedio de tamaños de partícula de las distintas muestras de inóculos.	54
Figura 4-3. Gránulos de inóculo anaerobio observados al microscopio.....	54
Figura 4-4. Producción neta de metano de la FORSU a condición húmeda o seca utilizando inóculo granular o disgregado.	57
Figura 4-5. Potencial de producción de metano de la FORSU por gramo de SV utilizando inóculo granular y disgregado.....	59
Figura 4-6. Flujo de metano por día	59
Figura 4-7. DQO inicial y final de la DA bajo condiciones húmedas y secas.	63

RESUMEN

En este trabajo de investigación se evaluó la Influencia del inóculo granular y disgregado en la digestión anaerobia húmeda (10 % ST) y seca (25 % ST) de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos (FORSU) para la producción de metano. Se trabajó con dos pretratamientos al inóculo a diferentes tiempos: inóculo batido (uno y tres minutos) e inóculo tratado por ultrasonido (cinco, diez y quince minutos).

La primera etapa consistió en la caracterización de la FORSU y del inóculo granular y disgregado, determinando: sólidos totales (ST), sólidos fijos (SF), sólidos volátiles (SV), humedad, demanda química de oxígeno (DQO) y pH.

En la siguiente etapa se determinó el tamaño de partícula del inóculo granular y disgregado. El inóculo granular tuvo un 10.6% de volumen en un tamaño promedio de partícula de 831.76 μm , el inóculo batido fue el que presentó mayor disgregación del gránulo al obtener un 9.57% de volumen en 30.2 μm . Los tratamientos con ultrasonido no provocaron un cambio significativo en la disgregación del gránulo.

Finalmente se realizaron pruebas de potencial bioquímico de metano (PBM) utilizando la relación inóculo:sustrato 2:1 gSV a condiciones mesofílicas durante 17 días. En la digestión anaerobia (DA) a condiciones húmedas todos los tratamientos resultaron con valores de actividad metanogénica específica (AME) mayores que la del inóculo granular, siendo el tratamiento por ultrasonido durante 15 minutos el que obtuvo un aumento del 59.3% de AME, seguido del 51.2% del tratado por ultrasonido durante 10 minutos y 45.3% del tratado por ultrasonido durante 5 minutos. Los inóculos batidos lograron un aumento mínimo en la AME. En la digestión a condiciones secas, el inóculo tratado por ultrasonido durante 10 minutos obtuvo un aumento en la AME de 60.7%, seguido por el inóculo tratado por ultrasonido durante 15 minutos con 58.5% y 44.9% del inóculo tratado por ultrasonido durante 5 minutos. Los valores mayores de AME tienen mayor producción de metano.

1. INTRODUCCIÓN

La Ley General para la Prevención y Gestión Integral de los Residuos (LGPGIR, 2014) define a los “residuos sólidos urbanos (RSU)” como “los generados en las casas habitación, que resultan de la eliminación de los materiales que utilizan en sus actividades domésticas, de los productos que consumen y de sus envases, embalajes o empaques; los residuos que provienen de cualquier otra actividad dentro de establecimientos o en la vía pública que genere residuos con características domiciliarias, y los resultantes de la limpieza de las vías y lugares públicos, siempre que no sean considerados por esta ley como residuos de otra índole”.

La dimensión que alcanza la generación de residuos sólidos urbanos en México y el impacto que esto tiene sobre el medio ambiente, ejerce presión para que se mejoren los servicios municipales de recolección, traslado, tratamiento y disposición de ellos. Debido a la magnitud del problema, se han buscado soluciones de corto plazo, dejando a un lado la importancia de trabajar en aristas como la minimización en la generación de residuos, la separación desde el origen y la reutilización de materiales.

Los problemas ambientales ocasionados por los RSU cada vez son más notorios, teniendo dimensiones económicas que deben ser consideradas a fin de procurar el bienestar social y el cuidado del ambiente. Esto ha obligado a pensar en nuevas alternativas para el manejo y tratamiento de los RSU, fomentando su valoración y la recuperación energética de los mismos (Ramos, 2013). Existen diversos tratamientos para el manejo de los RSU como son la pirolisis, el compostaje, la gasificación, el reciclaje, la incineración y la digestión anaerobia son tecnologías alternativas para la gestión de los RSU (Rojas, 2012).

La digestión anaerobia (DA) de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos (FORSU) es una alternativa atractiva porque además de generar energía en forma de metano, permite la reducción del volumen de residuos que se envían a rellenos sanitarios o cualquier otro lugar que sea utilizado como destino final de estos residuos, además se produce un residuo semisólido que puede ser utilizado como acondicionador de suelos libre de organismos patógenos (Li *et al.*, 2011).

Existen factores que se deben cuidar durante la digestión anaerobia, los cuales son, principalmente, condiciones fisicoquímicas (pH, temperatura, concentración de nutrientes en el medio, ...), la cantidad de sustrato, es decir, el compuesto a degradar y la cantidad de inóculo.

El origen del inóculo es uno de los factores más importantes, ya que de éste va a depender la cantidad, actividad y especies de microorganismos presentes en el mismo. El número de células usadas en la prueba de actividad metanogénica va a determinar las tasas de biodegradabilidad (Simpkins y Alexander, 1984), el tiempo de latencia (Chudoba *et al.*, 1992) y la probabilidad de que la degradación del sustrato se realice o no, en el tiempo de duración de la prueba (Thouand *et al.*, 1995).

Sin embargo, se han encontrado resistencia a la biodegradación biológica por su composición orgánica, por lo tanto, se recomienda realizar pretratamientos a los inóculos anaerobios antes de la digestión anaerobia, con el fin de desaglomerar

los flóculos y aumentar la solubilidad y/o la disponibilidad del material celular a los microorganismos anaerobios (Rincón *et al.*, 2006).

En el presente trabajo se estudia la influencia de dos tratamientos físicos al inóculo (inóculo batido y ultrasonicado) a diferentes tiempos con la finalidad de disgregar el gránulo y así aumentar la producción de metano.

OBJETIVOS

- **Objetivo General**

Determinar la influencia de la consistencia del inóculo anaerobio (granular o disgregado) sobre el potencial de generación de metano durante pruebas de digestión anaerobia, tanto húmeda como seca, de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos.

- **Objetivos Particulares**

- ❖ Realizar tratamientos físicos para la disgregación de los gránulos de inóculo anaerobio para las pruebas de medición del potencial de generación de metano.
- ❖ Caracterizar la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos, el inóculo granular y disgregado.
- ❖ Determinar el intervalo de tamaño de partícula presente en los diferentes inóculos tratados.
- ❖ Seleccionar la morfología más adecuada (granular o disgregada) del inóculo anaerobio para aumentar la actividad metanogénica y por consecuencia la producción de metano.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Panorama general de la generación y composición de los RSU en el Distrito Federal

En México se enfrentan grandes retos en el manejo integral de sus residuos sólidos urbanos (RSU). Esto debido al elevado índice de crecimiento demográfico e industrial del país, las costumbres de la población, la elevación de los niveles de bienestar, así como la tendencia a abandonar las zonas rurales para concentrarse en los centros urbanos. En México se recolectan al día, en promedio, 102,895 toneladas de residuos sólidos urbanos al día (SEMARNAT, 2012) (Figura 2-1).

Lo anterior ha modificado de manera sustancial la cantidad y composición de los RSU. Por lo que la generación aumentó de 300 g por habitante por día en la década de los cincuentas, a más de 850 g en promedio en 1998; asimismo, la población se incrementó en el mismo periodo de 30 millones a más de 98 millones, contribuyendo a la fecha a una mayor generación de RSU (SEMARNAT, 2003).

Por entidad federativa, las que generaron los mayores volúmenes de RSU en 2011 fueron el Estado de México (16% del total nacional), Distrito Federal (12%),

Jalisco (7%), Veracruz (5.5%) y Nuevo León (5%), mientras las que registraron los menores volúmenes fueron Nayarit y Tlaxcala (cada una con 0.8%), Baja California Sur y Campeche (cada una con 0.6%) y Colima (0.5%) (SEMARNAT, 2011).

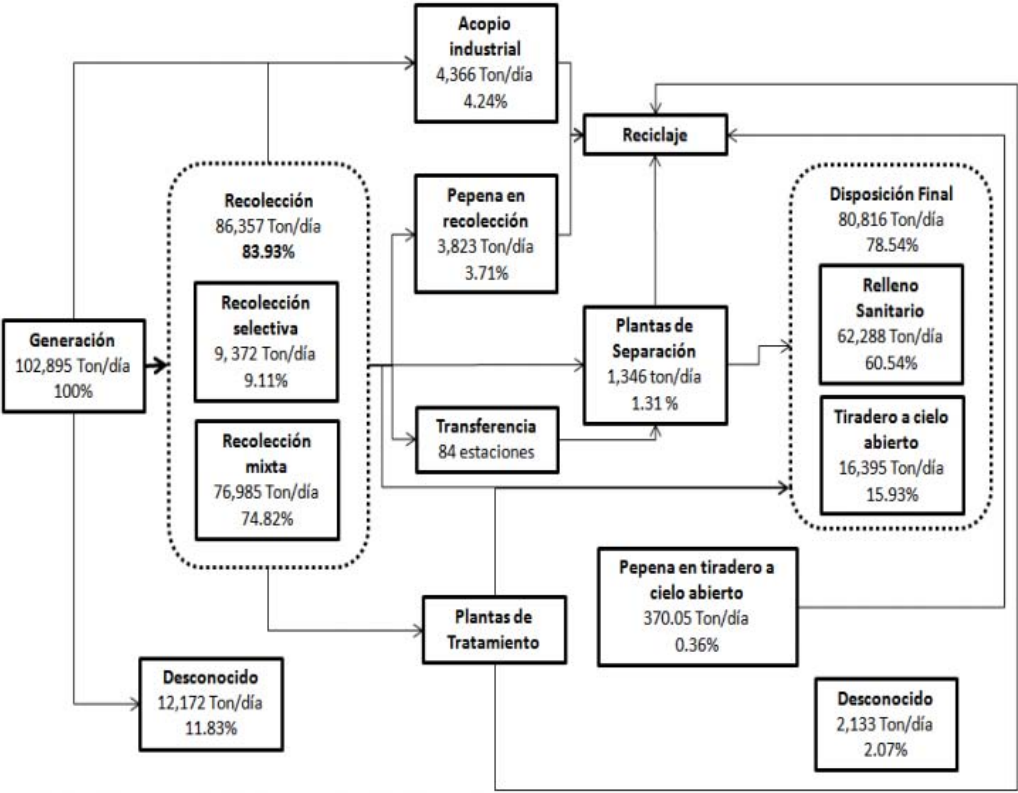


Figura 2-1. Diagrama Nacional de flujo de los RSU (SEMARNAT, 2012)

2.1.1 Residuos sólidos urbanos en el Distrito Federal

En el DF se recolectan 12,740 toneladas diarias de RSU producidos por 8,850,080 habitantes, de los cuales el 99.7% de la población es urbana (SEDEMA, 2012).

Son seis delegaciones en las que se concentran tres quintas partes de la población del DF, en las cuales se recolecta el 71% de los residuos. Destaca Iztapalapa, que registra 3,533 toneladas diarias de RSU (21%), seguida de las siguientes demarcaciones: Gustavo A. Madero con 2,965 toneladas (17%); Cuauhtémoc con 2,192 toneladas (13%); Venustiano Carranza con 1,200

toneladas (7%); Coyoacán con 1,136 toneladas (7%), y Álvaro Obregón con 1,095 toneladas por día (6%) (INEGI, 2013).

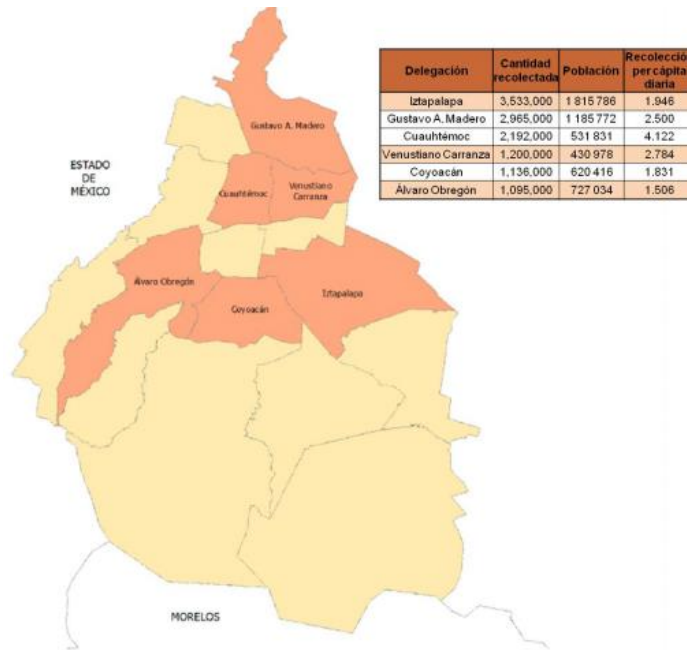


Figura 2-2. Delegaciones con mayor recolección de RSU y recolección per cápita diaria (INEGI, 2013)

La separación de los residuos sólidos urbanos desde su origen es importante porque facilita la valorización y reúso de los materiales como cartón, vidrio y plástico, disminuyendo el consumo y presión sobre los recursos naturales involucrados en su producción y alargando la vida útil de los sitios de disposición final, principalmente. Sin embargo, a nivel nacional solamente el 11% de los residuos recolectados son separados o segregados desde la fuente generadora; en el Distrito Federal este mismo indicador asciende a 18% (INEGI, 2013).

2.1.2 Composición y clasificación de los residuos sólidos urbanos

Los residuos sólidos se pueden clasificar de acuerdo a su fuente de origen en (SMADF, 2012):

- Domiciliarios
- Comerciales

- De sitios públicos
- Institucionales
- Hospitalarios
- Industriales

En respuesta a los hábitos de consumo y el patrón de actividades en la población del Distrito Federal, la fuente de residuos más representativa es la domiciliaria con 48% del total, seguida por comercios y servicios, ambas con 15% cada una, Figura 2-3 (SMADF, 2012).

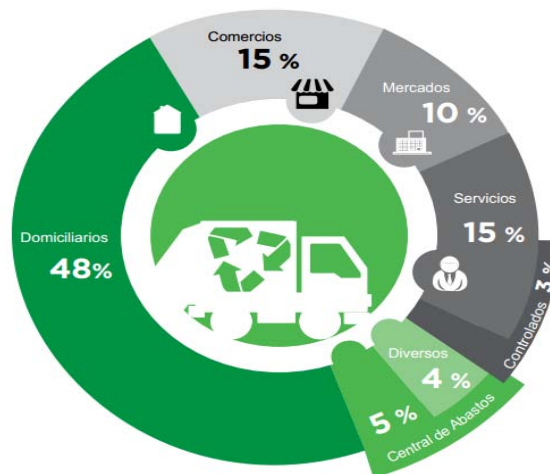


Figura 2-3. Generación de residuos sólidos en el Distrito Federal por fuente (SMADF, 2012)

La composición de los residuos sólidos urbanos, es un parámetro de gran importancia para proponer su manejo enfocado a la valorización y con ello dimensionar las plantas de tratamiento de los RSU. En la Tabla 2-1 se muestra la composición de los RSU en el Distrito Federal.

En las últimas cuatro décadas, la generación por habitante de residuos sólidos urbanos se incrementó en 200% y su composición pasó de ser mayoritariamente orgánica a incluir una alta proporción de plásticos y productos de lenta descomposición (SEMARNAT, 2012).

Tabla 2-1. Composición de los RSU en el Distrito Federal (datos de INEGI, 2010)

Categoría	Subproductos	%	Categoría	Subproductos	%
Susceptibles de aprovechamiento 39.57%	Cartón	6.54	Orgánicos 37.97 %	Cuero	0.51
	Papel	6.20		Fibra dura vegetal	0.67
	Material ferroso	2.09		Residuos alimenticios	25.57
	Material no ferroso	0.60		Hueso	0.59
	Plástico rígido y de película	7.22		Residuos de jardinería	9.38
	Envase de cartón encerado	1.50		Madera	1.25
	Fibras sintéticas	0.90	Residuo fino	3.76	
	Poliestireno expandido	1.65	Pañal desechable	6.52	
	Hule	1.21	Algodón	0.70	
	Lata	2.28	Otros 22.46%	Trapo	3.57
	Vidrio de color	2.55	Loza y cerámica	0.55	
	Vidrio transparente	4.03	Material de construcción	1.46	
	Poliuretano	2.80	Varios	5.90	

2.1.3 Valorización de los RSU

Los RSU deben ser considerados como un recurso a partir del cual pueden ser recuperados materiales re-usables, materia prima, nutrientes orgánicos e incluso energía. A este proceso de recuperación y tratamiento que pone a gran parte de los desechos en condiciones técnicas y económicas de ser devueltos al mercado se lo denomina proceso de valorización de los RSU (Ibáñez, 2002).

Existen diferentes opciones para valorizar los RSU (Figura 2-4):

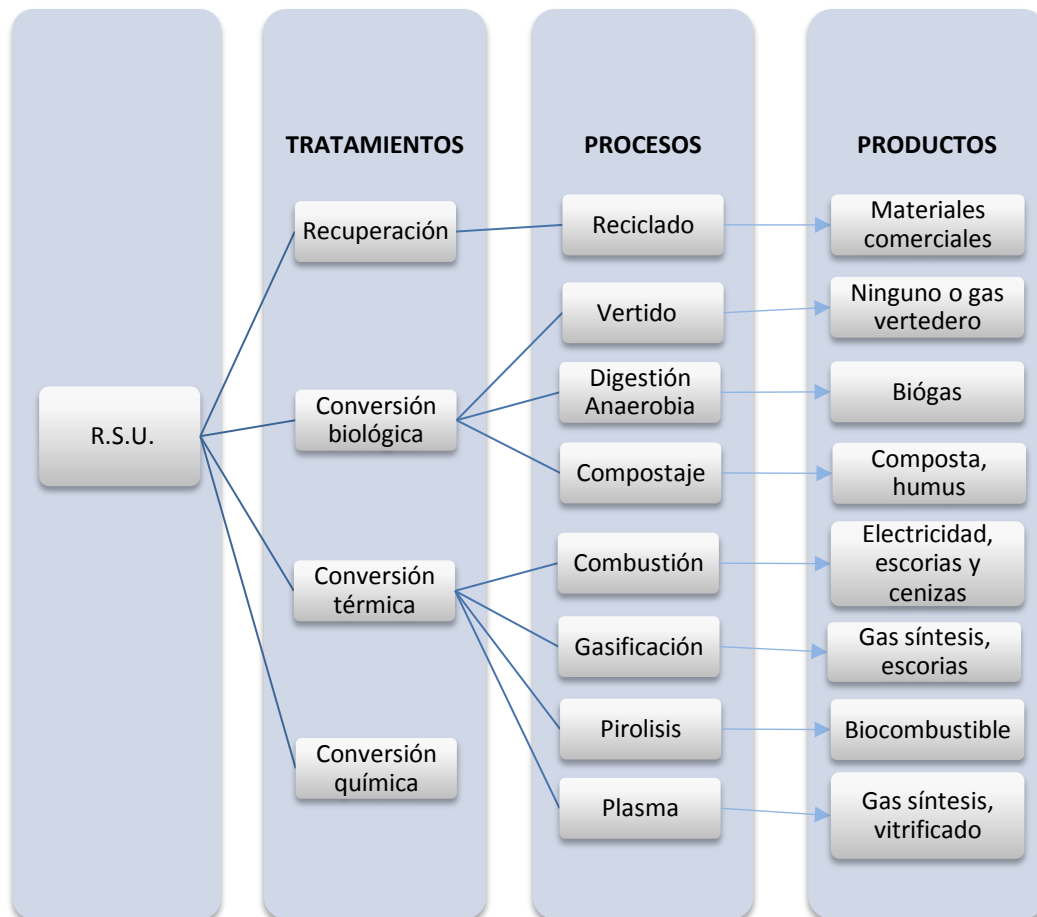


Figura 2-4. Opciones para valorizar los RSU (Elaboración propia)

Aunque el objetivo final de todos los procesos es el mismo, se debe tomar en cuenta la eficiencia de cada uno, que permita obtener una buena fuente de abastecimiento energético para la ciudad y una reducción en la cantidad de residuos que son dispuestos en los rellenos sanitarios. En este sentido, tomando en cuenta que el porcentaje de la fracción orgánica de los residuos generados en el DF es importante (Tabla 2.1), y que la digestión anaerobia (DA) es una tecnología madura y ampliamente probada, que demanda menores cantidades de energía y que por lo mismo es más económica que otras tecnologías de

tratamiento como la gasificación o pirolisis, se considera que su aplicación representa un proceso viable para aplicarse como tratamiento de dichos residuos (Rojas, 2012).

