



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN INGENIERÍA
INGENIERÍA AMBIENTAL - AGUA**

**PROPUESTA DE CONTROL AUTOMÁTICO PARA MAXIMIZAR
LA PRODUCCIÓN DE BIOGÁS A PARTIR DE HIDROLIZADOS
DE AGAVE**

**TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN INGENIERÍA**

**PRESENTA:
JULIÁN DAVID BARRIOS PÉREZ**

**TUTOR PRINCIPAL
Dr. ALEJANDRO VARGAS CASILLAS
INSTITUTO DE INGENIERÍA (II) UNAM**

**COMITÉ TUTOR
Dr. JAIME MORENO PÉREZ, II UNAM
Dr. HUGO OSCAR MÉNDEZ ACOSTA, UDG**

**SANTIAGO DE QUERÉTARO, QUERÉTARO
NOVIEMBRE DE 2019**



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: Dr. Adalberto Noyola Robles
Secretario: Dr. Edson Baltazar Estrada Arriaga
Vocal: Dr. Jaime Alberto Moreno Pérez
1^{er.} Suplente: Dr. Hugo Oscar Méndez Acosta
2^{do.} Suplente: Dr. Alejandro Vargas Casillas

Lugar o lugares donde se realizó la tesis:

Laboratorio de Investigación en Procesos Avanzados de Tratamiento de Aguas
UNAM - Campus Juriquilla, Querétaro

TUTOR DE TESIS:

Dr. Alejandro Vargas Casillas

FIRMA

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada para llevar a cabo los estudios de maestría.

Al Fondo de Sustentabilidad Energética SENER - CONACyT, a través del proyecto 247006 del Clúster Biocombustibles Gaseosos.

Al instituto de Ingeniería de la UNAM y el Laboratorio de Investigación en Procesos Avanzados de Tratamiento de Agua, UNAM Campus Juriquilla, por las facilidades otorgadas para el uso de sus instalaciones.

Al Doctor Alejandro Vargas Casillas por darme la oportunidad de ser parte del proyecto Cluster Biocombustibles Gaseosos para realizar los estudios de maestría.

A la Ingeniera Cristina Araoz y a la Licenciada Lucila Correa por ayudar a resolver los tramites administrativos durante todo el proceso de graduación.

A la Maestra Gloria Moreno Rodríguez, Maestro Jaime Pérez Trevilla, Doctor Julián Carrillo Reyes, Doctora Karla Maria Muñoz Páez por su apoyo técnico y científico durante el desarrollo de esta investigación.

Dedicatoria

A Dios por haberme ayudado a afrontar con fortaleza y sabiduría esta etapa de mi vida

A mi madre por ser ejemplo de superación, por demostrarme que para ser exitoso solo se necesita de amor y pasión

A mi padre por siempre haber estado presente durante mi formación personal y profesional, y por enseñarme a ser respetuoso, honesto y responsable

A mis hermanos y primos por ser ejemplos a seguir y por su apoyo incondicional

A mi esposa por amarme tanto !

A todos mil gracias.

Resumen

Los hidrolizados de agave se caracterizan principalmente por ser residuos orgánicos con un potencial de tratamiento biológico grande debido a la presencia de materia orgánica en forma soluble (carbohidratos y ácidos grasos volátiles). Gracias a esta característica se promueve su aprovechamiento y valorización, debido a que por medio de un proceso biológico como la digestión anaerobia se genera un vector energético como el metano (CH_4) que amplía la oferta energética de los combustibles en México, teniendo en cuenta que para el 2030 se pretende contar con una industria de biogás desarrollada que permita una capacidad instalada de producción de 200 a 250 $Mm^3 \cdot \text{año}^{-1}$ de CH_4 equivalente. Entre las alternativas para cumplir con dicha visión, se encuentra la implementación de modelos matemáticos y control automático a nuevas estrategias de operación, como la planteada en este trabajo de investigación en donde se desarrolló una propuesta de control para maximizar la producción de CH_4 a partir de hidrolizados de agave.

La propuesta de control automático se fundamentó en la implementación de una estrategia de alimentación controlada (EAC) en la que a partir de la manipulación de una variable operacional como el tiempo de retención hidráulico (TRH) logró estimularse a una comunidad de microorganismos para maximizar la producción de CH_4 . Para ello se realizaron ensayos experimentales en dos reactores anaerobios de tipo UASB alimentados con dos tipos de hidrolizados de agave (ácido y ruminal), y operados en régimen discontinuo (lote) y continuo bajo condiciones mesofílicas y termofílicas para adquirir información suficiente que permitiera llevar a cabo tanto la parametrización como la validación e implementación de un modelo de dos etapas (Ácidogénesis y Metanogénesis) como el AM2. En la parametrización se utilizaron algoritmos de búsqueda directa (Nelder-Mead) y gradiente (L-BFGS-B) para estimar numéricamente parámetros cinéticos y estequiométricos del modelo AM2; en cambio en la implementación y validación se ajustaron los datos generados por el modelo AM2 a datos experimentales con la intención de obtener el mejor grado de correlación posible (R^2).

Con base en los resultados obtenidos se logró desarrollar e implementar una estrategia de alimentación controlada (EAC), que al ser probada de manera experimental en un reactor UASB mesofílico alimentado con hidrolizados de agave (ácido y ruminal) permitió maximizar la producción de CH_4 en 78-83 % mientras que en un reactor UASB termofílico alimentado con hidrolizados del mismo tipo aumentó la producción de CH_4 en 17-26 %, con respecto a la operación de un TRH nominal (20 h). Por otro lado, se demostró que el modelo AM2 reproduce la dinámica del proceso de digestión anaerobia en reactores UASB puesto que genera predicciones adecuadas sobre variables de proceso relacionadas con el flujo de CH_4 (R^2 : 0.60-0.88), volumen acumulado de CH_4 (R^2 : 0.92-0.98), carbohidratos (R^2 : 0.86-0.96) y ácidos grasos volátiles (R^2 : 0.61-0.66). Es así que la EAC se considera una estrategia de control promisorio para llevar a cabo la producción de CH_4 .

Índice general

Agradecimientos	III
Dedicatoria	IV
Resumen	V
Índice de figuras	VIII
Índice de tablas	IX
1 Planteamiento del problema	5
2 Revisión de literatura	8
2.1 Digestión anaerobia	8
2.1.1 Hidrólisis	9
2.1.2 Acidogénesis	9
2.1.3 Acetogénesis	10
2.1.4 Metanogénesis	10
2.2 Factores importantes en la digestión anaerobia	10
2.2.1 Efecto de la temperatura	10
2.2.2 Efecto del tiempo de retención hidráulico	12
2.2.3 Toxicidad metanogénica	13
2.3 Modelos matemáticos utilizados en procesos de digestión anaerobia	16
3 Materiales y métodos	22
3.1 Caracterización fisicoquímica del bagazo de agave	23
3.2 Preparación de hidrolizados de agave	24
3.3 Caracterización fisicoquímica de hidrolizados de agave	27
3.4 Estrategia de aclimatación en régimen discontinuo	27
3.5 Acondicionamiento de hidrolizados de agave	30
3.6 Construcción de cinéticas de remoción de sustrato	33
3.7 Operación del sistema experimental en régimen continuo	40
3.8 Selección y definición de la estructura del modelo matemático de digestión anaerobia	42
3.9 Desarrollo del simulador numérico en R	44
3.10 Desarrollo del optimizador numérico en R	44
3.11 Determinación de puntos de equilibrio del modelo AM2	45
3.12 Construcción de escenarios para la implementación de la estrategia de alimentación controlada (EAC) en reactores UASB	46
3.13 Análisis estadístico	46
4 Análisis y resultados	48
4.1 Operación de reactores en régimen discontinuo	48
4.1.1 Aclimatación de hidrolizados de agave	48

4.1.2	Cinéticas de remoción de sustrato	50
4.2	Implementación del modelo matemático AM2 en régimen discontinuo	53
4.2.1	Simulaciones en reactor UASB mesofílico	53
4.2.2	Simulaciones en reactor UASB termofílico	57
4.3	Operación de reactores en régimen continuo	61
4.4	Análisis estadístico de la operación de reactores en régimen continuo	62
4.5	Implementación del modelo matemático AM2 en régimen continuo	67
4.5.1	Simulaciones en reactor UASB mesofílico	68
4.5.2	Simulaciones en reactor UASB termofílico	69
4.5.3	Determinación de puntos de equilibrio del modelo AM2	70
4.5.4	Simulación de escenarios para la implementación de la estrategia de alimentación controlada (EAC) en reactores UASB	73
5	Conclusiones	78

Índice de figuras

2.1	Secuencia metabólica y grupos microbianos que intervienen en el proceso de digestión anaerobia	9
2.2	Tasa de crecimiento para microorganismos metanogénicos	11
2.3	Mecanismos de reacción para biomasa lignocelulósica pretratada	14
3.1	Etapas y actividades del proyecto de investigación	23
3.2	Muestra del lote de bagazo de <i>Agave tequilana</i> Weber	23
3.3	Configuración del sistema experimental	28
3.4	Curvas de calibración para bombas de alimentación de reactores UASB	30
3.5	Ejemplo de implementación de la metodología <i>OT</i>	40
3.6	Implementación de la EAC en la operación de reactores UASB	41
3.7	Descripción de un diagrama de cajas y alambres	47
4.1	Cinética de remoción de DQO, carbohidratos y AGV en reactores UASB	51
4.2	Balance de electrones en cinéticas de remoción de sustrato	52
4.3	Simulación <i>Nº 1</i> con hidrolizado ácido	53
4.4	Simulación <i>Nº 2</i> con hidrolizado ácido	54
4.5	Simulaciones con hidrolizado ruminal	55
4.6	Comportamiento de μ_2 en función del tipo de hidrolizado de agave	56
4.7	Simulación <i>Nº 1</i> con hidrolizado ácido	57
4.8	Simulación <i>Nº 2</i> con hidrolizado ácido	58
4.9	Simulaciones con hidrolizado ruminal	59
4.10	Comportamiento de μ_2 en función del tipo de hidrolizado de agave	60
4.11	Operación de reactores UASB en continuo	61
4.12	Análisis estadístico en reactor UASB mesofílico alimentado con hidrolizado ácido	62
4.13	Análisis estadístico en reactor UASB mesofílico alimentado con hidrolizado ruminal	63
4.14	Análisis estadístico en reactor UASB termofílico alimentado con hidrolizado ácido	65
4.15	Análisis estadístico en reactor UASB termofílico alimentado con hidrolizado ruminal	66
4.16	Simulaciones con hidrolizados de agave en reactor UASB mesofílico	68
4.17	Simulaciones con hidrolizados de agave en reactor UASB termofílico	70
4.18	Puntos de equilibrio del modelo AM2 por tipo de hidrolizado y régimen de temperatura	71
4.19	Escenario <i>nominal</i> implementado en reactores UASB	74
4.20	Escenario de <i>referencia</i> implementado en reactores UASB	74
4.21	Escenario <i>experimental</i> implementado en reactores UASB	75
4.22	Escenario <i>optimista</i> implementado en reactores UASB	75
4.23	Escenario de <i>lavado</i> implementado en reactores UASB	76

Índice de tablas

2.1	Constantes cinéticas representativas de la digestión anaerobia	11
2.2	Parámetros de crecimiento de bacterias anaerobias y aerobias	13
2.3	Parámetros de crecimiento de bacterias anaerobias y aerobias	13
2.4	Patrones de toxicidad	14
2.5	Composición de hidrolizados lignocelulósicos después de la aplicación de pretratamientos	15
2.6	Límites de concentración de inhibidores que afectan el proceso de digestión anaerobia	15
2.7	Concentraciones de AGVs inhibitorias en un proceso de digestión anaerobia	16
2.8	Modelos cinéticos utilizados en el tratamiento anaerobio	17
2.9	Modelos que asumen que el sustrato inhibe la cinética de Monod en la metanogénesis	18
2.10	Modelos que consideran la concentración de AGV como parámetro clave en la digestión anaerobia	19
2.11	Modelos que utilizan el H_2 como parámetros de control	19
2.12	Modelos que consideran la inhibición por amoníaco, lisis e hidrólisis celular y sistema buffer	20
3.1	Caracterización fisicoquímica del bagazo de <i>Agave tequilana</i> Weber	24
3.2	Condiciones generales para la preparación de hidrolizado ácido de agave . .	24
3.3	Condiciones generales para la preparación de hidrolizado ruminal de agave .	25
3.4	Métodos empleados para la caracterización de hidrolizados de agave	25
3.5	Caracterización fisicoquímica de hidrolizados de agave crudos (concentrados)	27
3.6	Caracterización de inóculos mesofílico y termofílico en PBM	27
3.7	Caracterización fisicoquímica de hidrolizados de agave diluidos	29
3.8	Datos necesarios para estimar la intensidad tampón (β)	30
3.9	Cantidad de $NaOH$ necesario para acondicionar un litro de hidrolizado de agave crudo	31
3.10	Concentración de sodio (Na) en hidrolizados de agave diluidos	32
3.11	Composición del medio básico anaerobio	32
3.12	Volúmenes de solución A, B, D y E adicionada	33
3.13	Reacciones medias de compuestos orgánicos e inorgánicos	35
3.14	Estimación de electrones en hidrolizado ácido de agave por cinética de re- moción de sustrato	36
3.15	Condición operacional de los reactores UASB en régimen continuo	41
3.16	Variables de análisis para evaluar el desempeño de reactores UASB	41
3.17	Crecimiento biológico tipo Monod y Haldane	43
3.18	Componentes del simulador numérico	44
3.19	Estimación paramétrica en modelos matemáticos de digestión anaerobia . .	44
3.20	Componentes del optimizador numérico	45
3.21	Componentes del simulador numérico <code>am2.equilibrio.R</code>	45
4.1	Rendimientos, remoción de DQO y contenido de CH_4 en régimen discontinuo	48

4.2	Fase <i>lag</i> asociada al tipo de hidrolizado de agave	50
4.3	Parámetros cinéticos y estequiométricos empleando hidrolizado ácido	54
4.4	Parámetros cinéticos y estequiométricos empleando hidrolizado ruminal . . .	55
4.5	Parámetros cinéticos y estequiométricos empleando hidrolizado ácido	58
4.6	Parámetros cinéticos y estequiométricos empleando hidrolizado ruminal . . .	59
4.7	Rendimientos, remoción de DQO y contenido de CH_4 en régimen continuo	62
4.8	Medidas descriptivas asociadas al flujo de CH_4 ($NL \cdot d^{-1}$) según los <i>TRH</i> evaluados en el reactor UASB mesofílico alimentado con hidrolizado ácido .	63
4.9	Medidas descriptivas asociadas al flujo de CH_4 ($NL \cdot d^{-1}$) según los <i>TRH</i> evaluados en el reactor UASB mesofílico alimentado con hidrolizado ruminal	64
4.10	Medidas descriptivas asociadas al flujo de CH_4 ($NL \cdot d^{-1}$) según los <i>TRH</i> evaluados en el reactor UASB termofílico alimentado con hidrolizado ácido	65
4.11	Medidas descriptivas asociadas al flujo de CH_4 ($NL \cdot d^{-1}$) según los <i>TRH</i> evaluados en el reactor UASB termofílico alimentado con hidrolizado ruminal	67
4.12	Parámetros cinéticos y estequiométricos por tipo de hidrolizado de agave . .	69
4.13	Parámetros cinéticos y estequiométricos por tipo de hidrolizado de agave . .	70
4.14	Puntos de equilibrio para el flujo de CH_4 (q_m) por tipo de hidrolizado y régimen de temperatura	72
4.15	Comparación de los flujos de CH_4 predichos por el modelo AM2 y experi- mentales en condiciones estables	72
4.16	Características de escenarios simulados durante la implementación de la EAC en reactores UASB	73
4.17	Producción acumulada de CH_4 según los escenarios simulados durante la implementación de la EAC	76

Introducción

La digestión anaerobia ha sido un proceso muy utilizado a nivel mundial y sobre todo en países en vía de desarrollo para la producción de fuentes de energía alternativa como el metano (CH_4) a partir de sustratos orgánicos. El CH_4 representa un vector energético amigable con el medio ambiente puesto que muestra mayor eficiencia energética que los combustibles fósiles y disminuye las emisiones de gases de efecto invernadero (GEI).

En el proceso de digestión anaerobia un consorcio de microorganismos en ausencia de oxígeno molecular promueve, a través de cuatro etapas (hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis), la transformación de compuestos orgánicos complejos (carbohidratos, proteínas y lípidos) en productos más simples como el CH_4 . En la hidrólisis el material orgánico particulado se convierte en compuestos disueltos de menor peso molecular (aminoácidos o azúcares solubles) que posteriormente en la acidogénesis son asimilados y excretados por bacterias fermentativas en forma de ácidos grasos volátiles (AGV), alcoholes, dióxido de carbono (CO_2), sulfuro de hidrógeno (H_2S) y amoníaco (NH_3). Finalmente en la acetogénesis y metanogénesis se lleva a cabo la formación de compuestos como el acetato para la producción de CH_4 por arqueas metanogénicas acetoclásticas ([Pavlostathis y Giraldo-Gomez, 1991](#)). Sin embargo, cabe mencionar que en estos procesos, sustratos de estructura molecular compleja como la celulosa o la hemicelulosa presente en la mayoría de la biomasa residual de procesos agroindustriales deben ser tratados previamente para favorecer la hidrólisis de carbohidratos más solubles para que la acidogénesis y metanogénesis procedan sin inconvenientes y logre darse la producción de CH_4 .

En México, una biomasa residual de procesos agroindustriales de importancia es el bagazo de agave, un sustrato con característica lignocelulósica cuya producción se estima que equivale al 40% del peso de las cabezas de agave molidas. Según estimativos del Consejo Regulador de Tequila ([CRT, 2019](#)), durante el 2018 se procesaron 1,139,000 toneladas de agave, de las cuales 455,600 toneladas se convirtieron en residuos lignocelulósicos, por lo que se han llevado a cabo investigaciones para determinar la factibilidad de reúso y aprovechamiento de estos residuos en tecnologías relacionadas con la producción de biocombustibles líquidos y gaseosos, enzimas, bioactivos y biofertilizantes ([CONACYT et al., 2017](#)).

Particularmente, en la producción de biocombustibles gaseosos como el CH_4 se ha observado un importante campo de aplicación en la producción de energía eléctrica, en la generación de calor y en el transporte terrestre por los impactos que tendría no solo en la reducción del volumen de residuos generados, sino también en la generación de energía renovable y reducción de emisiones de GEI por la sustitución de los combustibles fósiles (García y Álvarez, 2014). Sin embargo, tres retos importantes se plantean para considerar la aplicación de esta tecnología promisorio: i) investigación aplicada orientada al pretratamiento de residuos agroindustriales lignocelulósicos para obtener la mayor cantidad de licores ricos en azúcares con el menor contenido de sustancias potencialmente tóxicas (inhibidores), ii) implementación de nuevos diseños y configuraciones de reactores para llevar a cabo la digestión o co-digestión de residuos sólidos y líquidos bajo regímenes de temperatura en mesofilia y termofilia, y iii) implementación de esquemas de monitoreo y control que garanticen la estabilidad operacional y desempeño de los procesos (CONACYT et al., 2017).

En el presente proyecto de investigación se abordará el inciso (iii) mediante el desarrollo de una propuesta de control automático para maximizar la producción de biogás en reactores anaerobios tipo UASB (del inglés *Upflow Anaerobic Sludge Blanket*) alimentados con hidrolizados de bagazo de agave en condiciones mesofílicas y termofílicas. En este sentido, la propuesta de control automático se realizó en dos grandes etapas. Primero se recopiló información a escala piloto para caracterizar el sistema experimental conformado por dos reactores UASB (Etapa I), y posteriormente se seleccionó e implementó el modelo matemático AM2 (Etapa 2). Teniendo en cuenta la importancia de esta última etapa, simultáneamente se llevaron a cabo actividades relacionadas con la estimación de parámetros cinéticos y estequiométricos durante la operación de los reactores en régimen discontinuo y continuo, así como la implementación de un simulador numérico para modelar la producción de CH_4 , entre otras.

Objetivos

Objetivo general

Proponer e implementar algoritmos de control automático que maximicen la producción de biogás en digestores anaerobios alimentados con hidrolizados de bagazo de agave en condiciones mesofílicas y termofílicas, con base en resultados experimentales.

Objetivos específicos

- Obtener parámetros cinéticos de reactores anaerobios operados en régimen discontinuo y continuo bajo condiciones mesofílicas y termofílicas.
- Desarrollar un simulador numérico que permita modelar la producción de biogás (CH_4 y CO_2) en reactores anaerobios operados en régimen discontinuo y continuo bajo condiciones mesofílicas y termofílicas.
- Ajustar el simulador numérico a partir de parámetros cinéticos determinados experimentalmente en reactores anaerobios operados en régimen discontinuo y continuo bajo condiciones mesofílicas y termofílicas.
- Realizar una propuesta de algoritmos que ajustados experimentalmente maximicen la producción de biogás (CH_4 y CO_2) en reactores anaerobios operados en régimen continuo bajo condiciones mesofílicas y termofílicas.

Hipótesis

El modelo AM2 representa bien la dinámica de la digestión anaerobia de hidrolizados de agave bajo diferentes condiciones operativas (régimen de flujo y temperatura), por lo que su implementación en la construcción de una propuesta de control automático resulta conveniente para maximizar la producción de biogás en reactores anaerobios de tipo UASB.

Capítulo 1

Planteamiento del problema

Debido al compromiso adquirido por México ante la Convención Marco de las Naciones Unidas sobre Cambio Climático (CMNUC) en reducir las emisiones de gases de efecto invernadero (GEI) se han llevado a cabo por parte del gobierno nacional varias estrategias relacionadas con la implementación de medidas de mitigación. Una de ellas es la creación de los Centros Mexicanos de Innovación en Energía (CEMIE), cuyo principal eje de acción se centra en potencializar el desarrollo tecnológico del país en cuanto a la producción de energías renovables mediante los CEMIE Eólico, Sol, Geo, Océano y Bio. En este último (CEMIE-Bio) los esfuerzos se han centrado fundamentalmente en la producción de biocombustibles sólidos, bioalcoholes, biodiésel, biogás y bioturbosina a partir de biomasa lignocelulósica. Sin embargo, tres retos importantes deben ser satisfechos para considerar la aplicación de esta tecnología promisorio: i) investigación aplicada orientada al pretratamiento de residuos agroindustriales lignocelulósicos para obtener la mayor cantidad de licores ricos en azúcares con el menor contenido de sustancias potencialmente tóxicas (inhibidores), ii) implementación de nuevos diseños y configuraciones de reactores para llevar a cabo la digestión o co-digestión de residuos sólidos y líquidos bajo regímenes de temperatura en mesofilia y termofilia, y iii) implementación de esquemas de monitoreo y control que garanticen la estabilidad operacional y desempeño de los procesos (CONACYT *et al.*, 2017). Por esta razón, el proyecto de investigación se direccionó hacia el desarrollo de una propuesta de algoritmos de control automático que maximizaran la producción de biogás (CH_4 y CO_2) a través de la digestión anaerobia de hidrolizados de Bagazo de agave.

La digestión anaerobia puede catalogarse como un proceso biológico en el cual un consorcio de diferentes tipos de microorganismos (en ausencia de oxígeno molecular) promueven la transformación de biomasa o compuestos orgánicos complejos como carbohidratos (celulosa, hemicelulosa, lignina y glucosa, entre otros), proteínas y lípidos en productos más simples como el CH_4 y el CO_2 . La implementación de este proceso tiene la ventaja de que por un lado se logra el pulimiento o descontaminación de aguas residuales municipales, industriales y agroindustriales puesto que elimina por lo menos el 70% de la materia orgánica (DQO), mientras que por el otro da lugar a la producción de un vector energéti-

co como el CH_4 cuyo poder calorífico ($46.5 \text{ TJ} \cdot \text{Gg}^{-1}$) resulta ser el doble o triple de combustibles sólidos como el carbón ($24 \text{ TJ} \cdot \text{Gg}^{-1}$) y la madera ($7.90 \text{ TJ} \cdot \text{Gg}^{-1}$), respectivamente (Chen et al., 2016; von Sperling y de Lemos Chernicharo, 2005). Sin embargo, cabe mencionar que en la operación de un proceso biológico como este intervienen factores operacionales como el tiempo de retención hidráulico (TRH), tasa de dilución (D), carga orgánica volumétrica (COV), pH, entre otros., que se fijan y controlan dependiendo del tipo de reactor, régimen de flujo (discontinuo o continuo), y características del sustrato.

Particularmente, el sustrato utilizado en este trabajo de investigación provino del residuo lignocelulósico (Bagazo de agave) generado durante el procesamiento (cocción, molienda y extracción de jugos) de la piña del agave para la producción de bebidas alcohólicas como el mezcal o tequila, y se caracteriza principalmente por fibras gruesas de 10 a 12 cm de largo compuestas de celulosa (41.9%), hemicelulosa (12.1%) y lignina (7.2%). Según el Consejo Regulador del Tequila (CRT, 2019), para la producción de 309 millones de litros de tequila se procesan alrededor de 1,139,000 toneladas de agave y se generan entre 136,680 a 455,600 toneladas de residuos lignocelulósicos.

En este sentido, los hidrolizados se generan del pretratamiento químico, biológico o físico que se aplica a residuos lignocelulósicos para hidrolizarlos en carbohidratos (glucosa, xilosa, arabinosa) y AGV (acetato, butirato, propionato) de bajo peso molecular y hacer más eficiente su asimilación por parte de microorganismos durante la etapa acidogénica y metanogénica de la digestión anaerobia. Sin embargo, evidencias científicas muestran que en la producción de hidrolizados de origen lignocelulósicos por métodos químicos y durante el proceso de degradación por vía anaerobia, se generan sustancias inhibitorias como el furfural, fenoles e hidroximetilfurfural (HMF) que progresivamente disminuyen la estabilidad del proceso. Específicamente, Park et al. (2011) y Quéméneur et al. (2012) indican que durante la etapa fermentativa concentraciones de 5-HMF y furfural del orden de 1 a 2 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ya empiezan a ser inhibitorias, mientras que durante la etapa metanogénica concentraciones mayores a 4 g furfural $\cdot \text{L}^{-1}$ y 6 g 5-HMF $\cdot \text{L}^{-1}$ disminuyen en un 100% la eficiencia de producción de CH_4 (Badshah et al., 2012; Monlau et al., 2014). De igual manera, con los AGV se ha encontrado que bajo concentraciones del orden de 1 a 10 g AGV $\cdot \text{L}^{-1}$ ya empiezan a ser visibles los efectos generados sobre la producción de CH_4 al retrasar el proceso hasta que la población de microorganismos se vuelve tolerante a las nuevas condiciones del medio (Jha y Schmidt, 2017; Siegert y Banks, 2005).

Por otro lado, la hidrodinámica en reactores anaerobios asociada al lavado de biomasa también suele ser otro aspecto fundamental para garantizar la estabilidad del proceso de digestión anaerobia y más en actividades orientadas hacia su optimización a través de estrategias de control automático para maximizar la producción de CH_4 , puesto que aunque se ha encontrado que existen diferentes metodologías o estrategias de optimización (on-off gas scrubbing control of organic overload, base addition control action, proporcional base addition control organic overload) se ha observado que en la práctica aquellas (switching control policy, pseudo-super-twisting controller, extremum seeking) relacionadas con la manipulación de variables operacionales como el TRH , D o COV suelen ser las

más predilectas debido a los bajos costos de implementación, medición y automatización (Caraman et al., 2017; Graef y Andrews, 1974; Sbarciog et al., 2012; Vargas y Moreno, 2015). Muchas de estas estrategias de optimización se adaptan adecuadamente a modelos matemáticos robustos tales como el AM2 y AM2HN, los cuales *a posteriori* permiten generar predicciones sobre el proceso al mismo tiempo en que hacen posible la implementación de un control retroalimentado con base en variables de proceso como el flujo de CH_4 , la concentración de AGV y pH.

Por todo lo mencionado anteriormente, resulta conveniente la implementación de modelos matemáticos que sirvan para plantear nuevas propuestas de control automático que permitan obtener un mejor desempeño del proceso de digestión anaerobia en cuanto a la producción de CH_4 y remoción de la materia orgánica, puesto que inherentemente existen limitaciones del proceso asociadas al tipo de sustrato, inóculo y configuración de reactor que logran disminuir su estabilidad cuando la operación se lleva a cabo de forma manual, dado que difícilmente logra obtenerse una respuesta inmediata ante perturbaciones generadas por cargas orgánicas o flujos con concentraciones inhibitorias altas.

Capítulo 2

Revisión de literatura

2.1. Digestión anaerobia

En el proceso de digestión anaerobia, la eficiencia de microorganismos anaerobios para llevar a cabo tanto el tratamiento biológico de aguas residuales como la producción de vectores energéticos resulta ser, desde una perspectiva bioingenieril, una ventaja muy importante debido a que por la baja producción celular se minimiza la cantidad de lodo que debe ser eliminado (Pérez y Torres, 2011) y se favorece la formación de productos metabólicos ricos en energía como el hidrógeno (H_2) y el metano (CH_4). Útiles para la producción de energía al mismo tiempo que contribuyen a la solución de un problema ambiental como el calentamiento global generado por las emisiones de gases de efecto invernadero (CO_2 , N_2O y CH_4 entre otros).

De esta manera, la digestión anaerobia se cataloga como un proceso biológico en el cual un consorcio de diferentes tipos de microorganismos (en ausencia de oxígeno molecular) promueven la transformación de compuestos orgánicos complejos (carbohidratos, proteínas y lípidos) en productos más simples como el CH_4 y CO_2 .

Eventualmente, cuando en un sistema de tratamiento de residuos sólidos o líquidos entran compuestos con características fisicoquímicas complejas formadas por celulosa, proteínas o grasas, se lleva a cabo la hidrólisis por enzimas extracelulares que se encargan de atacar muchos de estos polímeros hasta convertirlos en monómeros más pequeños (azúcares, aminoácidos y grasas) capaces de atravesar con mayor facilidad la membrana celular de bacterias hidrolíticas y metabolizarlos en su interior para luego excretarlos en forma de alcoholes, ácidos grasos volátiles (AGV) e H_2 principalmente (Von Sperling y de Lemos Chernicharo, 2005). De estos subproductos solo el ácido acético y el hidrógeno se convierten en sustratos directos de la metanogénesis acetotrófica e hidrogenotrófica en donde teóricamente el 70% y 30% del CH_4 generado se atribuye a las arqueas metanogénicas e hidrogenotróficas, respectivamente. Por otro lado, AGV de tres y cuatro carbonos como el ácido propiónico y butírico al no constituirse como sustratos directos de la metanogénesis, requieren su asimilación por microorganismos acetogénicos que faciliten su conversión a ácido acético hasta su conversión final en CH_4 (Akunna, 2018; Khanal, 2011). En la Figura 2.1 se presenta un esquema simplificado del proceso de digestión anaerobia, en el que se identifican tanto las etapas como los diferentes grupos de microorganismos involucrados en la conversión de compuestos orgánicos complejos a CH_4 y CO_2 .

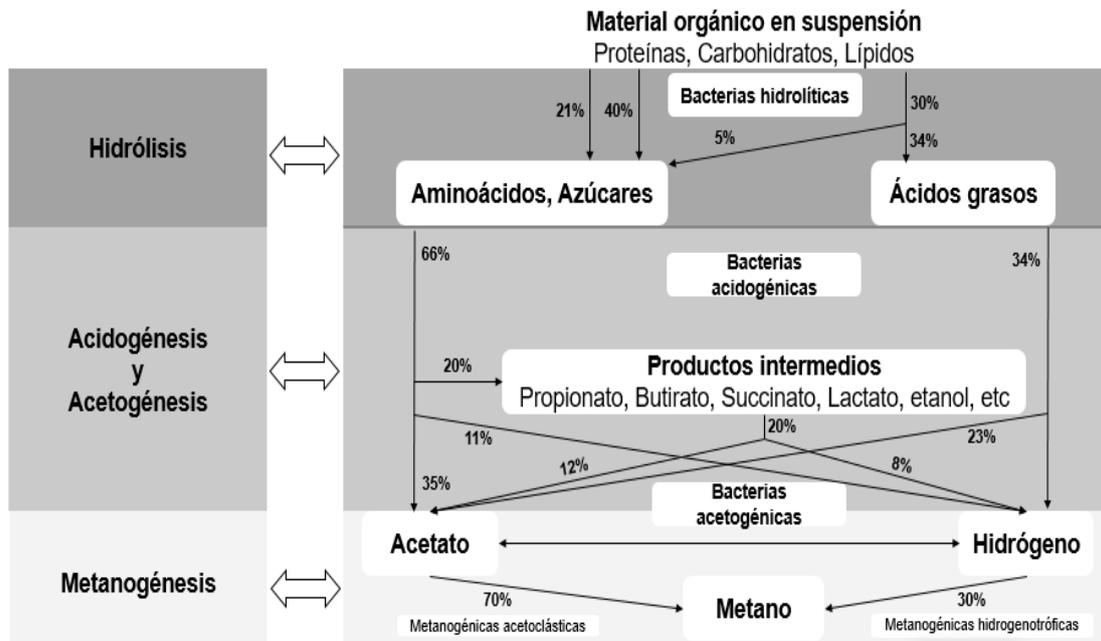


Figura 2.1. Secuencia metabólica y grupos microbianos que intervienen en el proceso de digestión anaerobia

Fuente: tomado de von Sperling y de Lemos Chernicharo (2005)

2.1.1. Hidrólisis

En esta etapa el material orgánico particulado se convierte en compuestos disueltos de menor peso molecular. Requiere la participación de exo-enzimas que son secretadas por bacterias fermentativas. Las proteínas son degradadas por medio de (poli) péptidos para formar aminoácidos. Los carbohidratos se transforman en azúcares solubles (mono y disacáridos) y los lípidos son convertidos en ácidos grasos de cadena larga (C_{15} a C_{17}) y glicerina. En muchos casos, la velocidad de hidrólisis puede ser una etapa limitante para todo el proceso de digestión anaerobia (Campos, 1999).

2.1.2. Acidogénesis

Los compuestos disueltos generados en el proceso de hidrólisis son adsorbidos en las células de bacterias fermentativas y después de la acidogénesis, excretadas como sustancias orgánicas simples en forma de ácidos grasos volátiles de cadena corta (AGV), alcoholes y compuestos minerales como el CO_2 , H_2 y NH_3 (Pavlostathis y Gossett, 1988).

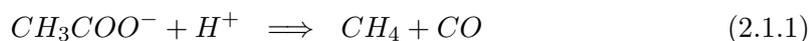
La acidogénesis es un proceso homólogo a la fermentación oscura, que en la actualidad está ampliamente relacionado con la producción fermentativa de H_2 , la cual es realizada por un grupo diverso de bacterias anaerobias obligadas. Sin embargo, algunas especies son facultativas y pueden metabolizar material orgánico por vía oxidativa. En este caso el oxígeno disuelto, eventualmente podría tornarse como una sustancia tóxica para las arqueas metanogénicas si no fuera removido por las bacterias acidogénicas facultativas (Campos, 1999).

2.1.3. Acetogénesis

Es la conversión de productos de la acidogénesis en compuestos que forman los sustratos para la producción de acetato, CH_4 , H_2 y CO_2 . Como se muestra en la Figura 2.1 el 70 % de la DQO digerida se convierte en ácido acético, mientras que la DQO restante se concentra en la formación de H_2 (Campos, 1999; Pavlostathis y Giraldo-Gomez, 1991). Por la estequiometría, dependiendo del estado de oxidación del material orgánico a ser digerido, la formación de ácido acético puede estar acompañada por la producción de CO_2 o H_2 . Sin embargo, en presencia de CO_2 e H_2 otro proceso de acetogénesis puede desarrollarse; la homoacetogénesis, es decir, la reducción de CO_2 a ácido acético en lugar de H_2 (Souto et al., 2010).

2.1.4. Metanogénesis

En esta etapa el CH_4 es producido por arqueas metanogénicas acetoclásticas a partir de la reducción de ácido acético, o por arqueas metanogénicas hidrogenotróficas a partir de la reducción de H_2 , como se muestra en las reacciones catabólicas (2.1.1) y (2.1.2).



Las arqueas que producen CH_4 a partir de H_2 crecen más rápidamente que aquellas que usan ácido acético, de modo que las arqueas metanogénicas acetotróficas generalmente limitan la velocidad de transformación del material orgánico complejo (Campos, 1999).

2.2. Factores importantes en la digestión anaerobia

Existen diferentes factores que afectan la digestión anaerobia de residuos sólidos y líquidos, dentro de los cuales se pueden destacar la temperatura, el pH, la alcalinidad y la presencia de nutrientes, como también otros factores relacionados con la capacidad de asimilación de cargas tóxicas, la transferencia de masa, sobrecargas hidráulicas y la actividad metanogénica entre otros.

2.2.1. Efecto de la temperatura

El efecto de la temperatura sobre el proceso de digestión anaerobia se ve reflejado principalmente en aspectos cinéticos y fisicoquímicos. En el primero, la temperatura afecta la velocidad de reacción aumentando o disminuyendo la rapidez con que los microorganismos consumen la materia orgánica para su crecimiento y producción de biogás, mientras que en el segundo la temperatura afecta la solubilidad de los gases generados y sales de ácidos grasos de cadena larga que resultan ser tóxicos principalmente en el rango termofílico, y por último sobre el equilibrio químico de especies químicas (NH_3 y AGV), que en su forma no ionizada también son tóxicos para los microorganismos (Khanal, 2011).

Como se presenta en la Figura 2.2, los microorganismos anaerobios pueden crecer en tres rangos de temperatura para lograr la degradación de la materia orgánica: i) psicrófilo (por debajo de 25 °C), ii) mesófilo (entre 25 y 45 °C), y iii) termofílico (entre 45 y 65 °C). Según Khanal (2011) el proceso de digestión anaerobia es más eficiente para los psicrófilos entre los 5 a 15 °C, para los mesófilos entre los 35 a 40 °C y para los termófilos cerca de los 55 °C.

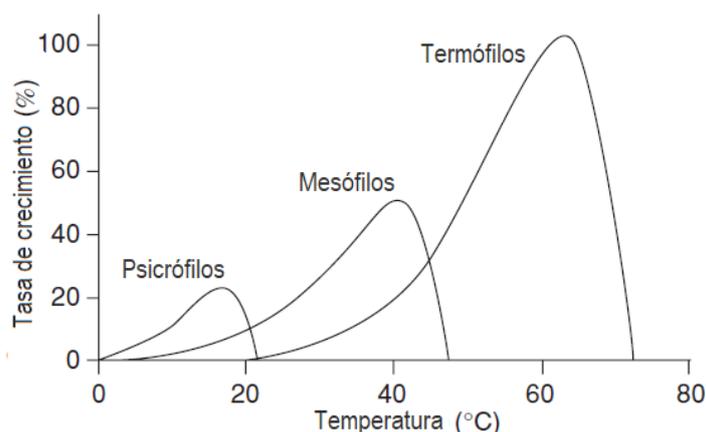


Figura 2.2. Tasa de crecimiento para microorganismos metanogénicos

Fuente: tomado de [Khanal \(2011\)](#)

Aunque anteriormente se mencionó que la temperatura influye en aspectos cinéticos y fisicoquímicos del proceso anaerobio, claramente la atención de la comunidad científica se ha centrado sobre el entendimiento del efecto de la temperatura sobre las velocidades de crecimiento de los microorganismos, puesto que permite obtener información específica de constantes cinéticas relacionadas con tasas máximas de crecimiento (μ_{max}), rendimiento de biomasa por sustrato consumido (Y), constante de saturación (k_s) y tasa específica máxima de sustrato consumido (k), que para efectos de aplicar modelos matemáticos al proceso de digestión anaerobia son muy útiles (Tabla 2.1).

Tabla 2.1. Constantes cinéticas representativas de la digestión anaerobia

Sustrato	Temperatura (°C)	μ_{max} (d^{-1})	Y ($mg\ SSV \cdot mg\ DQO^{-1}$)	k_s ($mg\ DQO \cdot L^{-1}$)	k ($mg\ DQO \cdot mg\ SSV^{-1} \cdot d^{-1}$)
Bacterias acidogénicas	35	2.0	0.15	200	13
Arqueas metanogénicas	35	0.4	0.03	50	13
Cultivos mixtos	35	0.4	0.18	-	2

Fuente: tomado de [Khanal \(2011\)](#)

Respecto a la definición del rango de temperatura que debe seleccionarse para llevar a cabo la aplicación de un proceso de digestión anaerobia, se puede decir que aún no hay un consenso sobre cuál es el mejor, puesto que su aplicación depende en gran parte de las condiciones ambientales de operación y disponibilidad de recursos económicos que permitan la adquisición del equipamiento necesario para su aplicación en un contexto determinado. Sin embargo, autores como [Henze y Harremoës \(1983\)](#) argumentan que los procesos termofílicos tienen tasas de generación de CH_4 casi constantes independientemente de la temperatura que se maneje en el rango de 50 a 70 °C y que dependiendo del tipo de sustrato estas pueden ser 25 a 50% más altas que la de un proceso en el rango mesofílico.

Por otro lado, [Zinder y Mah \(1979\)](#) manifiestan que los tiempos de retención hidráulico en el rango termofílico pueden verse reducidos en comparación con el mesofílico debido a las altas tasas de crecimiento de microorganismos en la etapa acidogénica, aunque presentan dificultades asociadas con una mayor susceptibilidad ante variaciones de carga orgánica, toxicidad y lisis celular. Por ejemplo, [Fang y Chung \(1999\)](#) realizaron estudios en dos reactores UASB de 2.8 L para el tratamiento de aguas residuales con alto contenido de proteínas a 37 °C y 55°C con 9 h de tiempo de retención hidráulico, encontrando que el reactor mesofílico removía de 83.5 a 85.1% de la DQO, mientras que el reactor termofílico solo de 68.5 a 82.7% (de una carga orgánica de 8 a 22 $g\ DQO \cdot L^{-1} \cdot d^{-1}$).

Lo anterior muestra que aunque la digestión anaerobia es un proceso que puede operar a temperaturas menores a los $20\text{ }^{\circ}\text{C}$, muchos reactores operan eficientemente a temperaturas en el rango mesofílico o termofílico, encontrándose sus valores óptimos a los $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $55\text{ }^{\circ}\text{C}$ respectivamente, debido en gran parte a que la estructura de las comunidades microbianas en ambos rangos de temperatura son muy diferentes, tanto así que pequeños cambios de temperatura (de 5 a $10\text{ }^{\circ}\text{C}$) de mesofílico a termofílico (o viceversa) pueden provocar una fuerte disminución en la producción de biogás (del 3 al 17% aproximadamente) hasta que alguna de las poblaciones microbianas vuelva a desarrollarse en el rango apropiado (Ward et al., 2008). Adicionalmente, Chae et al. (2008) indican que cuando ocurre una disminución de la temperatura simultáneamente se genera una reducción en la tasa de producción de AGV, concentración de NH_3 y tasa de utilización de sustrato con lo que disminuye el rendimiento, o también cuando aumenta la temperatura se observan aumentos del pH, hidrólisis de partículas orgánicas y potencial de producción de CH_4 (Khanal, 2011).

2.2.2. Efecto del tiempo de retención hidráulico

El tiempo de retención hidráulico (TRH) es el tiempo promedio de estancia de una cantidad infinitesimal de líquido en el reactor y está relacionado con la tasa de crecimiento de los microorganismos, la carga orgánica y la composición de sustrato, entre otras variables operativas en reactores anaerobios. De acuerdo con Mao et al. (2015) su determinación teórica se basa en la expresión matemática dada por la ecuación (2.2.1)

$$TRH = \frac{V_{liq}}{Q_{in}} \quad (2.2.1)$$

donde:

TRH : Tiempo de retención hidráulico (h)

V_{liq} : Volumen útil del reactor (L)

Q_{in} : Caudal o flujo de influente de sustrato ($L \cdot h^{-1}$)

De acuerdo con Zhang y Noike (1994), el tiempo de retención hidráulico es importante porque afecta el proceso de digestión anaerobia modificando aspectos relacionados con el lavado de la biomasa, la transferencia de masa y la remoción de la materia orgánica. Por ejemplo, se ha reportado que la disminución en el porcentaje de remoción de materia orgánica y acumulación de AGV en reactores anaerobios se debe al bajo tiempo de contacto entre la biomasa y el sustrato. Según Khan et al. (2016), esto se debe a que la tasa de crecimiento de las arqueas metanogénicas es más lenta que la tasa de crecimiento de bacterias acidogénicas, lo cual genera como resultado que al mantener un TRH bajo no se garantice el tiempo suficiente para que los microorganismos metanogénicos consuman AGV y progresivamente los conviertan en biogás (CH_4 y CO_2).

En cambio, los acidogénicos requieren un TRH mínimo para realizar la hidrólisis de los sustratos debido a que presentan tasas de crecimiento mucho más grandes (Tabla 2.2). Por ello, indistintamente del tipo de residuo (sólido o líquido) que se esté trabajando en un proceso anaerobio se recomienda que durante la fase acidogénica se manejen TRH de $6\text{ }h$ y en la fase metanogénica TRH de $16\text{ }h$, o también fijar un valor de TRH alto ($20\text{ }h$) para garantizar la presencia de microorganismos con velocidades de crecimiento limitantes.

Tabla 2.2. Parámetros de crecimiento de bacterias anaerobias y aerobias

Tipo de microorganismo	Tiempo de duplicación (d^{-1})	Producción celular ($g\ SSV \cdot g\ DQO^{-1}$)	Actividad celular ($g\ DQO \cdot g\ SSV^{-1} \cdot d^{-1}$)	k_s
Bacterias aerobias	0.03	0.4	57.8	0.25
Bacterias fermentativas	0.125	0.14	39.6	ND
Bacterias acetogénicas	3.5	0.03	6.6	0.4
Autotróficos H_2	0.5	0.07	19.6	0.004
Metanotrix	7	0.02	5	0.3
Metanosarcina	1.5	0.04	11.6	5

Fuente: tomado de [Lettinga \(1995\)](#)

[Monroy et al. \(1994\)](#) indican que el incremento en la concentración de AGV puede ser ocasionado por TRH cortos, puesto que la velocidad a la que se producen los ácidos orgánicos es mayor que la velocidad de consumo de estos, lo que origina una acumulación de AGV no degradado. Adicionalmente [Díaz y Espitia \(2002\)](#) indican que el TRH debe ser suficiente para permitir un estrecho contacto entre los reactantes, si se tiene en cuenta la baja velocidad de crecimiento de las bacterias metanogénicas, y además que el 90% de la energía que utiliza esta población es para la producción de CH_4 y solo el 10% para la síntesis celular. Teniendo en cuenta lo anterior, se muestra un resumen de estudios en los que se utilizan reactores anaerobios para el tratamiento de aguas residuales domésticas e industriales (Tabla 2.3).

Tabla 2.3. Parámetros de crecimiento de bacterias anaerobias y aerobias

Tipo de reactor	Tipo de agua residual	$DQO_{Influyente}$ ($g \cdot L^{-1}$)	Carga orgánica ($g\ DQO \cdot L^{-1} \cdot d^{-1}$)	Remoción (%)	TRH (h)
SBR	Suero de leche	37.4 a 65.7	5.2 a 14.1	46 a 63	2 a 5 d ^a
UASB + CSTR	Industria de pulpa y papel	5.5 a 6.6	16	85	5 ^b
UASB	Industria de almidón	20.0	15	77 a 93	24 ^c
UASB	Hidrolizado termico	38.0	2.8	72	48 ^d
UASB	Hidrolizado de paja de avena	23.6 a 30.5	2.5	90	24 ^e
AF	Agua residual doméstica	0.21	0.08 a 0.06	75 a 81	3 a 4 d ^f
ASBR	Hidrolizado ácido de agave	5.0	1.3	73	3 d ^g

Fuente: tomado de a) [Lo y Liao \(1989\)](#), b) [Tezel et al. \(2001\)](#), c) [Sklyar et al. \(2003\)](#), d) [Kaparaju et al. \(2009a\)](#), e) [Gomez-Tovar et al. \(2012a\)](#), f) [Ladu y wu Lü \(2014\)](#), g) [Arreola-Vargas et al. \(2015\)](#)

2.2.3. Toxicidad metanogénica

Considerando que el agua residual doméstica o agroindustrial puede contener compuestos tóxicos para microorganismos facultativos (bacterias hidrolíticas) y anaerobios (bacterias acidogénicas y arqueas metanogénicas) utilizados en procesos de digestión anaerobia, se pueden reconocer tres patrones de toxicidad (metabólico, fisiológico y bactericida) que al operar reactores anaerobios debe ser evaluados, puesto que durante e inmediatamente después de la exposición podría deteriorar determinados componentes celulares, dañar por completo una célula o no generar daño alguno (Tabla 2.4). Sin embargo, al tener en cuenta que la toxicidad de tipo metabólica tiene un patrón alto de toxicidad en el proceso de digestión anaerobia ocasionado por la asimilación de compuestos orgánicos como los ácidos grasos volátiles, furfural, fenoles u otros, se presenta a continuación una descripción general sobre cada uno de ellos enfatizando sobre aspectos relacionados con concentraciones y mecanismos de inhibición.

Tabla 2.4. Patrones de toxicidad

Tipo de toxina	Durante la exposición	Inmediatamente después de la exposición	Tiempo después de la exposición	Descripción
Metabólica	Baja	Alta	Alta	Sin daño
Fisiológica	Baja	Baja	Alta	Daño subcelular
Bactericida	Baja	Baja	Baja	Daño total celular

Fuente: tomado de [Lettinga \(1995\)](#) y [Chen et al. \(2008\)](#)

- **Lignina y derivados**

Este grupo lo constituyen principalmente compuestos derivados de residuos de cultivos agrícolas con alto contenido lignocelulósico, alta relación carbono:nitrógeno y presencia de derivados de lignina con grupos aldehídos o sustituyentes apolares altamente tóxicos que se generan durante el pretratamiento o hidrólisis ácida o básica para aumentar el rendimiento de biogás durante el proceso de digestión anaerobia. De acuerdo con [Rivard y Grohmann \(1991\)](#); [Parkin et al. \(1983\)](#); y [Chen et al. \(2008\)](#) los subproductos formados en el pretatamiento de residuos lignocelulósicos lo conforman el furfural, hidroximetilfurfural (HMF), vanilina, siringaldehído, ácido fórmico y ácido levulínico, considerados inhibidores potenciales de la digestión anaerobia aunque eventualmente los microorganismos pueden adaptarse y degradar estos subproductos a costa de alteraciones en la cinética del proceso.

Tanto el furfural como el HMF se producen durante la deshidrogenación de pentosas y hexosas (respectivamente), y sus niveles de producción dependen principalmente de la naturaleza del material lignocelulósico (composición y contenido de lignina y pectina), del grado de polimerización y cristalización de la celulosa, de la estructura de hemicelulosa (penetración al área superficial, volumen de poros) y de las condiciones de operación, entre otros ([Boopathy et al., 1993](#); [Liu et al., 2004](#)). De acuerdo con [Rasmussen et al. \(2014\)](#), la polimerización que se logra durante el pretratamiento hidrotérmico de residuos con alto contenido de celulosa, hemicelulosa y lignina deja como resultado la formación de furfural, 5-HMF y fenoles a través de distintos mecanismos de reacción (Figura 2.3), lo cual se convierte en un obstáculo muy importante al momento de ser utilizados como sustratos en un proceso de digestión anaerobia debido al aumento en la concentración inicial de inhibidores (Tabla 2.5).