2.2 Digestión Anaerobia

La digestión anaerobia es un proceso biológico en el cual la materia orgánica contenida en el sustrato es convertida en una mezcla de gases, principalmente metano (CH₄) en un 65% y dióxido de carbono (CO₂) en un 35%, mediante la acción de un conjunto de microorganismos en ausencia de oxígeno (Martí-Ortega, 2006).

A continuación se exponen las ventajas del proceso, de los productos y de la energía que se produce en la digestión anaerobia:

PROCESO:

- Permite el tratamiento de fracciones orgánicas de residuos urbanos de diferentes procedencias (Tchobanoglous *et al*, 1997).
- Elevados porcentajes de eliminación de materia volátil (40-60%) (Vogt *et al.*, 2002; Mata-Álvarez *et al.*, 2000; De Baere, 2000).
- Destrucción de organismos parásitos y patógenos: también produce la inactivación de algunos virus (*Enterovirus* y *Parvovirus*), según el tipo, del proceso de depuración y de la temperatura de proceso (Turner y Burton, 1997).
- Baja producción y estabilización de lodos (Carreras y Dorronsoro, 1999a).
- Disminución significativa de la relación de alcalinidad total (Flotats *et al.*, 2000).

PRODUCTOS:

- Baja generación total de sólidos biológicos: el producto final posee características similares a la composta producido aeróbicamente (Tchobanoglous *et al.*, 1997). Además, el producto final es inerte y rico en ciertos nutrientes y puede emplearse en agricultura como mejorador de suelo (Nopharatana *et al.*, 2003; Chugh *et al.*, 1999).
- Eliminación de ácidos grasos volátiles (AGV) y otros compuestos fácilmente biodegradables, contribuyen para disminuir la fitotoxicidad del residuo final (Flotats *et al.*, 2000).
- Buenas condiciones de deshidratación mediante un proceso de secado (Van Der Berg *et al.*, 1981).

ENERGÍA PRODUCIDA:

- Alta producción de biogás compuesto fundamentalmente por CH₄ y CO₂.
- Obtención de biogás susceptible de aprovechamiento energético (Carreras *et al.*, 1999b).
- Bajo consumo energético: la alta producción de biogás con elevado valor energético reduce significativamente los costes del tratamiento (Milán *et al.*, 2001).

2.2.1 Etapas de la digestión anaerobia

La DA es un proceso complejo, en el que tienen lugar diferentes reacciones bioquímicas, muchas de las cuales se llevan a cabo de manera simultánea. Dichas reacciones requieren la intervención de diversos grupos de bacterias facultativas y arqueas anaerobias estrictas (Mata-Alvarez, 2003). Las etapas involucradas son:

- Hidrólisis

- Acidogénesis
- Acetogénesis
- Metanogénesis

En la Figura 2-5 se muestra un diagrama del proceso general de la DA, en donde los porcentajes mostrados corresponden a las cantidades que están presentes en los productos de cada etapa. En el cual los polímeros orgánicos complejos (proteínas, lípidos y carbohidratos) representan el 100% del material carbonoso como DQO inicial.

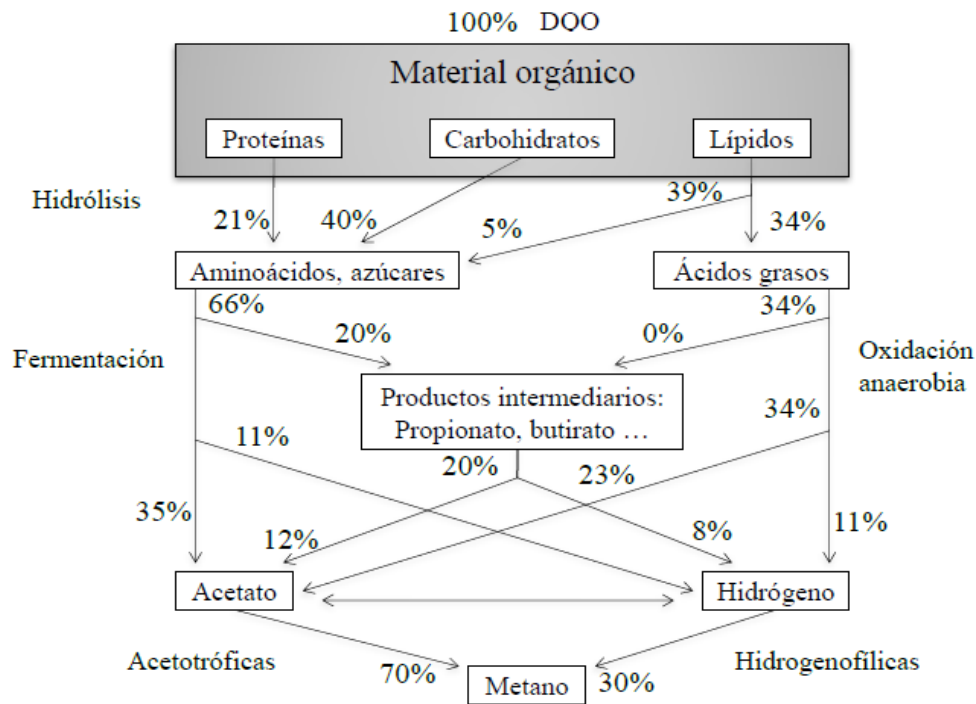


Figura 2-5. Proceso de digestión anaerobia (Adaptado de Gujer y Zehnder, 1983)

El 70% de metano es generado por la vía acetotrófica y el 30% por la vía hidrogenofílica.

2.2.1.1 Hidrólisis

El paso inicial para la degradación anaerobia de sustratos orgánicos comienza con la hidrólisis de la materia orgánica polimérica a compuestos solubles o monómeros, ya que los microorganismos únicamente pueden utilizar materia orgánica soluble que pueda atravesar su pared celular. Por tanto, es el proceso de hidrólisis el que proporciona sustratos orgánicos para la DA. La hidrólisis de estas moléculas complejas es llevada a cabo por la acción de enzimas extracelulares producidas por los microorganismos hidrolíticos.

Los compuestos solubles, básicamente diferentes tipos de oligosacáridos y azúcares, alcoholes, aminoácidos y ácidos grasos, atraviesan la pared celular y constituyen las principales fuentes de carbono y energía para las células de los microorganismos (Fernandez y Ollay, 1997). En el interior de la célula estos compuestos se transforman en compuestos más simples como acetato, propionato, butirato, amoníaco, alcoholes, etc.

Cualquier sustrato se compone de tres tipos básicos de macromoléculas: carbohidratos, proteínas y lípidos:

Las proteínas constituyen un sustrato muy importante en el proceso de DA ya que además de ser fuente de carbono y energía, los aminoácidos derivados de su hidrólisis tiene un elevado valor nutricional. Las proteínas son hidrolizadas en péptidos y aminoácidos por la acción de enzimas llamadas proteasas. Parte de estos aminoácidos son utilizados directamente en la síntesis de nuevo material celular y el resto son degradados a ácidos grasos volátiles, dióxido de carbono, hidrogeno, amonio y sulfuro en posteriores etapas del proceso (Ortega, 2006).

La degradación de lípidos en ambientes anaerobios comienza con la ruptura de las grasas por la acción de enzimas hidrolíticas denominadas lipasas produciendo ácidos grasos de cadena larga y glicerol.

La rapidez de degradación de los materiales lignocelulósicos, compuestos principalmente por lignina, celulosa y hemicelulosa, es tan lenta que suele ser la etapa limitante del proceso de hidrólisis. Esto debido a que la lignina es muy resistente a la degradación por parte de los microorganismos anaerobios, afectando también a la biodegradabilidad de la celulosa, de la hemicelulosa y de otros hidratos de carbono. Los principales productos de la hidrólisis de la celulosa son celobiasa y glucosa, mientras que la hemicelulosa produce pentosas, hexosas y ácidos urónicos.

La fase hidrolítica es decisiva para la biodegradación de RSU, convirtiéndose en la etapa limitante para los residuos con gran cantidad de sólidos (Pavlosthatis y Gómez, 1991), donde la hidrólisis previa es necesaria ya que los microorganismos sólo son capaces de metabolizar la materia orgánica disuelta y, por tanto, han de generar las exoenzimas necesarias para degradar el residuo. Según McCarty (1981), la rapidez viene limitada, en gran parte, por el grado de trituración o el tamaño de partícula de las sustancias a hidrolizar, cuanto mayor es la rapidez de solubilización de la materia orgánica, mayor es la rapidez de producción de biogás.

2.2.1.2 Acidogénesis

Esta etapa se efectúa por la acción de microorganismos acidogénicos, quienes toman los productos obtenidos en la etapa de hidrólisis para realizar su metabolismo; los productos de esta etapa son una gama de ácidos orgánicos volátiles de diferentes números de carbono, como son: el fórmico, valérico, acético, propiónico y butírico (Argüelles-Castillo, 2005). Las vías de degradación son las siguientes:

- a) Carbohidratos. La principal ruta metabólica de degradación de glucosa para la formación de ácidos orgánicos es la de Embden-Meyerhof, teniendo

como intermediario el piruvato para posteriormente generar Acetil-CoA y CO₂.

- b) Aminoácidos. Son degradados tomando dos aminoácidos al mismo tiempo (uno como donador de hidrógeno y otro como receptor) en acoplamiento con acetato, amonio y CO₂.
- c) La fermentación de los aminoácidos se considera rápida. En ésta se producen principalmente ácidos grasos de cadenas cortas e hidrógeno.
- d) Ácidos grasos de cadena larga. Son oxidados a ácidos grasos de cadena corta por el mecanismo de la β-oxidación. Los ácidos libres son transformados en el interior de la célula a tio-ester-CoA. La β-oxidación es un ciclo en espiral que libera un Acetil-CoA en cada bucle, produciendo, principalmente ácido acético.

En general, la acidogénesis es la transformación más rápida que interviene en la DA, produciendo principalmente acetato, H₂ y CO₂. Es importante mencionar que la concentración de los iones de hidrógeno formados como intermediarios afecta el tipo de los productos produciendo principalmente ácidos grasos volátiles (AGV) cuando la presión de hidrógeno es alta, y CO₂ e H₂ cuando la presión de hidrógeno es baja (Henze *et al.*, 2008; Martí-Ortega, 2006).

En la Figura 2-6 se muestra esquemáticamente la ruta de degradación Embden-Meyerhof para formar ácidos grasos, así como también los compuestos involucrados. Las siglas en dicha figura indican los compuestos en el proceso: ATP: trifosfato de adenosina; ADP: difosfato de adenosina; NADH: nicotinamida adenina dinucleótido reducida; NAD: nicotinamida adenina dinucleótido.

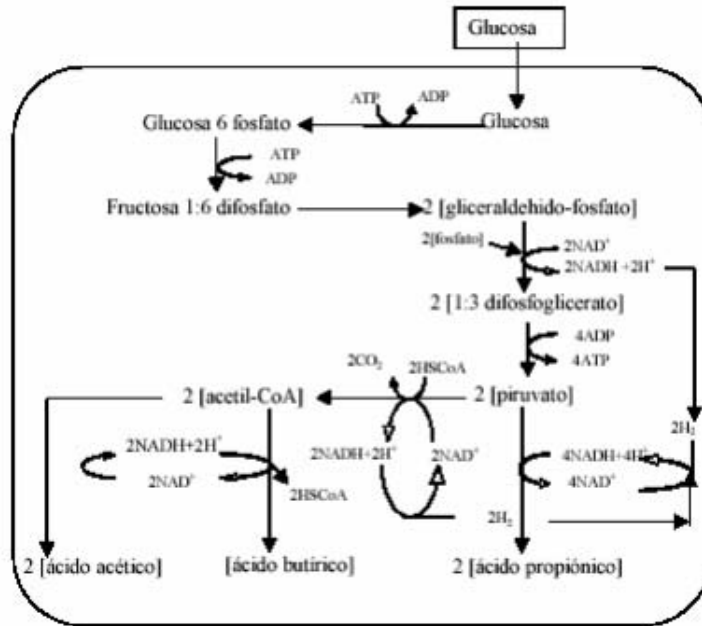


Figura 2-6. Simplificación de las rutas metabólicas de degradación de la glucosa por las bacterias acidogénicas (Mosey, 1993)

2.2.1.3 Acetogénesis

Las bacterias acetogénicas fueron puestas en evidencia por Mc-Inerney y Bryant (1981) gracias a las limitaciones metabólicas con relación a los otros grupos de bacterias. Son bacterias facultativas que viven en estrecha colaboración con las arqueas metanogénicas. Algunos ejemplos de bacterias productoras de hidrógeno son las anaerobias obligadas *Syntrophobacter*, *Syntrophomonas* y *Desulfovibrio*.

Las bacterias acetogénicas no tienen otras posibilidades metabólicas, dependen necesariamente de reacciones de transferencia de hidrógeno entre distintas especies de microorganismos. Así el principal papel de estos microorganismos en el proceso de digestión anaerobia es el de donantes de hidrógeno, dióxido de carbono y acetato a las arqueas metanogénicas. Estos microorganismos son capaces de convertir los productos finales de la microbiota acidogénica en acetato a partir de dos rutas diferentes:

- a) deshidrogenación acetogénica como producto de la fermentación de ácidos grasos volátiles o lactato y alcoholes;
- b) hidrogenación acetogénica a partir del hidrógeno y dióxido de carbono las bacterias homoacetogénicas sintetizan acetato.

Las reacciones de deshidrogenación acetogénica dependen de la concentración de hidrógeno existente (Boone y Xun, 1987), por lo tanto para que la acetogénesis tenga lugar en los digestores anaerobios, es necesario que el hidrógeno generado en la misma sea utilizado y consumido con igual rapidez a la que se produce (arqueas metanógenas utilizadoras de hidrógeno y/o bacterias homoacetogénicas) (Schink, 1997). En la Tabla 2-2 se muestran las reacciones acetogénicas.

Tabla 2-2. Reacciones acetogénicas (Stams, 1994)

Etanol y ácido láctico
$Etanol + H_2O \rightarrow Acetato^- + H^+ + 2H_2$
$Lactato^- + 2H_2O \rightarrow Acetato^- + H^+ + 2H_2 + HCO_3^-$
Ácidos grasos
$Acetato^- + 3H_2O \rightarrow H^+ + 4H_2 + 2HCO_3^-$
$Propionato^- + 3H_2O \rightarrow Acetato^- + HCO_3^- + H^+ + 3H_2$
$Butirato^- + 2H_2O \rightarrow 2Acetato^- + H^+ + 2H_2$
$Valerato^- + 3H_2O \rightarrow 3Acetato^- + 2H^+ + 4H_2$
Aminoácidos
$Alanina + 3H_2O \rightarrow Acetato^- + HCO_3^- + 4NH_4^+ + H^+ + 2H_2$
$Aspartato^- + 4H_2O \rightarrow Acetato^- + 2HCO_3^- + NH_4^+ + H^+ + 2H_2$
$Leucina + 3H_2O \rightarrow Isovalerato^- + HCO_3^- + NH_4^+ + H^+ + 2H_2$
$Glutamato^- + 4H_2O \rightarrow Propionato^- + 2HCO_3^- + NH_4^+ + H^+ + 2H_2$
$Glutamato^- + 7H_2O \rightarrow Acetato^- + NH_4^+ + 3H^+ + 5H_2$

2.2.1.4 Metanogénesis

Los microorganismos metanogénicos pueden ser considerados como los más importantes dentro del consorcio de microorganismos anaerobios, ya que son los responsables de la formación de metano y de la eliminación del medio de los productos de las etapas anteriores (Chambi, 2007). Las arqueas metanogénicas forman el metano a partir de sustratos monocarbonados o con dos átomos de carbono como acetato, H_2 , CO_2 , formato, metanol y algunas metilaminas. Estos organismos poseen varias coenzimas especiales, siendo la coenzima M, la que participa en el paso final de la formación del metano (Madigan *et al.*, 1998).

Existen tres vías principales para la formación de metano, en función del sustrato principal que se metaboliza: metanogénicas acetoclásticas que utilizan el acetato para producir metano y dióxido de carbono, estos microorganismos tienen tasas de crecimiento lentas, con tiempo de duplicación de 24 horas, y son afectadas por la presencia de H_2 ; metanogénicas hidrogenofílicas que utilizan hidrógeno y dióxido de carbono para formar metano, estas bacterias son mucho más rápidas que las acetoclásticas, con tiempos de duplicación de 4 a 6 horas (Mata-Alvarez, 2003) y las metanogénicas metilotróficas que utilizan compuestos de un carbono como el metanol para formar metano. Las principales reacciones se muestran en la Tabla 2-3.

Existe una relación entre las arqueas metanogénicas y el resto de microorganismos implicados en el proceso. Se establecen sinergias de crecimiento entre arqueas metanogénicas y no metanogénicas a través de delicados equilibrios relacionados con los niveles de ácidos e H_2 . Las arqueas metanogénicas pueden consumir el H_2 generado en las etapas anteriores consiguiendo mantenerlo en un nivel bajo de modo que se puedan desarrollar algunos grupos acidogénicos que sólo crecen en estas condiciones. Como es el caso de las bacterias acetogénicas protón-reductoras. Cualquier factor que impida el desarrollo adecuado de los microorganismos metanogénicos, provocará una acumulación de los productos de la acidogénesis, es decir ácidos grasos volátiles,

bajando el pH, condiciones que inhiben el desarrollo de los microorganismos metanogénicos (Bagi *et al.*, 2007).

Tabla 2-3. Principales reacciones metanogénicas (Stams, 1994; Ferguson *et al.*, 1987)

Reacciones hidrogenotróficas
$4H_2 + H^+ + 2HCO_3^- \rightarrow Acetato^- + 4H_2O$
$4H_2 + 4S^0 \rightarrow 4HS^- + H^+$
$4H_2 + 2HCO_3^- + H^+ \rightarrow CH_4 + 3H_2O$
$4H_2 + 4SO_4^{2-} + H^+ \rightarrow HS^- + 4H_2O$
$4H_2 + 4fumarato \rightarrow 4succinato$
$4H_2 + NO_3^- + 2H^+ \rightarrow NH_4^+ + 3H_2O$
Interconversiones formiato-hidrógeno
$H_2 + HCO_3^- \rightarrow Formiato^- + H_2O$
Metanogénesis acetoclástica
$Acetato^- + H_2O \rightarrow 4CO_3^- + CH_4$
Metanogénesis a partir de otros sustratos
<ul style="list-style-type: none"> • Fórmico $4HCOOH \rightarrow CH_4 + 3CO_2 + 2H_2O$
<ul style="list-style-type: none"> • Dióxido de carbono $CO_2 + 4H_2 \rightarrow CH_4 + 2H_2O$
<ul style="list-style-type: none"> • Metanol $4CH_3OH \rightarrow 3CH_4 + CO_2 + 2H_2O$
<ul style="list-style-type: none"> • Trimetil-amina $4(CH_3)_3N + 6H_2 \rightarrow 9CH_4 + 3CO_2 + 4NH_3$
<ul style="list-style-type: none"> • Dimetil-amina $2(CH_3)_2NH + 2H_2O \rightarrow 3CH_4 + CO_2 + 2NH_3$
<ul style="list-style-type: none"> • Monometil-amina $4(CH_3)NH_2 + 2H_2O \rightarrow 3CH_4 + CO_2 + 4NH_3$

2.2.2 Factores que afectan a la degradación anaerobia

Al igual que los demás procesos biológicos la DA se llevará a cabo satisfactoriamente o no dependiendo de las condiciones que estén presentes en el medio. Para posibilitar el adecuado desarrollo de los microorganismos que actúan sobre la materia orgánica presente, es importante conocer, en qué medida contribuyen o no a esta biodegradación.

Diferentes parámetros físicos y químicos siempre están presentes en los procesos anaerobios; siendo los factores principales el pH, tiempo de residencia hidráulica, temperatura, concentración y tipo de sustrato, presencia de inhibidores o toxinas, pueden determinar el hábitat adecuado para un tipo u otro de microorganismos.

2.2.2.1 pH

Los diferentes grupos bacterianos presentes en el proceso de DA presentan unos niveles de actividad óptimos en torno a la neutralidad entre los siguientes valores (Martí, 2006):

- Fermentativos: entre 7.2 y 7.4
- Acetogénicos: entre 7.0 y 7.2
- Metanogénicos: entre 6.5 y 7.5

Para que el proceso se desarrolle satisfactoriamente, el pH no debe bajar de 6 ni subir de 8. El valor del pH en el digester no sólo determina la producción de biogás sino también su composición. Una de las consecuencias de que se produzca un descenso del pH a valores inferiores a 6 es que el biogás generado es muy pobre en metano y, por lo tanto, tiene menores cualidades energéticas (Martí, 2006).

El pH afecta a los diferentes equilibrios químicos existentes en el medio, pudiendo desplazarlos hacia la formación de un determinado componente que tenga influencia en el proceso. Este es el caso de los equilibrios ácido-base del amoníaco y del ácido acético: al aumentar el pH se favorece la formación de

amoníaco que, en elevadas concentraciones, es inhibidor del crecimiento microbiano y a pH bajos se genera mayoritariamente la forma no ionizada del ácido acético, que inhibe el mecanismo de degradación del propionato (Martí, 2006).

2.2.2.2 Temperatura

La temperatura es una de las principales variables físico-químicas ya que afecta a la rapidez global del proceso, la actividad de los microorganismos, la constante de equilibrio, la solubilidad de los gases y al tipo de microorganismos presente en el medio. La temperatura puede controlar el proceso de digestión anaerobia, ya que por una parte selecciona los microorganismos preponderantes en el mismo y, por otra, controla la rapidez de crecimiento de los mismos, por lo que pequeñas oscilaciones del orden de 2°C, pueden ocasionar el desequilibrio de la producción y de utilización de un determinado producto, conduciendo a grandes distorsiones del proceso (Romero, 1991).

Con respecto a las propiedades físico-químicas del medio anaerobio dependiente de la temperatura se pueden citar la viscosidad, el equilibrio químico, y la solubilidad de los gases:

- Viscosidad: con el aumento de la temperatura la viscosidad del medio disminuye, favoreciendo la sedimentabilidad de los sólidos y menores requerimientos energéticos para la mezcla (agitación);
- Equilibrio químico: el aumento de la temperatura favorece la disolución de elevadas cantidades de compuestos, principalmente de sales. Además, favorece la disociación de distintos compuestos como por ejemplo los ácidos grasos volátiles y el amonio, aumentando el efecto tóxico del amoníaco;
- Solubilidad de los gases: el aumento de temperatura disminuye la solubilidad de los gases (H_2S , H_2), favoreciéndose la transferencia líquido-

gas y, por lo tanto, desapareciendo más rápidamente del medio acuoso. Esto supone un efecto positivo, dada la toxicidad sobre el crecimiento de los microorganismos anaerobios de los citados compuestos.

Las bacterias se clasifican atendiendo al intervalo de temperatura para su desarrollo (Nopharatana *et al.*, 1998):

- Psicofílicas: temperatura $< 15\text{ }^{\circ}\text{C}$, con un óptimo en $15\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- Mesofílicas: $15\text{ }^{\circ}\text{C} < \text{temperatura} < 45\text{ }^{\circ}\text{C}$, con un óptimo en $35\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- Termofílicas: $50\text{ }^{\circ}\text{C} < \text{Temperatura} < 65\text{ }^{\circ}\text{C}$, con un óptimo en $55\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Se han reportado en la literatura dos posibles intervalos de temperatura en las que se desarrolla el proceso anaerobio: mesófilo ($35\text{-}40^{\circ}\text{C}$) y termófilo ($50\text{-}55^{\circ}\text{C}$). Los organismos en condiciones mesofílicas son más resistentes a las variaciones de temperatura y pH (Castillo y Martínez, 2005). Aunque los rendimientos de la producción de biogás y la cinética de las reacciones biológicas pueden ser más favorables a temperaturas termofílicas, las condiciones óptimas dependen del tipo de sustrato (composición, concentración y biodegradabilidad) y el tipo de sistema utilizado (Mata-Alvarez, 2002).

En la Figura 2-7 se muestra la comparación de las velocidades de crecimiento de los microorganismos en tres rangos de temperatura. En cada rango de temperatura indicado, la rapidez de crecimiento de los microorganismos aumenta con la temperatura hasta alcanzar un máximo a partir del cual se produce un brusco y acelerado descenso de la misma. También se observa en la figura que la rapidez del proceso aumenta con la temperatura, aunque aumentan los requerimientos energéticos, y disminuye la estabilidad del proceso, al menos en presencia de determinados tóxicos (Fannin, 1987).

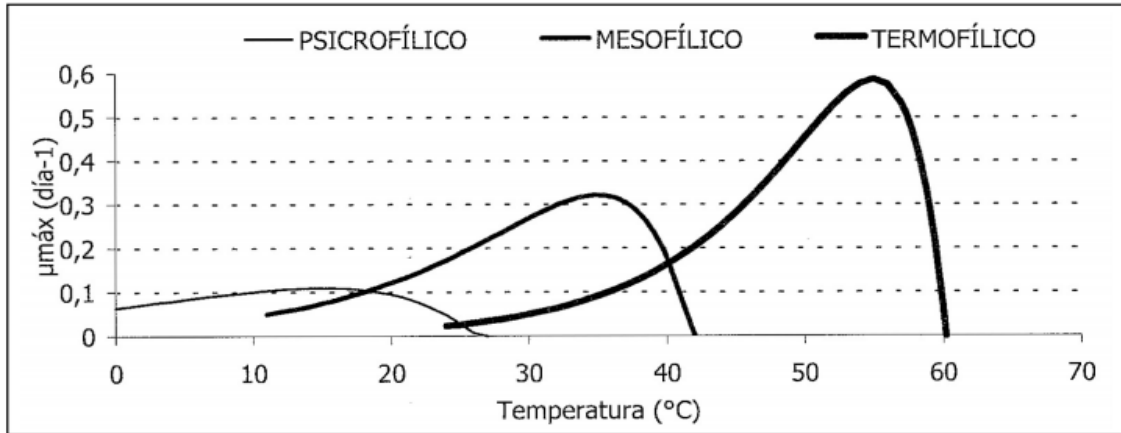


Figura 2-7. Dependencia de la rapidez específica de crecimiento con la temperatura (Romero *et al.*, 2002)

Como se aprecia en la Figura 2-7, en cada rango de temperatura indicado, la rapidez de crecimiento de los microorganismos aumenta con la temperatura hasta alcanzar un máximo a partir del cual se produce un brusco y acelerado descenso de la misma. También se observa en la figura que la rapidez del proceso aumenta con la temperatura, aunque aumentan los requerimientos energéticos, y disminuye la estabilidad del proceso (Fannin, 1987), al menos en presencia de determinados tóxicos.

2.2.2.3 Nutrientes

La FORSU por lo general contiene nutrientes y micronutrientes en cantidades suficientemente altas para el crecimiento ilimitado de microorganismos. Los requerimientos de nutrientes son menores en los procesos anaerobios que en los procesos aerobios debido al menor índice de producción de biomasa que presentan los microorganismos anaerobios, ya que la cantidad requerida de cada nutriente es proporcional a la biomasa formada (Martí-Ortega, 2006).

Los principales nutrientes necesarios para el crecimiento de los microorganismos son el carbono, el nitrógeno y el fósforo, y una serie de elementos minerales como

sodio, potasio, calcio, hierro, magnesio y azufre que deben estar presentes a nivel de trazas. Diversos autores han estudiado la relación necesaria entre los nutrientes mayoritarios considerando una relación C:N entre 15-30:1 y C:P de 75-113:1 (Speece, 1987).

La adición de micronutrientes se basa en los requerimientos nutricionales que poseen las bacterias metanogénicas, debido a que, posiblemente, estos elementos no se encuentren presentes en las cantidades adecuadas en el sustrato empleado. Otro aspecto a considerar es la inclusión de vitaminas, ya que estimulan el crecimiento de las bacterias metanogénicas. La presencia de iones de metales es otro aspecto importante a tener en cuenta. Las arqueas metanogénicas tienen requerimientos especiales en cuanto a elementos metálicos y a algunos cationes; en particular, todos los metanógenos requieren níquel, cobalto e hierro para su crecimiento y algunos tienen un gran requerimiento de sodio. Otro aspecto importante es el requerimiento de una fuente de hidrógeno por parte de los metanógenos para llevar a cabo reacciones redox; esto repercute directamente en la cantidad de biogás producido.

De manera general los requerimientos de las arqueas metanogénicas se pueden considerar en el siguiente orden: $Mg = Ca > Fe > Zn > Ni > Co = Mo > Cu > Mn$.

La presencia de micronutrientes tales como hierro, níquel, cobalto, selenio, molibdeno, manganeso y tungsteno provocan estabilidad en la membrana, transferencia de nutrientes y ahorro de energía en arqueas productoras de metano tales como las bacterias reductoras de azufre (Patidar, 2006).

La adición de nutrientes como el calcio, níquel, cobalto y hierro facilitan la remoción casi total de los AGV's en un sistema termofílico. Elementos como el selenio, el molibdeno y el tungsteno son importantes en la oxidación del formiato, un producto de la ruptura del ácido propiónico, ya que forman parte de la enzima formiato deshidrogenasa. Un exceso de formiato en el sistema puede intervenir con la oxidación del ácido propiónico. Para la adición de micronutrientes se debe tomar en cuenta que las bacterias reductoras de azufre compiten por el sustrato

con los metanógenos, y que además el azufre que producen tiene un efecto tóxico sobre las mismas (Zitomer *et al.* 2008).

2.2.2.4 Tóxicos e inhibidores

Las sustancias inhibidoras son compuestos que están presentes en el residuo antes de su digestión o bien se forman durante el proceso fermentativo anaerobio. Estas sustancias reducen el rendimiento de la digestión e incluso pueden llegar a causar la desestabilización completa del proceso.

Se debe destacar la gran capacidad de adaptación y aclimatación de los sistemas anaerobios, lo que significa que las bacterias pueden tolerar la presencia de tóxicos tras un período de exposición a concentraciones sub-letales de los mismos.

Existen factores que afectan a la toxicidad y recuperación como:

- Concentración de tóxico
- Tiempo de contacto
- Cantidad de biomasa
- Estructura de la biomasa
- Tiempo de retención de sólidos

La presencia de metales pesados, antibióticos y detergentes en determinadas concentraciones pueden inhibir e incluso interrumpir el proceso fermentativo. Cuando la concentración de ácidos volátiles es demasiado alta (más de 2.000 ppm para la fermentación mesofílica y de 3.600 ppm para la termofílica) se inhibirá la digestión, igualmente cuando el nitrógeno se encuentra en exceso puede producir amoníaco, el cual en grandes cantidades es tóxico, destruye a las bacterias e inhibe el proceso ocasionado cambios de pH intracelular, acumulación de ácidos grasos volátiles provocando una reducción del pH (Rivera, 2010). Los inhibidores de la metanogénesis son (Ortega, 2002):

➤ Cationes y metales pesados

Los cationes de metales alcalinos y alcalinotérreos tienen un efecto estimulador sobre la actividad de las bacterias a bajas concentraciones. A partir de un nivel de concentración, pueden proporcionar toxicidad provocando una disminución de la rapidez de crecimiento. La toxicidad de los cationes aumenta con el peso molecular, por lo que los metales pesados son los que provocan toxicidad a menor concentración (Martí-Ortega, 2006).

➤ Nitrógeno amoniacal

Durante el proceso anaerobio, el nitrógeno orgánico es hidrolizado dando lugar a formas amoniacales. Aunque el nitrógeno amoniacal es un nutriente importante para el crecimiento bacteriano, una concentración excesiva puede limitar su crecimiento (Ortega, 2002).

➤ Hidrógeno

El hidrogeno es también un compuesto intermedio importante del proceso anaerobio. Su acumulación en el medio, provoca la inhibición de la acetogénesis y, consecuentemente, la acumulación de ácidos grasos volátiles con más de dos átomos de carbono (Ortega, 2002).

➤ Sulfatos y sulfuros

Elevadas concentraciones de sulfuro en el sustrato puede producir la inhibición del proceso anaerobio, especialmente en la etapa metanogénica. En presencia de sulfatos, las arqueas metanogénicas compiten con las sulfato-reductoras por los mismos sustratos (acetato e hidrógeno), mostrando éstas últimas ventajas termodinámicas y cinéticas sobre las primeras. El resultado de esta competición determinará la proporción de sulfhídrico y metano en el biogás producido.

Para muchos grupos bacterianos el sulfuro es un inhibidor, en general, los microorganismos metanogénicos son más sensibles que los acidogénicos y

acetogénicos. Si los microorganismos metanogénicos no están aclimatados a los sulfuros comienzan a ser tóxicos a concentraciones de 50 mg/L. La forma tóxica es la no ionizada, por lo que la inhibición se favorece a pH y temperatura bajas (Ortega, 2002).

➤ Ácidos grasos volátiles

La concentración de ácidos volátiles, producto de la fermentación, tiene una gran importancia en el proceso de la DA, ya que puede llegar a acidificar el inóculo provocando la inhibición del proceso. Los valores óptimos están comprendidos entre 50 y 500 mg/L como ácido acético, siendo un valor extremo 2,000 mg/L (Ortega, 2002).

El aumento de la concentración de ácidos volátiles puede ser producido por sobrecarga de alimentación, o por una inhibición de las arqueas metanogénicas. A su vez, una gran concentración puede provocar la rotura de la capacidad tampón del inóculo, disminución del pH y en consecuencia, inhibición de las bacterias formadoras de metano (Montes, 2008).

2.2.3 Tecnologías para la digestión anaerobia

En los últimos años el sector de la digestión de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos (FORSU), con objetivo energético de producción de biogás o ambiental de minimización y valorización del residuo final, está experimentando un crecimiento espectacular.

Se pueden establecer diversas clasificaciones para la digestión anaerobia de la FORSU en función del rango de operación. La elección de la tecnología más adecuada dependerá de los parámetros operacionales elegidos.

A continuación, se establece una clasificación en función de los siguientes parámetros operacionales:

- Régimen de alimentación
- Etapas del proceso
- Contenido en sólidos
- Temperatura de operación

2.2.3.1 Régimen de alimentación

Existen tres regímenes de alimentación: continuo, discontinuo y semicontinuo.

- A. *Sistema continuo*: la alimentación del sustrato se adiciona de manera continua y constante en el reactor. En principio cabe esperar un mejor funcionamiento cuando se opera en continuo, aunque, experiencias a nivel laboratorio, han obtenido resultados análogos de producción de metano operando en continuo y en semicontinuo (Van de Berg y Lentz, 1980).
- B. *Sistema en discontinuo*: En estos sistemas el volumen del reactor se llena, en una única toma. La materia orgánica, junto con el inóculo, permanecen en el reactor hasta transcurrir el tiempo necesario para conseguir la degradación requerida. Este modo de operación es útil cuando el residuo es de difícil degradación, o cuando el residuo posee alto porcentaje de sólidos totales o sólidos en suspensión (Forster, 2005).
- C. *Sistema en semicontinuo*: Consiste en introducir la materia orgánica en el reactor periódicamente (Levenspiel, 2002).

2.2.3.2 Etapas del proceso

Los parámetros relacionados con el diseño del reactor son el número de etapas y la concentración de los sólidos totales. Estos parámetros tienen gran impacto sobre el coste, funcionamiento y fiabilidad del proceso de digestión (De Baere *et al.*, 1987). Con respecto a las fases del reactor, éste puede ser clasificado en una fase (monoetapa) o dos fases.

En el sistema de una fase, todas las reacciones físico-químicas y microbiológicas del proceso anaerobio ocurren en un solo reactor, mientras que en el sistema de dos o más fases estas reacciones ocurren en secuencia en los diferentes reactores. Así, desde el punto de vista biológico la eficacia del sistema de una fase, para muchos de los residuos orgánicos, es tan alta como la de los sistemas de dos fases, si operan en las condiciones ideales.

Sin embargo, el sistema de una fase puede presentar algunos problemas de estabilidad como consecuencia de la diferencia en las condiciones óptimas de las distintas poblaciones microbianas de un reactor anaerobio así como de sus diferentes tolerancias a las modificaciones del medio en el que se desarrollan. En el sistema de dos fases, en el primer reactor, denominado ácido o acidogénico, se producen simultáneamente las etapas hidrolítica y acidogénica. Dado que los microorganismos responsables de las mismas presentan actividad óptima en rangos de pH inferiores (5.5-6.5) a los que se mantienen en reactores de una sola etapa. El segundo reactor, denominado metanogénico, recibe como alimentación el efluente de la unidad anterior y tienen lugar las etapas acetogénica y metanogénica, para dar lugar a la producción de biogás.

La principal ventaja de la separación de fases radica en la posibilidad de controlar las sobrecargas dado que el reactor metanogénico, cuyos microorganismos son mucho más sensibles, recibe una alimentación de características constantes. No obstante, respecto del proceso de degradación de residuos sólidos, esta tecnología puede presentar otra ventaja sustancial: la etapa hidrolítica puede ser la limitante de la rapidez del proceso en lugar de la metanogénica como ocurre en la mayoría de los casos con sustratos solubles. Dado que en el reactor ácido se imponen las condiciones óptimas para los microorganismos acidogénicos (que son encargados de sintetizar las enzimas que ejecutan la etapa hidrolítica) para que se realice la hidrólisis ácida, previsiblemente podría conseguirse un aumento de la rapidez global del proceso y/o de la eficacia del mismo (Forster, 2005).