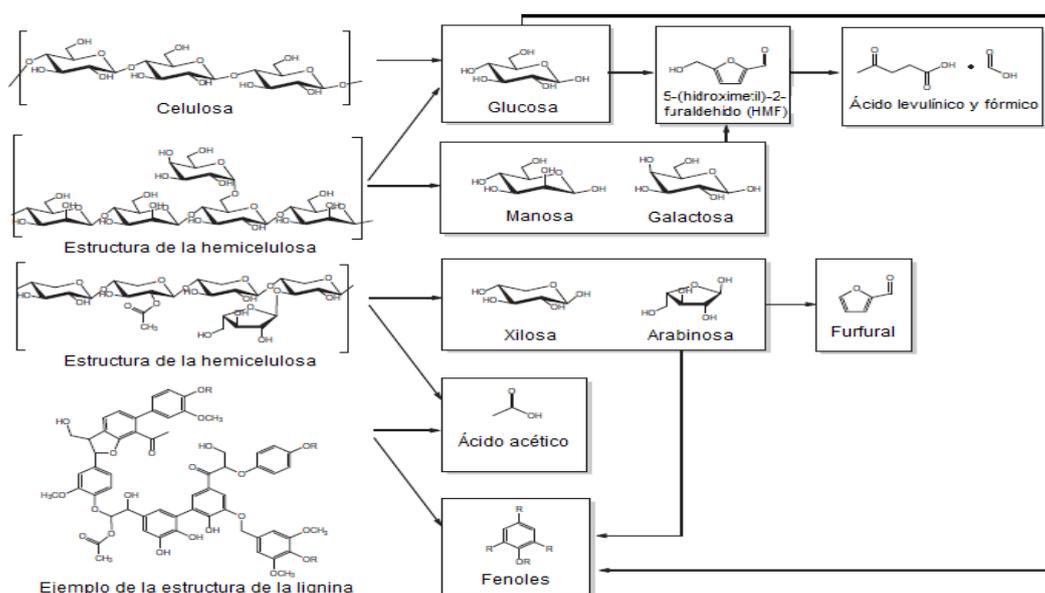


Figura 2.3. Mecanismos de reacción para biomasa lignocelulósica pretratada

Fuente: tomado de [Rasmussen et al. \(2014\)](#)

Tabla 2.5. Composición de hidrolizados lignocelulósicos después de la aplicación de pretratamientos

Pre-tratamientos	Sustratos	Azúcares solubles e inhibidores ($g \cdot L^{-1}$)					
		Hexosas	Pentosas	Azúcar soluble	Furfural	5-HMF	Fenoles
Térmico	Rastrojo de maíz	3.7	8.8	12.5	1.0	0.2	-
	Eucalipto	2.33	8.36	10.69	3.29	0.44	-
	Paja de trigo	4.4	25.0	29.4	0.89	0.26	-
	Paja de trigo	2.9	12.6	15.5	0.25	0.14	0.14
Ácido-Térmico	Residuos de yuca	5.1	9.4	14.5	2.05	-	-
	Cascara de arroz	1.83	8.61	10.44	0.94	-	0.15
	Paja de arroz	5.95	11.7	17.65	2.5	0.3	-
	Paja de arroz	4.01	14.4	18.41	0.1	0.9	-
	Caña forrajera	2.6	32.1	34.7	0.68	0.1	6.58
	Caña forrajera	2.8	16.3	19.1	6.08	0.78	7.21
Alcalino-Térmico	Tallos de Juliflora	-	-	3.16	0.135	-	3.94
	Tallos de Juliflora	-	-	7.43	0.842	-	3.32
	Cascara de arroz	7.97	1.12	9.09	0.08	0.032	5.32

Fuente: tomado de [Monlau et al. \(2014\)](#)

Con relación a las concentraciones de 5-HMF, furfural y fenoles que resultan inhibitorias durante el proceso, [Park et al. \(2011\)](#); y [Quéméneur et al. \(2012\)](#) encontraron que durante la etapa fermentativa concentraciones de 1 a $2 g \cdot L^{-1}$ ya empiezan a ser inhibitorias, mientras que durante la etapa metanogénica concentraciones mayores a $4 g \cdot L^{-1}$ de furfural, $6 g \cdot L^{-1}$ de 5-HMF y $3 g \cdot L^{-1}$ de fenol disminuyen en un 100% la eficiencia de producción de CH_4 ([Badshah et al., 2012](#); [Monlau et al., 2014](#)). En la Tabla 2.6 se presenta un resumen de las concentraciones inhibitorias de fenoles, furfural y 5-HMF encontradas en cultivos mixtos.

Tabla 2.6. Límites de concentración de inhibidores que afectan el proceso de digestión anaerobia

Tipo de inóculo	Condiciones del proceso	Tipo de sustrato	Tipo de inhibidor	Concentración ($g \cdot L^{-1}$)
Lodo anaerobio	Batch, 37 °C, 50 d	Ácido acético y propiónico	Fenol	>3.0
Lodo anaerobio	Batch, 37 °C, 140 d	Celulosa ($2.5 g \cdot L^{-1}$)	Fenol	2.0 a 4.0
Lodo granular	Batch, 35 °C, 35 d	Acetato ($3 g DQO \cdot L^{-1}$)	5-HMF	10.0
Lodo anaerobio	Batch, 37 °C, 25 d	Celulosa ($12 g \cdot L^{-1}$)	5-HMF	6.0
			Furfural	4.0 a 6.0

Fuente: tomado de [Monlau et al. \(2014\)](#)

- **Ácidos grasos volátiles (AGV)**

Los niveles de AGV son considerados como indicadores de la estabilidad de un sistema de tratamiento anaerobio. El término “volátil” indica que ellos pueden ser recuperados por destilación a presión atmosférica. Durante la degradación anaerobia, el material orgánico complejo es hidrolizado y fermentado en compuestos de bajo peso molecular en donde están incluidos los ácidos grasos de cadena corta (C_2 a C_6). Dentro de este grupo se incluyen principalmente los ácidos acético, propiónico y butírico y en menor medida los ácidos isobutírico, valérico, isovalérico y capríco. De acuerdo con [Khanal \(2011\)](#), cuando se lleva a cabo la acumulación de AGV e H_2 en un reactor anaerobio a causa de factores ambientales (pH, temperatura y potencial oxido-reducción), limitaciones de nutrientes y presencia de compuestos tóxicos (sulfatos, amonio, metales pesados, entre otros.) se rompe la simbiosis entre microorganismos acidogénicos y metanogénicos y el proceso deja de operar eficientemente. La presencia de H_2 es muy importante en el proceso, porque el aumento de su presión parcial inhibe la degradación de ácido propiónico generando igualmente una acumulación de este durante el proceso.

Sawyer et al. (2016) indican que en un proceso anaerobio operado de manera adecuada las concentraciones de AGV en el efluente son bajas y usualmente se encuentran en el rango de 50 a 250 $mg \cdot L^{-1}$ de ácido acético. Sin embargo, cuando las concentraciones superan los 2,000 $mg \cdot L^{-1}$ se presentan problemas de inhibición metanogénica. El ácido propiónico tiene su umbral de concentración inhibitoria a 6,000 $mg \cdot L^{-1}$ igualmente a pH neutro, aunque según Grady Jr et al. (2011) bajo estas condiciones es poco probable que el ácido propiónico llegue a tales concentraciones.

Un poco de lo mencionado anteriormente se debe a que la toxicidad de los AGV es muy dependiente del pH, y aunque este sea mayor a 7.0 unidades, se tendrán problemas de inhibición si los AGV alcanzan concentraciones elevadas por encima del umbral. Field (1987), citado por Lettinga (1995); y Pérez y Torres (2011) indican que una de las ventajas de la inhibición por AGV está en que es reversible en el sentido de que la actividad metanogénica se recupera (en varios días o semanas) una vez que el pH del reactor sea corregido o se encuentre cercano al valor de 7.0 unidades. En la Tabla 2.7 se presenta un resumen de las concentraciones inhibitorias de AGV en un proceso de digestión anaerobia.

Tabla 2.7. Concentraciones de AGVs inhibitorias en un proceso de digestión anaerobia

Sustrato	Concentración de AGVs ($g \cdot L^{-1}$)			Referencia
	Acético	Butírico	Propiónico	
Ácido propiónico	-	-	>3.0	Boone y Xun (1987)
	-	>70	>60	
Acético, propiónico y butírico	-	27	41	Jarrell et al. (1987)
	-	>70	>60	
	-	>70	>60	
Medio sintético	-	-	1.5 a 2.2	Barredo y Evison (1991)
Glucosa	-	-	>2.75	Pullammanapallil et al. (1991)
Celulosa	≥ 0.36	≥ 1.24	≥ 0.1	Jarrell et al. (1987)
Glucosa	>0.72	>2.48	>0.2	
Acético, propiónico y butírico	>2.4	>1.8	>0.9	Wang et al. (2009)
	-	-	<96	Wagner et al. (2014)

Fuente: tomado de Monlau et al. (2014)

2.3. Modelos matemáticos utilizados en procesos de digestión anaerobia

Teniendo en cuenta que son muchos los investigadores que se han dedicado a derivar expresiones cinéticas para describir el metabolismo microbiano, se presenta a continuación un resumen de los principales modelos cinéticos utilizados en el tratamiento anaerobio (Tabla 2.8), en donde cabe mencionar los modelos de Contois (1959); Chen y Hashimoto (1978); y Grau et al. (1975) al considerar la concentración de sustrato efluente (S) dependiente de la concentración inicial (S_0) en contraste con el modelo de Monod (1949), donde S es independiente de S_0 .

Tabla 2.8. Modelos cinéticos utilizados en el tratamiento anaerobio

Tipo de modelo	Función de crecimiento de biomasa	Función de consumo de sustrato	Función de sustrato remanente
Primer orden	$\mu = \frac{k \cdot S}{S_0 - 1} - b$	$\frac{-dS}{dt} = k \cdot S$	$S = \frac{S_0}{1 + k \cdot \theta_c}$
Grau et al. (1975)	$\mu = \frac{\mu_{max} \cdot S}{S_0} - b$	$\frac{-dS}{dt} = \frac{\mu_{max} \cdot X \cdot S}{Y \cdot S_0}$	$S = \frac{S_0 \cdot (1 + b \cdot \theta_c)}{1 + k \cdot \theta_c}$
Monod (1949)	$\mu = \frac{\mu_{max} \cdot S}{k_s + S} - b$	$\frac{-dS}{dt} = \frac{\mu_{max} \cdot X \cdot S}{Y \cdot (k_s + S)}$	$S = \frac{k_s \cdot (1 + b \cdot \theta_c)}{\theta_c \cdot (\mu_{max} - b) - 1}$
Contois (1959)	$\mu = \frac{\mu_{max} \cdot S}{B \cdot X + S} - b$	$\frac{-dS}{dt} = \frac{\mu_{max} \cdot X \cdot S}{Y \cdot (B \cdot X + S)}$	$S = \frac{B \cdot Y \cdot S_0 \cdot (1 + b \cdot \theta_c)}{B \cdot Y \cdot (1 + b \cdot \theta_c) + \theta_c \cdot (\mu_{max} - b) - 1}$
Chen y Hashimoto (1978)	$\mu = \frac{\mu_{max} \cdot S}{k \cdot S_0 + (1 - k) \cdot S} - b$	$\frac{-dS}{dt} = \frac{\mu_{max} \cdot X \cdot S}{k \cdot X + Y \cdot S}$	$S = \frac{k \cdot S_0 \cdot (1 + b \cdot \theta_c)}{(k - 1) \cdot (1 + b \cdot \theta_0) + \theta_0 \cdot \mu_{max}}$

Fuente: tomado de Pavlostathis y Giraldo-Gomez (1991)

En la Tabla 2.8 la notación empleada para los diferentes tipos de modelos es la siguiente:

- μ : Tasa específica de crecimiento (d^{-1})
- μ_{max} : Tasa máxima de crecimiento específico (d^{-1})
- k_s : Coeficiente de saturación media ($g S \cdot L^{-1}$)
- k : Tasa máxima de consumo de sustrato (d^{-1})
- S : Concentración efluente de sustrato ($g S \cdot L^{-1}$)
- S_0 : Concentración influente de sustrato ($g S_0 \cdot L^{-1}$)
- b : Tasa de decaimiento endógeno (d^{-1})
- X : Concentración de biomasa activa ($g \cdot X \cdot L^{-1}$)
- B : Constante de saturación específica ($g S \cdot g X^{-1}$)
- Y : Coeficiente de producción ($g_{biomasa} \cdot g_{sustrato}^{-1}$)
- θ_c : Tiempo de retención celular (d)

El enfoque de etapa limitante es uno de los aspectos tenidos en cuenta en la descripción cinética de procesos anaerobios mediante modelos matemáticos, puesto que generalmente, cuando un proceso se compone de una secuencia de reacciones, el paso limitante usualmente ocurre a una velocidad mucho más baja que los otros, de manera que aquel que presente la velocidad más baja de una secuencia de reacciones pasa a ser la velocidad limitante o dicho de otra manera, la que controla el proceso. En este sentido Lawrence (1971) propuso que la etapa limitante era aquella que generaba fallas en el proceso bajo condiciones impuestas de estrés cinético, interpretado como la disminución del tiempo de retención celular hasta valores límites que generan como resultado el lavado de los microorganismos. De acuerdo con Andrews (1965) y Lawrence (1971) cuando ocurren fallas por lavado disminuye la producción de CH_4 y el consumo de sustrato, y aumenta la concentración de AGV.

En el proceso de modelado de la cinética de digestión anaerobia varios investigadores han considerado solamente algunas etapas del proceso. Por ejemplo, O'Rourke (1968) empleó para la formulación de su modelo cinético la conversión de AGV en CH_4 mientras que Eastman y Ferguson (1981); y Ghosh (1981) señalan que la hidrólisis también es un paso importante. Dependiendo del tipo de residuo a ser digerido (soluble o particulado) se determina el paso limitante a ser considerado para así explicar la razón por la cual diferentes investigadores han utilizado residuos para desarrollar la formulación de modelos. De acuerdo con Speece (1983), en procesos de digestión anaerobia la etapa limitante se relaciona con la naturaleza del sustrato, la configuración del proceso, la temperatura y la carga orgánica.

Según Pavlostathis y Giraldo-Gomez (1991) usualmente se asume que la hidrólisis sigue una cinética de primer orden, pero para las otras etapas del proceso de digestión anaerobia la implementación del modelo de Monod resulta inadecuado para describir reacciones heterogéneas de sustratos complejos. Sin embargo, basado en datos generados en la literatura donde se estudia la hidrólisis, se ha encontrado que constituye el paso limitante en la conversión de sustratos complejos a CH_4 . Incluso en los casos en que se considera

que la acidogénesis o metanogénesis como las etapas limitantes, se ha determinado que la hidrólisis puede afectar la cinética general del proceso porque determina para un tiempo de retención dado la concentración máxima de sustrato disponible para microorganismos metanogénicos y simultáneamente la máxima tasa de crecimiento específica posible. Esto es muy diferente a lo que piensan autores como Lawrence (1971) en cuanto al concepto de etapa limitante en donde el “verdadero” punto de falla del proceso se encuentra cuando ocurre el lavado de microorganismos metanogénicos por las bajas tasas de crecimiento. Con base en lo mencionado anteriormente y bajo la hipótesis de que la etapa limitante conduce a la implementación de modelos simples y fácilmente utilizables que no logran describir muy bien el comportamiento de procesos anaerobios en condiciones dinámicas se presenta en lo que sigue una descripción general de las experiencias generadas en cuanto al uso de modelos matemáticos.

El modelo desarrollado por Graef y Andrews (1974) fue implementado para simular el arranque de un digestor anaerobio y la respuesta del mismo a sobrecargas orgánicas e hidráulicas y la entrada de inhibidores, por lo que se consideró como etapa limitante la metanogénesis acetoclástica y se asumió una cinética de crecimiento tipo Monod con inhibición de sustrato. El ácido acético en la forma no disociada se consideró como sustrato limitante e inhibidor simultáneamente. La implementación del modelo fue útil para identificar fallas en el reactor anaerobio cada vez que la concentración de AGV incrementaba y se observaba una caída del pH al mismo tiempo que la tasa de crecimiento de la población metanogénica disminuía en la medida que los periodos de inestabilidad se hacían más largos.

En cuanto a la consideración de la fase gaseosa dentro del modelo se estableció que seguía la ley de los gases ideales; el CH_4 pasaba directamente a la fase gaseosa por su baja solubilidad mientras que el CO_2 permanecía en forma disuelta en la fase líquida formando ácido carbónico que dependiendo del pH del medio podía disociarse en bicarbonato o carbonato. En la Tabla 2.9 se presenta un resumen de otros modelos que basados en lo desarrollado por Graef y Andrews (1974) asumieron también una cinética de crecimiento tipo Monod con inhibición de sustrato.

Tabla 2.9. Modelos que asumen que el sustrato inhibe la cinética de Monod en la metanogénesis

Modelo	Etapas limitantes	Causas predichas de la falla del reactor	Adecuado para la digestión de...
Graef y Andrews (1974)	Metanogénesis	Acumulación de AGV	Materia orgánica soluble
Hill y Barth (1977)	Metanogénesis	Acumulación de AGV Alta carga orgánica	Residuos de animales
Kleinstreuer y Poweigha (1982)	Metanogénesis	Acumulación de AGV Alta carga orgánica	Sustratos varios
Moletta et al. (1986)	Metanogénesis	-	Sustratos fácilmente fermentables
Smith et al. (1988)	Metanogénesis	Acumulación de AGV	Materia orgánica biodegradable

El modelo de Hill y Barth (1977) fue desarrollado especialmente para describir la digestión anaerobia de estiércol de animales asumiendo inhibición metanogénica por la concentración de AGV. Dentro de los grupos microbianos considerados se destacan los acidogénicos, homoacetogénicos y las arqueas metanogénicas acetoclásticas e hidrogenotróficas. Para el modelo se asumió que durante las cinco etapas era factible que se presentaran procesos de inhibición por la alta concentración de AGV y al mismo tiempo disminución en la tasa de crecimiento de los microorganismos. De acuerdo con este modelo, el proceso de digestión anaerobia falla cuando se acumulan AGV debido a la disminución en la tasa de consumo por bacterias acetogénicas. Un aspecto importante a tener en cuenta dentro de la formulación del modelo de Hill (1982) es que se utilizaron reacciones estequiométricas

específicas para cada grupo de microorganismos con base en reportes de literatura y coeficientes cinéticos generados para cada una de las condiciones experimentales en que se operaron reactores a escala piloto. En la Tabla 2.10 se presenta un resumen de los modelos matemáticos que consideran la concentración de AGV como parámetro clave en la digestión anaerobia.

Tabla 2.10. Modelos que consideran la concentración de AGV como parámetro clave en la digestión anaerobia

Modelo	Grupo de microorganismos por sustrato	Procesos	Cinética	Causas de inhibición
Hill (1982)	Acidogénicas	Acidogénesis	Monods	AGV totales
	Hidrogenotróficas	Acetogénesis		
	Homoacetogénicas	Homoacetogénesis		
	Acetotróficas	Metanogénesis		
Bryers (1985)	Acidogénicas	Acidogénesis	Monods	AGV totales
	Acetotróficas	Acetogénesis		
	Metanogénicas	Metanogénesis		

En el modelo de Mosey (1983) se consideró la presión parcial de H_2 como el parámetro clave para regular la digestión anaerobia de la glucosa debido al efecto generado sobre el potencial redox en la fase líquida. El modelo considera cuatro grupos de microorganismos que participan en la conversión de la glucosa a CH_4 y CO_2 : i) bacterias acidogénicas, ii) bacterias acetogénicas, iii) arqueas metanogénicas acetoclásticas, y iv) arqueas metanogénicas hidrogenotróficas.

En el modelo se asume que la producción de AGV depende del potencial redox o la relación $\frac{NADH}{NAD^+}$, la cual se determinó en función de la presión parcial de H_2 en la fase gaseosa tomando en cuenta las siguientes consideraciones: i) conservación del pH celular independientemente de las variaciones externas del medio, ii) difusión del H_2 a través de la membrana celular hasta igualar la presión parcial en la fase gaseosa del reactor, y iii) igualdad del potencial redox intracelular con la fase gaseosa líquida. Teniendo en cuenta que valores de pH menores a 6.0 unidades generan un efecto inhibitorio para todas las especies de microorganismos metanogénicos, el modelo logra predecir caídas del pH debido a incrementos repentinos en la carga orgánica y acumulación de AGV debido a que los microorganismos acetogénicos presentan tasas de crecimiento más lenta que los acidogénicos. En el modelo se considera también que una caída del pH inhibe a su vez el uso de H_2 por microorganismos metanogénicos generando un aumento en la presión parcial de H_2 que a su vez aumenta la acumulación de ácido propiónico y butírico. En la Tabla 2.11 se muestran tres modelos en los que se utiliza la concentración de H_2 como parámetro de control.

Tabla 2.11. Modelos que utilizan el H_2 como parámetros de control

Modelo	Etapa limitante	Adecuado para la digestión de ...
Mosey (1983)	Acetogénesis	Glucosa
Pullammanapallil et al. (1991)	Acetogénesis y metanogénesis	Glucosa
Costello et al. (1991)	Acetogénesis	Carbohidratos

El modelo de Angelidaki et al. (1993) describe la digestión anaerobia de estiércol y se consideran las etapas de hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis. El modelo tiene en cuenta la formación de NH_3 tanto en procesos de inhibición como en la autorre-

gulación del pH debido a la contribución en la alcalinidad total del medio. En este sentido, para el modelo se asume que el NH_3 inhibe la metanogénesis y por ende la acetogénesis por la acumulación de ácido propiónico y butírico que disminuyen el pH del medio. La autorregulación del pH se logra cuando la perturbación del sistema por acumulación de AGV es menor al valor que puede soportar por la presencia de especies químicas como CO_3^{-2} , HCO_3^- y NH_3 . En la Tabla 2.12 se presentan los modelos que consideran la inhibición por NH_3 y AGV.

Tabla 2.12. Modelos que consideran la inhibición por amoníaco, lisis e hidrólisis celular y sistema buffer

Modelo	Procesos	Tipo de cinética	Causas de inhibición
Angelidaki et al. (1993)	Hidrólisis enzimática	Primer orden	-
	Acidogénesis		AGV totales
	Acetogénesis	Monod, pH y Temperatura	Acetato
	Metanogénesis		NH_3 libre
Siegrist et al. (1993)	Hidrólisis	Primer orden Temperatura	-
	Fermentación de aminoácidos y azúcares	Monod Temperatura	Presión parcial de H_2 Acetato y presión parcial de H_2
	Oxidación anaerobia de ácidos grasos	Monod Temperatura	Acetato
	Conversión de acetato a CH_4	Monod	pH NH_3 libre
	Conversión de H_2 a CH_4	Temperatura	pH

El modelo de Bernard et al. (2001) se aplicó al tratamiento de vinazas vitivinícolas considerando la acidogénesis y metanogénesis del proceso; en la primera etapa bacterias acidogénicas transforman el sustrato en AGV y CO_2 mientras que en la segunda microorganismos metanogénicos aprovechan los AGV para generar CH_4 principalmente. Para el modelo se tiene en cuenta que la concentración total de carbono inorgánico está dada por la concentración de CO_3^{-2} y HCO_3^- y los AGV totales se encuentran en su forma disociada debido a los rangos de operación del pH (6 a 8 unidades). En la dinámica del biogás generado se tiene en cuenta únicamente la presencia de CH_4 y CO_2 , y por la baja solubilidad del CH_4 se asume que la concentración disuelta es despreciable y por lo tanto la cantidad de CH_4 producida sale del reactor con un flujo proporcional a la tasa de reacción de la metanogénesis mientras que para el CO_2 se considera el equilibrio en la interfase gas-líquido de manera que su estimación se obtiene como la diferencia entre la concentración total de carbono inorgánico, AGV disociados y alcalinidad bicarbonática. Teniendo en cuenta que para calibrar el modelo se realizaron ensayos experimentales con biorreactores de película fija, no se consideró el efecto de la tasa de dilución; sin embargo, para considerar el desprendimiento de biomasa se asumió un factor α en la fase líquida para reflejar la heterogeneidad del proceso ($0 < \alpha < 1$) donde $\alpha=0$ corresponde a un reactor ideal de película fija mientras que $\alpha=1$ a un reactor completamente mezclado tipo CSTR.

A partir de los diferentes modelos generados para el tratamiento de aguas residuales domésticas e industriales, se estableció en 1997 el grupo de modelado en digestión anaerobia de la IWA en el marco del 8° Congreso Mundial de Digestión Anaerobia (Sen-

dai, Japón) con el objetivo de desarrollar un modelo generalizado que pudiera describir tanto los procesos bioquímicos como los fisicoquímicos. En este sentido [Batstone \(2002\)](#) desarrollaron el modelo ADM1 (Anaerobic Digestion Model 1), el cual incluye procesos bioquímicos relacionados con la descomposición de carbohidratos, proteínas y lípidos a través de la hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis, donde se obtiene como producto final CH_4 y CO_2 ; mientras que en los procesos fisicoquímicos se incluyeron reacciones químicas de asociación y disociación, y la transferencia de materia en la interfase gas-líquido. El ADM1 considera alrededor de 26 variables de concentración en estado dinámico y 8 variables implícitas según el tipo de reactor y modo de operación.

Teniendo en cuenta que la implementación del ADM1 involucra el conocimiento de muchas variables de estado, en la práctica se convierte en algo complejo que impide su aplicación para lograr la optimización y control en sistemas de tratamiento y aprovechamiento de biogás mediante la tecnología de digestión anaerobia. En este sentido, [Hassam et al. \(2015\)](#) proponen el modelo AM2HN, tomando como base el modelo AM2 propuesto por [Bernard et al. \(2001\)](#) debido a su desempeño, estabilidad y robustez. Al igual que en el modelo AM2, se considera la etapa acidogénica y metanogénica, pero dentro del balance de cationes y aniones se tiene en cuenta el efecto del nitrógeno amoniacal en forma de NH_3 debido a la inhibición que genera en microorganismos metanogénicos.

Finalmente [Borisov et al. \(2016\)](#) desarrollaron un modelo matemático para describir simultáneamente la producción de H_2 y CH_4 en dos biorreactores (acidogénico y metanogénico); en el primero se llevó a cabo la producción de H_2 mediante la descomposición de residuos orgánicos a través de la hidrólisis y acidogénesis, mientras que en el segundo biorreactor la producción de CH_4 a partir del consumo de AGV. Este modelo se desarrolló con el objetivo de obtener un mejor rendimiento (43 %) con respecto al proceso convencional de producción de CH_4 en una sola etapa y simplificar la estructura básica del modelo ADM1, para lo cual se realizaron las siguientes consideraciones: i) omisión de la acetogénesis en el segundo biorreactor para considerar solo la metanogénesis, ii) no hay transferencia de materia en la fase líquido-gas por la baja solubilidad del H_2 y CH_4 , iii) se omite la presencia de microorganismos hidrogenotróficos en el proceso, y iv) no se tiene en cuenta el efecto del pH debido a que se controla en el biorreactor acidogénico en el rango de 5.0 a 5.5 unidades mientras que en el metanogénico en el rango de 6.5 a 8.5 unidades.

Capítulo 3

Materiales y métodos

El trabajo experimental se realizó a escala de laboratorio en las instalaciones de la Unidad Académica Juriquilla del Instituto de Ingeniería, en el Laboratorio de Investigación en Procesos Avanzados de Tratamiento de Aguas. Cabe mencionar que el marco metodológico empleado durante el proyecto de investigación se dividió en dos grandes etapas, en las que primero se recopiló información para caracterizar el sistema experimental conformado por dos reactores UASB (Etapa I), y posteriormente se realizó la selección e implementación de un modelo matemático (Etapa 2) aplicado al proceso de digestión anaerobia.

En la Etapa I, la actividad 1 marcó la línea base para el desarrollo del trabajo experimental debido a que fue necesario recabar información relacionada con la caracterización fisicoquímica del bagazo de agave, y familiarizarse con metodologías para la preparación y caracterización fisicoquímica de hidrolizados (sustrato); por otra parte, en la actividad 2 se inició con la generación de datos operando el sistema experimental en régimen discontinuo (o lote) para lograr la aclimatación del inóculo al sustrato, monitorear la producción de biogás e implementación de cinéticas de remoción de sustrato. Finalmente, en la actividad 3 se llevó a cabo la operación del sistema experimental en régimen continuo bajo condiciones muy específicas en cuanto a valores del tiempo de retención hidráulico (TRH) o carga orgánica volumétrica (COV) que permitieran adicionalmente realizar una evaluación del desempeño del proceso monitoreando el flujo y volumen acumulado de biogás, eficiencia de remoción (%) y capacidad buffer a partir del índice de relaciones de alcalinidad (R_{alc}).

En la Etapa II, la actividad 1 fue la selección de modelos matemáticos que al menos en estructura representaran adecuadamente el proceso de digestión anaerobia al considerar distintas poblaciones de microorganismos y procesos bioquímicos ligados a las condiciones operacionales con que se evaluó el proceso en régimen discontinuo y continuo. Una vez definido el modelo matemático y su estructura, se continuó con la actividad 2, la cual consistió en desarrollar un simulador numérico utilizando el software RStudio versión 3.5.1 y posteriormente implementarlo a partir de los datos experimentales generados durante la operación de los reactores UASB.

Cabe mencionar que en esta instancia también se llevó a cabo la parametrización del modelo matemático (actividad 3) con base en parámetros cinéticos y estequiométricos sugeridos en la literatura (Bernard et al., 2001; Hassam et al., 2015) y determinados numéricamente. Finalmente, en la actividad 4 se elaboró una propuesta de algoritmos que ajustados experimentalmente lograron maximizar la producción de biogás en reactores

UASB alimentados con hidrolizados de bagazo de agave. En este sentido la Figura 3.1 resume las etapas y actividades realizadas durante el proyecto de investigación.

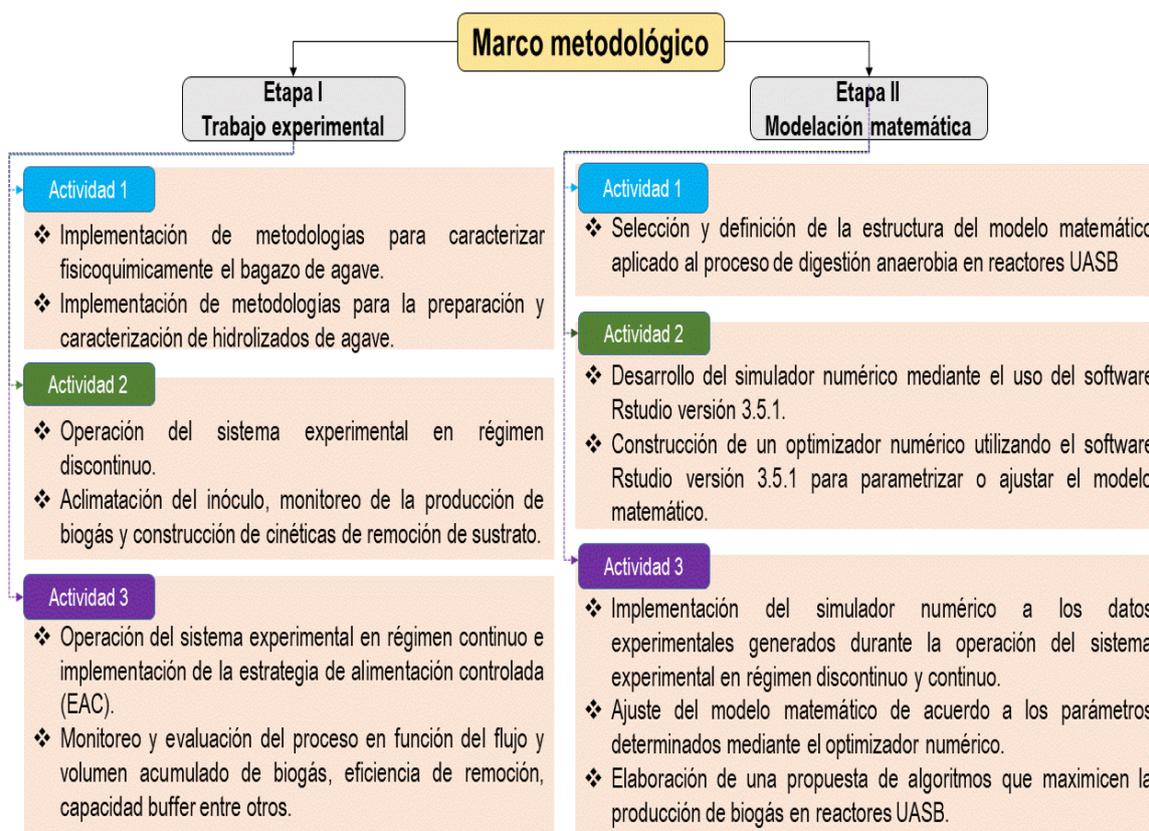


Figura 3.1. Etapas y actividades del proyecto de investigación

3.1. Caracterización fisicoquímica del bagazo de agave

Se le llama bagazo al residuo lignocelulósico fibroso que queda después de la aplicación de un tratamiento térmico y mecánico a la cabeza madura del agave (también conocida como piña) para extraer los azúcares fermentables usados en la producción de tequila (Figura 3.2). En este sentido para fines del proyecto de investigación, el bagazo de agave se recolectó de una destilería local situada en el Valle de Amatitán (estado de Jalisco).



Figura 3.2. Muestra del lote de bagazo de *Agave tequilana Weber*

La caracterización fisicoquímica (Tabla 3.1) se realizó a partir de las fracciones contenidas en el bagazo a través de la determinación de fibra detergente neutro, fibra detergente ácido, lignina detergente ácida, sólidos totales y cenizas siguiendo la metodología propuesta por [Van Soest et al. \(1991\)](#). Cabe resaltar que la colecta del bagazo de agave no fue hecha por el grupo de investigación, sino por otros equipos de investigación del clúster, quienes proporcionaron dicho material.

Tabla 3.1. Caracterización fisicoquímica del bagazo de *Agave tequilana* Weber

Parámetro	Valor
Humedad (%)	6.56
Sólidos totales (%)	93.44
Cenizas (%)	3.52
Hemicelulosa (%)	10.86
Celulosa (%)	56.44
Lignina (%)	15.24
Compuestos solubles (%)	13.94

3.2. Preparación de hidrolizados de agave

La preparación de hidrolizados de origen lignocelulósicos como el bagazo de agave es posible mediante la implementación de métodos físicos, químicos o biológicos como el tratamiento hidrotérmico, ácido, alcalino, con solventes orgánicos y biológicos con hongos, bacterias y enzimas. Particularmente en este trabajo se hizo uso de dos metodologías de pretratamiento, la primera con ácido clorhídrico (*HCl*) debido a que tiene la capacidad de liberar azúcares fermentables, y la segunda con microorganismos ruminales que fácilmente pueden convertir carbohidratos complejos (celulosa, almidón, pectina y hemicelulosa) en AGV de bajo peso molecular (acetato, butírico y propiónico entre otros), CO_2 y CH_4 . Por esta razón de ahora en adelante a los hidrolizados generados con la primera y segunda metodología de pretratamiento se denominarán hidrolizado ácido e hidrolizado ruminal, respectivamente.

La metodología seleccionada para la preparación del hidrolizado ácido de agave fue una adaptación del trabajo previo realizado por [Arreola-Vargas et al. \(2015\)](#); y [Breton-Deval et al. \(2018\)](#) en el que optimizaron variables como los tiempos de hidrólisis, temperatura, concentración de *HCl* y cantidad de bagazo (Tabla 3.2). Cabe señalar que después de obtenido el hidrolizado ácido se pasó por una malla o sedaso de tela para retener los sólidos de gran tamaño y se filtró mediante un filtro de fibra de vidrio con poro de 1.5 μm , teniendo en cuenta que el pH del hidrolizado ácido era muy bajo (0.64 ± 0.18) no fue necesario acidificarlo para su posterior uso en los ensayos experimentales y caracterización fisicoquímica (DQO, AGV, carbohidratos e inhibidores).

Tabla 3.2. Condiciones generales para la preparación de hidrolizado ácido de agave

Tipo de hidrolizado	Variables	Unidades	Valores
Ácido	Tiempo de hidrólisis	<i>min</i>	133
	Temperatura	$^{\circ}C$	130
	Concentración de <i>HCl</i>	<i>%v/v</i>	1.9
	Cantidad de bagazo	<i>g</i>	25

Por otra parte, la metodología para la preparación del hidrolizado ruminal se adaptó de trabajos previos realizados por el grupo de investigación (Barragán-Trinidad et al., 2017), en donde se utilizó un reactor de 100 L con un volumen de trabajo de 80 L garantizando una relación $\frac{S}{X}$ de 9 (sustrato: bagazo de Agave tequilana, inóculo: contenido ruminal), un pH inicial de 7.0 unidades, un contenido de ST del 10 % y medio mineral según lo propuesto por McDougall (1948). El reactor se agitó dos veces al día de forma manual y se mantuvo a temperatura ambiente (20 ± 6 °C) durante los 13 días que duró la hidrólisis del bagazo de agave, en este tiempo se tomaron muestras de la fracción líquida; cabe señalar, que debido a que al final del pretratamiento el hidrolizado ruminal alcanzó un pH de 5.4 unidades, se acidificó a un pH menor de 2.0 unidades para conservarlo, se centrifugó y filtró para su posterior uso en los ensayos experimentales y caracterización fisicoquímica (DQO, AGV, carbohidratos e inhibidores). La Tabla 3.3 muestra las condiciones básicas para la implementación de la metodología de preparación de hidrolizado ruminal.

Tabla 3.3. Condiciones generales para la preparación de hidrolizado ruminal de agave

Tipo de hidrolizado	Variables	Unidades	Valores
Ruminal	Contenido de sólidos	$g\ ST \cdot g^{-1}$	0.10
	Relación S/X	-	9
	Volumen de trabajo	L	80
	Contenido total de sólidos	kg	8
	Temperatura	°C	20±6
	Tipo de mezclado	-	Manual
	Tiempo de hidrólisis	d	13
	pH inicial	-	7.0

En relación a la caracterización fisicoquímica de los hidrolizados de agave, se evaluaron distintos parámetros fisicoquímicos tales como el pH, la DQO, carbohidratos (glucosa, xilosa y celobiosa), AGV (acetato, propionato, butirato, entre otros), inhibidores (HMF y furfural) y fenoles a través de los métodos que se presentan en la Tabla 3.4, considerando de igual manera que la medición de cada uno de estos parámetros se realizó al influente y efluente de los reactores UASB operados en régimen discontinuo y continuo.

Tabla 3.4. Métodos empleados para la caracterización de hidrolizados de agave

Parámetro	Métodos
pH	APHA (1992)
DQO _{Total} DQO _{Soluble}	Método Hach
Carbohidratos _{Total} Carbohidratos _{Soluble}	Dubois et al. (1956)
Fórmico	Cromatografía líquida (HPLC)
Acetato	
Propionato	
Butirato	
Isovalerato	
Celobiosa	
Glucosa	
Xilosa	
Succínico	
Láctico	
Valerato	
HMF	
Butanol	
Caproato	
Furfural	
Fenoles	APHA(1992); y Buitrón et al. (2005)

Método HACH. Este método se implementó para la determinación de la demanda química de oxígeno (DQO), puesto que se trata de un parámetro que determina la cantidad de materia orgánica y/o inorgánica susceptible a ser oxidada por un oxidante químico como el dicromato en solución ácida, y se expresa en gramos de oxígeno molecular por litro ($g O_2 \cdot L^{-1}$). Para determinar la DQO de los hidrolizados de agave se colectaron 2 mL de muestra en microtubos de centrifuga libres de contaminantes orgánicos y se centrifugó a 13,000 r.p.m durante 10 min. La muestra centrifugada se almacenó a $-20\text{ }^{\circ}C$ hasta su análisis; el cual consistió en diluir la muestra a una concentración conveniente y seguidamente verter 2 mL de la misma en tubos HACH hasta conseguir su digestión por 2 h a $150\text{ }^{\circ}C$, después de concurrido este tiempo se realizó su lectura en un espectrofotómetro HACH DR2800.

Método Dubois et al. (1956). También conocido como el método fenol-ácido sulfúrico, ampliamente utilizado para la determinación de carbohidratos en sustratos de origen lignocelulósicos. Para determinar los carbohidratos en los hidrolizados de agave se colectaron muestras en recipientes de vidrio o plástico libre de contaminantes orgánicos. Posteriormente, de la muestra seleccionada se centrifugaron 2 mL a 13,000 r.p.m. durante 10 min y se conservaron a $2-6\text{ }^{\circ}C$ por no más de 28 d. Para su análisis, se realizó la dilución conveniente (1:50) a partir de la cual se tomaron 0.5 mL de muestra, se depositó en viales de digestión HACH, se añadió 0.5 mL de solución de fenol al 5 % y 2.5 mL de H_2SO_4 concentrado. Finalmente, se ajustó la absorbancia del espectrofotómetro a 490 nm para determinar la concentración carbohidratos de la muestra.

Cromatografía líquida (HPLC). El método de cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC, de *High-Performance Liquid Chromatography*) se utilizó principalmente para cuantificar la concentración de compuestos solubles como la glucosa, xilosa, acetato, butirato, propionato y furfural en los hidrolizados de agave, por lo que el HPLC (7890 B, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) utilizado se equipó con un detector de ionización de llama (FID) y una columna DB-FFAP de 15 m de longitud ($530\text{ }\mu m \times 1\text{ }\mu m$). La temperatura del inyector y detector se mantuvieron a 190 y $210\text{ }^{\circ}C$, respectivamente. Inicialmente la temperatura en la columna era de $60\text{ }^{\circ}C$, después incrementaba a $90\text{ }^{\circ}C$ a razón de $15\text{ }^{\circ}C \cdot min^{-1}$, posteriormente a $170\text{ }^{\circ}C$ a razón de $25\text{ }^{\circ}C \cdot min^{-1}$, hasta mantenerse a ésta temperatura por 3.5 min. Como gas acarreador se usó nitrógeno (N_2) a $25\text{ mL} \cdot min^{-1}$.

Método APHA(1992) y Buitrón et al. (2005). Mediante la implementación de este método logró cuantificarse la concentración de fenoles en los hidrolizados de agave, por lo que inicialmente se filtraron 3 mL de muestra mediante filtros de nitro celulosa de $0.45\text{ }\mu m$, seguidamente la muestra filtrada se diluyó lo necesario para alcanzar una concentración de fenol en el rango $0-5\text{ mg} \cdot L^{-1}$ considerando que el volumen de la muestra final debía ser de 50 mL. Se adicionó de forma ordenada 3 soluciones a base de fosfatos e hidróxido de amonio (solución N°1), 4-aminoantipirina (solución N°2) y ferrocianuro de potasio (solución N°3); finalmente se dejó reaccionar a temperatura ambiente por 15 min para luego realizar la lectura correspondiente en un espectrofotómetro HACH DR2800 considerando una curva de calibración en el rango de $0-5\text{ mg} \cdot L^{-1}$.

3.3. Caracterización fisicoquímica de hidrolizados de agave

Luego de considerar las diferencias entre las dos metodologías para la preparación del hidrolizado ácido y ruminal, se caracterizaron en función de los parámetros fisicoquímicos presentados en la Tabla 3.5; teniendo en cuenta que los valores de concentración de cada parámetro corresponden a los hidrolizados de agave crudos, es decir tal cual como salen después de haber implementado las metodologías de pretratamiento.

Tabla 3.5. Caracterización fisicoquímica de hidrolizados de agave crudos (concentrados)

Parámetro	Unidad	Hidrolizado Ácido	Hidrolizado Ruminal	Método
pH	-	<1.0	5.4	APHA (1992)
DQO _{Total}	$g O_2 \cdot L^{-1}$	23.25±0.64	25.8±0.14	Método Hach
DQO _{Soluble}	$g O_2 \cdot L^{-1}$	22.35±0.07	22.2±0.14	
Carbohidratos _{Total}	$g \cdot L^{-1}$	11.67±0.34	2.41±0.01	Dubois et al. (1956)
Carbohidratos _{Soluble}	$g \cdot L^{-1}$	9.17±0.05	1.82±0.09	
Fórmico	$g \cdot L^{-1}$	0.47±0.08	-	Cromatografía líquida (HPLC)
Acetato	$g \cdot L^{-1}$	4.45±0.79	8.38±0.05	
Propionato	$g \cdot L^{-1}$	-	3.00±0.02	
Butirato	$g \cdot L^{-1}$	-	2.16±0.04	
Isovalerato	$g \cdot L^{-1}$	-	0.78	
Celobiosa	$g \cdot L^{-1}$	2.07±0.02	0.14±0.01	
Glucosa	$g \cdot L^{-1}$	1.41±0.01	0.17±0.01	
Xilosa	$g \cdot L^{-1}$	8.00±0.64	0.21±0.02	
Succínico	$g \cdot L^{-1}$	0.16	0.29±0.06	
Láctico	$g \cdot L^{-1}$	-	-	
Valerato	$g \cdot L^{-1}$	-	0.75±0.03	
HMF	$g \cdot L^{-1}$	0.46±0.01	0.20	
Butanol	$g \cdot L^{-1}$	-	0.07±0.03	
Caproato	$g \cdot L^{-1}$	-	0.46±0.08	
Furfural	$g \cdot L^{-1}$	0.51	0.13±0.02	
Fenoles	$mg \cdot L^{-1}$	126±2.83	25±0.85	

3.4. Estrategia de aclimatación en régimen discontinuo

En la configuración del sistema experimental utilizado para llevar a cabo la estrategia de aclimatación en régimen discontinuo, se emplearon inóculos granulares anaerobios procedentes de un biodigestor UASB mesofílico que trata aguas residuales de una industria cervecera, los cuales previamente fueron seleccionados por el grupo de investigación para caracterizarlos en función de su Potencial Bioquímico de Metano (PBM) en condiciones mesofílicas (35 °C) y termofílicas (55 °C), tal como se muestra en la Tabla 3.6.

Tabla 3.6. Caracterización de inóculos mesofílico y termofílico en PBM

Parámetro	Unidad	Valor
SV	$g SV \cdot g_{Inoculo}^{-1}$	0.09
ST	$g SV \cdot g_{Inoculo}^{-1}$	0.69
pH	-	7.3
DQO Inicial	$g DQO \cdot L^{-1}$	5
PBM Mesofilia (35 °C)	$N mL CH_4 \cdot g DQO_{Consumida}^{-1}$	300
PBM Termofilia (35 °C)	$N mL CH_4 \cdot g DQO_{Consumida}^{-1}$	250

Los reactores UASB mesofílico (35 °C) y UASB termofílico (55 °C) empleados en la configuración del sistema experimental, se diseñaron y construyeron para un volumen de trabajo de 2.0 L, un espacio de cabeza de 0.2 L, una altura útil de 71 cm, diámetro de 6.0 cm e instrumentados con equipos de control de temperatura, medidores de flujo de biogás, sensores de CH_4 , entre otros (Figura 3.3).



a) Controlador de temperatura, b) Medidor de flujo de biogás, c) Sifón invertido, d) Sensor de CH₄, e) Reactor UASB mesofílico, f) Reactor UASB termofílico, g) Bomba de recirculación, h) Controlador Lógico Programable (PLC),

Figura 3.3. Configuración del sistema experimental

La estrategia de aclimatación en régimen discontinuo fue requisito necesario para la operación del sistema experimental en régimen continuo y la implementación de una estrategia de alimentación controlada (EAC). Para ello, se trabajó inicialmente con el hidrolizado ácido de agave durante 10 meses con ciclos de operación de 7 días para el reactor UASB mesofílico y 3 días para el reactor UASB termofílico, entretanto con el hidrolizado ruminal se manejaron ciclos de 10 días durante 4 meses aproximadamente.

Para cada uno de los hidrolizados se garantizó la concentración de DQO, carbohidratos, AGV e inhibidores que se muestra en la Tabla 3.7 mediante la aplicación de la ecuación (3.4.1), en la cual se determina el volumen de hidrolizado de agave crudo (ácido o ruminal) necesario para garantizar una concentración teórica de DQO de $5.0 \text{ g O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ en un volumen útil de reactor UASB de 2.0 L .

$$V_{DQO_{H. \text{crudo}}}^{\text{teorico}} = \frac{C_{DQO_{H. \text{diluido}}}^{\text{teorica}} * V_{liq}}{C_{DQO_{H. \text{crudo}}}^{\text{teorica}}} \quad (3.4.1)$$

donde:

$V_{DQO_{H. \text{crudo}}}^{\text{teorico}}$: Volumen de hidrolizado de agave crudo (L)

$C_{DQO_{H. \text{crudo}}}^{\text{teorica}}$: Concentración teórica del hidrolizado de agave crudo ($20.0 \text{ g O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$)

$C_{DQO_{H. \text{diluido}}}^{\text{teorica}}$: Concentración teórica de hidrolizado de agave diluido ($5.0 \text{ g O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$)

V_{liq} : Volumen útil del reactor (2.0 L)

Con base en lo mencionado anteriormente, se determinó que teóricamente se necesitan 0.5 L de hidrolizado de agave crudo (ácido o ruminal) para garantizar una concentración de $5.0 \text{ g O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$, tal como se muestra a continuación:

$$V_{DQO_{H. \text{crudo}}}^{\text{teorico}} = \frac{5 \text{ g O}_2}{L} * \frac{2.0 \text{ L}}{20.0 \text{ g O}_2 / L}$$

$$V_{DQO_{H. \text{crudo}}}^{\text{teorico}} = 0.5 \text{ L}$$

Tabla 3.7. Caracterización fisicoquímica de hidrolizados de agave diluidos

Parámetro	Unidad	Hidrolizado Ácido	Hidrolizado Ruminal	Referencia
pH	-	7.03±0.03	7.04±0.04	APHA (1992)
DQO _{Total}	$g O_2 \cdot L^{-1}$	5.81±0.08	5.75±0.04	Método Hach
DQO _{Soluble}	$g O_2 \cdot L^{-1}$	5.59±0.01	5.36±0.02	
Carbohidratos _{Total}	$g \cdot L^{-1}$	2.92±0.04	0.40±0.03	Dubois et al. (1956)
Carbohidratos _{Soluble}	$g \cdot L^{-1}$	2.47±0.024	0.32±0.03	
Fórmico	$g \cdot L^{-1}$	0.12±0.02	-	Cromatografía líquida (HPLC)
Acetato	$g \cdot L^{-1}$	1.11±0.20	1.67±0.05	
Propionato	$g \cdot L^{-1}$	-	0.62±0.06	
Butirato	$g \cdot L^{-1}$	-	0.47±0.01	
Isovalerato	$g \cdot L^{-1}$	-	0.25±0.02	
Celobiosa	$g \cdot L^{-1}$	0.52±0.01	0.03	
Glucosa	$g \cdot L^{-1}$	0.35±0.003	0.04	
Xilosa	$g \cdot L^{-1}$	2.00±0.16	0.05±0.01	
Succínico	$g \cdot L^{-1}$	0.040	0.09±0.01	
Láctico	$g \cdot L^{-1}$	-	0.11±0.01	
Valerato	$g \cdot L^{-1}$	-	0.25±0.02	
HMF	$g \cdot L^{-1}$	0.11	0.05	
Butanol	$g \cdot L^{-1}$	-	-	
Caproato	$g \cdot L^{-1}$	-	0.14±0.01	
Furfural	$g \cdot L^{-1}$	0.13	0.17±0.01	
Fenoles	$g \cdot L^{-1}$	32.5±0.71	4.47±0.04	

Por otra parte, la adquisición de datos en cada uno de los reactores UASB se llevó a cabo mediante la implementación de un Controlador Lógico Programable (PLC) que de manera automática se encargaba de almacenar información relacionada con el flujo ($LCH_4 \cdot d^{-1}$), volumen acumulado (LCH_4) y contenido (%) de CH_4 .