2.2.3.3 Contenido en sólidos en la alimentación

Los procesos utilizados para el tratamiento anaerobio de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos se han clasificado, en general, en dos categorías: bajo contenido en sólidos y alto contenido en sólidos. La principal diferencia entre ambos procesos es, lógicamente, la concentración de sólidos en la alimentación del proceso (De Baere, 2000).

Según Hartmann y Ahring (2005) los procesos anaerobios denominados húmedos o con bajo contenido en sólidos presentan porcentajes de sólidos totales (ST) inferiores a 10%, los procesos secos o con alto contenido en sólidos presentan concentraciones de ST superiores a 20%, y se clasifica como procesos semi-seco aquellos con una concentración de sólidos entre 10-20%.

2.2.3.4 Temperatura de operación

La temperatura es una de las principales variables físico-químicas ya que afecta a la rapidez global del proceso, la actividad de los microorganismos, la constante de equilibrio, la solubilidad de los gases y a los tipos de microorganismos presentes en el medio. La temperatura puede controlar el proceso de digestión anaerobia, ya que por una parte selecciona los microorganismos preponderantes en el mismo y, por otra, controla la rapidez de crecimiento de los mismos, por lo que pequeñas oscilaciones del orden de 2°C, pueden ocasionar el desequilibrio de la rapidez de producción y de utilización de un determinado producto, conduciendo a grandes distorsiones del proceso (Romero, 1991).

En líneas generales la DA en el intervalo termofílico proporciona una serie de ventajas en comparación con la llevada a cabo en el rango mesofílico, como son (Chen, 1983 y Buhr, 1977):

- La rapidez de las reacciones bioquímicas suelen ser mayores al aumentar la temperatura, obteniendo aumentar la rapidez metabólica, al intervenir enzimas físicas y químicamente más estables.

- Se favorecen las propiedades físicas y químicas del agua en relación al proceso de depuración, produciéndose un aumento en la difusión, ionización y solubilidad de la mayoría de los compuestos orgánicos e inorgánicos, así como una disminución de su viscosidad, tensión superficial y constante dieléctrica.
- Presenta una menor conversión de sustrato en material celular y un mayor rendimiento de producción de metano.

2.2.4 Actividad metanogénica específica

En el tratamiento biológico anaerobio, la Actividad Metanogénica Específica (AME) es un parámetro que se utiliza para determinar la capacidad de asimilación que tienen las arqueas metanogénicas para producir biogás, permitiendo clasificar el potencial de la biomasa para convertir el sustrato en metano y gas carbónico bajo diferentes condiciones ambientales. Además, ofrece otras posibilidades como son: evaluar el comportamiento de la biomasa bajo el efecto de compuestos potencialmente inhibidores, determinar la toxicidad relativa de compuestos químicos presentes en efluentes, establecer el grado de degradabilidad de diversos sustratos, monitorear los cambios de actividad del inóculo debido a una posible acumulación de materiales inertes, determinar la carga orgánica máxima que puede ser aplicada para un determinado tipo de inóculo y evaluar parámetros cinéticos (Penna, 1991; Chernicharo, 1997).

Las determinaciones de sólidos suspendidos volátiles no distinguen entre biomasa microbiana y otro material orgánico particulado presente en el reactor, es por esto que estas mediciones no representan un indicativo de la actividad metanogénica de la biomasa presente.

La producción teórica de metano debe ser calculada teniendo en cuenta las condiciones de temperatura y presión atmosférica bajo las cuales se realicen los montajes de AME. Considerando la ecuación de combustión del metano, teniendo una oxidación completa de éste, un mol de CH_4 consume dos moles de O_2 . Por lo

tanto, a condiciones normales de temperatura y presión (T=273 K; P=1 atm), 22.4 litros de metano corresponden a 64 g de DQO, es decir, 0.35 litros de CH₄ por gramo de DQO removida. Esta relación permite estimar la fracción de materia orgánica convertida en metano a partir del volumen de metano producido en el reactor, por unidad de tiempo. Como esta relación es válida para condiciones normales de temperatura y presión, para cualquier otra condición el volumen obtenido debe ser corregido (Foresti, 1994). El factor de corrección por temperatura y presión puede calcularse así (Chernicharo, 1997):

dónde:

K(t) = factor de corrección (g DQO/L)

P = presión atmosférica (atm)

R = constante de los gases (atm L/mol K)

k = carga orgánica digerida correspondiente a una mol de CH₄ (64 g DQO/mol)

t = temperatura operacional de la prueba (°C)

$$K(t) = \frac{P * k}{R * (273 + t)}$$

El volumen teórico de metano puede calcularse con la siguiente ecuación:

dónde:

V_{CH₄} = volumen teórico de metano producido (L)

DQO_{CH₄} = carga de DQO removida (g DQO)

$$V_{CH_4} = \frac{DQO_{CH_4}}{K(t)}$$

Teniendo en cuenta la producción de metano, el cálculo de la actividad metanogénica específica (AME) se efectúa a partir de la siguiente expresión:

dónde:

m = pendiente máxima en la curva de producción

M = masa de inóculo anaerobio agregado

$$AME (g DQO/g STV * d) = \frac{m * 24}{V_{CH_4} * M}$$

La influencia de la transferencia de masa en el proceso de la DA en general se presenta como el factor de efectividad (η):

$$\eta = \frac{AME \text{ del inóculo disgregado}}{AME \text{ del inóculo granular}}$$

cuando:

$\eta = 1$, no se presenta resistencia a la transferencia de masa en el gránulo

$\eta > 1$, se presenta transferencia de masa en el gránulo

$\eta < 1$, los microorganismos fueron dañados por la desintegración

2.3 Inóculo granular anaerobio

En esencia un gránulo es una forma particular de biopelícula, el cual corresponde a una asociación de varios microorganismos que están en interdependencia mutua. Diversos tipos de consorcios han sido descritos como flóculos, “pellets”, inóculo floculento y gránulos. Según Dolfmg (1985) los “pellets” y gránulos son aglomerados con una estructura densa, que aún luego de sedimentar presentan una apariencia bien definida. En cambio, flóculos e inóculo floculento presentan una estructura menos compacta y después de sedimentar forman una capa macroscópicamente homogénea.

El origen del inóculo es uno de los factores más importantes que afecta a la digestión anaerobia, ya que de éste va a depender la cantidad, actividad y especies de microorganismos presentes en el mismo. En el proceso de inoculación existen bacterias vivas y activadas, listas para ser sembradas o inoculadas en un nuevo medio que puede ir desde un caldo de cultivo hasta biorreactores y procesos de compostaje (Pacheco, 2003).

El número de células usadas en la prueba va a determinar las tasas de biodegradabilidad (Simpkins y Alexander 1984), el tiempo de latencia (Chudoba et

al., 1992) y la probabilidad de que la degradación del sustrato se realice en el tiempo de duración de la prueba (Thouand *et al.*, 1995). Por lo cual es importante controlar la cantidad de las células, en especial de organismos degradadores presentes que se van a adicionar a la prueba (Nyholm, 1991).

El inóculo granular anaerobio se puede obtener de los reactores UASB (del inglés Upflow Anaerobic Sludge Blanket), también conocido como RAFA (Reactor anaerobio de flujo ascendente). También se forma en otros tipos de reactores anaerobios tales como: el filtro de flujo ascendente (Young y Dahab, 1983), los diferentes tipos de reactores híbridos (Guiot *et al.*, 1992); los reactores seccionados, tanto vertical (“Multiplate Anaerobic Reactor”) como horizontalmente (“Baffled Reactor”) (Tilche *et al.*, 1988), los reactores tipo “Gas Lift”, EGSB (“Expanded Granular Sludge Bed”) (Lettinga *et al.*, 1995), IC (“Internal Circulation”), de lecho fluidificado (Iza *et al.*, 1988), pero también en reactores alimentados de manera discontinua como el SBR (Kennedy *et al.*, 1991).

2.3.1 Reactores UASB

Estos reactores son un tipo de biorreactor tubular que operan en régimen continuo y en flujo ascendente, es decir, el afluente entra por la parte inferior del reactor, atraviesa todo el perfil longitudinal, y sale por la parte superior. Son reactores anaerobios en los que los microorganismos se agrupan formando gránulos. El concepto de reactor UASB se basa en las siguientes ideas:

- Inóculo anaerobio con buenas propiedades de sedimentación.
- Los agregados de inóculo quedan retenidos en el reactor separando el biogás en un colector de gas situado en la parte superior del mismo.
- Estos agregados deben ser capaces de sedimentar y volver al seno del reactor.

Estos reactores son ideales para trabajar con aguas residuales cargadas y no complejas (materia orgánica soluble). En la Figura 2-8 se muestra un esquema general de un reactor UASB.

El lodo granular constituye el corazón de la tecnología UASB. El lodo se forma durante el tratamiento de agua residual en un medio en el que existe un régimen hidráulico constante de flujo ascendente. En ausencia de algún tipo de soporte, las condiciones del tipo de flujo crean un ambiente selectivo en el cual sólo esos organismos capaces de anclarse a otros, sobreviven y proliferan. La configuración de los agregados dentro de la biopelícula densa y compacta es a lo que se denomina gránulo. Debido a su gran tamaño de partícula (generalmente en el rango de 0.5 a 2 mm de diámetro), los gránulos resisten el lavado del sistema de reacción, permitiendo cargas hidráulicas elevadas. Además, las biopelículas son compactas, permitiendo elevadas concentraciones de microorganismos activos y de este modo poder tratar elevadas cargas volumétricas en los reactores UASB. Un gramo de lodo granular (peso seco) puede catalizar la conversión de 0.5 a 1 g de DQO al día. La composición del gránulo está estratificada (CPML, 2007).

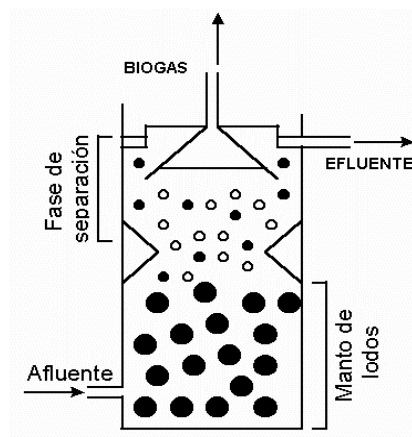


Figura 2-8. Esquema básico del reactor UASB.

2.3.2 Composición química de los gránulos de inóculo anaerobios

La composición orgánica de los gránulos corresponde esencialmente a las bacterias involucradas en el proceso de degradación y a los polímeros extracelulares que sirven de cemento (Dolfing *et al.*, 1985).

Los polímeros extracelulares corresponden a compuestos de alto peso molecular (>10000 dalton) producidos por microorganismos bajo ciertas condiciones ambientales (Morgan *et al.*, 1990). Estas sustancias exopoliméricas (SEP) pueden ser excretadas activamente desde los microorganismos del gránulo, ser adsorbidas desde el medio o ser producto de lisis celular. Los principales componentes de las SEP son proteínas, polisacáridos y lípidos (Dolfing *et al.*, 1985). La alta resistencia de los gránulos a varios métodos de extracción (HCl 0.01 N, NaOH 0.1 N, 5% EDTA, ebullición, centrifugación, autoclave, sonicación) sugiere que los diferentes polímeros extracelulares y probablemente diferentes grupos de microorganismos contribuyen a la matriz (Dolfing *et al.*, 1985).

2.3.3 Composición microbiana de los gránulos

Los gránulos de inóculo se encuentran formados por diversos grupo de microorganismos, en el centro se localizan los agregados de Methanosaeta (principalmente) y otros organismos metanógenos, como Methanothrix y Methanosarcina. En la siguiente capa están localizados organismos productores y consumidores de hidrógeno, en una asociación simbiótica. En la capa superficial se localizan los organismos que realizan las primeras etapas de degradación anaerobia, como los acidógenos y otros organismos consumidores de hidrógeno (CPML, 2007) (Figura 2-9).

Guiot (1992) establecen una estructura tipo del gránulo anaerobio en tres capas basada sobre el modelo de difusión de Mc Carty y Smith, (1986) (Figura 2-10). El modelo de difusión de producto y sustrato diferencia zonas activas para los diferentes grupos tróficos a lo largo del radio del gránulo.

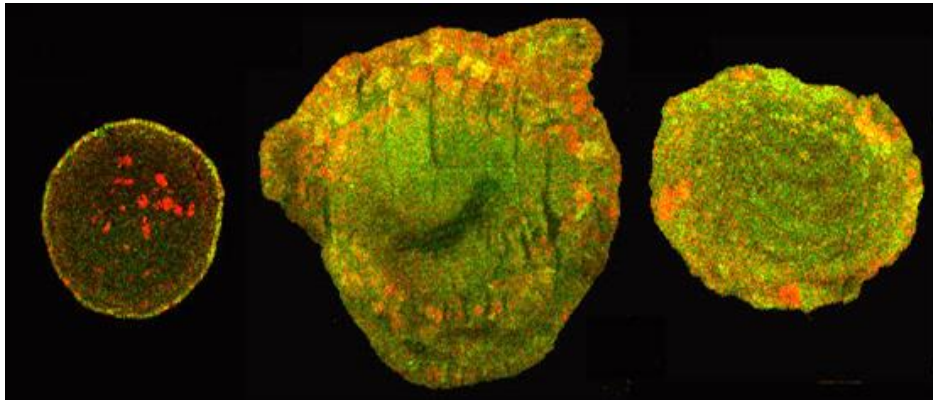


Figura 2-9. Inóculo granular anaerobio. Microscopía de fluorescencia confocal (verde: bacterias; rojo: arqueas)

En el modelo de Guiot (1992) cada estructura agregada es un arreglo metabólico estable que crea las condiciones adecuadas de nutrición para todos sus miembros. Posteriormente, Arcand (1994), sustentan ese modelo mediante un modelo matemático simulando el crecimiento del gránulo sobre sacarosa.

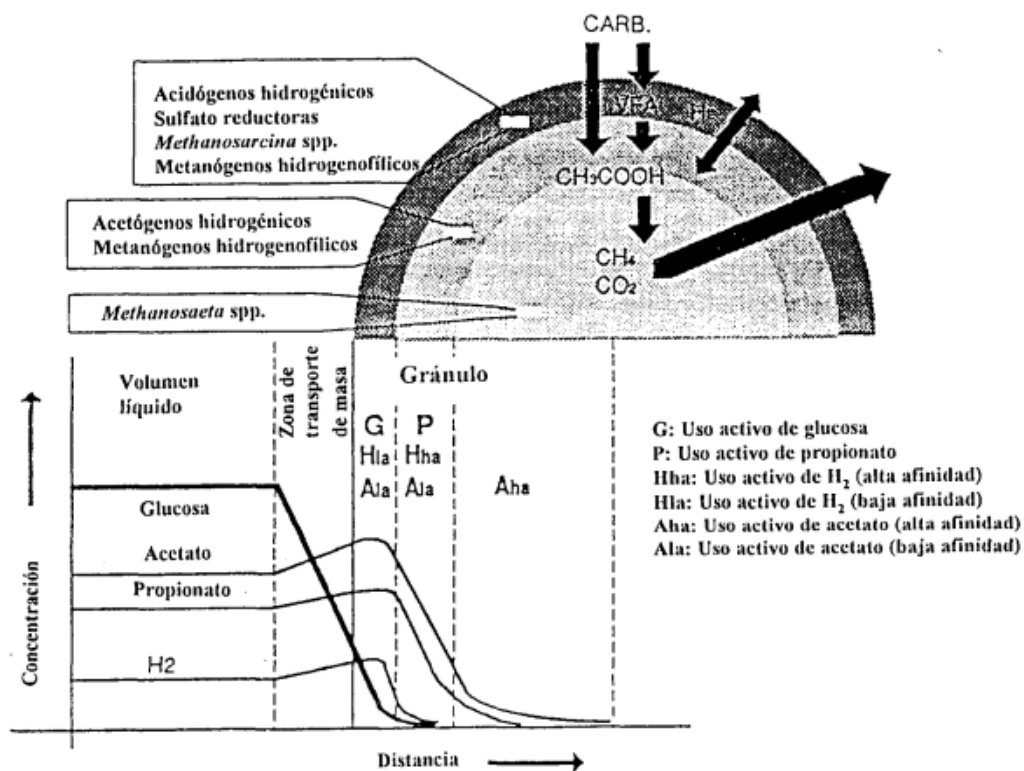


Figura 2-10. Estructura propuesta del arreglo de la población microbiana del gránulo de inóculo anaerobio (Guiot *et al.*, 1992)

2.4 Técnicas de disgregación del gránulo anaerobio

El rendimiento de la DA es generalmente evaluado en términos de eficiencia y estabilidad del proceso a través de la estimación de la remoción de materia orgánica, el nivel de ácidos grasos volátiles, la cantidad y composición del biogás producido. La resistencia a la transferencia de masa entre el sustrato y el inóculo es importante. Esta depende de la concentración del sustrato, la turbulencia en el fluido, la morfología del gránulo, el tamaño de los gránulos y de la actividad máxima específica de la biomasa (Dolfing, 1985; Hulshoff, 1989).

Tabla 2-4. Resumen de artículos relacionados con la desintegración del gránulo anaerobio

Artículo	Descripción
Efecto del ultrasonido en la actividad metanogénica de gránulos anaerobios (Kim, 2005).	Estudio sobre el efecto del tratamiento de inóculo anaerobio con ultrasonido a diferentes tiempos (5, 10 y 60 minutos) y a diferentes intensidades (50, 100 y 150 W). Los resultados demostraron que la producción de metano y la actividad de las arqueas metanogénicas pueden ser mejoradas, aunque, el tratamiento excesivo puede afectar la actividad metanogénica específica.
Metabolismo de Acetato e hidrogeno en gránulos disgregados y sin disgregar (Schmidt, 1991).	En este estudio se utilizaron 4 maneras de desintegrar el gránulo anaerobio: <i>vortex</i> , ultrasonido, batidora de inmersión y por aspiración con jeringas. Utilizando H ₂ /CO ₂ como sustrato, los gránulos pretratados mostraron mayor actividad metanogénica que los gránulos intactos. Al utilizar acetato como sustrato, el inóculo tratado con la batidora de inmersión y el aspirado con jeringas obtuvieron mayor actividad metanogénica. Demostrando la eficacia de la desintegración del gránulo para restar la limitación de la transferencia de masa en los gránulos.

Por lo tanto, investigadores han realizado numerosos estudios para mejorar etapa limitante de la DA (la hidrólisis). En particular, la disgregación del gránulo anaerobio como pretratamiento físico al inóculo.

Existen distintos pretratamientos físicos: baño ultrasónico, batidora de inmersión, ozonificación, por medio de un *vortex*, entre otros. En este trabajo de investigación utilizaremos la batidora de inmersión y el baño ultrasónico.

3. METODOLOGÍA

La metodología planteada está orientada a determinar el potencial bioquímico de metano y la influencia del inóculo granular y disgregado, utilizando diferentes tratamientos físicos, en la producción de metano, manejando como sustrato para la DA FORSU bajo condiciones húmeda y seca.

Para cumplir con los objetivos establecidos, la presente investigación requiere de una planeación de etapas metodológicas que consta de 4 etapas principales, como se muestra en la Figura 3-1, además del análisis en cada una de ellas. Las etapas principales son:

- Dos tratamientos físicos para la disgregación del gránulo que conforma al inóculo anaerobio.
- Caracterización de la FORSU, el inóculo granular y disgregado.
- Determinación del intervalo de tamaño de partícula presente en los diferentes inóculos tratados.
- Pruebas de potencial bioquímico de metano para la obtención de la actividad metanogénica específica en los diferentes inóculos tratados.