Con respecto al contenido de CH_4 , cabe recalcar que diariamente se tomaron muestras puntuales del biogás generado y se procesaron mediante un cromatógrafo de gases SRI 8610C equipado con un detector de conductividad térmica y dos columnas de acero inoxidable empacadas con sílica gel (1.83 m x 0.32 cm y columna de tamiz molecular 13x de 1.82 m x 3.175 mm). La temperatura de la columna era de 40 °C por 4 min, y una rampa de 20 °C · min⁻¹ hasta alcanzar 110 °C. Las temperatura del inyector y detector eran de 90 y 150 °C, respectivamente. Se utilizó nitrógeno (N_2) como gas acarreador con un flujo de 20 mL · min⁻¹. Con este equipo se cuantificó específicamente la proporción (%) de hidrógeno (H_2), oxígeno (O_2), metano (CH_4) y dióxido de carbono (CO_2).

Por otra parte, también se implementaron sensores de CH_4 de tipo infrarrojo (IR15TT-R) de la marca SGX SENSORTECH, los cuales se enlazaron al PLC para realizar mediciones continuas del contenido de CH_4 . Teniendo en cuenta, que mediante este tipo de sensores es posible estimar la concentración de CO_2 y CH_4 a niveles de detección iguales a 50 ppm y 60 ppm, respectivamente. Además de que su rango de operación a temperatura ambiente va desde los -20 a 55 °C, soportan un rango de presión de 30 a 130 kPa y requieren para su funcionamiento un voltaje de 3 a 5 V junto con un amperaje de 60 mA. Finalmente, la información obtenida de manera puntual y continua se normalizó a condiciones estándar de 273 K y 1 atm de presión atmosférica.

Es importante mencionar también, que los reactores se operaron con un caudal de recirculación de 70 a 80 mL · min⁻¹ para garantizar una velocidad ascensional entre 1.0 a 1.8 m · h⁻¹ teniendo en cuenta como referencia valores reportados en la literatura (von Sperling y de Lemos Chernicharo, 2005). Para mantener la velocidad ascensional en cada uno de los reactores UASB se calibraron los controladores de flujo, puesto que se observaron variaciones en función del área de flujo (taponamiento) de las mangueras de alimentación.

De esta manera se presentan en la Figura 3.4 las curvas de calibración elaboradas para los reactores UASB.

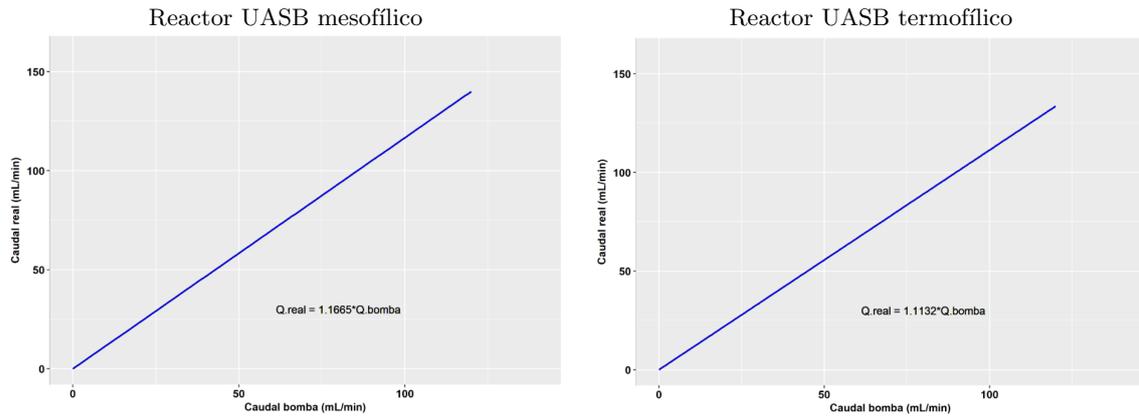
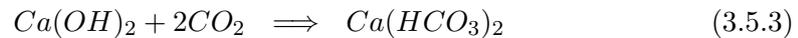


Figura 3.4. Curvas de calibración para bombas de alimentación de reactores UASB

3.5. Acondicionamiento de hidrolizados de agave

Durante la implementación de la estrategia de aclimatación, también se realizaron tareas de acondicionamiento a los hidrolizados de agave en función del pH, contenido de macronutrientes, micronutrientes y alcalinidad bicarbonática y total. En este sentido, como primera medida se adicionó hidróxido de sodio ($NaOH$) en escamas para subir el pH de los hidrolizados crudos a valores cercanos a 7.0 unidades debido a que según varios autores (Khan et al., 2016; Pérez y Torres, 2011) a este valor el proceso de digestión anaerobia ocurre de manera satisfactoria.

Sin embargo, vale la pena enfatizar que dentro de todos los productos químicos utilizados para generar capacidad buffer se encuentran los que ofrecen alcalinidad bicarbonática directamente ($NaHCO_3$ y NH_4HCO_3) y los que reaccionan con el gas carbónico para formar alcalinidad bicarbonática (CaO , $Ca(OH)_2$, y $NaOH$) como se demuestra en el siguiente sistema de ecuaciones.



La cantidad de $NaOH$ se estimó a partir de la información que se presenta en la Tabla 3.8 y el siguiente sistema de ecuaciones que definen la intensidad tampón (β) de un agua residual, el cual según Ramalho (2003) indica el número de moles de iones H^+ (u OH^-) requeridos para cambiar el pH de un litro de solución en una unidad.

Tabla 3.8. Datos necesarios para estimar la intensidad tampón (β)

Variable	Unidad	Valor
$pH_{Inicial}$	-	<1.0
pH_{Final}	-	$\simeq 7.0$
Alcalinidad _{Total}	$mg CaCO_3 \cdot L^{-1}$	0
Temperatura	$^{\circ}C$	20

$$\begin{aligned}
\beta &= \frac{\Delta [OH^-]}{\Delta pH} \\
\Delta [OH^-] &= \beta \cdot \Delta pH \\
\Delta pH &= pH_{Final} - pH_{Inicial} \\
\beta &= 2.3 \cdot \left([OH^-] + [H^+] + \frac{\alpha \cdot ([Alc] - [OH^-] + [H^+]) \cdot \left([H^+] + \frac{K_1 K_2}{[H^+]} + 4 K_2 \right)}{K_1 \cdot \left(1 + \frac{2 K_2}{[H^+]} \right)} \right) \\
\alpha &= \frac{K_1}{K_1 + [H^+] + \frac{K_1 \cdot K_2}{[H^+]}} \\
\log K_1 &= \frac{-17052}{T} - 215.21 \cdot \log T + 0.12675 \cdot T + 545.56 \\
\log K_2 &= \frac{-2902.39}{T} - 0.02379 \cdot T + 6.498 \\
[H^+] &= 10^{-pH_{Inicial}} \\
[OH^-] &= \frac{10^{-14}}{10^{-pH_{Inicial}}}
\end{aligned}$$

donde:

β : Intensidad tampón (*equiv · unidad pH⁻¹*)

K_1, K_2 : Constantes de equilibrio (-)

$[H^+]$: Concentración de iones hidrógeno antes de la adición del *NaOH* (*eqv H⁺ · L⁻¹*)

$[OH^-]$: Concentración de iones hidroxilo antes de la adición del *NaOH* (*eqv OH⁻ · L⁻¹*)

T : Temperatura ambiente (*K*)

$[Alc]$: Alcalinidad total del hidrolizado (*eqv CaCO₃ · L⁻¹*)

Luego de realizar las sustituciones respectivas en cada una de las variables mostradas en el sistema de ecuaciones anterior, se determinó teóricamente que se requiere 46.92 *g NaOH* para acondicionar un litro de hidrolizado de agave crudo a un pH de 7.0 unidades. A partir de distintas mediciones realizadas se determinó que para el hidrolizado ácido y ruminal se requieren aproximadamente de 31.54±2.66 *g NaOH* y 11.15±0.23 *g NaOH* por litro para alcanzar un pH de 7.03±0.03 unidades (Tabla 3.9).

Tabla 3.9. Cantidad de *NaOH* necesario para acondicionar un litro de hidrolizado de agave crudo

Tipo de hidrolizado	pH _{Inicial}	pH _{Final}	<i>NaOH</i> adicionado (g)
Hidrolizado ácido	0.71±0.14	7.03±0.03	31.54±2.66
Hidrolizado ruminal	1.79±0.12	7.04±0.04	11.15±0.23

Teniendo en cuenta que una concentración elevada de sodio (3.5 a 5.5 *g Na · L⁻¹*) en reactores anaerobios puede desestimular la producción de *CH₄* por inhibición (Akunna, 2018; Chen et al., 2008; Mao et al., 2015), se determinó mediante la información proporcionada en la Tabla 3.9 y la ecuación (3.5.4), la concentración aproximada de *Na* presente en los reactores UASB cuando se alimentaron con los hidrolizados de agave (ácido y ruminal) diluidos a una concentración teórica de DQO de 5.0 *g O₂ · L⁻¹* para un volumen útil de reactor de 2.0 *L*.

$$C_{H.diluido}^{Na} = \frac{C_{H.crudo}^{NaOH} * V_{DQO_{H.crudo}}^{teorico} * \frac{1}{PM_{NaOH}} * \frac{1 mol Na}{1 mol NaOH} * PM_{Na}}{V_{liq}} \quad (3.5.4)$$

donde:

$C_{H.diluido}^{Na}$: Concentración de Na en hidrolizado de agave diluido ($g Na \cdot L^{-1}$)

$C_{H.crudo}^{NaOH}$: Concentración de $NaOH$ en hidrolizado de agave crudo; de acuerdo con la Tabla 3.9 para el hidrolizado ácido es de $31.54 g NaOH \cdot L^{-1}$ y para el hidrolizado ruminal de $11.15 g NaOH \cdot L^{-1}$

$V_{DQO_{H.crudo}}^{teorico}$: Volumen de hidrolizado de agave crudo ($0.5 L$); determinado mediante la ecuación (3.4.1)

PM_{NaOH} : Peso molecular del $NaOH$ ($40 g NaOH \cdot mol^{-1}$)

PM_{Na} : Peso molecular del Na ($23 g NaOH \cdot mol^{-1}$)

V_{liq} : Volumen útil del reactor ($2.0 L$)

A manera de ejemplo de calculo, se muestra a continuación la determinación de la concentración de sodio (Na) presente en un reactor UASB alimentado con $0.5 L$ de hidrolizado ácido de agave crudo en $2.0 L$ de reactor para garantizar una concentración de $5.0 g O_2 \cdot L^{-1}$:

$$C_{H.diluido}^{Na} = \frac{\frac{31.54 g NaOH}{L_{H.crudo}} * 0.5 L_{H.crudo} * \frac{1 mol NaOH}{40 g NaOH} * \frac{1 mol Na}{1 mol NaOH} * \frac{23 g Na}{mol Na}}{2.0 L}$$

$$C_{H.diluido}^{Na} = \frac{4.53 g Na}{L}$$

Luego de realizar el mismo ejercicio anterior para el hidrolizado ruminal de agave, se obtuvo la información que se presenta en la Tabla 3.10, en la cual se indica que para una concentración hidrolizado de agave (ácido o ruminal) de $5.0 g O_2 \cdot L^{-1}$ en un reactor UASB de $2.0 L$, se puede conseguir para el caso del hidrolizado ácido una concentración de $4.53 g Na \cdot L^{-1}$ mientras que para el hidrolizado ruminal una concentración de $1.60 g Na \cdot L^{-1}$.

Tabla 3.10. Concentración de sodio (Na) en hidrolizados de agave diluidos

Tipo de hidrolizado	Volumen útil de reactor (L)	C. teórica de DQO en hidrolizado diluido ($g O_2 \cdot L^{-1}$)	C. de Na en hidrolizado diluido ($g Na \cdot L^{-1}$)
Hidrolizado ácido	2.0	5.0	4.53
Hidrolizado ruminal			1.60

Otro aspecto importante considerado en el acondicionamiento de los hidrolizados, fue la adición de vitaminas, macronutrientes y micronutrientes de acuerdo con la metodología de Angelidaki y Sanders (2004), en la cual se dan recomendaciones sobre la composición y concentración del stock de soluciones que deben componer un medio básico anaerobio como se muestra en la Tabla 3.11.

Tabla 3.11. Composición del medio básico anaerobio.

Solución	Compuesto	Unidad	Valor
A	NH_4Cl	$g \cdot L^{-1}$	100
	$NaCl$	$g \cdot L^{-1}$	10
	$MgCl_2 \cdot 6 H_2O$	$g \cdot L^{-1}$	10
	$CaCl_2 \cdot 2 H_2O$	$g \cdot L^{-1}$	5
B	$K_2HPO_4 \cdot 3 H_2O$	$g \cdot L^{-1}$	200
D	$FeCl_2 \cdot 4 H_2O$	$g \cdot L^{-1}$	2
	H_3BO_3	$g \cdot L^{-1}$	0.05
	$ZnCl_2$	$g \cdot L^{-1}$	0.05
	$CuCl_2 \cdot 2 H_2O$	$g \cdot L^{-1}$	0.038
	$MnCl_2 \cdot 4 H_2O$	$g \cdot L^{-1}$	0.05

Tabla 3.11 – continua de la página anterior

Solución	Compuesto	Unidad	Valor
D	$(NH_4)_6 Mo_7O_{24} \cdot 4 H_2O$	$g \cdot L^{-1}$	0.05
	$AlCl_3$	$g \cdot L^{-1}$	0.05
	$CoCl_2 \cdot 6 H_2O$	$g \cdot L^{-1}$	0.05
	$NiCl_2 \cdot 6 H_2O$	$g \cdot L^{-1}$	0.092
	Etilendiaminatetracetato	$g \cdot L^{-1}$	0.5
	$HCl_{Concentrado}$	mL	1.0
	$Na_2SeO_3 \cdot 5 H_2O$	mL	0.1
E	Biotina	$mg \cdot L^{-1}$	2.0
	Ácido fólico	$mg \cdot L^{-1}$	2.0
	Ácido piridoxina	$mg \cdot L^{-1}$	10.0
	Riboflavina	$mg \cdot L^{-1}$	5.0
	Clorohidrato de tiamina	$mg \cdot L^{-1}$	5.0
	Cianocobalamina	$mg \cdot L^{-1}$	0.1
	Ácido ninotínico	$mg \cdot L^{-1}$	5.0
	Ácido aminobenzoico	$mg \cdot L^{-1}$	5.0
	Ácido lipoico	$mg \cdot L^{-1}$	5.0
	Clorohidrato de cisteína	g	0.5

La metodología de [Angelidaki y Sanders \(2004\)](#) indica que una vez preparada las soluciones A, B, D y E se deben agregar los volúmenes que se muestran en la Tabla 3.12 por cada litro de reactor junto con 1.5 g $NaHCO_3$.

Tabla 3.12. Volúmenes de solución A, B, D y E adicionada

Solución	Unidad	Volumen para 1.0 L de reactor	Volumen para 2.0 L de reactor
A	mL	10.0	20.0
B	mL	2.0	4.0
D	mL	1.0	2.0
E	mL	1.0	2.0
NaHCO₃	g	1.5	3.0

3.6. Construcción de cinéticas de remoción de sustrato

La construcción de cinéticas de remoción de sustrato fue una actividad que se realizó de manera simultánea con la implementación de la estrategia de aclimatación en régimen discontinuo, solo se trabajó con el hidrolizado ácido de agave porque fue el primero con el que se iniciaron los ensayos experimentales y no se vio la necesidad de replicar lo mismo con el hidrolizado ruminal.

En total se realizaron cinco cinéticas de las cuales solo se seleccionaron dos, que fueron las que presentaron mayor información en cuanto a la caracterización del sobrenadante en términos de DQO soluble, carbohidratos totales y solubles (xilosa, glucosa y celobiosa), AGV (acetato, butirato, propionato, isovalerato entre otros) e inhibidores (furfural e hidroximetilfurfural) y producción de CH_4 . Teniendo en cuenta la rapidez con que los microorganismos consumieron el sustrato para llevar a cabo la producción de CH_4 , se definió una frecuencia de muestreo de 1 h durante al menos 24 h para describir adecuadamente el proceso.

Como parte del análisis de la información generada en las cinéticas de remoción de sustrato, se utilizó el modelo modificado de Gompertz (Gadhamshtetty et al., 2010; Kafle y Chen, 2016; Ruggeri et al., 2015; Wang y Wan, 2009) para estimar el valor de algunos parámetros importantes (G_{max} , R_{max} y λ) al momento de estudiar la rapidez con que los microorganismos lograron asimilar el sustrato. En este sentido se muestra en la ecuación (3.6.1) la formula matemática del modelo de Gompertz.

$$G = G_{max} \cdot \exp \left(-\exp \left[\frac{R_{max} \cdot e}{G_{max}} (\lambda - t) + 1 \right] \right) \quad (3.6.1)$$

donde:

G : Volumen acumulado de CH_4 en el tiempo de ensayo t (L)

G_{max} : Volumen máximo de CH_4 producido (L)

R_{max} : Tasa de producción máxima de CH_4 ($L \cdot h^{-1}$)

e : Numero de Euler (2.71828)

λ : Duración de la fase *lag* (h)

t : Tiempo o duración del ensayo (h)

Por otro lado, se aprovechó la información generada para realizar un balance de electrones por cada una de las cinéticas de remoción de sustrato en condiciones mesofílicas y termofílicas, con la finalidad de mostrar *grosso modo* el destino final de los electrones disponibles inicialmente en el hidrolizado ácido de agave ($e_{DQO_{Inicial}}^-$); es decir el porcentaje (%) de electrones utilizados para la producción de CH_4 ($e_{CH_4}^-$) y CO_2 ($e_{CO_2}^-$), la formación de biomasa celular ($e_{Biomasa}^-$), metabolitos residuales ($e_{Residuales}^-$) y electrones no determinados ($e_{N.D}^-$), tal como se muestra en la ecuación (3.6.2).

$$e_{DQO_{Inicial}}^- = e_{CH_4}^- + e_{CO_2}^- + e_{Biomasa}^- + e_{Residuales}^- + e_{N.D}^- \quad (3.6.2)$$

donde:

$e_{DQO_{Inicial}}^-$: Electrones disponibles inicialmente en el hidrolizado ácido ($1.34 \pm 0.06 \text{ mol } e^-$)

$e_{CH_4}^-$: Electrones utilizados para la producción de CH_4 ($\text{mol } e^-$)

$e_{CO_2}^-$: Electrones utilizados para la producción de CO_2 ($\text{mol } e^-$)

$e_{Biomasa}^-$: Electrones utilizados para la síntesis de biomasa ($\text{mol } e^-$)

$e_{Residuales}^-$: Electrones disponibles en forma de metabolitos residuales ($\text{mol } e^-$)

$e_{N.D}^-$: Electrones no determinados ($\text{mol } e^-$)

Teniendo en cuenta lo anterior, se muestra a manera de ejemplo de calculo la forma como se estimó cada una de las variables mencionadas en la ecuación (3.6.2) considerando para ello la información que se presenta en la Tabla 3.13, el cual se indica por tipo de compuesto la semirreacción (reacción media) y relación estequiométrica ($R_{Estq.e^-}$) correspondiente para determinar los electrones disponibles en el hidrolizado ácido de agave, tanto al inicio como al final de las cinéticas de remoción de sustrato realizadas en reactores UASB operados en régimen discontinuo bajo condiciones mesofílicas y termofílicas.

Tabla 3.13. Reacciones medias de compuestos orgánicos e inorgánicos

Numero de reacción	Compuesto	Reacción media	Relación $R_{Estq.e^-}$ ($mol e^- \cdot mol Compuesto^{-1}$)
1	$DQO_{Inicial}$	$6 H_2O + C_6H_{12}O_6 \Rightarrow 6 CO_2 + 24 H^+ + 24 e^-$	24
2	CH_4	$2 H_2O + CH_4 \Rightarrow CO_2 + 8 H^+ + 8 e^-$	8
3	CO_2	$C + 2 H_2O \Rightarrow CO_2 + 4 H^+ + 4 e^-$	4
4	Biomasa	$9 H_2O + C_5H_7O_2N \Rightarrow 4 CO_2 + NH_4^+ + HCO_3^- + 20 H^+ + 20 e^-$	20
5	Acetato	$2 H_2O + C_2H_3O_2 \Rightarrow 2 CO_2 + 7 H^+ + 7 e^-$	7
6	Propionato	$4 H_2O + C_3H_5O_2 \Rightarrow 3 CO_2 + 13 H^+ + 13 e^-$	13
7	Butirato	$6 H_2O + C_4H_7O_2 \Rightarrow 4 CO_2 + 19 H^+ + 19 e^-$	19
8	Valerato	$8 H_2O + C_5H_9O_2 \Rightarrow 5 CO_2 + 25 H^+ + 25 e^-$	25
9	Láctico	$3 H_2O + C_3H_6O_3 \Rightarrow 3 CO_2 + 12 H^+ + 12 e^-$	12
10	Formato	$CHO_2 + H_2O \Rightarrow HCO_3^- + 2 H^+ + 2 e^-$	2
11	Succínico	$4 H_2O + C_4H_6O_4 \Rightarrow 4 CO_2 + 14 H^+ + 14 e^-$	14
12	Isovalerato	$8 H_2O + C_5H_9O_2 \Rightarrow 5 CO_2 + 25 H^+ + 25 e^-$	25
13	Celobiosa	$13 H_2O + C_{12}H_{22}O_{11} \Rightarrow 12 CO_2 + 48 H^+ + 48 e^-$	48
14	Glucosa	$6 H_2O + C_6H_{12}O_6 \Rightarrow 6 CO_2 + 24 H^+ + 24 e^-$	24
15	Xilosa	$5 H_2O + C_5H_{10}O_5 \Rightarrow 5 CO_2 + 20 H^+ + 20 e^-$	20
16	HMF	$9 H_2O + C_6H_6O_3 \Rightarrow 6 CO_2 + 24 H^+ + 24 e^-$	24
17	Furfural	$8 H_2O + C_5H_8O_2 \Rightarrow 5 CO_2 + 25 H^+ + 25 e^-$	25

$e_{DQO_{Inicial}}^-$. Esta variable representa la cantidad de electrones disponibles inicialmente en el hidrolizado ácido de agave, y corresponde también con la concentración de $DQO_{Inicial}$ ($g O_2 \cdot L^{-1}$) medida experimentalmente. Para estimar el valor de $e_{DQO_{Inicial}}^-$ se hizo uso de la ecuación (3.6.3) tomando como referencia la reacción N° 1 de la Tabla 3.13 en donde por las características del hidrolizado ácido se asumió la semirreacción de un sustrato modelo como la glucosa ($C_6H_{12}O_6$).

$$e_{DQO_{Inicial}}^- = C_{DQO_{Inicial}} * V_{liq} * \frac{1}{PM} * R_{Estq.O_2} * R_{Estq.e^-} \quad (3.6.3)$$

donde:

$e_{DQO_{Inicial}}^-$: Electrones disponibles inicialmente en el hidrolizado ácido ($mol e^-$)

$C_{DQO_{Inicial}}$: Concentración del hidrolizado ácido en términos de la $DQO_{Inicial}$ ($g O_2 \cdot L^{-1}$)

V_{liq} : Volumen útil del reactor (2.0 L)

PM : Peso molecular de la $DQO_{Inicial}$ ($32.0 g O_2 \cdot mol^{-1}$)

$R_{Estq.O_2}$: Relación estequiométrica que expresa las moles de un sustrato modelo como la glucosa por moles de $DQO_{Inicial}$ ($1 mol C_6H_{12}O_6 \cdot (6 mol O_2)^{-1}$)

$R_{Estq.e^-}$: Relación estequiométrica que expresa las moles de electrones equivalente por mol de sustrato modelo ($24 mol e^- \cdot (mol C_6H_{12}O_6)^{-1}$)

A partir de lo mencionado anteriormente se muestran cuatro ejemplos de calculo para llegar al valor de $1.34 \pm 0.06 mol e^-$, el cual representa el promedio de los electrones disponibles inicialmente en el hidrolizado ácido de agave según las cinéticas de remoción de sustrato que se realizaron en régimen mesofílico y termofílico:

Ejemplo 1. En este ejemplo de calculo se determinaron los electrones disponibles en el hidrolizado ácido de agave al inicio de la cinética N° 1, realizada en régimen discontinuo en un reactor UASB operado en mesofilia y alimentado con una concentración de DQO igual a $5.37 g O_2 \cdot L^{-1}$, por lo que aplicando la ecuación (3.6.3) se determinó lo siguiente:

$$e_{DQO_{Inicial}}^- = 5.37 \frac{g O_2}{L} * 2.0 L * \frac{1 mol O_2}{32 g O_2} * \frac{1 mol C_6H_{12}O_6}{6 mol O_2} * \frac{24 mol e^-}{mol C_6H_{12}O_6}$$

$$e_{DQO_{Inicial}}^- = 1.34 mol e^-$$

Ejemplo 2. Para este ejemplo, de igual manera se estimaron los electrones disponibles en el hidrolizado ácido de agave al inicio de la cinética $N^{\circ} 2$, realizada en régimen discontinuo en un reactor UASB mesofílico alimentado con una concentración de DQO de $5.00 \text{ g } O_2 \cdot L^{-1}$, por lo que aplicando la ecuación (3.6.3) se obtuvo lo siguiente:

$$e_{DQO_{Inicial}}^- = 5.00 \frac{\text{g } O_2}{L} * 2.0 L * \frac{1 \text{ mol } O_2}{32 \text{ g } O_2} * \frac{1 \text{ mol } C_6H_{12}O_6}{6 \text{ mol } O_2} * \frac{24 \text{ mol } e^-}{\text{mol } C_6H_{12}O_6}$$

$$e_{DQO_{Inicial}}^- = 1.25 \text{ mol } e^-$$

Ejemplo 3. En este ejemplo de calculo, se cuantificaron los electrones disponibles en el hidrolizado ácido de agave al inicio de la cinética $N^{\circ} 1$, realizada en un reactor UASB termofílico operado régimen discontinuo y alimentado con una concentración de DQO igual a $5.54 \text{ g } O_2 \cdot L^{-1}$, por lo que aplicando la ecuación (3.6.3) se determinó lo siguiente:

$$e_{DQO_{Inicial}}^- = 5.54 \frac{\text{g } O_2}{L} * 2.0 L * \frac{1 \text{ mol } O_2}{32 \text{ g } O_2} * \frac{1 \text{ mol } C_6H_{12}O_6}{6 \text{ mol } O_2} * \frac{24 \text{ mol } e^-}{\text{mol } C_6H_{12}O_6}$$

$$e_{DQO_{Inicial}}^- = 1.38 \text{ mol } e^-$$

Ejemplo 4. Para este ultimo ejemplo, se determinaron los electrones disponibles en el hidrolizado ácido de agave al inicio de la cinética $N^{\circ} 2$, realizada en régimen discontinuo en un reactor UASB operado en termofilia y alimentado con una concentración de DQO igual a $5.50 \text{ g } O_2 \cdot L^{-1}$, obteniendo a partir de la implementación de la ecuación (3.6.3) lo siguiente:

$$e_{DQO_{Inicial}}^- = 5.50 \frac{\text{g } O_2}{L} * 2.0 L * \frac{1 \text{ mol } O_2}{32 \text{ g } O_2} * \frac{1 \text{ mol } C_6H_{12}O_6}{6 \text{ mol } O_2} * \frac{24 \text{ mol } e^-}{\text{mol } C_6H_{12}O_6}$$

$$e_{DQO_{Inicial}}^- = 1.37 \text{ mol } e^-$$

En la Tabla 3.14 se resumen los resultados de los ejemplos de calculo descritos anteriormente.