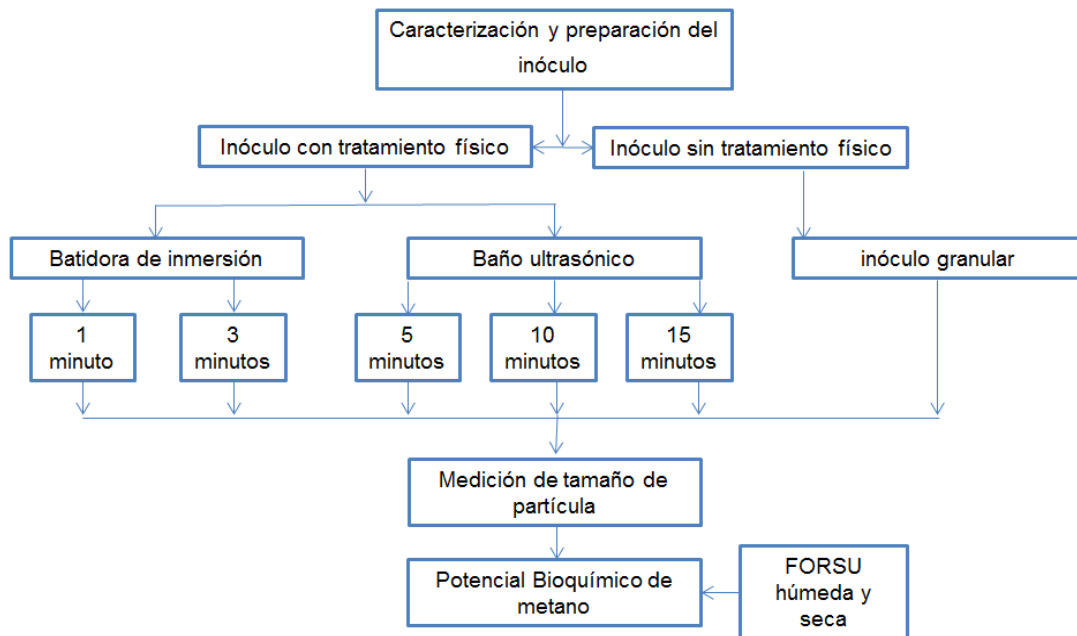


Figura 3-1. Esquema general de la metodología

3.1 Tratamientos físicos al inóculo

El inóculo que se utilizó en esta investigación provino de una planta cervecera ubicada en el Distrito Federal. Se le hicieron 3 lavados con la finalidad de eliminar el contenido de materia orgánica y/o nutrientes presentes en el medio con la finalidad de que estos no interfieran con la producción de metano, para este fin se utilizó una centrífuga (Heraeus Christ modelo Chryofuge 6-6) a 3000 rpm durante 30 minutos.

Se escogieron dos tratamientos físicos para la disgregación del inóculo con la finalidad de estudiar su influencia en la generación de metano: batidora de inmersión y baño ultrasónico (Figura 3-2). En ambos tratamientos se utilizaron 100 g de inóculo por cada prueba.

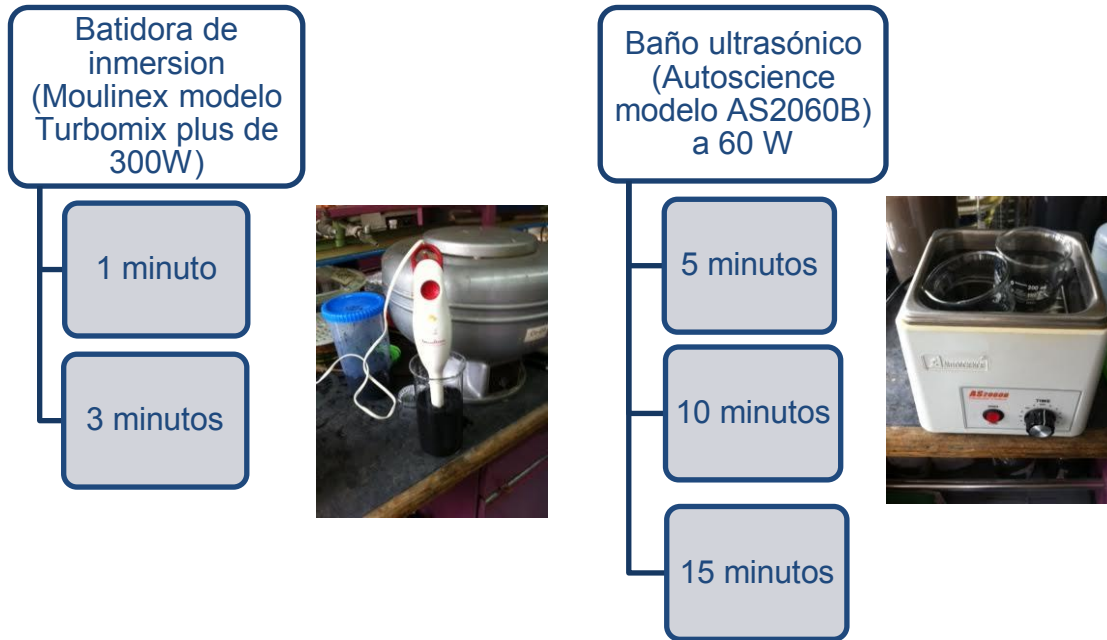


Figura 3-2. Tratamientos físicos al inóculo

3.2 Caracterización y preparación de las muestras

Para evaluar el efecto del tratamiento físico al inóculo es necesario comparar los valores iniciales y finales de parámetros físico-químicos de la FORSU y del inóculo anaerobio.

3.2.1 FORSU

La muestra de residuos sólidos orgánicos se obtuvo durante un muestreo previo en la estación de transferencia de la delegación Benito Juárez de la Ciudad de México (Junio, 2012). Para la caracterización de la muestra es necesario someterla a un tratamiento mecánico para reducir el tamaño de partícula y tener una muestra más homogénea. La muestra de FORSU se pasó por un molino SIEMENS (Tipo 1RF3 258-2YC44 de 2 CP).

Una vez concluida la trituration y homogeneización, los residuos se almacenaron en bolsas herméticas a una temperatura de -20°C (Figura 3-3).



Figura 3-3. Muestras de FORSU en bolsas herméticas y congeladas a -20 °C

Los microorganismos involucrados en la DA requieren de un sustrato que cuente con un balance adecuado de nutrientes, así como de la biodisponibilidad de los mismos, principalmente en lo que se refiere al carbono, nitrógeno y fósforo. En este sentido, es necesario conocer el potencial con el que cuenta la FORSU para ser sometida a un proceso biológico como la DA. Dicho potencial se puede determinar a partir de la caracterización de los residuos mostrados en la Figura 3-4.

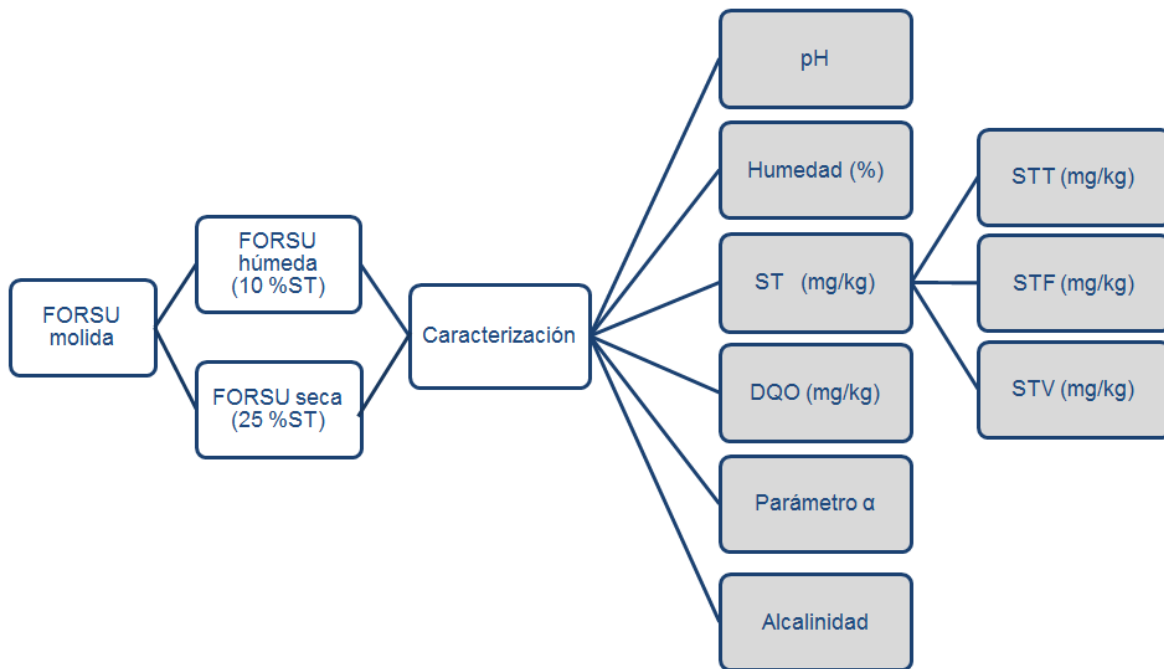


Figura 3-4. Caracterización de la FORSU

Para la caracterización de la FORSU, así como las pruebas de DA, se trabajó con FORSU a condiciones húmeda (FH) y a condiciones seca (FS).



Figura 3-5. Muestras de digestión húmeda 10% ST (izquierda) y digestión seca 25% ST (derecha)

3.2.2 Inóculo

Se caracterizó el inóculo granular anaerobio y los provenientes de los 2 tratamientos físicos realizados, en la Figura 3-6 se muestran los parámetros físico-químicos realizados.

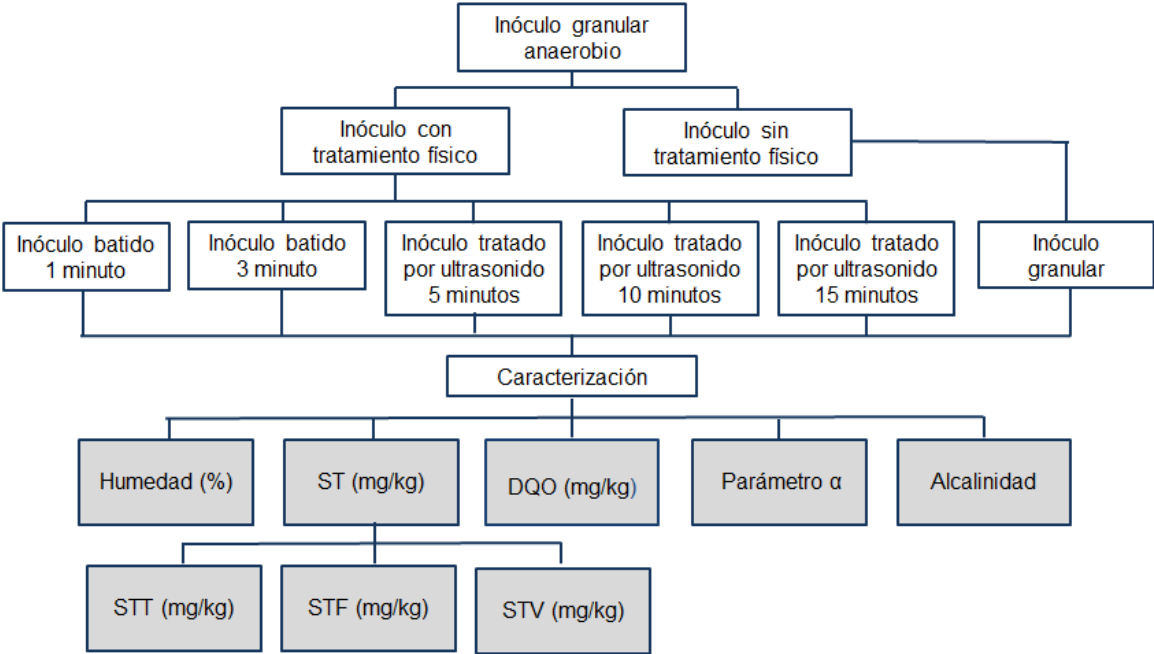


Figura 3-6. Caracterización del inóculo

Se tomaron fotos a cada inóculo para observar su morfología y comparar si existe alguna modificación con los tratamientos físicos aplicados, se utilizó un microscopio digital marca Zeiss Primo Star, una cámara acoplada Axio y el programa para computadora Snap 222 lite 2012 (Figura 3-7).

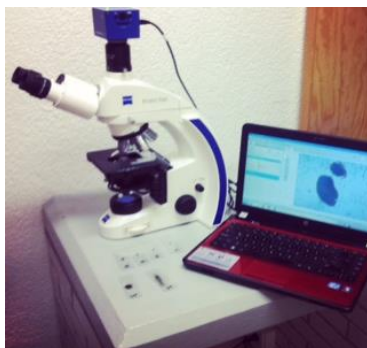


Figura 3-7. Microscopio digital

3.3 Determinación del tamaño de partícula

La medición del tamaño de partícula se realizó en la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación (USAI) de la Facultad de Química de la UNAM, por medio de la técnica de difracción láser con un analizador Mastersizer 2000, Malvern Instruments, equipado con un módulo de dispersión Hydro 2000MU de capacidad de 500 mL (Figura 3-8).



Figura 3-8. Analizador Mastersizer

El análisis por difracción láser, permite conocer la distribución de tamaño de partícula mediante el patrón de dispersión que se genera cuando una muestra interactúa con un haz láser. El sistema óptico integrado permite la medición de materiales en un solo paso desde 0.02 a 2000 micras, los resultados se expresan en forma gráfica y tabular, empleando diámetros promedio y el área específica particular. Se analizaron por triplicado las muestras de inóculo granular, batido (1 y 3 minutos) y el inóculo tratado por ultrasonido (5,10 y 15 minutos).

3.4 Potencial Bioquímico de metano

La técnica de potencial bioquímico de metano (PBM) está diseñada para determinar el grado de biodegradabilidad de los residuos sólidos orgánicos a metano. Ésta se realizó como parte de la caracterización de los residuos orgánicos a ser degradados mediante el proceso de DA, siendo el principal objetivo determinar el potencial de generación de metano en unidades de volumen de gas por unidad de masa de residuos en términos de sólidos volátiles (SV) (Hansen *et al*, 2004) así como las tasas de degradación de los residuos orgánicos (Owens y Chynoweth, 1993).

Para esta etapa se utilizó el equipo AMPTS (Automatic Methane Potential Test System de la compañía Bioprocess Control de Suecia) II que cuenta con quince reactores de incubación (herméticos), trampa para CO₂ y H₂S, dispositivo de cuantificación de biogás y un sistema para el registro de datos (Figura 3-10).

En la Tabla A-1 del Anexo 1, se muestran las cantidades de SV agregadas en los reactores, en todos se mantuvo una relación SVinóculo/SVsustrato 2:1; condiciones mesofílicas para el proceso de metanización (temperatura de 35°C), el pH de la FORSU se ajustó agregando Na₂CO₃ como sal amortiguadora.

Para asegurar una atmósfera libre de O₂ en los reactores, se les inyectó N₂ por 2 minutos (Pabón *et al*, 2012) (Figura 3-9).



a) b)
Figura 3-9. (a) Reactores con FORSU, (b) Reactor conectado al tanque de N₂ para crear atmosfera anaerobia

De acuerdo a lo mencionado en el capítulo 2.2.4, con los resultados de la caracterización y el PBM, se obtuvieron los valores de la AME para cada inóculo utilizado.



Figura 3-10. Equipo AMPTS II para la determinación de potencial de metano

3.5 Métodos analíticos

Las técnicas analíticas para analizar las muestras generadas durante el desarrollo de este trabajo se muestran en la Tabla 3-1.

Tabla 3-1. Técnicas analíticas

Determinación	Método estándar	Técnica
Sólidos totales	APHA 2540-B	Gravimetría. Sólidos secados a una temperatura de 105 °C
Sólidos volátiles y fijos	APHA 2540-E	Gravimetría. Sólidos previamente secados a una temperatura de 105 °C e incinerados a 550 °C
pH	APHA 4500 H-B	Medición directa con potenciómetro
Humedad	APHA 4500 H-B	Gravimetría. Se obtiene por diferencia entre la masa inicial y los sólidos totales determinados
Demanda química de oxígeno	APHA 5220-D	Fotometría. Digestión por reflujo cerrado a 150°C con reactivos preparados. Lectura a 600 nanómetros (nm)

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este capítulo se interpretan los resultados obtenidos en la fase experimental. Los resultados permiten comparar las eficiencias de los diferentes tratamientos. Lo que permite determinar las condiciones (tratamiento físico al inóculo, digestión húmeda o seca) que favorecen la producción de metano.

4.1 Caracterización de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos

Para la caracterización de la FORSU se utilizaron los métodos estándar mencionados en el capítulo 3. Los resultados se muestran en la Tabla 4-1. Los cuales se llevaron a unidades de masa por masa de residuos mediante un balance de masas.

Para realizar las pruebas de DA húmeda se diluyeron 395 g de FORSU en un litro de agua destilada para así obtener el sustrato a 10 %ST. Para las pruebas de DA seca no fue necesario agregar agua destilada, debido a que los ST de la FORSU se encontraban en 25%.

La FORSU con base húmeda (FH) presenta un valor del 89.99 % de humedad, siendo el porcentaje restante de sólidos totales, de los cuales el 79.295 % corresponde a los sólidos volátiles (SV) y el 20.81 % a los sólidos fijos (SF). La determinación de los SV y SF es importante porque representan una aproximación del contenido de materia orgánica e inorgánica, respectivamente (Metcalf y Eddy, 2003). En cambio, la FORSU con base seca (FS) presenta el 74.90 % de humedad, 25.01 % de ST, de los cuales el 73.8 % corresponden a SV y el 26.2 % a los SF.

La determinación de la demanda química de oxígeno (DQO) es un parámetro importante debido a que representa una aproximación de la cantidad de materia orgánica necesaria para el crecimiento de los microorganismos (Grady *et al*, 1999), a partir del oxígeno equivalente requerido para su oxidación. Además, dentro de los procesos anaerobios de degradación, la DQO junto con los SV representan los parámetros sobre los que se referencia la producción de biogás y metano (Grady *et al*, 1999; Hartmann y Ahring, 2006; González-Fernández *et al*, 2008). La FH tiene una DQO de 238,000 mgO₂/L de muestra y la FS 200,717 mg O₂/ L de muestra.

En el capítulo 3 se menciona el ajuste de pH que se hizo a la FORSU con Na₂CO₃, el pH inicial de ambas muestras fue de 5.25, al agregar Na₂CO₃, el pH final registrado fue de 7.3 para la FH y 7.6 para la FS.

Tabla 4-1. Resultados de la caracterización de la FORSU

Muestra	% Humedad	ST [mg/kg]	SF [mg/kg]	SV [mg/kg]	pH	DQO [mgO ₂ /L]
FORSU Benito Juárez con base húmeda	89.99	100,10	20,80	79,29	7.3	238,00
FORSU Benito Juárez con base seca	74.98	250,15	65,59	184,55	7.6	200,71

4.2 Tratamientos físicos al inóculo

De acuerdo con la metodología, se realizaron 2 tratamientos al inóculo anaerobio: por medio de una batidora de inmersión y por baño ultrasónico. Con la batidora de inmersión se trabajó a dos tiempos (1 y 3 minutos), ambos con 100 g de inóculo y sin agregar agua extra. Con el baño ultrasónico las muestras se sometieron a diferentes tiempos (5, 10 y 15 minutos) a la misma intensidad (60 W) (Figura 4-1).