Tabla 3.14. Estimación de electrones en hidrolizado ácido de agave por cinética de remoción de sustrato

Régimen de temperatura	N° de cinética	$DQO_{Inicial}$ ($\text{g } O_2 \cdot L^{-1}$)	Electrones ($\text{mol } e^-$)
Mesofílico	1	5.37	1.34
	2	5.00	1.25
Termofílico	1	5.54	1.38
	2	5.50	1.37
Promedio	-	5.35	1.34
Desviación	-	± 0.25	± 0.06

$e_{CH_4}^-$. Esta variable representa la cantidad de electrones equivalentes al volumen de CH_4 producido al final de las cinéticas de remoción de sustrato. Para estimar el valor de $e_{CH_4}^-$ se aplicó la ecuación (3.6.4) tomando como referencia la reacción media $N^o 2$ de la Tabla 3.13.

$$e_{CH_4}^- = V_{CH_4} * \rho_{CH_4} * \frac{1}{PM} * R_{Estq.e^-} \quad (3.6.4)$$

donde:

$e_{CH_4}^-$: Electrones equivalentes al volumen de CH_4 producido ($mol e^-$)

V_{CH_4} : Volumen de CH_4 producido (L)

ρ_{CH_4} : Densidad del CH_4 a condiciones estándar de temperatura ($273.15 K$) y presión ($0 atm$) ($0.717 g CH_4 \cdot L^{-1}$)

PM : Peso molecular del CH_4 ($16.0 g CH_4 \cdot mol^{-1}$)

$R_{Estq.e^-}$: Relación estequiométrica que expresa las moles de electrones equivalente por mol de CH_4 producido ($8 mol e^- \cdot mol CH_4$)

Ejemplo 5. Con base en lo mencionado anteriormente, se muestra a continuación un ejemplo de calculo para estimar el valor de $e_{CH_4}^-$, correspondiente al volumen de CH_4 producido ($1.66 L CH_4$) al final de la cinética $N^o 1$, realizada en régimen discontinuo en un reactor UASB operado en mesofilia, por lo que aplicando la ecuación (3.6.4) se determinó lo siguiente:

$$\begin{aligned} e_{CH_4}^- &= 1.66 L CH_4 * \frac{0.717 g CH_4}{L} * \frac{1 mol CH_4}{16 g CH_4} * \frac{8 mol e^-}{mol CH_4} \\ e_{CH_4}^- &= 0.59 mol e^- \end{aligned}$$

$e_{CO_2}^-$. Esta variable representa la cantidad de electrones equivalentes al volumen de CO_2 producido al final de las cinéticas de remoción de sustrato. Para estimar el valor de $e_{CO_2}^-$ se aplicó la ecuación (3.6.5) tomando como referencia la reacción media $N^o 3$ de la Tabla 3.13.

$$e_{CO_2}^- = V_{CO_2} * \rho_{CO_2} * \frac{1}{PM} * R_{Estq.e^-} \quad (3.6.5)$$

donde:

$e_{CO_2}^-$: Electrones equivalentes al volumen de CO_2 producido ($mol e^-$)

V_{CO_2} : Volumen de CO_2 producido (L)

ρ_{CO_2} : Densidad del CO_2 a condiciones estándar de temperatura ($273.15 K$) y presión ($0 atm$) ($1.977 g CO_2 \cdot L^{-1}$)

PM : Peso molecular del CO_2 ($44.0 g CO_2 \cdot mol^{-1}$)

$R_{Estq.e^-}$: Relación estequiométrica que expresa las moles de electrones equivalente por mol de CO_2 producido ($4 mol e^- \cdot (mol CO_2)^{-1}$)

Ejemplo 6. Con base en lo mencionado anteriormente, se muestra a continuación un ejemplo de calculo para estimar el valor de $e_{CO_2}^-$, correspondiente al volumen de CO_2 producido ($1.87 L CO_2$) al final de la cinética $N^o 1$, realizada en régimen discontinuo en un reactor UASB operado en mesofilia, por lo que aplicando la ecuación (3.6.5) se determinó lo siguiente:

$$\begin{aligned} e_{CO_2}^- &= 1.87 L CO_2 * \frac{1.977 g CO_2}{L} * \frac{1 mol CO_2}{44 g CO_2} * \frac{4 mol e^-}{mol CO_2} \\ e_{CO_2}^- &= 0.34 mol e^- \end{aligned}$$

$e_{Biomasa}^-$ • Esta variable representa la cantidad de electrones utilizados para la formación de biomasa al final de las cinéticas de remoción de sustrato. Para estimar el valor de $e_{Biomasa}^-$ se aplicó la ecuación (3.6.6) tomando como referencia la reacción media N° 4 de la Tabla 3.13, y resultados del crecimiento neto de biomasa acidogénica y metanogénica una vez calibrado el modelo AM2 con datos experimentales.

$$e_{Biomasa}^- = C_{Biomasa} * V_{liq} * \frac{1}{PM} * R_{Estq.e^-} \quad (3.6.6)$$

donde:

$e_{Biomasa}^-$: Electrones equivalentes a la cantidad de biomasa producida ($mol e^-$)

$C_{Biomasa}$: Concentración neta de biomasa producida ($g \cdot L^{-1}$)

V_{liq} : Volumen útil del reactor (2.0 L)

PM : Peso molecular de biomasa considerando la formula empírica $C_5H_7O_2N$ ($113.0 g \cdot mol^{-1}$)

$R_{Estq.e^-}$: Relación estequiométrica que expresa las moles de electrones equivalente por mol de $C_5H_7O_2N$ producida ($20 mol e^- \cdot (mol C_5H_7O_2N)^{-1}$)

Ejemplo 7. Con base en lo mencionado anteriormente, se muestra a continuación un ejemplo de calculo para estimar el valor de $e_{Biomasa}^-$, correspondiente a la concentración neta de biomasa producida ($0.120 g \cdot L^{-1}$) al final de la cinética N° 1, realizada en régimen discontinuo en un reactor UASB operado en mesofilia, por lo que aplicando la ecuación (3.6.6) se determinó lo siguiente:

$$\begin{aligned} e_{Biomasa}^- &= \frac{0.120 g}{L} * 2.0 L * \frac{1 mol C_5H_7O_2N}{113.0 g C_5H_7O_2N} * \frac{20 mol e^-}{mol C_5H_7O_2N} \\ e_{Biomasa}^- &= 0.042 mol e^- \end{aligned}$$

$e_{Residuales}^-$ • Esta variable representa la cantidad de electrones que permanecen en forma de metabolitos residuales (acetato, butirato, xilosa, glucosa, furfural, entre otros) al final de las cinéticas de remoción de sustrato. Para estimar el valor de $e_{Residuales}^-$ se aplicó la ecuación (3.6.7) tomando como referencia el conjunto de reacciones medias N° 5–14 de la Tabla 3.13, y resultados de la caracterización fisicoquímica del efluente líquido obtenido al final de cada proceso.

$$e_{Residuales}^- = C_{Residuales} * V_{liq} * \frac{1}{PM} * R_{Estq.e^-} \quad (3.6.7)$$

donde:

$e_{Residuales}^-$: Electrones equivalentes a la cantidad de metabolitos residuales ($mol e^-$)

$C_{Residuales}$: Concentración de metabolitos residuales que permanecen al final del proceso ($g \cdot L^{-1}$)

V_{liq} : Volumen útil del reactor (2.0 L)

PM : Peso molecular de metabolitos residuales ($g \cdot mol^{-1}$)

$R_{Estq.e^-}$: Relación estequiométrica que expresa las moles de electrones equivalente por mol de metabolito residual ($mol e^- \cdot mol^{-1}$)

Ejemplo 8. Con base en lo mencionado anteriormente, se muestra a continuación un ejemplo de calculo para estimar el valor de $e_{Residual(Acetato)}^-$, correspondiente a la concentración de acetato residual ($0.284 \text{ g } C_2H_3O_2 \cdot L^{-1}$) que se mantuvo al final de la cinética $N^o 1$ realizada en régimen discontinuo en un reactor UASB operado en mesofilia, por lo que aplicando la ecuación (3.6.7) se determinó lo siguiente:

$$\begin{aligned} e_{Residual(Acetato)}^- &= \frac{0.284 \text{ g } C_2H_3O_2}{L} * 2.0 \text{ L} * \frac{1 \text{ mol } C_2H_3O_2}{59 \text{ g } C_2H_3O_2} * \frac{7 \text{ mol } e^-}{\text{mol } C_2H_3O_2} \\ e_{Residual(Acetato)}^- &= 0.067 \text{ mol } e^- \end{aligned}$$

La metodología de calculo utilizada para estimar el valor de $e_{Residual(Acetato)}^-$, correspondiente a la concentración residual de acetato ($C_2H_3O_2$) al final de la cinética $N^o 1$, se replicó para el resto de metabolitos residuales (AGV, carbohidratos e inhibidores) considerados en la Tabla 3.13, dando como resultado un total de $0.367 \text{ mol } e^-$.

$e_{N.D.}^-$. Esta variable representa la cantidad de electrones no determinados ($N.D$) tanto al inicio como al final de las cinéticas de remoción de sustrato. Para estimar el valor de $e_{N.D.}^-$ se aplicó la ecuación (3.6.8), la consiste en restarle al valor de $e_{DQO_{Inicial}}^-$ los electrones equivalentes correspondientes a $e_{CH_4}^-$, $e_{CO_2}^-$, $e_{Biomasa}^-$ y $e_{Residuales}^-$ por cada una de las cinéticas de remoción de sustrato realizadas en condiciones mesofílicas y termofílicas.

$$e_{N.D.}^- = e_{DQO_{Inicial}}^- - e_{CH_4}^- - e_{CO_2}^- - e_{Biomasa}^- - e_{Residuales}^- \quad (3.6.8)$$

donde:

$e_{N.D.}^-$: Electrones no determinados ($\text{mol } e^-$)

$e_{DQO_{Inicial}}^-$: Electrones disponibles inicialmente en el hidrolizado ácido ($\text{mol } e^-$)

$e_{CH_4}^-$: Electrones utilizados para la producción de CH_4 ($\text{mol } e^-$)

$e_{CO_2}^-$: Electrones utilizados para la producción de CO_2 ($\text{mol } e^-$)

$e_{Biomasa}^-$: Electrones utilizados para la formación de biomasa ($\text{mol } e^-$)

$e_{Residuales}^-$: Electrones disponibles en forma de metabolitos residuales ($\text{mol } e^-$)

Ejemplo 9. Con base en lo mencionado anteriormente, se muestra a continuación un ejemplo de calculo para estimar el valor de $e_{N.D.}^-$, correspondiente a los electrones no determinados al final de la cinética $N^o 1$ realizada en régimen discontinuo en un reactor UASB operado en mesofilia, por lo que aplicando la ecuación (3.6.8) se obtuvo lo siguiente:

$$\begin{aligned} e_{N.D.}^- &= e_{DQO_{Inicial}}^- - e_{CH_4}^- - e_{CO_2}^- - e_{Biomasa}^- - e_{Residuales}^- \\ e_{N.D.}^- &= 1.34 \text{ mol } e^- - 0.59 \text{ mol } e^- - 0.34 \text{ mol } e^- - 0.042 \text{ mol } e^- - 0.367 \text{ mol } e^- \\ e_{N.D.}^- &= 0.001 \text{ mol } e^- \end{aligned}$$

3.7. Operación del sistema experimental en régimen continuo

La implementación de la estrategia de operación del sistema experimental en régimen continuo se realizó principalmente para obtener información sobre el comportamiento del proceso de digestión anaerobia en relación a la producción de CH_4 , remoción de sustrato soluble (carbohidratos y AGV) y crecimiento de biomasa bajo condiciones de operación determinadas principalmente por el tiempo de retención hidráulico (TRH) o la carga orgánica volumétrica (COV). La operación del sistema experimental se realizó mediante lo que se denominó “estrategia de alimentación controlada” (EAC), fundamentada en la metodología OT (*Overloading Tolerance*) propuesta por Hess y Bernard (2009) y en el análisis dinámico del modelo AM2, tal como se presenta en la Figura 3.5. A partir del incremento progresivo de la COV (Figura 3.5a) se estimula la producción de CH_4 por parte de microorganismos metanogénicos (Figura 3.5b).

Teniendo en cuenta que la COV es una variable de proceso que se relaciona directamente con la concentración de sustrato en el influente (C_{in}) e inversamente con el tiempo de retención hidráulico (TRH), modificar adecuadamente alguna de estas variables resulta ser una buena práctica para incrementar la velocidad o flujo de CH_4 en reactores anaerobios. La ecuación (3.7.1) muestra la manera como se relaciona la COV , la C_{in} y el TRH .

$$COV = \frac{Q_{in} \cdot C_{in}}{V_{liq}} = \frac{C_{in}}{TRH} \quad (3.7.1)$$

donde:

COV : Carga orgánica volumétrica ($g\ DQO \cdot L^{-1} \cdot d^{-1}$)

C_{in} : Concentración influente de sustrato ($g\ DQO \cdot L^{-1}$)

TRH : Tiempo de retención hidráulico (h)

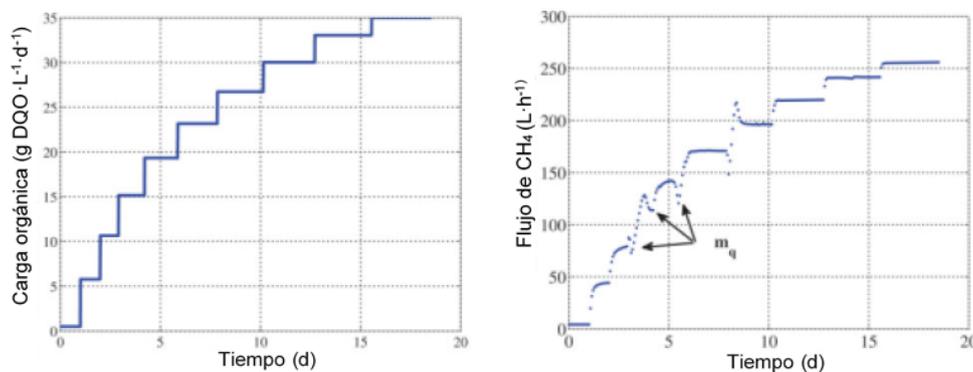


Figura 3.5. Ejemplo de implementación de la metodología OT

Fuente: tomado de Hess y Bernard (2009)

En este sentido, en la implementación de la EAC se alimentaron los reactores UASB con los hidrolizados de agave manteniendo constante la concentración de C_{in} y alternando entre un TRH alto (20 h) y uno bajo (10 h) hasta conseguir una producción estable de CH_4 después de cada perturbación. La Figura 3.6 muestra la forma como se realizaron los distintos cambios en el TRH , mientras que la Tabla 3.15 las condiciones operacionales características para cada valor de TRH en función de la COV , días de operación, caudal y concentración influente de sustrato. Cabe señalar que los cambios de TRH se realizaron de manera automática con ayuda de un controlador (PLC) que se programó previamente por el grupo de investigación.

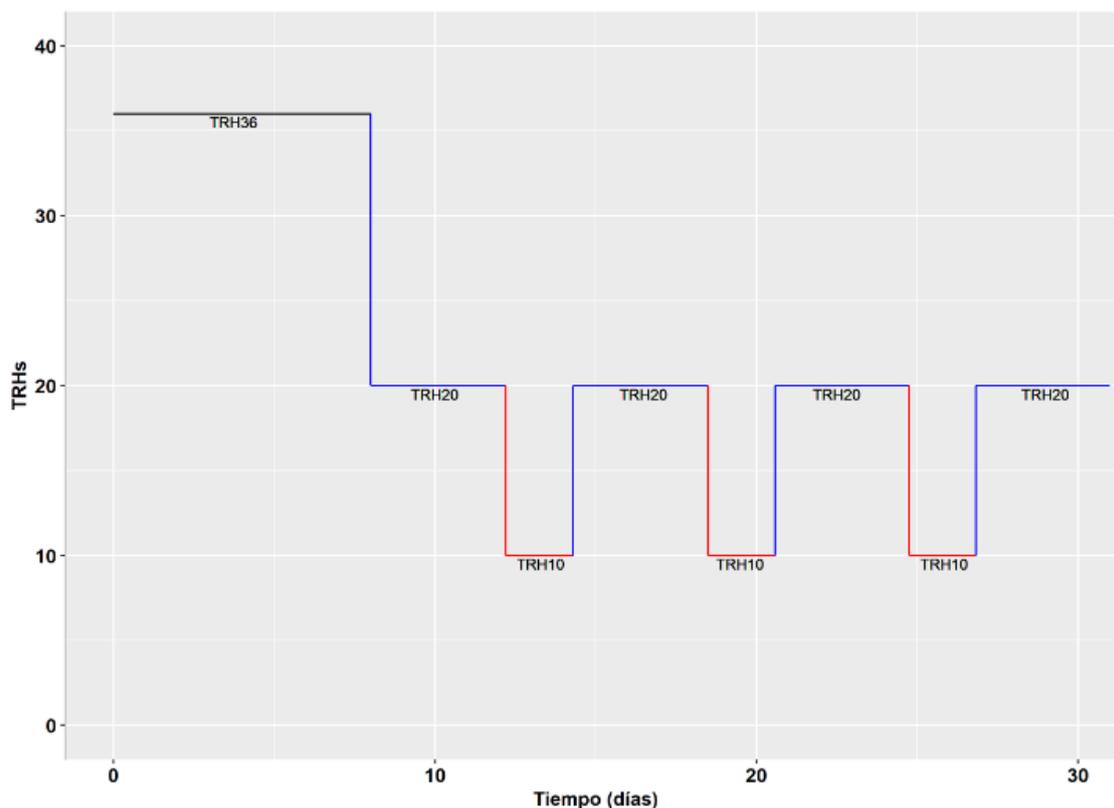


Figura 3.6. Implementación de la EAC en la operación de reactores UASB

Tabla 3.15. Condición operacional de los reactores UASB en régimen continuo

TRH (h)	COV ($g\ DQO \cdot (L \cdot d)^{-1}$)	Q_{in} ($L \cdot d^{-1}$)	C_{in} ($g\ DQO \cdot L^{-1}$)	Días de operación
36	3.3	1.3	5.0	8.0
20	6.0	2.4	5.0	4.0
10	12.0	4.8	5.0	2.0

Para definir la estabilidad del proceso se definió como variable de proceso (o de control) la producción de CH_4 y con ello reportes bibliográficos en el que se sugiere que la estabilidad se alcanza cuando se evalúa de tres a cinco veces el TRH (Breton-Deval et al., 2018; Sbarciog et al., 2011). Sin embargo, también se hizo uso de herramientas de control estadístico de procesos (SPC) y de teoría de control para definir adecuadamente las condiciones de estabilidad durante la implementación de la estrategia de control. La Tabla 3.16 muestra una recopilación de variables de proceso evaluadas en condiciones estables durante la digestión anaerobia de sustratos lignocelulósicos.

Tabla 3.16. Variables de análisis para evaluar el desempeño de reactores UASB

Variable	Unidades	Criterio	Referencia
pH	-	6.8 a 7.4	Khanal (2011)
Índice R_{alc}	-	0.5 a 0.7	Pérez y Torres (2011)
Remoción de DQO	%	68 a 85	Kroeker et al. (1979)
Contenido de CH_4	%	55 a 70	Khanal (2011)
Flujo de CH_4	$NLCH_4 \cdot (L_{Reactor} \cdot d)^{-1}$	0.3 a 1.5	Corona y Razo-Flores (2018)
Rendimiento de CH_4	$NLCH_4 \cdot g\ DQO_{Removida}^{-1}$	0.24 a 0.32	Breton-Deval et al. (2018)

3.8. Selección y definición de la estructura del modelo matemático de digestión anaerobia

Para la selección del modelo matemático se consideraron dos aspectos importantes. El primero hace referencia a la revisión de literatura expuesta en el capítulo 3 en donde se hizo una identificación de modelos matemáticos de digestión anaerobia que fueran robustos, que requirieran la medición de un menor número de variables de estado, y que fueran afines tanto a las características del sustrato como al tipo de reactor utilizado. Por otro lado, el segundo aspecto fue la caracterización cinética realizada al hidrolizado ácido de agave durante la fase de aclimatación en régimen discontinuo de los reactores UASB mesofílico y termofílico, en donde de manera general pudo diferenciarse con claridad el consumo de carbohidratos para la producción de AGV (acidogénesis) y posteriormente el consumo de estos para la producción de CH_4 (metanogénesis).

Por lo anterior se seleccionó el modelo matemático de digestión anaerobia AM2 (Bernard et al., 2001), el cual considera dos poblaciones de microorganismos (acidogénicos y metanogénicos), términos de conversión de sustratos ligados a reacciones bioquímicas y de transporte ligados a la transferencia entre fases líquido-gas (Zárate, 2013).

De acuerdo con Bernard et al. (2001) las reacciones biológicas modeladas son la acidogénesis y metanogénesis, de las cuales se derivan 6 ecuaciones diferenciales para la biomasa acidogénica (X_1), biomasa metanogénica (X_2), sustrato soluble (S_1), ácidos grasos volátiles (S_2), carbono inorgánico susceptible de ser transferido a la fase gaseosa en forma de CO_2 (C) y alcalinidad total (Z) como se muestra a continuación:

$$\begin{aligned}
 k_1 S_1 & \xrightarrow{r_1} X_1 + k_2 S_2 + k_4 CO_2 \\
 k_3 S_2 & \xrightarrow{r_2} X_2 + k_5 CO_2 + k_6 CH_4 \\
 \dot{X}_1 & = -X_1 \alpha D + (\mu_1(S_1) - k_{d1}) X_1 \\
 \dot{X}_2 & = -X_2 \alpha D + (\mu_2(S_2) - k_{d2}) X_2 \\
 \dot{S}_1 & = (S_1^{in} - S_1) D - k_1 \mu_1(S_1) X_1 \\
 \dot{S}_2 & = (S_2^{in} - S_2) D - k_2 \mu_1(S_1) X_1 - k_3 \mu_2(S_2) X_2 \\
 \dot{C} & = (C^{in} - C) D - k_4 \mu_1(S_1) X_1 - k_5 \mu_2(S_2) X_2 - q_w \\
 \dot{Z} & = (Z^{in} - Z) D - k_1 N_{S1} \mu_1(S_1) X_1 - N_{bac} ((\mu_1(S_1) - k_{d1}) X_1 + (\mu_2(S_2) - k_{d2}) X_2)
 \end{aligned}$$

donde:

X_1 : Biomasa acidogénica ($g SV \cdot L^{-1}$)

X_2 : Biomasa metanogénica ($g SV \cdot L^{-1}$)

S_1 : Demanda química de oxígeno ($g DQO \cdot L^{-1}$)

S_2 : Ácidos grasos volátiles (mM)

C : Carbono inorgánico (mM)

Z : Alcalinidad total (mM)

D : Tasa de dilución (d^{-1})

k_1 : Coeficiente de consumo para la DQO ($g DQO \cdot g SV^{-1}$)

k_2 : Coeficiente de producción para los AGV ($mmol \cdot g SV^{-1}$)

k_3 : Coeficiente de consumo para los AGV ($mmol \cdot g SV^{-1}$)

$k_{4,5}$: Coeficientes de producción para el CO_2 ($mmol \cdot g SV^{-1}$)

μ_1 : Cinética de crecimiento tipo Monod (d^{-1})

μ_2 : Cinética de crecimiento tipo Haldane (d^{-1})

k_{d1} : Término de lisis o muerte celular para la biomasa acidogénica (d^{-1})

k_{d2} : Término de lisis o muerte celular para la biomasa metanogénica (d^{-1})

N_{bac} : Contenido de nitrógeno en microorganismos ($mmol N \cdot g DQO^{-1}$)

De las variables mencionadas anteriormente, cabe tener en cuenta que D es la principal variable de entrada en el modelo y la que se manipula para establecer las condiciones de operación a partir del flujo influente de sustrato (Q_{in}) y volumen útil de reactor (V_{liq}). Otras variables de entrada

consideradas fueron las concentraciones de cada compuesto (S_1^{in} , S_2^{in} , C^{in} y Z^{in}) y el parámetro α que permite simular la retención parcial de biomasa en el reactor; si $\alpha=0$, toda la biomasa es retenida y si $\alpha=1$ es un reactor perfectamente mezclado. Las cinéticas de la reacción están dadas por los modelos de Monod para la acidogénesis y de Haldane para la metanogénesis (Donoso-Bravo et al., 2015), tal como se muestra en la Tabla 3.17 donde se describen las ecuaciones con su respectivo significado físico.