Figura 4-1. Resultados de pruebas de tratamientos físicos al inóculo

4.3 Caracterización de los inóculos tratados

Para el montaje de la prubea del PBM es importante conocer los valores fisico-químicos iniciales del inóculo, en la Tabla 4-2 se muestran los resultados de la caracterización del inóculo. Se observa que las muestras tienen en promedio: 90% de humedad, 92 g de ST/kg de muestra, 20 g de SF/kg de muestra, 71 g SV/kg de muestra y 7.5 de pH.

4.4 Determinación del tamaño de partícula de los inóculos tratados

Como se mencionó en el capítulo 3, una forma de corroborar los efectos físicos que sufrió el gránulo de inóculo anaerobio después de los tratamientos realizados, fue por medio del análisis de tamaño de partícula. El equipo hace pasar alrededor de 500 mL del inóculo granular o tratado por un haz láser, el cual puede medir de 0.02 a 2000 micras.

Tabla 4-2. Resultados de la caracterización del inóculo

Muestra	% Humedad	ST [mg/kg]	SF [mg/kg]	SV [mg/kg]	pH
Inóculo granular	91.10	89.03	17.92	71.10	7.5
Inóculo batido 1 minuto	90.58	94.19	13.99	80.20	7.5
Inóculo batido 3 minuto	89.95	100.54	26.82	73.72	7.5
Inóculo tratado por ultrasonido por 5 minutos	90.91	90.85	18.86	71.99	7.5
Inóculo tratado por ultrasonido por 10 minutos	90.87	91.33	19.60	71.72	7.5
Inóculo tratado por ultrasonido por 15 minutos	91.36	86.42	23.45	62.97	7.5

En la Tabla 4-3, se muestran los promedios de los resultados con mayor porcentaje de volumen de las partículas analizadas en cada muestra de inóculo tratado. El inóculo granular tuvo el 10.6% de volumen con un tamaño de partícula promedio de 831.76 μm , el inóculo batido fue el que presentó mayor disgregación en el gránulo al obtener el 9.57% de volumen con 30.20 μm , lo cual era de esperarse por mantener más tiempo encendida la batidora. Los tratamientos con ultrasonido no provocaron un cambio significativo en la disgregación del gránulo; el que mayor cambio en el tamaño de partícula presentó fue el que se sometió a tratamiento durante diez minutos, presentando apenas un cambio del 0.75% con respecto al inóculo granular.

En los tratamientos realizados por ultrasonido, el tratamiento afecta a la biopelícula (material extracelular) mostrando una ligera disminución en su grosor y por consecuencia deja al gránulo más expuesto al medio en el que se encuentre. En comparación, los tratamientos en los que se utilizó la batidora de inmersión, la acción del tratamiento modifica la morfología del gránulo rompiendo el consorcio de microorganismos y en consecuencia, dejándolos más expuestos al medio en el

que se encuentren. Se ha demostrado que la resistencia a la transferencia de masa es significativa para los gránulos cuando la biopelícula es gruesa (Dolfing, 1985).

Tabla 4-3. Mayor volumen por tamaño de partícula en cada muestra

Muestra	Tamaño de partícula (μm)	Volumen (%)
Inóculo granular	831.76	10.6
Inóculo batido 1 minuto	39.81	6.11
Inóculo batido 3 minuto	30.20	9.57
Inóculo tratado por ultrasonido por 5 minutos	831.76	10.43
Inóculo tratado por ultrasonido por 10 minutos	831.76	9.85
Inóculo tratado por ultrasonido por 15 minutos	831.76	10.1

El diámetro de los gránulos puede variar de 0.1 a 9 mm (Hickey *et al.*, 1991). La cama de inóculo de un reactor UASB normalmente no está constituida por gránulos uniformes, sino que presenta una distribución muy amplia de gránulos de diferentes tamaños. Las distribuciones obtenidas en otros estudios muestran generalmente que el número de gránulos disminuye a medida que aumenta el diámetro, es decir que los gránulos pequeños (< 0.5 mm) son los más numerosos (Grotenhuis *et al.*, 1991; Pereboom, 1994).

Para reactores UASB, el diámetro promedio se sitúa en la mayoría de los casos entre 0.2-1.15 mm cuando está basado en el número de gránulos y entre 0.5-2.2 mm cuando está calculado a partir de la masa (Dubourguier *et al.*, 1988; Hulshoff-Pol, 1989; Grotenhuis *et al.*, 1991; Pereboom, 1994; Chang *et al.*, 1995). En este estudio el inóculo granular anaerobio registró un diámetro promedio de 0.831 mm.

El inóculo granular y los disgregados, fueron analizados cada uno por triplicado. En la Figura 4-2, se muestra la distribución promedio completa obtenida del volumen analizado (500 mL).

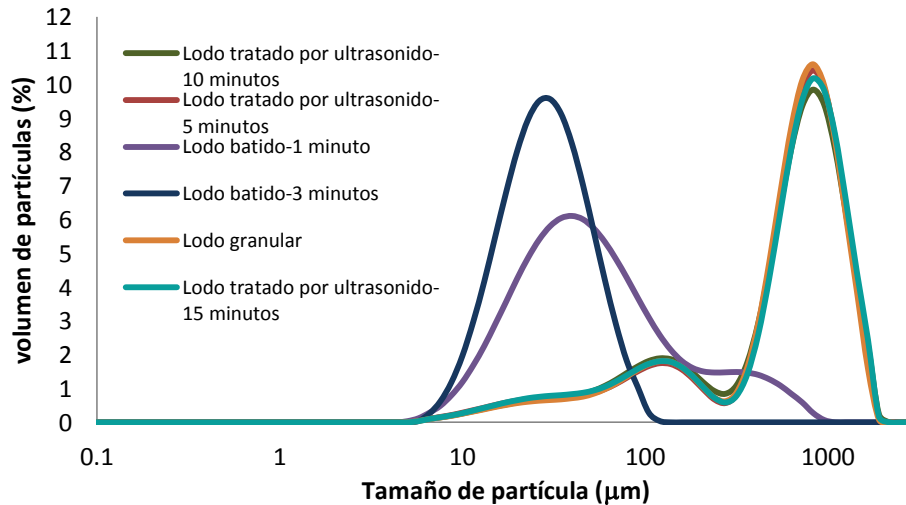


Figura 4-2. Distribución promedio de tamaños de partícula de las distintas muestras de inóculos

Posteriormente, con el microscopio digital, se tomaron fotos de las muestras para observar los resultados de los tratamientos físicos realizados y compararlos con el inóculo granular. En la Figura 4-3 se presentan algunos gránulos de inóculo anaerobio, sin tratar, en los que se puede observar la biopelícula que envuelve al gránulo.

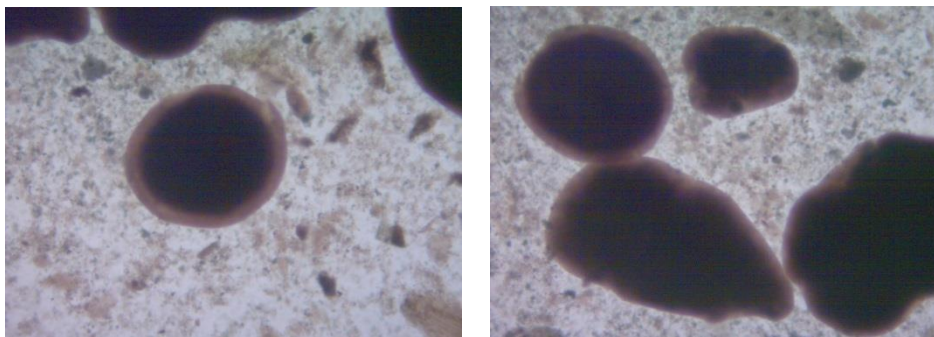
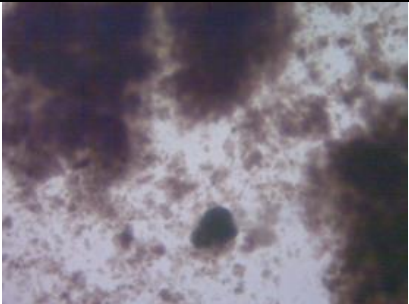
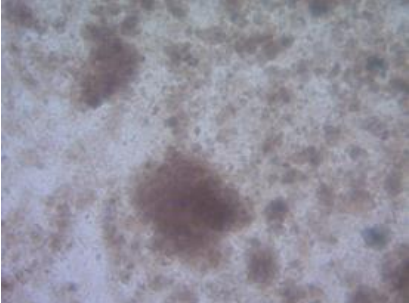
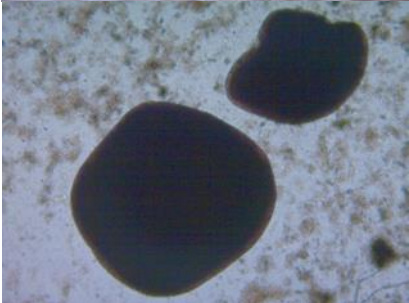
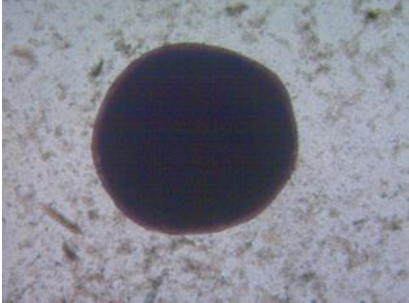
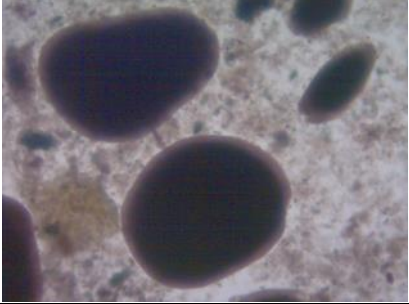


Figura 4-3. Gránulos de inóculo anaerobio observados al microscopio.

En la Tabla 4-4 se muestran las imágenes observadas al microscopio después de haber realizado los diferentes tratamientos al inóculo.

Tabla 4-4. Imágenes del inóculo anaerobio después del tratamiento

Tratamiento	Imagen
Inóculo batido 1 minuto	
Inóculo batido 3 minutos	
Inóculo tratado por ultrasonido 5 minutos	
Inóculo tratado por ultrasonido 10 minutos	
Inóculo tratado por ultrasonido 15 minutos	

4.5 Prueba de potencial bioquímico de metano

Se realizaron pruebas del potencial bioquímico de metano (PBM) para determinar la influencia del inóculo granular y disgregado en la DA de la FORSU a condiciones húmedas y secas.

Las pruebas consistieron en inocular, en una relación inóculo:sustrato 2:1 gSV, una mezcla de inóculo anaerobio con FORSU, completando un volumen de 300 mL en el reactor, bajo una temperatura en condiciones mesofílicas (35 °C) y con agitación constante. Para mantener condiciones anaerobias, el oxígeno de los reactores fue desplazado mediante adición de nitrógeno, y finalmente, la producción de biogás fue contabilizada mediante un software. La prueba tuvo una duración de 17 días ya que en este tiempo se dio una producción prácticamente constante (Figura 4-5).

En la Figura 4-4 se muestra la producción neta de metano de la FORSU a condiciones húmedas y secas utilizando los distintos inóculos tratados. Al comparar la producción neta de metano de la FORSU a condiciones húmedas y a condiciones secas de los distintos tratamientos, a excepción del inóculo tratado por ultrasonido a 15 minutos, todos muestran un aumento en la producción de metano a condiciones secas, los inóculos batidos por un minuto muestra un aumento del 7%, el inóculo batido por tres minutos del 6%, el inóculo granular (sin tratamiento) del 20%, el inóculo tratado por ultrasonido (5 minutos) del 29%, el inóculo tratado por ultrasonido (10 minutos) del 39%, todos con respecto a los mismos tratamientos pero a condiciones húmedas.

En los últimos años, en Europa, la capacidad de los procesos de digestión anaerobia seca alcanza el 54% del total de los procesos para el tratamiento de los residuos sólidos (De Baere, 2005). La ventaja de la alimentación con alto contenido de sólidos es que se pueden aplicar tasas de carga orgánica superiores a 10 kgSV/m³ d. Las principales ventajas que presenta la digestión seca son los

bajos requerimientos de agua para la dilución del residuo, menores requerimientos para la deshidratación del residuo final y mayor producción de biogás por unidad de volumen del reactor (Forster, 2005).

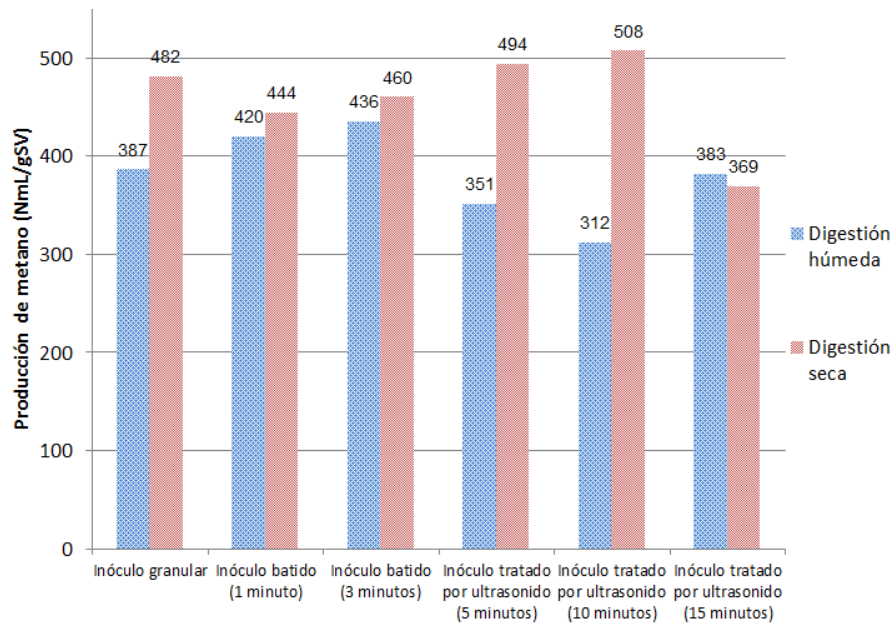


Figura 4-4. Producción neta de metano de la FORSU a condición húmeda o seca utilizando inóculo granular o disgregado

En la Figura 4-5 se muestra la gráfica del potencial de producción de metano de la FORSU por gramos de SV utilizando los distintos inóculos tratados.

En la DA de la FH (10 %ST) el inóculo tratado con la batidora de inmersión mostró la mayor producción de metano, el inóculo batido por tres minutos mostró un aumento en la producción de metano del 12.66 %, el inóculo batido por un minuto tuvo un aumento del 8.62 %, ambos con respecto a la producción de metano del inóculo granular que fue de 386.82 NmL/gSV. Schmidt (1991) realizó un estudio en donde comparó diversos tratamientos al inóculo como la batidora de inmersión, baño ultrasónico, *vortex* y jeringas, utilizando sustratos ideales (hidrógeno y acetato), obtuvo mejor actividad metanogénica con la batidora de inmersión utilizando H₂/CO₂ como sustrato, concluyendo que la disgregación del gránulo anaerobio aumenta la transferencia de masa.

En cambio, la DA de la FS (25% ST), los inóculos tratados con baño ultrasónico mostraron los mejores resultados, a excepción del realizado por 15 minutos. El inóculo tratado por baño ultrasónico durante 10 minutos mostró un aumento en la producción del 5.4% y el tratado por 5 minutos tuvo un aumento del 2.52%, ambos con respecto a la producción de metano del inóculo granular que fue de 481.85 NmL/gSV.

Kim (2005) realizó un estudio sobre el efecto del ultrasonido sobre los gránulos anaerobios, en el cual concluye que este tratamiento causa un aumento en los carbohidratos solubles a través de la desintegración de la materia insoluble y de los gránulos de inóculo anaerobio por lo que al aumentar este compuesto intermedio para la hidrólisis provoca que se incremente rápidamente la actividad metanogénica. El estudio obtiene un incremento de 1.9 a 6 veces la concentración de carbohidratos en tratamientos de 10 minutos y 5 minutos, también señala que tratamientos más largos reducen la actividad metanogénica en un 15 a 24 %. En el presente estudio la producción de metano se redujo en un 23.3 % para la prueba tratada con ultrasonido por 15 minutos.

En la Figura 4-6 se muestra el flujo de metano producido por día, en general, en el primer día las pruebas alcanzaron la mayor producción, obteniendo producciones más altas las muestras bajo condiciones húmedas, el mayor flujo lo tiene el inóculo batido por 1 minuto a condiciones húmedas produciendo 153.3 NmL/d, representando el 8.5% mayor producción que el inóculo granular bajo las mismas condiciones, después del primer día los flujos disminuyen significativamente, aunque la producción de metano decrece con menor rapidez en los reactores bajo condiciones secas.

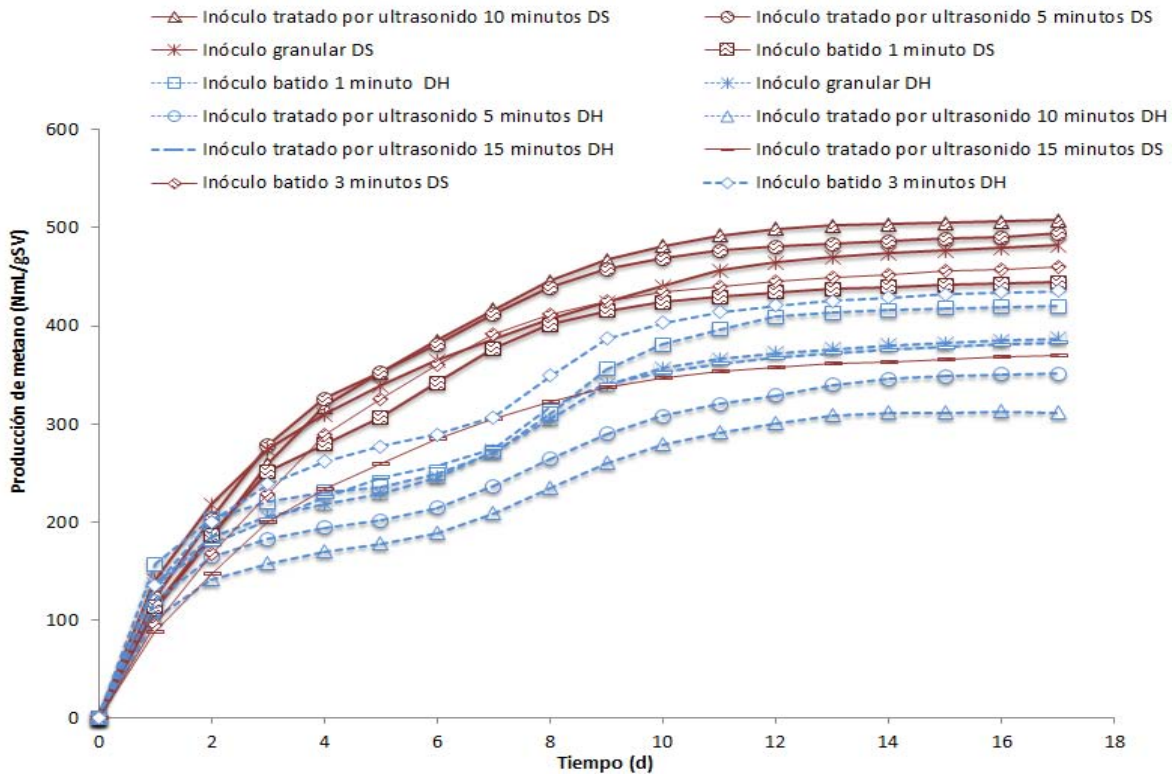


Figura 4-5. Potencial de producción de metano de la FORSU por gramo de SV utilizando inóculo granular y disgregado

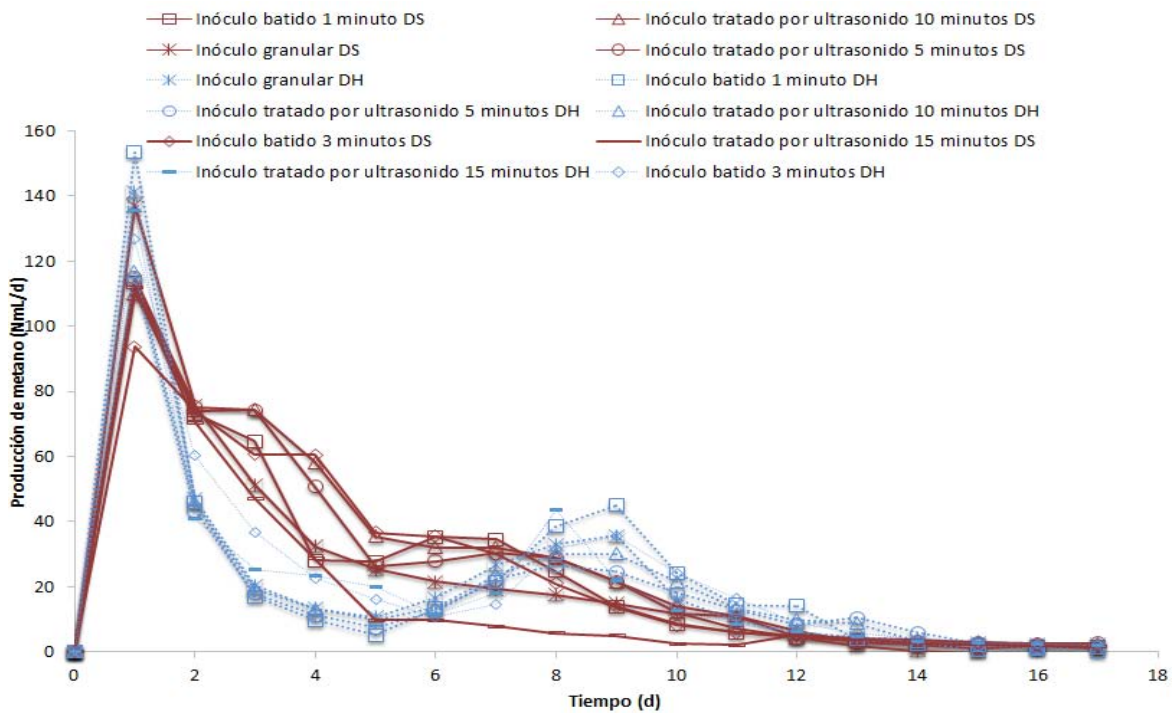


Figura 4-6. Flujo de metano por día

Como se vio en el capítulo 2.2, el desempeño de la DA depende del control riguroso de algunos factores como temperatura, nutrientes, agentes inhibitorios, pH, alcalinidad y ácidos grasos volátiles (AGV), los cuales afectan principalmente a las arqueas metanogénicas por ser las más sensibles (Pérez, 2008). En los procesos anaerobios, los dos principales factores que afectan el pH son el ácido carbónico y los AGV. El pH y la capacidad tampón en un sistema anaerobio son completamente dependientes del equilibrio entre el gas carbónico (CO_2) y el ion bicarbonato que regula la concentración del ion hidrógeno (Rittmann *et al.*, 2001).

El pH inicial de los reactores a condiciones húmedas fue de 7.3 (ajustado con Na_2CO_3) y el pH final de estos reactores finalizó con un promedio de 8.0, el pH inicial de los reactores a condiciones secas fue de 7.5 y pH final promedio de 7.8.

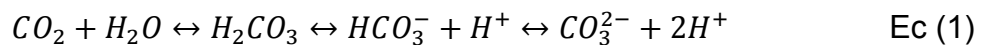
La medición de la relación entre la alcalinidad debida a los AGV y a la alcalinidad total es usualmente empleada para el control del proceso anaerobio (Speece, 1996) y se conoce como el índice tampón; su adecuada variación está en el intervalo de 0.20-0.40, lo que indica que por lo menos el 60 % de la alcalinidad total del sistema tiene que estar en forma de alcalinidad bicarbonática (Rozzi, 1986). Los valores de índice tampón obtenidos se muestran en la Tabla 4-4, todos los valores oscilan entre 0.57.

Los valores típicos de alcalinidad total se encuentran dentro del intervalo de 2,000 a 4,000 mgCaCO_3/L , los valores de alcalinidad obtenidos están en el intervalo de 1,032-1,382 mgCaCO_3/L presentando valores menores a los recomendados. Los valores de alcalinidad total y el índice tampón obtenidos en los reactores indican principios de acidificación.

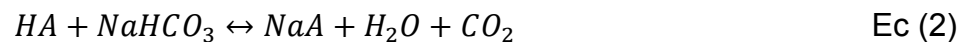
El incremento de los AGV es amortiguado inicialmente por la alcalinidad del sistema. Esto causa que no se registre un cambio en el valor del pH, ya que esta variable sólo cambia cuando la alcalinidad es agotada (Mata-Alvarez, 2003).

También se puede dar una acidificación por la introducción de sustancias tóxicas al sistema (Gerardi, 2003).

La acidificación de los sistemas anaerobios es evitada por el sistema amortiguador dióxido de carbono/bicarbonato/carbonato. El dióxido de carbono es formado de manera continua en los sistemas anaerobios. Cuando hay una caída en el pH, el CO₂ se disuelve en el sustrato. Cuando se presenta una elevación en el pH el CO₂ forma ácido carbónico, el cual se ioniza liberando iones hidronio de acuerdo con la ecuación 1 (Deublein y Steinhauser, 2008).



La inestabilidad del proceso puede estar relacionada con una sobrecarga orgánica, presencia de agentes inhibidores o tóxicos en la FORSU o variación de la temperatura. En cualquier caso, ocurre que la producción de los ácidos orgánicos en el reactor se hace superior al consumo de los mismos y en consecuencia, aumenta la concentración de ácidos volátiles y disminuye la de bicarbonatos, que se descomponen en CO₂, con la respectiva formación de sales de ácidos volátiles como lo muestra la ecuación 2, donde HA representa un ácido genérico que se disocia en H⁺ y A⁻ (Rozzi, 1986).



Otro índice empleado para el control de la capacidad tampón del sistema es el índice α , el cual corresponde a la relación entre la alcalinidad bicarbonática y la alcalinidad total, recomendándose valores de este índice superiores a 0.5 durante el arranque, y alcanzándose condiciones estables en el sistema con valores de 0.7 (Jenkins *et al.*, 1983). En la Tabla 4-4 se muestran los resultados del índice α , alcanzando valores que van de 7.0 a 7.9.

Tabla 4-4. Resultados de alcalinidad, pH, índice tampón y parámetro α

Digestión	Muestra	pH inicial	pH final	Alcalinidad (mg CaCO ₃ /L)	Índice α	Índice tampón
Digestión Húmeda	Inóculo granular	7.3	8.0	1,032	0.78	0.56
	Inóculo tratado por ultrasonido 5 minutos	7.3	8.0	1,110	0.79	0.55
	Inóculo tratado por ultrasonido 10 minutos	7.3	8.1	1,172	0.78	0.56
	Inóculo tratado por ultrasonido 15 minutos	7.3	7.8	1,210	0.74	0.57
	Inóculo batido 1 minuto	7.3	8.1	1,270	0.78	0.56
	Inóculo batido 3 minutos	7.3	7.8	1,324	0.77	0.56
	Digestión seca	Inóculo granular	7.5	7.8	1,232	0.71
Inóculo tratado por ultrasonido 5 minutos		7.5	7.8	1,288	0.70	0.59
Inóculo tratado por ultrasonido 10 minutos		7.5	7.8	1,382	0.72	0.58
Inóculo tratado por ultrasonido 15 minutos		7.5	7.7	1,038	0.74	0.57
Inóculo batido 1 minuto		7.5	7.7	1,190	0.76	0.57
Inóculo batido 3 minutos		7.5	7.7	1,170	0.75	0.56

Con base a la figura 4-7 se observa que el tratamiento bajo el cual se logra mayor arrastre de materia orgánica biodegradables es, para condiciones húmedas, el inóculo batido por un minuto con 63.5 % de la DQO removido, seguido por el inóculo granular con 61.7 %, inóculo tratado por ultrasonido durante 15 minutos con 61.2 %, inóculo batido por 3 minutos con 58.6 %, inóculo tratado por ultrasonido por 5 minutos con 53.5 % y el tratamiento que presentó menor remoción de DQO fue el inóculo tratado con ultrasonido por 10 minutos con 46 %.

Para condiciones secas, el inóculo granular presentó mayor disminución de la DQO al remover el 87.4 %, seguido del inóculo tratado con ultrasonido por 5 minutos con 83.8 %, el inóculo tratado con ultrasonido por 10 minutos con 77.5 %, el inóculo tratado con ultrasonido por 15 minutos con 62.9 %, el inóculo batido por

1 minuto con 56.8 % y el tratamiento que mostró menor remoción de la DQO fue el inóculo batido por 3 minutos con 52.8 %.

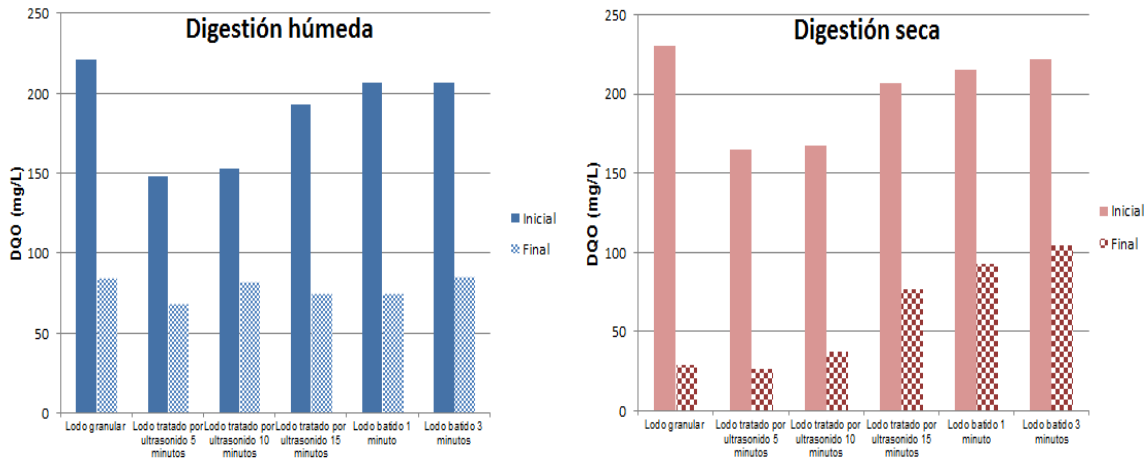


Figura 4-7. DQO inicial y final de la DA bajo condiciones húmedas y secas

4.6 Resultados de la AME y factor de efectividad

Como se mencionó en la sección 3.5, la Actividad Metanogénica Específica (AME) permite cuantificar la máxima capacidad de producción de metano por el grupo de microorganismos presente en inóculos anaerobios. La AME, además de ser usada para el monitoreo de la calidad del inóculo en reactores anaerobios, es una herramienta que evalúa el comportamiento de la biomasa contaminada y determina la carga orgánica máxima que puede aplicarse a un sistema, con el fin de examinar la degradabilidad de los sustratos y la posibilidad de selección de inóculos.

En la Tabla 4-5 se muestran los resultados de la AME, en la digestión húmeda, el inóculo granular registró un valor de 0.241 (g DQO/g SV*d), a pesar de los inicios de acidificación que se presentó en las pruebas de PBM, todos los pretratamientos resultaron en valores de AME superiores a los del inóculo granular, el inóculo batido por un minuto obtuvo el valor más bajo que fue de 0.242 (apenas superior al del inóculo granular), el valor más alto de AME lo obtuvo el inóculo tratado por ultrasonido por 15 minutos con una valor de 0.592. En cambio, en la digestión a condiciones secas, el inóculo granular presentó un valor de AME de 0.181, los tratamientos baño ultrasónico presentaron valores superiores, siendo el más alto

el inóculo tratado con ultrasonido por 10 minutos. Los inóculos batidos presentaron valores de AME menores a los del inóculo granular, siendo el inóculo batido por 1 minuto el valor más bajo de la prueba con 0.177.

El factor de efectividad (η) es útil para la descripción de los cambios en la conversión de sustrato utilizando inóculos granulares y desintegrados, cuando $\eta = 1$, no se presenta resistencia a la transferencia de masa en el gránulo. Si $\eta > 1$, se presenta transferencia de masa en el gránulo y cuando $\eta < 1$, los microorganismos fueron dañados por la desintegración. En la Tabla 4-5 se muestran los resultados del factor de efectividad de todas las pruebas. En la digestión húmeda, todos los tratamientos resultaron con valores superiores a 1.0. En la digestión seca, los valores menores a 1.0 fueron obtenidos por los inóculos batidos, demostrando que los microorganismos pudieron haber sido dañados por la acción del tratamiento y afectando la AME. Los tratamientos con baño ultrasonido resultaron con valores superiores a 1.0.

Tabla 4-5. Resultados de la actividad metanogénica específica y factor de efectividad

Digestión	Muestra	AME (g DQO/g SV*d)	η
Digestión húmeda	Inóculo granular	0.241	1.000
	Inóculo batido 1 minuto	0.242	1.002
	Inóculo batido 3 minutos	0.268	1.113
	Inóculo tratado por ultrasonido 5 minutos	0.441	1.829
	Inóculo tratado por ultrasonido 10 minutos	0.494	2.049
	Inóculo tratado por ultrasonido 15 minutos	0.592	2.456
Digestión seca	Inóculo granular	0.181	1.000
	Inóculo batido 1 minuto	0.177	0.979
	Inóculo batido 3 minutos	0.180	0.998
	Inóculo tratado por ultrasonido 5 minutos	0.403	2.224
	Inóculo tratado por ultrasonido 10 minutos	0.461	2.545
	Inóculo tratado por ultrasonido 15 minutos	0.436	2.407

CONCLUSIONES

La FORSU al 10% de ST contiene un 79% de materia orgánica susceptible de degradación biológica por medio de digestión anaerobia. En cambio, la FORSU seca al 25% de ST disminuye en un 5% esta materia orgánica. La FORSU, en general, presenta un valor en el pH de 5.25, por lo cual fue necesario de un ajuste. En inóculo anaerobio cuenta con un 77% con respecto a sus ST.

Se realizó la disgregación de gránulos anaerobios utilizando dos tratamientos físicos: el tratamiento por ultrasonido y el tratamiento por batido. Respecto a los tamaños de partícula generados, se obtuvo una mayor reducción en el siguiente orden: inóculo batido 3 minutos (30.2 μm), inóculo batido 1 minuto (39.81 μm) y enseguida los otros inóculos tratados 831.76 μm (inóculo tratado por ultrasonido durante 10 minutos, inóculo tratado por ultrasonido durante 15 minutos, inóculo tratado por ultrasonido durante 5 minutos).

En cuanto a la producción neta de metano, la FORSU a condiciones secas muestra mayor producción de metano que a condiciones húmedas, estos incrementos van de 6% (inóculo batido por tres minutos) hasta 39% (inóculo tratado por ultrasonido 10 minutos).

Se observó que la mayor producción de metano se obtuvo al primer día, siendo el inóculo batido a condiciones húmedas por 1 minuto el que alcanza el mayor valor de la prueba. Esto puede ser que debido a las condiciones húmedas de la FORSU facilite la transferencia de masa en el día uno, mientras que a condiciones secas la difusión sea más lenta.

Para condiciones húmedas, el inóculo batido por un minuto con 63.5% de la DQO removido, seguido por el inóculo granular con 61.7%, inóculo tratado por ultrasonido durante 15 minutos con 61.2%, inóculo batido por 3 minutos con 58.6%, inóculo tratado por ultrasonido por 5 minutos con 53.5% y el tratamiento que presentó menor remoción de DQO fue el inóculo tratado con ultrasonido por 10 minutos con 46%. Para condiciones secas, el inóculo granular presentó mayor disminución de la DQO al remover el 87.4%, seguido del inóculo tratado con ultrasonido por 5 minutos con 83.8%, el inóculo tratado con ultrasonido por 10 minutos con 77.5%, el inóculo tratado con ultrasonido por 15 minutos con 62.9%, el inóculo batido por 1 minuto con 56.8% y el tratamiento que mostró menor remoción de la DQO fue el inóculo batido por 3 minutos con 52.8%.

La Actividad Metanogénica Específica (AME) permitió cuantificar la máxima capacidad de producción de metano en los inóculos anaerobios; el tratamiento que mejores valores obtuvo, para la digestión húmeda, fue el inóculo tratado por ultrasonido durante 15 minutos con un valor de 0.592 (g DQO/g SV*d) presentando un aumento del 59.30% y un valor de efectividad de 2.456. Los inóculos batidos a estas condiciones presentaron apenas un ligero aumento en la AME. Sin embargo, estos resultados no se reflejan en la producción específica de

metano ya que este valor toma en cuenta la remoción de DQO, SV del inóculo y a la máxima pendiente de la producción metano.

En la digestión seca, se obtuvieron resultados similares, los inóculos tratados por ultrasonido obtuvieron los valores mayores de AME y η ; el inóculo tratado por ultrasonido durante 10 minutos obtuvo la mayor AME con 0.461 (g DQO/g STV*d) siendo un 60.74 % más que el inóculo granular a las mismas condiciones y η de 2.545. Los inóculos batidos presentaron una ligera disminución en la AME, obteniendo valores en η de 0.979 para el inóculo batido por 1 minuto y 0.998 para el batido durante 3 minutos lo que se puede deber a una posible afectación a los microorganismos por la acción de la batidora.

El mejor tratamiento físico para la disgregación de inóculo anaerobio, fue el realizado por ultrasonido a 5 y 10 minutos, el cual propició un aumento de metano durante la digestión anaerobia seca del 1 al 3% con respecto al inóculo granular sin tratamiento. Para la digestión anaerobia húmeda, el mejor tratamiento físico para la disgregación de inóculo anaerobio, fue el realizado por la batidora a 1 y 3 minutos, el cual propició un aumento de metano durante la digestión anaerobia seca del 5 al 10% con respecto al inóculo granular sin tratamiento.

REFERENCIAS

- Arcand, Y., Chavarie, C. and Guiot, S.R. (1994). Dynamic modelling of the population distribution in the anaerobic granular biofilm. *Water Science Technology*. 30(12): 63-73.
- Argüelles-Castillo, J.A. (2005). Estudio de la hidrólisis enzimática en la fracción orgánica de residuos sólidos urbanos mediante la digestión anaerobia. Tesis de maestría. Escuela de Ingeniería Química. Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga, Colombia.
- Bagi, Z., Ács, N., Bálint, B., Harváth, L., Dobó, K., Perei, K.R. (2007). Biotechnological intensification of biogas production. *Applied Microbial Biotechnology*. 76 (8) 473-482.
- Boone, D.R. and Xun, L. (1987). Effects of pH, temperature, and nutrients on propionate degradation by methanogenic enrichment culture. *Applied and environmental microbiology*, 53(3)1589-1592.
- Buhr, H.O. (1977). The thermophilic anaerobic digestion process. *Water Resources Research*. 11, 129-143.