Tabla 3.17. Crecimiento biológico tipo Monod y Haldane

Cinética de crecimiento	Expresión	Significado físico
Monod	$\mu_1(S_1) = \frac{\mu_1^* S_1}{k_{S1}} + S_1$	μ_1^* es la tasa máxima de crecimiento específico $\mu_1 = \frac{\mu_1^*}{2}$ cuando $S_1 = k_{S1}$
Haldane	$\mu_2(S_2) = \frac{\mu_2^* \frac{S_2}{S_2^*}}{\frac{S_2}{S_2^*} + \beta \left(\frac{S_2}{S_2^*} - 1 \right)^2}$	μ_2^* es la tasa máxima de crecimiento específico que sucede cuando $S_2 = S_2^*$; mientras que la pendiente de $\mu_2(S_2)$ cuando $S_2 = 0$ es $\mu'(0) = \frac{\mu_2^*}{\beta}$

Con respecto al CH_4 se consideró poco soluble en líquido y por lo tanto que el caudal generado es proporcional a la tasa de crecimiento de microorganismos metanogénicos (ecuación 3.8.1) mientras que para el CO_2 se asumió que sigue la ley de Henry (ecuación 3.8.2).

$$q_m = k_6 \mu_2(S_2) X_2 \quad (3.8.1)$$

$$q_c = k_{La} (C_{CO_2} - K_H P_c) \quad (3.8.2)$$

donde:

q_m : Flujo de CH_4 ($mM \cdot d^{-1}$)

q_c : Flujo de CO_2 ($mM \cdot d^{-1}$)

k_{La} : Coeficiente de transferencia gas-líquido (d^{-1})

C_{CO_2} : Concentración de CO_2 en el líquido (mM)

K_H : Constante de Henry ($mM \cdot bar^{-1}$)

P_c : Presión parcial de CO_2 (bar)

Luego de considerar el equilibrio termodinámico entre el CO_2 y CH_4 venteado a la atmósfera, y la relación entre flujos molares y presiones parciales se obtuvo la ecuación (3.8.3) y (3.8.4) que definen el valor de P_c . Cabe mencionar que para determinar el valor de C_{CO_2} se considera la especiación fisicoquímica de acuerdo al pH y la alcalinidad total Z debido a la presencia de iones bicarbonato y AGV disociados.

$$P_c = \phi - \sqrt{\phi^2 - P_{atm} \frac{C_{CO_2}}{K_H}} \quad (3.8.3)$$

$$\phi = \frac{1}{2} \left(P_{atm} + \frac{C_{CO_2}}{K_H} + \frac{q_m}{k_{La} K_H} \right) \quad (3.8.4)$$

Finalmente, al tener en cuenta que dependiendo del pH, el carbono se disocia en bicarbonato (B) y CO_2 disuelto (C_{CO_2}), y los AGV en acetato o ácido acético, su determinación (pH) se obtuvo resolviendo la ecuación (3.8.5); la cual cumple con características de no linealidad y requiere la implementación de un método numérico para su resolución.

Una vez determinado el valor del pH , las concentraciones de bicarbonato y CO_2 disuelto se encontraron como se muestra a continuación:

$$Z + 10^{-pH} = \frac{C}{1 + 10^{pK_c - pH}} + \frac{S_2}{1 + 10^{pK_a - pH}} + 10^{pH - pK_w} \quad (3.8.5)$$

$$C_{CO_2} = \frac{C}{1 + 10^{pH - pK_c}} \quad (3.8.6)$$

$$B = \frac{S_2}{1 + 10^{pK_c - pH}} \quad (3.8.7)$$

3.9. Desarrollo del simulador numérico en R

Luego de definir la estructura del modelo matemático de digestión anaerobia AM2, se desarrolló el simulador numérico mediante el software RStudio versión 3.5.1., el cual cabe mencionar es de uso libre bajo condiciones de licencia GNU . El simulador numérico se compone básicamente de 4 archivos denominados “script” en donde se encuentra escrito el código correspondiente a las funciones `am2.R`, `am2monodhaldane.R`, `am2parametros.R`, y `am2pH.R` como se muestra en la Tabla 3.18. Cabe mencionar que para el correcto funcionamiento del simulador numérico se instalaron las siguientes librerías: i) stats, ii) pracma, iii) deSolve, iv) signal, v) gdata y vi) ggplot2.

Tabla 3.18. Componentes del simulador numérico

Script	Descripción
<code>am2.R</code>	Lado derecho de la ecuación diferencial para el modelo
<code>am2monodhaldane.R</code>	Funciones de las cinéticas Monod y Haldane
<code>am2parametro.R</code>	Conjunto de parámetros cinéticos y estequiométricos utilizados por el modelo
<code>am2pH.R</code>	Funciones para la determinación del pH, Alcalinidad y AGVs entre otros

3.10. Desarrollo del optimizador numérico en R

El optimizador numérico se desarrolló básicamente con el objetivo de estimar parámetros cinéticos y estequiométricos que permitieran ajustar el modelo matemático a los datos experimentales obtenidos durante la operación de los reactores UASB en régimen discontinuo y continuo. Para ello fue necesario realizar primero una revisión bibliográfica con el fin de condensar en la Tabla 3.19 resultados obtenidos de diversas investigaciones en los que sea ha hecho la estimación paramétrica de modelos matemáticos de digestión anaerobia (AM2 y AM2HN).

En segunda medida, se construyó el script `Func_Objetivo.R` con la intención de definir una función de costo capaz de minimizar el error entre los resultados generados o predichos por el modelo y los datos experimentales (ecuación 3.10.1). De acuerdo con Zárte (2013) cuando la función objetivo incluye varias mediciones de distinta magnitud es necesario introducir un factor de peso para que todas las mediciones tengan importancia similar en la regresión, por lo que se estableció el factor de peso dado por la ecuación 3.10.2.

Tabla 3.19. Estimación paramétrica en modelos matemáticos de digestión anaerobia

Parámetros	Unidades	Modelo matemático		
		AM2 ^a	AM2 ^b	AM2HN ^c
k_1	$g\ DQO \cdot g\ SV^{-1}$	42.14±18.94	-	20
k_2	$mmol \cdot g\ SV^{-1}$	116.5±113.6	-	464
k_3	$mmol \cdot g\ SV^{-1}$	268.0±52.31	-	514
k_4	$mmol \cdot g\ SV^{-1}$	50.6±143.6	-	310
k_5	$mmol \cdot g\ SV^{-1}$	343.6±75.8	-	600
k_6	$mmol \cdot g\ SV^{-1}$	453.0±90.9	-	253
γ_1	$mol \cdot kg\ SV^{-1}$	-	5.74	-
γ_2	$mol \cdot kg\ SV^{-1}$	-	2.12	-
γ_3	$mol \cdot kg\ SV^{-1}$	-	0.58	-
γ_4	$mol \cdot kg\ SV^{-1}$	-	0.73	-
μ_{1max}	d^{-1}	1.2	0.96	0.33±0.07
k_{S1}	$g\ DQO \cdot L^{-1}$	7.1±5.0	7.52	0.40±0.09
μ_{2max}	d^{-1}	0.74±0.90	0.57	0.13±0.16
k_{S2}	mM	9.28±13.7	27.17	2.93±3.62
K_{i2}	mM	256±320	16.77	207±76.14
K_{hyd}	d^{-1}	-	-	5.02
k_{La}	d^{-1}	19.8±3.50	221.70	24

Fuente: adaptado de a) Bernard et al. (2001); Sbarciog et al. (2010, 2011); Vargas y Moreno (2015), b) Zárte (2013), c) Hassam et al. (2015).

$$Obj(\lambda, \psi) = \sum_{j=1}^M \sum_{i=1}^{N_j} q_j [y_j^*(t_i) - y_j(\lambda, \psi, t_i)]^2 \quad (3.10.1)$$

$$q_j = \frac{1}{N_j \bar{y}_j^2} \quad (3.10.2)$$

donde:

$Obj(\lambda, \psi)$: Función objetivo definida mediante el script `Fun_Objetivo.R`

$y_j^*(t_i)$: Datos experimentales

$y_j(\lambda, \psi, t_i)$: Datos simulados por el modelo `AM2-RStudio.R`

λ : Parámetros cinéticos o estequiométricos considerados

ψ : Vector de condiciones iniciales

t_i : Tiempo de simulación

q_j : Factor de peso

\bar{y}_j^2 : Media aritmética de la medición i

N_j : Numero de datos obtenidos en la medición

Teniendo en cuenta lo anterior se hizo uso de la función `Optim(fn, par, ...)`, la cual permite minimizar funciones no lineales por varios métodos (“Nelder_Mead”, “BFGS”, “CG”, “L-BFGS-B”, “Brent”, entre otros). Los dos parámetros principales de `Optim` son “`fn`”, el cual es la función a optimizar y “`par`” que representa el valor inicial de parámetros desde el cual se desea realizar la búsqueda. La Tabla 3.20 muestra los scripts necesarios para el correcto funcionamiento del optimizador numérico.

Tabla 3.20. Componentes del optimizador numérico

Script	Descripción
<code>am2.R</code>	Lado derecho de la ecuación diferencial para el modelo
<code>am2monodhaldane.R</code>	Funciones de las cinéticas Monod y Haldane
<code>am2parametro.R</code>	Conjunto de parámetros cinéticos y estequiométricos utilizados por el modelo
<code>am2pH.R</code>	Funciones para la determinación del pH, Alcalinidad y AGVs entre otros
<code>AM2-Optimizer.R</code>	Optimizador numérico para ajustar el modelo AM2 a los datos experimentales

3.11. Determinación de puntos de equilibrio del modelo AM2

La determinación de los puntos de equilibrio del modelo AM2 fue una actividad que se realizó luego de ajustar o calibrar el modelo matemático a los datos experimentales generados durante la operación de los reactores UASB en régimen continuo alimentados con los hidrolizados de agave (ácido y ruminal) en condiciones mesofílicas y termofílicas.

En este sentido, se desarrolló el simulador numérico `am2.equilibrio.R` con base en la implementación de un método numérico (`runsteady`) desarrollado por Soetaert (2014) mediante el cual se determinan las condiciones estables de un sistema de ecuaciones diferenciales, definidas en este caso por `am2.R`; la función `runsteady(y, fun, parms, times)` recibe como parámetros un vector de condiciones iniciales (`y`), el modelo matemático en consideración (`fun`), un vector de parámetros (`parms`) y un vector de tiempo (`times`) para definir la duración de la simulación. Adicionalmente, para el correcto funcionamiento del simulador numérico `am2.equilibrio.R` se hizo uso de funciones alternas y parámetros especificados en los scripts que se presentan en la Tabla 3.21.

Tabla 3.21. Componentes del simulador numérico `am2.equilibrio.R`

Script	Descripción
<code>am2.R</code>	Lado derecho de la ecuación diferencial para el modelo
<code>am2monodhaldane.R</code>	Funciones de las cinéticas Monod y Haldane
<code>am2parametro.R</code>	Conjunto de parámetros cinéticos y estequiométricos utilizados por el modelo
<code>am2pH.R</code>	Funciones para la determinación del pH, Alcalinidad y AGVs entre otros
<code>am2.equilibrio.R</code>	Función para la determinación de los puntos de equilibrio del modelo

Teniendo en cuenta que uno de los objetivos de la implementación del simulador numérico - `am2.equilibrio.R` era encontrar por cada valor de la tasa de dilución (D) los puntos de equilibrio correspondientes a las 6 variables de estado del modelo AM2 (X_1 , X_2 , S_1 , S_2 , Z , y C), se programó

una rutina que de forma automática e iterativa realizara este proceso, es decir la determinación de los puntos de equilibrio a partir de la extrapolación de D , iniciando en $0 d^{-1}$ hasta $5 d^{-1}$. Todo esto con la finalidad de identificar los valores correspondientes a la tasa de dilución crítica (D^*) o el tiempo de retención hidráulico crítico (TRH^*) mediante el cual disminuye la producción CH_4 , además de proporcionar la información necesaria para construir lo que posteriormente serían los escenarios de implementación de la estrategia de alimentación controlada (EAC) en reactores UASB.

3.12. Construcción de escenarios para la implementación de la estrategia de alimentación controlada (EAC) en reactores UASB

La construcción de escenarios para la implementación de la estrategia de alimentación controlada (EAC) se llevó a cabo con la intención de mostrar mediante simulaciones realizadas con el modelo AM2, que mediante este tipo de estrategia de control se pueden obtener resultados prometedores para maximizar la producción de CH_4 en reactores UASB alimentados con hidrolizados de agave (ácido y ruminal) y operados en distintos regímenes de temperatura (mesofílico y termofílico). En total se simularon 5 escenarios (*nominal*, *referencia*, *experimental*, *optimista* y *lavado*), y básicamente lo que se hizo en cada uno de ellos fue simular el proceso de digestión anaerobia bajo diferentes condiciones de operación definidas por el tiempo de retención hidráulico (TRH), las cuales se desarrollan ampliamente en el siguiente capítulo para facilitar su comprensión.

3.13. Análisis estadístico

En el análisis estadístico de la información generada durante la operación del sistema experimental en régimen discontinuo y continuo se implementaron herramientas del control estadístico de procesos (SPC) para monitorerar o identificar la estabilidad del proceso de digestión anaerobia. Entre las herramientas utilizadas en el SPC se recomienda el uso de histogramas, hojas de verificación, graficas de Pareto, diagramas de causa y efecto, diagramas de concentración de efectos, diagramas de dispersión y gráficas de control de Shewhart (Loaiza Arbeláez, 2013). Sin embargo, para el proyecto de investigación se utilizaron las gráficas de control debido a que permiten reducir la variabilidad y aumentar la productividad de cualquier proceso en el que intervengan variables de control tales como el flujo de CH_4 , pH, alcalinidad, AGV entre otros (Alcantara et al., 2017). En este sentido, se aplicaron test estadísticos para comprobar los criterios de normalidad e independencia de los datos mediante métodos como el Anderson-Darling, Shapiro-Wilk y Kolmogorov. Finalmente cabe mencionar que, también se aplicaron pruebas estadísticas definidas por medidas de tendencia central, dispersión, asimetría, curtosis entre otros., tal como se resume a continuación:

Medidas de tendencia central (media y mediana): parámetros estadísticos alrededor de los cuales se disponen los datos de la distribución y se toman como el centro de la misma.

- **Media o promedio:** se define como el centro de gravedad de un conjunto de datos y se calculó con la ecuación (3.13.1).

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i \quad (3.13.1)$$

donde:

\bar{x} : Media

x_i : Observación i-esima

- **Mediana:** valor de la distribución de datos que se sitúa justamente en el centro de la muestra; indica que el 50% de los datos poseen valores inferiores o superiores a éste.

Medidas de dispersión: parámetros estadísticos que indican cuánto se alejan o que tan dispersos del centro están los datos de la distribución. Se calculó la varianza, desviación estándar, desviación mediana y coeficiente de variación.

- **Varianza:** medida que representa la distancia promedio al cuadrado de la diferencia entre cada valor y la media de los datos, se determinó con la ecuación (3.13.2).

$$s^2 = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 \quad (3.13.2)$$

- **Desviación estándar:** también llamada desviación típica, es la raíz cuadrada de la varianza; este parámetro permite expresar la medida de dispersión en las mismas unidades en que se encuentran los datos de la distribución. Se calculó según la ecuación (3.13.3).

$$s = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \quad (3.13.3)$$

- **Desviación mediana:** se calculó igual que la desviación estándar con la diferencia de que se empleó la mediana en lugar de la media.
- **Coefficiente de variación:** es el cociente entre la desviación estándar y el valor absoluto de la media; este parámetro permite comparar la dispersión de dos poblaciones estadísticas y se determinó mediante la ecuación (3.13.4).

$$C.V = \frac{s}{\bar{x}} \quad (3.13.4)$$

Medidas de posición: parámetros estadísticos que sirven para indicar la proporción de individuos de la distribución que hay antes y después de un determinado valor; las medidas más importantes son los percentiles y cuartiles.

- **Percentil:** indica el porcentaje de individuos de una distribución que tienen un valor inferior.
- **Cuartiles:** junto con la mediana, sirven para separar la población en cuatro porciones, cada una de ellas con la cuarta parte de los individuos; existen tres cuartiles (Q_1 , Q_2 , Q_3), los cuales dividen el grupo de observaciones ordenadas de forma creciente con el mismo número de observaciones. El 25 % de las observaciones son menores que el primer cuartil (Q_1), el cual es equivalente al percentil 25 ($Q_1 = p_{25}$), el 50 % de los datos son menores que Q_2 y el 75 % son menores que Q_3 que a su vez es equivalente al percentil 75; cabe notar que entre Q_1 y Q_3 se encuentra el 50 % de los datos y la diferencia entre los cuartiles superior e inferior es el recorrido o rango intercuartílico.

Diagrama de cajas y alambres o boxplot: constituye una síntesis de la distribución de un conjunto de datos, y por su sencillez es muy útil, principalmente cuando es necesario comparar varios grupos de datos. En el diagrama de la Figura 3.7 se observan los cuartiles, la mediana (equivalente a Q_2), el rango intercuartílico ($Q_3 - Q_1$) y los cercos internos que permiten evidenciar los puntos atípicos. El cerco interno inferior se calcula como el primer cuartil menos 1.5 veces el rango intercuartílico ($Q_1 - 1.5RIC$) y el cerco interno superior como el tercer cuartil más 1.5 veces el rango intercuartílico ($Q_3 + 1.5RIC$).

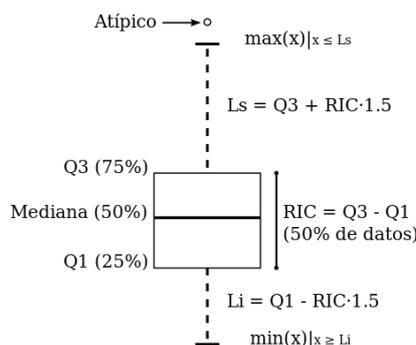


Figura 3.7. Descripción de un diagrama de cajas y alambres

Capítulo 4

Análisis y resultados

4.1. Operación de reactores en régimen discontinuo

Esta sección contempla el análisis de los resultados obtenidos durante la implementación de la etapa experimental en régimen discontinuo alimentando dos reactores UASB (mesofílico y termofílico) con dos tipos de hidrolizados de agave (ácido y ruminal). Inicialmente se hace una evaluación del proceso de aclimatación con base en variables de proceso que muestran cómo fue su desempeño en relación a la producción de biogás (CH_4 y CO_2) y remoción de materia orgánica soluble, y finalmente de la implementación de cinéticas de remoción de sustrato para identificar la idoneidad del modelo matemático AM2.

4.1.1. Aclimatación de hidrolizados de agave

La producción de biogás se evaluó en términos del rendimiento de CH_4 para cada uno de los hidrolizados de agave utilizados. Los reactores UASB alimentados con hidrolizado ruminal generaron mayores cantidades de CH_4 en comparación con los resultados obtenidos con el hidrolizado ácido, siendo mayores cuando la operación de los mismos se efectuó en mesofilia ($35\text{ }^\circ C$) que en termofilia ($55\text{ }^\circ C$). Por otra parte, la remoción de materia orgánica soluble se valoró en términos de la reducción de la DQO (%), y de igual manera se observaron resultados favorables durante el uso del hidrolizado ruminal como sustrato para llevar a cabo el proceso de digestión anaerobia. No se observaron diferencias significativas en cuanto al contenido de CH_4 en el biogás generado puesto que este se mantuvo entre un 56 y 58 % tal como se muestra en la Tabla 4.1.

Tabla 4.1. Rendimientos, remoción de DQO y contenido de CH_4 en régimen discontinuo

Tipo de hidrolizado	Reactor UASB	Rendimiento de CH_4 ($NmL\ CH_4 \cdot g\ DQO_{Removida}^{-1}$)	Remoción de DQO (%)	Contenido de CH_4 (%)
Hidrolizado Ácido	Mesofílico	154.16±33.08	81.3	56.0
	Termofílico	124.15±4.74	78.2	55.8
Hidrolizado Ruminal	Mesofílico	156.07±17.43	85.4	58.0
	Termofílico	143.88±29.61	84.7	56.4

Aunque las diferencias encontradas en los rendimientos de CH_4 no superaron el 20 %, varios autores (Arreola-Vargas et al., 2015; Breton-Deval et al., 2018; Corona y Razo-Flores, 2018; Gomez-Tovar et al., 2012b; Kaparaju et al., 2009b) indican que estas pueden estar asociadas al hecho de que la producción de CH_4 a partir de hidrolizados de origen lignocelulósicos puede verse afectada por diversos factores entre los que se encuentran: el tipo de reactor, las condiciones de operación, la adición de nutrientes y metales pesados que no constituyan una causa eminente de inhibición, y los pre-tratamientos capaces de generar una baja concentración de compuestos inhibitorios como el 5-HMF, furfural y fenoles, entre otros. Por ejemplo, Kaparaju et al. (2009b) identificó que la producción de CH_4 en un reactor CSTR ($297\ NmL\ CH_4 \cdot g\ DQO^{-1}$) era mejor que en un UASB (267

$NmLCH_4 \cdot gDQO^{-1}$) porque este último se vio muy afectado por la concentración de sustrato; por otra parte [Arreola-Vargas et al. \(2015\)](#) evaluó la producción de CH_4 en diferentes condiciones de hidrólisis ácida (HCl) de bagazo de agave con y sin la adición de nutrientes, y encontró una reducción importante en los rendimientos de CH_4 (260 a $100 NmLCH_4 \cdot gDQO^{-1}$) por la adición de nutrientes al medio debido al efecto negativo generado sobre la relación arqueas/bacteria. Adicionalmente, [Breton-Deval et al. \(2018\)](#) muestran que el tipo de pretratamiento utilizado para la producción de hidrolizados ácidos con bagazo de agave también constituye una variable de suma importancia, aunque no está ligada propiamente al proceso de digestión anaerobia, sí puede generar alteraciones serias en el proceso hasta lograr su disminución debido al bajo contenido de azúcares, presencia de potenciales inhibidores o el crecimiento de bacterias sulfatoreductoras cuando se utiliza H_2SO_4 en lugar de HCl ; particularmente este autor encontró rendimientos de CH_4 muy bajos ($40 NmLCH_4 \cdot gDQO^{-1}$ y) cuando se produjo hidrolizado ácido con H_2SO_4 en comparación de lo obtenido con HCl ($170 NmLCH_4 \cdot gDQO^{-1}$).

Gran parte de los resultados mostrados anteriormente sugieren que la estrategia de aclimatación implementada en los reactores UASB mesofílico y termofílico con los dos hidrolizados de agave (ácido y ruminal) fue la adecuada en el sentido de que favoreció la asimilación de los sustratos para la producción de un vector energético como el CH_4 y la remoción de materia orgánica soluble, siendo esta mayor al 78 % en todos los casos (Tabla 4.1). Cabe mencionar que los valores de remoción de DQO alcanzados, se encuentran dentro de lo esperado puesto que varios autores ([Corona y Razo-Flores, 2018](#); [del Real Olvera y Lopez-Lopez, 2012](#); [Khanal, 2011](#)) indican que para un proceso de digestión anaerobia operado en fase estable es posible conseguir en promedio valores del 76 %.

Si bien la fase de aclimatación con el hidrolizado ácido de agave tuvo un periodo de evaluación mucho más grande (10 meses) que con el hidrolizado ruminal (4 meses), permitió entender que cuando se trabaja con sustratos solubles de fácil asimilación y en las concentraciones adecuadas, se deben reducir los tiempos de reacción en un 50 % del valor fijado al inicio de la fase de aclimatación y especialmente cuando se trabaja en régimen termofílico, puesto que la estructura y composición de la biomasa empieza a verse afectada por el decaimiento endógeno de los microorganismos. Particularmente este fue un aspecto considerado cuando se trabajó con el hidrolizado ácido en el reactor UASB termofílico y replicado durante la evaluación del proceso en régimen discontinuo con el hidrolizado ruminal. De acuerdo con [Ho et al. \(2013\)](#), tanto la temperatura como los tiempos de retención juegan un rol fundamental en la solubilización de la biomasa y estructura de la comunidad microbológica, siendo menor la abundancia relativa de arqueas cuando se trabaja con temperaturas por encima de los $60^\circ C$ y tiempos de retención menores a 2 días. En este contexto, una baja producción de CH_4 se relaciona con cambios generados en la estructura de la comunidad microbológica y vías metabólicas asociadas al consumo de acetato e hidrógeno por especies de microorganismos como *Methanosarcina* spp. y *Methanothermobacter* spp.

Tanto el hidrolizado ácido como el ruminal se componen principalmente de sustratos solubles (Tabla 3.7) que representan cerca del 84 % y 80 % de la DQO, aunque cabe mencionar algunas diferencias muy importantes entre ellos que pudieron haber incidido en la rápida adaptación de los microorganismos. En primer lugar, se encontró que el hidrolizado ácido se compone principalmente de carbohidratos solubles (xilosa, celobiosa y glucosa) que contribuyeron con el 66 % de la DQO, mientras que con el hidrolizado ruminal se determinó lo contrario, es decir, una alta participación de ácidos grasos (94 %) en el contenido de la DQO. En segundo lugar, también se identificó que la concentración de Na en el hidrolizado ácido era mayor ($4.53 gNa \cdot L^{-1}$) que en el hidrolizado ruminal ($1.60 gNa \cdot L^{-1}$), lo cual según varios autores ([Akunna, 2018](#); [Chen et al., 2008](#); [Mao et al., 2015](#)) para el primer tipo de hidrolizado tales concentraciones se encuentran dentro del rango de concentración inhibitoria ($3.5-5.5 gNa \cdot L^{-1}$) que debería evitarse en procesos de digestión anaerobia.

Todo lo anterior sugiere, que con el hidrolizado ácido los microorganismos deben llevar a cabo un proceso de acidogénesis y metanogénesis para la producción de CH_4 , mientras que con el hidrolizado ruminal prácticamente se omite la acidogénesis y pasa directamente a la producción de CH_4 a través de la metanogénesis. Aspectos que fueron observados de manera exploratoria al ajustar las curvas de producción acumulada de CH_4 al modelo modificado de Gompertz ([Gadhamshtetty et al., 2010](#); [Kafle y Chen, 2016](#); [Ruggeri et al., 2015](#); [Wang y Wan, 2009](#)) para determinar los valores de la fase *lag* (λ) correspondiente a cada uno de los hidrolizados de agave utilizados (Tabla 4.2). Sin

embargo, cabe mencionar que debido a los alcances planteados en el proyecto de investigación y a las diferencias en las que se llevó a cabo la estrategia de aclimatación con el hidrolizado ácido (10 meses) y ruminal (4 meses) en régimen discontinuo valdría la pena investigar más sobre este aspecto.