- Carreras, N., Dorronsoro, J.L. (1999a). Aprovechamiento energético de los residuos sólidos urbanos (RSU) en España. Guía sobre gestión energética municipal. 50, 66-68.
- Carreras, N., Dorronsoro, J.L. (1999b). Aprovechamiento energético del biogás generado a partir de residuos sólidos urbanos. TecnoAmbiente, 71, 121-123.
- Castillo, A.J., Martínez, G.A. (2005). Estudio de la hidrólisis enzimática en la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos mediante la digestión anaerobia. Tesis de licenciatura, Universidad Industrial de Santander, Escuela de Ingeniería Química, Bucaramanga, Colombia.
- Chang, Y.J. Nishio, N. and Nagai, S. (1995). Characteristics of granular methanogenic sludge grown on phenol synthetic medium and methanogenic fermentation of phenolic wastewater in UASB reactor. J. Ferment. Bioeng.79: 348-353.
- Chen, M. (1983). Adaptation of mesophilic anaerobic sewage fermenter populations to thermophilic temperatures. Applied and Environmental Microbiology 45 (4), 1271-1276.
- Chernicharo; C.A. (1995) Princípios do Tratamento Biológico de Aguas Residuárias. Universidade Federal de Minas Gerais. Departamento de Engenharia Sanitaria y Ambiental. Vol V. Brasil.
- Chudoba P., Capdeville B., Chudoba J. (1992). Explanation of biological meaning of the So/Xo ratio in batch culture, Water Science and Technology. Vol. 26, No. 3-4, pp. 743-751.
- Chugh, S., Chynoweth, D.P., Clarke, W., Pullammanappallil, P., Rudolph, V. (1999). Degradation of unsorted municipal solid waste by a leach-bed process. Bioresource Technology, 69:103-115.
- COMIA GTZ (Comisión Mexicana de Infraestructura Ambiental- Agencia de Cooperación Técnica Alemana) (2003). La basura en el limbo. Desempeño de Gobiernos Locales y Participación Privada en el Manejo de los Residuos Sólidos Urbanos. GTZ, México 2003

- CPML, Centro de Producción Más Limpia de Nicaragua. (2007). Sistemas de Tratamiento de aguas residuales para el sector Tenerías. Documento Taller de Capacitación. Nicaragua, 34 pp.
- De Baere, L. (2000). Anaerobic digestion of solid waste: state of the art. *Water Science Technology*, 41(3):283-290.
- De Baere, L., Van Meenen, P., Deboosere, S., Verstraete, W. (1987). Anaerobic fermentation of refuse. *Resources and Conservation*, 14, 295-308.
- Deublein, D. y Steinhauser, A. (2008). *Biogas from Waste and Renewable Resources, An Introduction*, Wiley-VCH, Weinheim, 450 pp
- Dolfing, J., Griffioen, A., van Neerven, A.R.W. and Zevenhuizen, L.P.T.M. (1985). Chemical and bacteriological composition of granular methanogenic sludge. *Canadian Journal of Microbiology* a: 744-750.
- Dubourguier, H.C., Buisson, M.N., Tissier, J.P., Prensier, G. and Albagnac, G. (1988). Structural characteristics and metabolic activities of granular methanogenic sludge on a mixed defined substrate, pp. 78-86. In: G. Lettinga, A.J.B. Zehnder, J.T.C. Grotenhuis and L.W. Hulshoff-Pol (eds). *Granular anaerobic sludge; microbiology and technology*. Pudoc, Wageningen, Países Bajos.
- El-Fadel, M., Massoud, M. (2001). Methane emissions from wastewater management. *Environmental Pollution*, 114:177-185.
- Fannin, K.F. (1987). Startup operation, stability and control in anaerobic digestion of biomass. *En: Chynoweth, D.Y. y Isaacson, R. (eds)*. Elsevier Applied Science, LTD.
- Ferguson T., Mah R. (1987) Methanogenic bacteria in anaerobic digestion of biomass. *Editado por Chynoweth, D. Y. e Isaacson, R.* Elsevier applied science LTD.
- Fernandez, F.S., Ollay, M.C. (1997). Residuos sólidos urbanos: Problemática y tratamiento. *En: Bueno, J.L., Sastre, H., Lavin, A.G.* Contaminación e Ingeniería Ambiental: degradación del suelo y tratamientos de residuos, 59-87.

- Flotats, X., Bonmatí, A., Campos, E., Teira, M.R. (2000). El proceso de secado de purines en el marco de gestión integral de residuos ganaderos. *Residuos: Revista técnica*, ISSN 1131-9526, Año nº 10, Nº 53, 2000 , 40-46
- Forster, C.T. (2005). Digestión anaerobia termofílica seca de residuos sólidos urbanos: estudio de las variables del proceso en el arranque y estabilización del bio-reactor, *tesis de doctorado*. Departamento de Ingeniería Química, Tecnología de Alimentos y Tecnologías del Medio Ambiente, Universidad de Cádiz, Cádiz, 400 pp.
- Gerardi M. (2003), *The Microbiology of Anaerobic Digesters*, Wiley-Interscience, Wastewater Microbiology Series, 188 pp.
- González-Fernández C., León-Cofreces C., García-Encina P. A. (2008) Different pretreatments for increasing the anaerobic biodegradability in swine manure, *Bioresource Technology* 99(1), 8710–8714.
- Grady C. P. L., Glen T. D., Henry C. L. (1999) *Biological Wastewater Treatment*. Marcel Dejjer Inc, Segunda Edición, Nueva York, Estados Unidos, 1039 pp.
- Grotenhuis, J.T.C., Kissel, J.C., Plugge, C.M., Stams, A.J.M. and Zehnder, A.J.B. (1991). Role of substrate concentration in particle size distribution of methanogenic granular sludge in UASB reactors. *Water Research*. 25: 21-27.
- Guiot. S.R. Pauss, A. and Costerton, J.W. (1992). A structured model of the anaerobic granule consortium. *Water Science Technology*. 2(7):1-10.
- Gujer, W., Zehnder, A.J.B. (1983). Conversion processes in anaerobic digestion. *Water Science Technology*. Vol.15.
- Hartmann H. y Ahring B. K. (2006) Strategies for the anaerobic digestion of the organic fraction of municipal solid waste: an overview. *Water Science & Technology* 53(8), 7–22.
- Hartmann, H., Ahring, B.K. (2005). Strategies for the anaerobic digestion of the organic fraction of municipal solid waste- A review. 4Th International Symposium Anaerobic Digestion of Solid Waste. Dinamarca 1:34-51.

- Henze M, HarremoEs P (1983) Anaerobic treatment of wastewater in fixed film reactors -- a literature review. *Water Science Technology*. 15:1-10.
- Henze, M., Mark, C., George, A., Damir, B. (2008). *Biological waste-water treatment: principles, modeling and design*. IWA publishing. 511 pp.
- Hickey, R.F., Wu, W., Veiga, M.C. and Jones, R. (1991). Start-up, operation, monitoring and control of high-rate anaerobic treatment systems. *Water Science Technology*. **24(8)**: 207-255.
- Hulshoff-Pol, L.W. (1989). The phenomenon of granulation of anaerobic sludge. Ph.D.Thesis. Agricultural University of Wageningen, Países Bajos.
- Ibáñez, JR y Corroccoli, MD (2002) Valorización de los residuos sólidos urbanos, Anuario 2002- F.C.E. – U.N.P.S.J.B. 43, 32 pp.
- INEGI, Instituto Nacional de Estadística y Geografía. (2013). Estadística básica sobre medio ambiente datos del Distrito Federal (En línea, consulta: Julio del 2014). <http://www.inegi.org.mx/inegi/contenidos/espanol/prensa/boletines/boletin/Comunicados/Especiales/2013/Abril/comunica32.pdf>
- Jan Dolling. (1985). Kinetics of methane formation by granular sludge at low substrate concentrations. *Applied Microbiology and Biotechnology* 22:77-81.
- Jenkins, S.R., Morgan, J.M., Sawyer, C.L. (1983). Measuring anaerobic sludge digestion and growth by simple alkalimetric titration. *Journal of the Water Pollution Control Federation* 55 (5), 448-453.
- Kennedy, K.J., Sanchez, W.A., Hamoda, M.F. and Droste, R.L. 1991. Performance of anaerobic sludge blanket sequencing batch reactors. *Journal the Water Pollution Control Federation*. 63: 75-83.
- Kim, Y., Lee, J. (2005). Effect of ultrasound on methanogenic activity of anaerobic granules. *Japanese journal of applied physics*, 44(11R), 8259.
- Lettinga, G. 1995. *Anaerobic digestion and wastewater treatment systems*. *Antonie van Leeuwenhoek* 67: 3-28.
- Levenspiel, O. (2002). *Ingeniería de las reacciones químicas*. Reverté Ediciones, S.A. México). 938 pp.

- LGPGIR, Ley General para la Prevención y Gestión Integral de los residuos (2014). Nueva Ley publicada en el Diario Oficial de la Federación.
- Li, Y., Park, S. Y., Zhu, J. (2011). Solid-state anaerobic digestion for methane production from organic waste. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 15 (1) 821-826
- Lissens, G., Vandevivere, P., De Baere, L., Bley, E.M. and Verstraete, W. (2001). Solid waste digesters: process performance and practice for municipal solid waste digestion. *Water Science Technology*, 44:8, 91-102.
- López Garrido, J., VIDAL, F., & PEREIRA MARTINEZ, J. (1975). Basura urbana. Recogida, eliminación y reciclaje. *Editores Técnicos Asociados. Barcelona*.
- M. Madigan, M. Martínño, J. Parker, (1998). *Brock Biología de los microorganismos*. Edit. Prentice Hall International (UK). 8ª edición. España.
- Martí-Ortega, N. (2006). Phosphorus precipitation in anaerobic digestion process. Boca Raton, Florida. Dissertation.com [En línea, consulta Julio del 2014]. Disponible en: <http://www.bookpump.com/dps/pdf-b/1123329b.pdf>
- Mata-Alvarez, J. (2002). Biomethanization of the organic fraction of municipal solid waste. 1º edition. Ed. Publishing.
- Mata-Alvarez, J. (2003) Biomethanization of the organic fraction of municipal solid wastes, IWA Publishing, Barcelona, España, 323 pp.
- Mata-Alvarez, J., Macé, S., Llabrés, P. (2000). Anaerobic of organic solid wastes. An overview of research achievements and perspectives. *Bioresource Technology*, 74:3-16.
- Mc Carty, P.L. and Smith, D.P. (1986). Anaerobic wastewater treatment. *Environmental Science & Technology* a: 1200- 1706
- McCarty, P.L. (1981). One hundred years of anaerobic treatment. En: Hunghe, et al. *Anaerobic digestion* (eds). Elsevier Biomedical Press. Amsterdam, 3-22.

- Metcalf y Eddy Inc. 2003 Wastewater Engineering, Treatment and Reuse. Mc Graw Hill, Cuarta Edición, Nueva York, Estados Unidos, 1771.
- Milán, Z., Sánchez, E., Weiland, P., Borja, R., Martín, A., Llangovan, K. (2001). Influence of different natural zeolite concentrations on the anaerobic digestion of piggery waste. *Bioresource Technology*, 80(1): 37-43.
- Montes M.E. (2008), Estudio Técnico-Económico de la Digestión Anaerobia Conjunta de la Fracción Orgánica de los Residuos Sólidos Urbanos y Lodos de Depuradora Para la Obtención de Biogás, Universidad Politécnica de Madrid.
- Morgan, J.W., Forster, C.F. and Evison, L.M. 1990. A comparative study of the nature of biopolymers extracted from anaerobic and activated sludges. *Water Research*. 6: 743-750.
- Nopharatana, A., Pullammanappallil, P.C., Clarke, W. (2003). A dynamic mathematical model for sequential leach bed anaerobic digestion of organic fraction of municipal solid waste. *Biochemical Engineering Journal*, 13:21-33.
- Nyholm N. (1991) The European system of standardized legal test for assessing the biodegradability of chemicals. *Environmental Toxicology and Chemistry*. Vol. 10, pp. 1237-1246.
- Pacheco, J; Magaña A. (2003). Arranque de un reactor anaeróbico. Tesis de maestría en ingeniería ambiental.
- Patidar, S. K. and Tare, V. (2006), Effect of nutrients on biomass activity in degradation of sulfate laden organics, *Process Biochemistry*, pp. 489–495.
- Pavlostathis, S.G., Giraldo-Gómez, E. (1991). Kinetics of anaerobic treatment: a critical review. *Critical reviews in environmental Control*, 21(5,6):411-490.
- Penna, J.A; Campos, J.R; Vazoller, R. A (1991) *Study of the methodology of specific methanogenic activity determination*. In: Sixth International Symposium on Anaerobic Digestion. Sao Paulo, Brasil
- Pereboom, J.H.F. (1994). Size distribution model for methanogenic granules from full scale UASB and IC reactors. *Water Science Technology*. **30 (12)**: 21 1-22 I.

- Pérez, A., Torres, P., & Pizarro, C. A. (2006). Arranque de un filtro anaerobio para el tratamiento de aguas residuales del proceso de extracción de almidón de yuca: influencia del inóculo. *Ingeniería y Competitividad* 8 (1), 47-54.
- Ramos G.D. (2013). Trituración de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos de la ciudad de México y producción anaerobia de biogás, *tesis de maestría*. Instituto de Ingeniería, UNAM, México, DF. 98 pp.
- Rincón, N., Behling, E., Díaz, A., & Mata Álvarez, J. (2006). Utilización de ultrasonido como técnica de pretratamiento en lodos biológicos. In *Rescatando antiguos principios para los nuevos desafíos del milenio* (pp. 1-7). AIDIS.
- Rittmann, B., McCarty, P. (2001). *Biología del medio ambiente: principios y aplicaciones*. España: McGrawHill Interamericana.
- Rivera V. (2010), Estudio Cinético de la Digestión Anaeróbica Termofílica de pollinaza a Escala Piloto. *Tesis de maestría*. Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biología, Instituto Politécnico Nacional, México, DF. 108 pp.
- Rojas, Z.U. (2012). Hidrólisis química de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos y producción de biogás, *tesis de maestría*. Instituto de Ingeniería, UNAM, México, DF. 120 pp.
- Romero, L.I. (1991). Desarrollo de un modelo matemático general para los procesos fermentativos. Cinética de la degradación anaerobia. Tesis de Doctorado. Universidad de Cádiz.
- Romero, L.I., de la Rubia, M.A., Pérez, M., Sales, D. (2002). Digestión anaerobia termofílica de lodos de EDAR. *Revista Técnica de Medio Ambiente-RETEMA*, 90:8-22.
- Rozzi, A. (1986). *Parámetros de operación y control de los procesos anaeróbicos*. Tercer Seminario sobre depuración anaeróbica de aguas residuales, Valladolid, España.
- Sanz, J.L. (2002). Métodos analíticos de biología molecular en digestión anaerobia. *Memorias del VII Taller Latinoamericano sobre digestión anaerobia*. 22 de octubre. Mérida, Yucatán.

- SEDEMA (2012). Residuos sólidos. [En línea, consulta: Julio del 2014]. Disponible en: <http://www.sedema.df.gob.mx/sedema/index.php/temas-ambientales/programas-generales/residuos-solidos>
- Schink, B. (1997). Energetic of syntrophic cooperation in methanogenic degradation. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 61:262-280.
- Simkins S., Alexander M. (1984) Models for mineralization kinetics with the variables of substrate concentration and population density. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 47, pp. 1299-1306.
- Speece, R. E. (1987). Nutrient requirements. *IN: Anaerobic Digestion of Biomass. Elsevier Science Publishing Co., Nueva York. 1987. p 109-128.*
- Speece, R. E. (1996). *Anaerobic biotechnology for industrial wastewater*. Nashville, Tennessee: Archae Press.
- Stams M. (1994) Metabolic interactions between anaerobic bacteria in methanogenic environments. *Antonie van Leeuwenhoek*. Vol. 66, No. 1-3, 271-294pp.
- Tchobanoglous, G., Hilary, T., Vigil, S.A. (1997). *Gestión integral de los residuos sólidos*. MCMXCIII- Mc Graw-Hill, Inc. 10079.
- Thouand G., Friant P., Bois F., Cartier A., Maul A., Block J.K. (1995) Bacterial inoculum density and probability of para-nitrophenol biodegradability test response. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 30, pp. 274-282.
- Tilche, A. and Yang, X. (1988). Light and MEB observations on the granular biomass of experimental SBAF and HABR reactors, pp. 170-178. In: G. Lettinga, A.I.B. Zehnder, J.T.C. Grotenhuis and L.W. Hulshoff-Pol (Eds). *Granular Anaerobic Sludge. Microbiology and Technology*. Proceedings of GASMAT. Taller, Lunteren Países Bajos. Octubre 1987.
- Turner, C., Burton, C.H. (1997). The inactivation of viruses in pig slurries: a review. *Bioresource Technology*, 61:9-20.

- Van der Berg, L., Lentz, C.P. (1980). Effects of digester configuration, waste composition and inoculum rates of production of methane from wastes. Proceedings – Bioenergy R&D Seminar.
- Van der Berg, L., Kennedy, K.L. (1981). Potential use of anaerobic process for industrial waste treatment. Seminar of anaerobic waste water treatment and energy recovery, Pittsburgh-Pennsylvania.
- Vogt, G.M., Liu, H.W., Kennedy, K.J., Vogt, H.S., Holbein B.E. (2002). Super blue box recycling (SUBBOR) enhanced two-stage. Anaerobic digestion process for recycling municipal solid waste: laboratory pilot studies. *Bioresource Technology*, 85:291-299.
- Yang, X., Garuti, G., Farina, R., Parisi, V., & Tilche, A. (1988). Process differences between a sludge bed filter and an anaerobic baffled reactor treating soluble wastes. En *Proceeding of 5th International Symposium on Anaerobic Digestion*, Bolonia, Italia. pp. 355-360.
- Young, J.C. and Dahab, M.F. (1983). Effect of media design on the performance of fixed-bed anaerobic reactors. *Water Science Technology*. IS (8/9): 369-383.

Anexo 1. Cantidad de SV de inóculo y sustrato agregados a la prueba de PBM

La relación inóculo/sustrato utilizada en la prueba de PBM fue de 2:1, en la Tabla A-1 se muestran las cantidades de SV (g) agregados

Tabla A-0-1. SV de inóculo y sustrato agregados a la prueba de PBM.

Digestión	Muestra	SV inóculo (g]	SV sustrato (g)
	Inóculo Granular	15.43	7.72
	Inóculo batido (1 minuto)	16.94	8.47
	Inóculo batido (3 minutos)	15.02	7.51
DA	Inóculo tratado por ultrasonido (5 minutos)	13.20	6.60
Húmeda	Inóculo tratado por ultrasonido (10 minutos)	13.20	6.60
	Inóculo tratado por ultrasonido (15 minutos)	13.46	6.73

	Inóculo Granular	17.88	8.94
	Inóculo batido (1 minuto)	17.32	8.66
	Inóculo batido (3 minutos)	18.31	9.15
DA	Inóculo tratado por ultrasonido (5 minutos)	19.94	9.97
SECA	Inóculo tratado por ultrasonido (10 minutos)	19.83	9.92
	Inóculo tratado por ultrasonido (15 minutos)	16.04	8.02