Tabla 4.2. Fase *lag* asociada al tipo de hidrolizado de agave

Tipo de Hidrolizado	Fase <i>lag</i> en UASB Mesofílico (<i>h</i>)	Fase <i>lag</i> en UASB Termofílico (<i>h</i>)
Hidrolizado ácido	3.63±2.16	4.38±2.00
Hidrolizado ruminal	1.23±0.10	3.53±1.72

4.1.2. Cinéticas de remoción de sustrato

A continuación se presenta la información obtenida de las cinéticas de remoción de sustrato (hidrolizado ácido) realizadas durante la implementación de la estrategia de aclimatación de los reactores UASB en régimen discontinuo (Figura 4.1), en donde cabe señalar que las cinéticas realizadas en el primer ciclo de aclimatación se etiquetaron como “Cinética 1” mientras que las realizadas en el ultimo ciclo de aclimatación (10 meses después) como “Cinética 2”.

En este sentido, de las cinéticas logró diferenciarse la degradación del hidrolizado ácido a través de la acidogénesis y metanogénesis del proceso de digestión anaerobia; específicamente durante las primeras 10 *h* de iniciado el proceso ocurrió la acidogénesis de la xilosa para la formación de acetato, y posteriormente su consumo por parte de microorganismos metanogénicos para la producción de CH_4 .

Sin embargo, considerando que las cinéticas se llevaron a cabo en diferentes ciclos durante la implementación de la estrategia de aclimatación, se resalta como hecho importante la reducción que presentaron los tiempos de reacción para lograr una misma eficiencia de remoción de sustrato. Por ejemplo, para las cinéticas de la DQO presentadas en la Figura 4.1 en condiciones mesofílicas, se observa para el primer caso (Figura 4.1a) que para lograr una reducción del 63 % se requiere de 19 *h* de reacción mientras que para el segundo (Figura 4.1b) 13 *h* son suficientes para remover el 60 %, notándose de esta manera una reducción en los tiempos de reacción de 6 *h*. De igual manera, un comportamiento similar se observó en las cinéticas de remoción de la DQO presentadas en la Figura 4.1 en condiciones termofílicas, donde inicialmente (Figura 4.1c) los microorganismos tardan 29 *h* para remover el 64 % mientras que al final (Figura 4.1d) solo les cuesta 18 *h* en alcanzar igual porcentaje de remoción, apreciándose de esta forma una disminución en los tiempos de reacción de 11 *h*. Lo cual también coincide con la determinación de parámetros cinéticos y estequiométricos realizada posteriormente (Sección 4.2), en donde se observó un incremento en la tasa de crecimiento (μ^*) y una reducción en S^* de microorganismos metanogénicos, mostrando así el efecto favorable de la implementación de la estrategia de aclimatación en el proceso de digestión anaerobia.

Finalmente, de la información presentada en la Figura 4.1 cabe señalar que las márgenes que acompañan cada una de las líneas de tendencia de los diferentes metabolitos se conocen como bandas de confianza (superior e inferior) y proporcionan una representación “gráfica” del intervalo de confianza o incertidumbre asociada a una línea de regresión para un conjunto de datos (Wickham, 2016). En este sentido, las bandas de confianza obtenidas para cada uno de los metabolitos se determinaron como producto de la implementación de un modelo de regresión no paramétrico a los datos experimentales, para lo cual se hizo uso de un algoritmo del paquete ggplot2 generado por Wickham (2016) en el software Rstudio versión 3.5.1, en donde se definió tanto el método de regresión (`loess`) como el nivel de significancia (0.95). De esta manera, las bandas de confianza situadas por encima y por debajo de la línea de regresión de cada metabolito indican que bajo una significancia del 95 % la concentración media predicha de cada metabolito se encuentra por encima de un valor mínimo y por debajo de un valor máximo específico; se observa que de todas las variables medidas (acetato, xilosa, CH_4 , entre otras), la línea de regresión de la DQO es la que presenta el mayor grado de incertidumbre por el menor número de muestras seleccionadas.

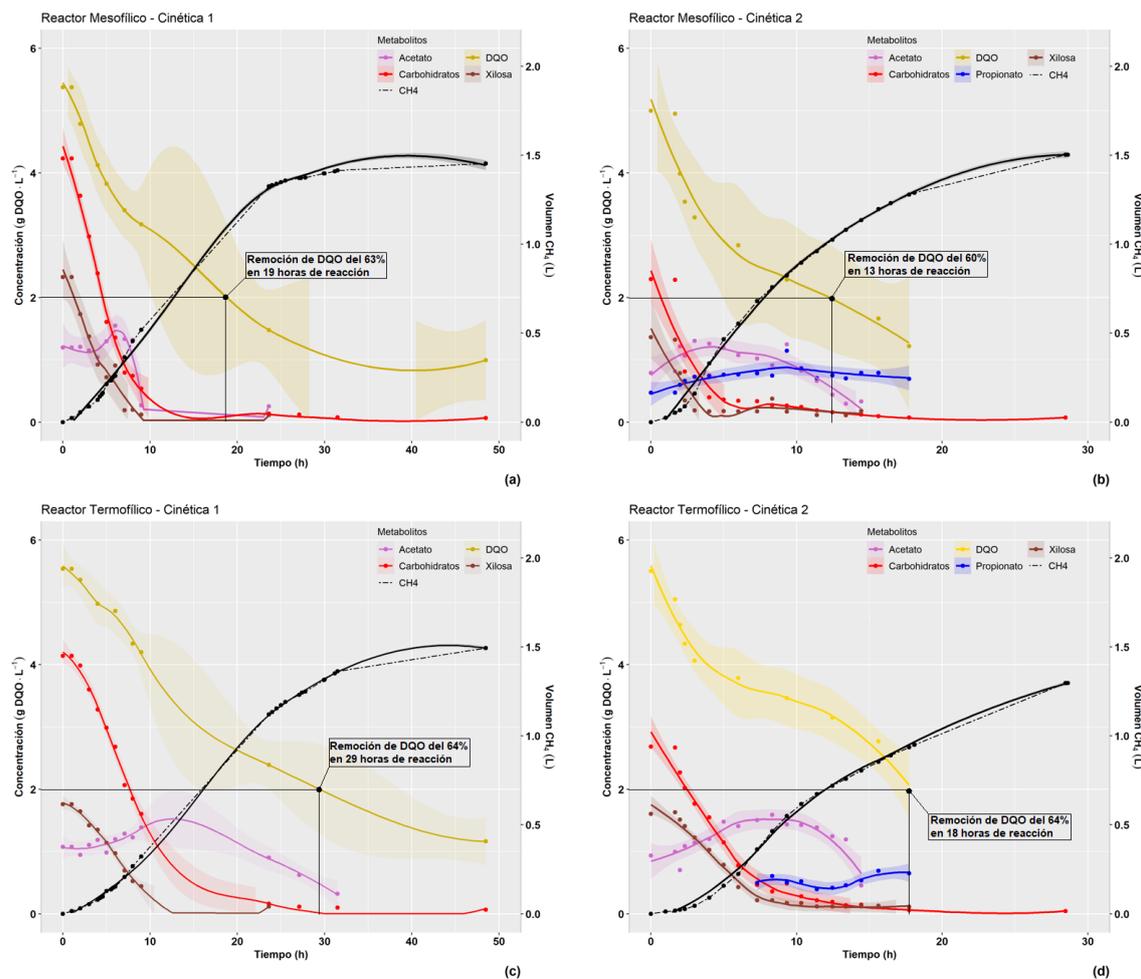


Figura 4.1. Cinética de remoción de DQO, carbohidratos y AGV en reactores UASB

Otro aspecto importante a resaltar de las cinéticas de remoción de sustrato es el balance de electrones realizado, en donde no solo se logró cuantificar la cantidad de electrones disponibles al inicio sino también conocer sobre su distribución al final de cada cinética con base en los diferentes metabolitos (xilosa, acetato, CH_4 , entre otros.) medidos experimentalmente. Cabe indicar que el límite superior ($1.34 \pm 0.06 \text{ mol } e^-$) que se muestra en la Figura 4.2 equivale a la concentración influente de DQO (5.35 ± 0.25) que se garantizó al inicio de cada cinética, mientras que la participación (%) de los metabolitos se estimó con base en la ecuación (3.6.2) presentada en el capítulo 3 (sección 3.6).

Del balance de electrones presentado en la Figura 4.2 para cada una de las cinéticas, se observó que al realizar la digestión anaerobia del hidrolizado ácido en condiciones mesofílicas y termofílicas, los electrones disponibles al inicio del proceso ($1.34 \pm 0.06 \text{ mol } e^-$) se dirigieron hacia la producción de biogás (CH_4 y CO_2), sustrato residual (AGV, carbohidratos e inhibidores), síntesis de biomasa y no determinados (N.D). Específicamente, los balances realizados en el reactor UASB mesofílico mostraron que en promedio el 65 % de los electrones se dirigieron hacia la producción de biogás, el 3 % hacia la síntesis de biomasa celular, el 27 % permanecieron como sustrato residual y lo restante (6 %) en N.D; mientras que para el reactor UASB termofílico se obtuvo que el 52 % de los electrones se canalizaron hacia la producción de biogás, el 2 % hacia la síntesis de biomasa celular, el 28 % permanecieron como sustrato residual y lo restante (19 %) en N.D. Al comparar estos resultados con la literatura, se ha encontrado que es usual que al final de la digestión anaerobia de hidrolizados ácidos permanezcan algunos metabolitos en forma de carbohidratos (xilosa, glucosa, celobiosa) y AGV (acetato, butirato, propionato) que no alcanzan a ser convertidos a CH_4 y que por tanto terminan contribuyendo a la DQO residual del proceso. Por ejemplo [Gomez-Tovar et al. \(2012b\)](#), al finalizar la etapa de aclimatación de un reactor UASB, encontraron un porcentaje de AGV residual del 20 % en forma de acetato (59 %), propionato (12 %) y butirato (29 %) pero sin la detección de carbohidratos; mientras que [Arreola-Vargas et al. \(2015\)](#) luego de realizar diversas

pruebas en un reactor anaerobio de tipo SBR (del inglés *Sequential Batch Reactors*) determinaron en el sustrato residual un 7 % de AGV y un 23 % de carbohidratos solubles; en cuanto a la distribución del resto de electrones disponibles, estos mismos autores (Arreola-Vargas et al., 2015) observaron que aproximadamente el 50 % se destinaba hacia la producción de CH_4 y el 20 % hacia la biomasa y otros.

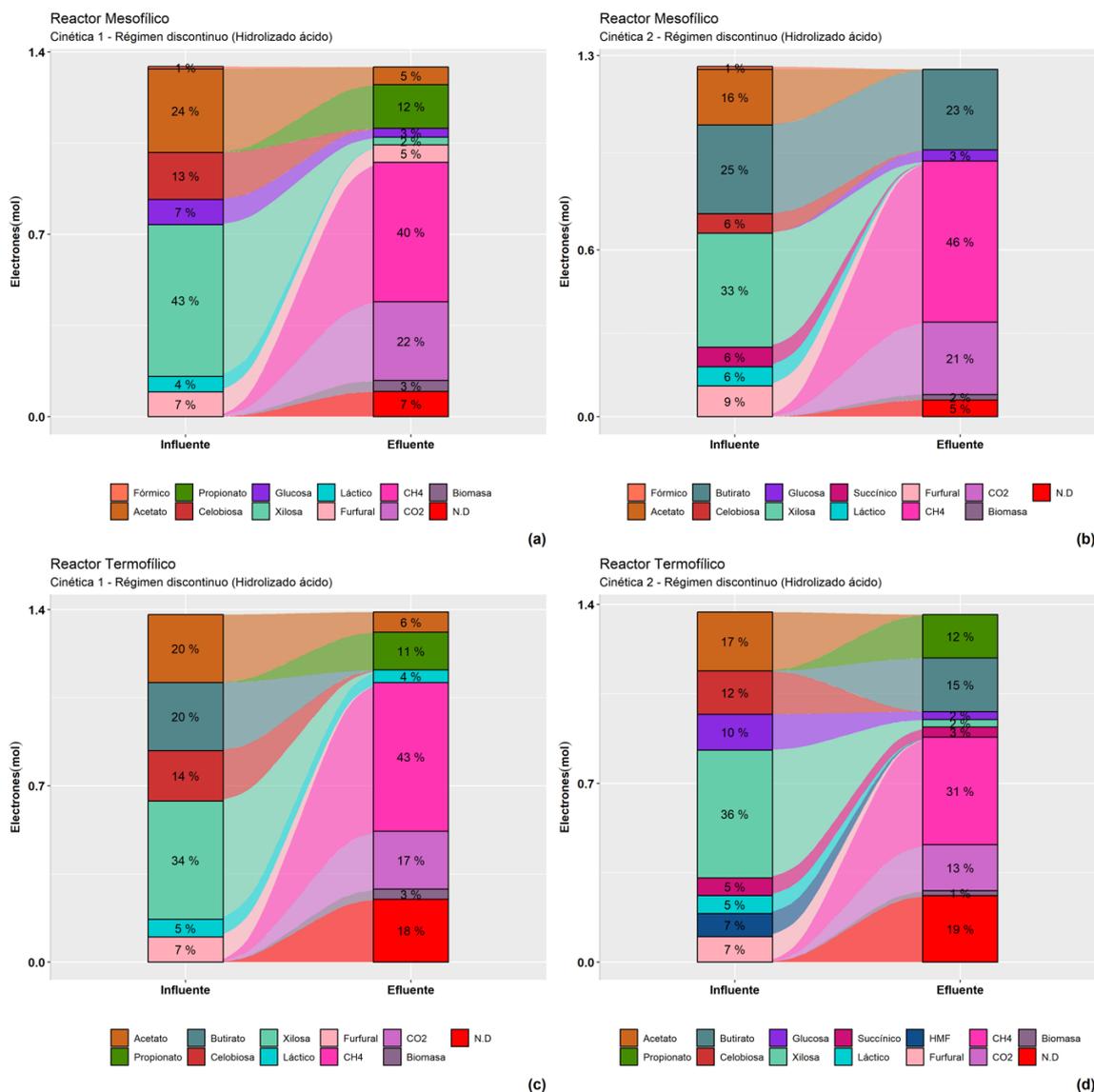


Figura 4.2. Balance de electrones en cinéticas de remoción de sustrato

Con todo lo mencionado anteriormente se muestra *grosso modo* la idoneidad que tendría la implementación del modelo matemático AM2 para representar la dinámica del proceso de digestión anaerobia en reactores UASB, dadas las características fisicoquímicas del hidrolizado ácido de agave utilizado y la facilidad con que se observó a través de las cinéticas de remoción de sustrato y del balance de electrones cómo los microorganismos asimilaron cada uno de los metabolitos generados durante el proceso. En este sentido, los resultados obtenidos responden a la interrogante sobre su implementación a lo largo de todo el proyecto de investigación independientemente de las características fisicoquímicas de los hidrolizados de agave utilizados.

4.2. Implementación del modelo matemático AM2 en régimen discontinuo

En esta sección se presenta la implementación del modelo matemático AM2 en régimen discontinuo para los dos tipos de hidrolizados de agave utilizados durante el desarrollo del proyecto de investigación, por lo que inicialmente se muestran los resultados obtenidos para el hidrolizado ácido en función del volumen acumulado de CH_4 (V_m), carbohidratos (S_1), ácidos grasos (S_2) y flujo de CH_4 (q_m) debido a que fueron las únicas variables de proceso que se midieron durante la construcción de las cinéticas de remoción de sustrato en condiciones mesofílicas y termofílicas. Posteriormente, se presentan los resultados de la implementación del modelo AM2 para el hidrolizado ruminal con la diferencia de que solo se muestra el ajuste del modelo matemático en función de las variables V_m y q_m , puesto que con este tipo de hidrolizado no fue posible elaborar cinéticas de remoción de sustrato para obtener información relacionada con las variables S_1 y S_2 .

4.2.1. Simulaciones en reactor UASB mesofílico

En la Figura 4.3 se presentan los resultados de la primera simulación realizada con el hidrolizado ácido en condiciones mesofílicas. Se puede ver como para cada una de las variables simuladas el modelo AM2 logró predecir adecuadamente su comportamiento durante un periodo de simulación de tres días. Cabe destacar que de las variables simuladas las que mejor se ajustaron al modelo fueron S_1 y V_m al presentar un R^2 de 0.98 y 0.96 mientras que S_2 y q_m presentaron un coeficiente de terminación de 0.88 y 0.64 respectivamente.

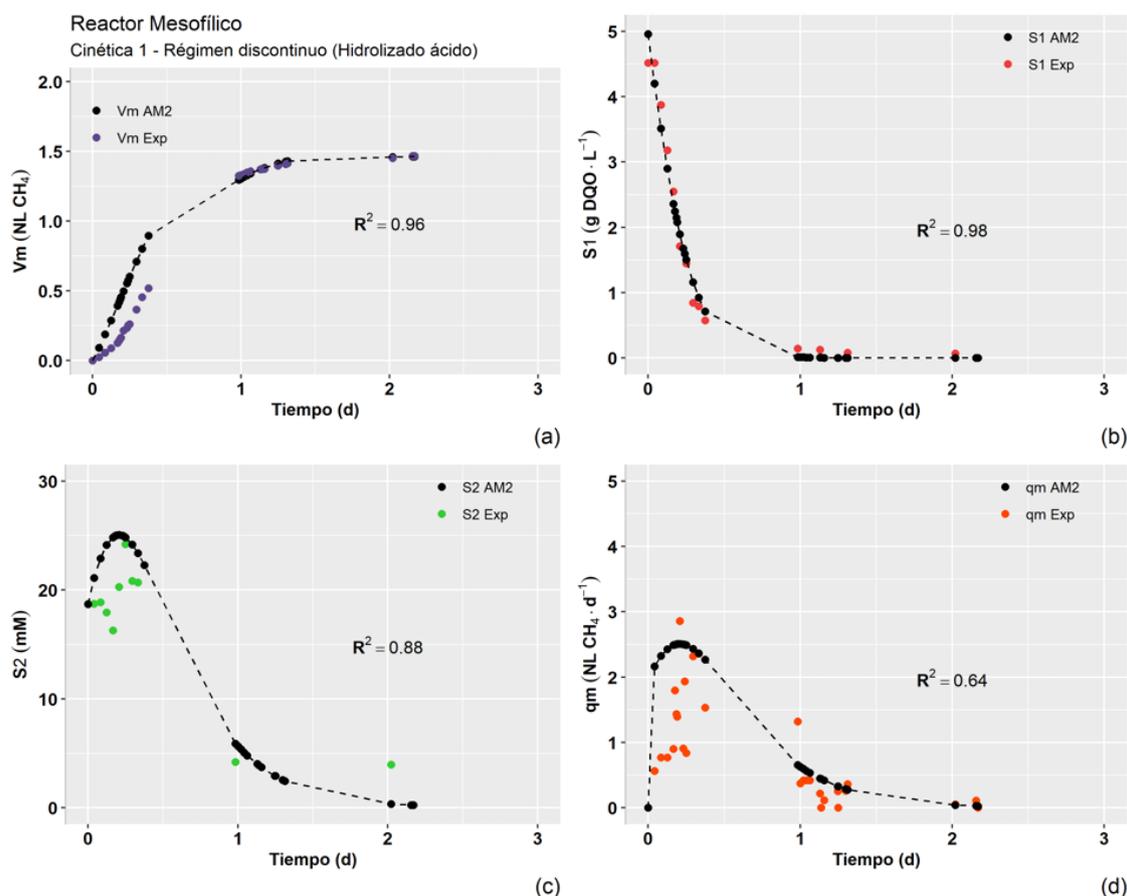


Figura 4.3. Simulación N^o 1 con hidrolizado ácido

En una segunda simulación (Figura 4.4) realizada con el mismo tipo de hidrolizado de agave se observó de igual manera una correspondencia del modelo AM2 con las variables simuladas, en este caso para V_m y S_1 se determinó un R^2 de 0.92 y 0.86 mientras que para q_m y S_2 fueron de 0.73 y 0.66 respectivamente.

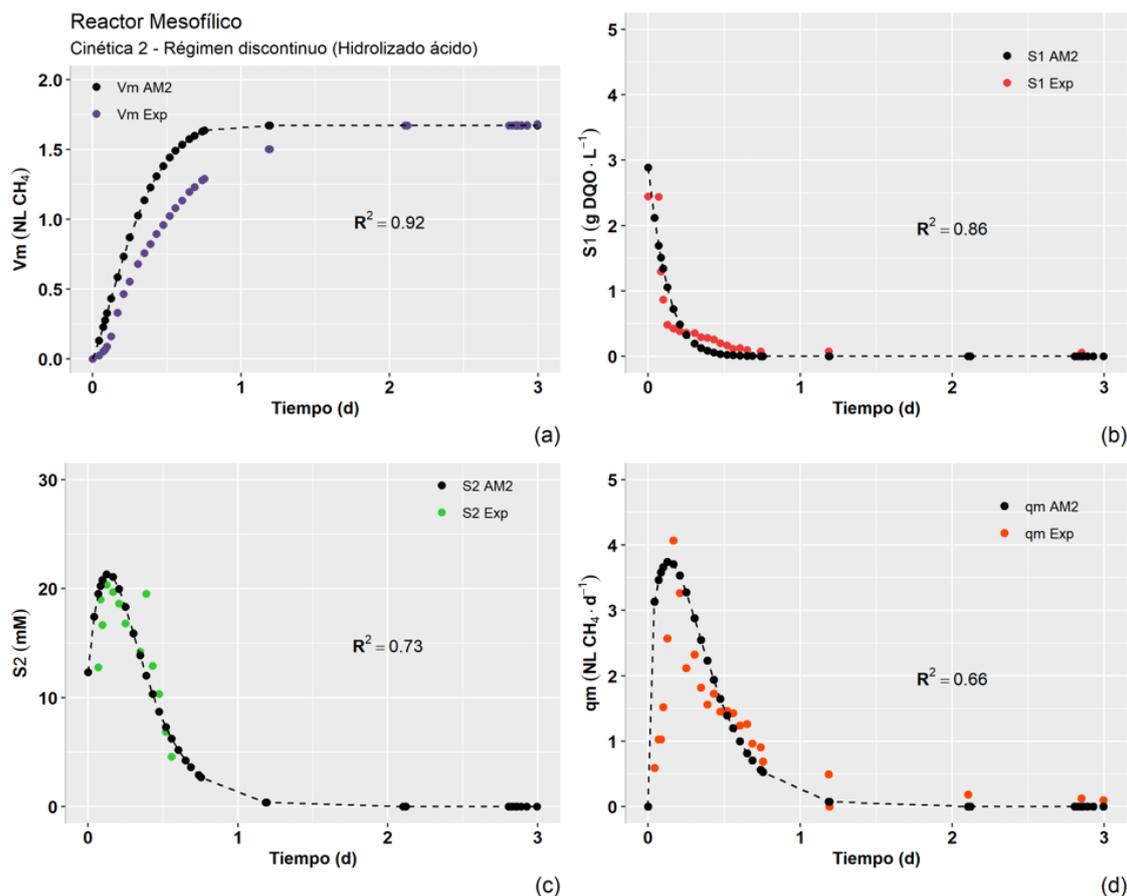


Figura 4.4. Simulación $N^{\circ} 2$ con hidrolizado ácido

Teniendo en cuenta que las cinéticas de remoción de sustrato se implementaron a diferentes periodos de tiempo según lo fueron indicando los ciclos de aclimatación en régimen discontinuo con el hidrolizado ácido, se observó a partir de la identificación de parámetros cinéticos y estequiométricos cómo la comunidad de microorganismos pudo asimilar con mayor facilidad el tipo de sustrato suministrado. Por ejemplo, de los parámetros mostrados en la Tabla 4.3, los valores de μ^* indican que la biomasa metanogénica aparentemente incrementó su tasa de crecimiento al pasar de 0.12 a 0.13 d^{-1} . De igual forma los valores de S^* muestran mejoras del proceso al reducir su valor en un 5% .

Tabla 4.3. Parámetros cinéticos y estequiométricos empleando hidrolizado ácido

Simulación	$\mu_{1,max}$ (d^{-1})	k_{S1} ($\text{gDQO} \cdot \text{L}^{-1}$)	μ^* (d^{-1})	S^* (mM)	β ($-$)	K_{La} (d^{-1})	K_1 ($\text{gDQO} \cdot \text{gSV}$)	K_2	K_3	K_4	K_5	K_6
								(mmol · gSV)				
$N^{\circ} 1$	1.33	7.3	0.12	215.85	0.31	2.5	20	118	900	750	750	750
$N^{\circ} 2$	1.33	7.3	0.13	207.38	0.31	2.0	20	200	850	750	750	750

Por otra parte, las simulaciones realizadas con el hidrolizado ruminal (Figura 4.5) muestran en primera medida un excelente ajuste del modelo AM2 a las variables experimentales medidas, que en este caso especial estuvieron dadas por el volumen acumulado (V_m) y caudal de CH_4 (q_m) al presentar un coeficiente de determinación (R^2) de 0.99 y 0.86 respectivamente. Cabe mencionar que para entonces ya se había puesto en funcionamiento el medidor de flujo μFlow para obtener mediciones más frecuentes del caudal de biogás. Sin embargo, también la señal de caudal de biogás resultó más ruidosa, por lo que fue necesario realizar un procesamiento a los datos experimentales para mostrar una curva correspondiente a las mediciones crudas de CH_4 ($q_{m,Exp}$), a la señal filtrada de CH_4 ($q_{m,Filtro}$), y finalmente una curva para las predicciones generadas por el modelo matemático ($q_{m,AM2}$) tal como se presenta en la Figura 4.5b y 4.5d, donde se emplea una escala de color (del rojo al verde) proporcional al valor de caudal o del volumen registrados para facilitar su comprensión.

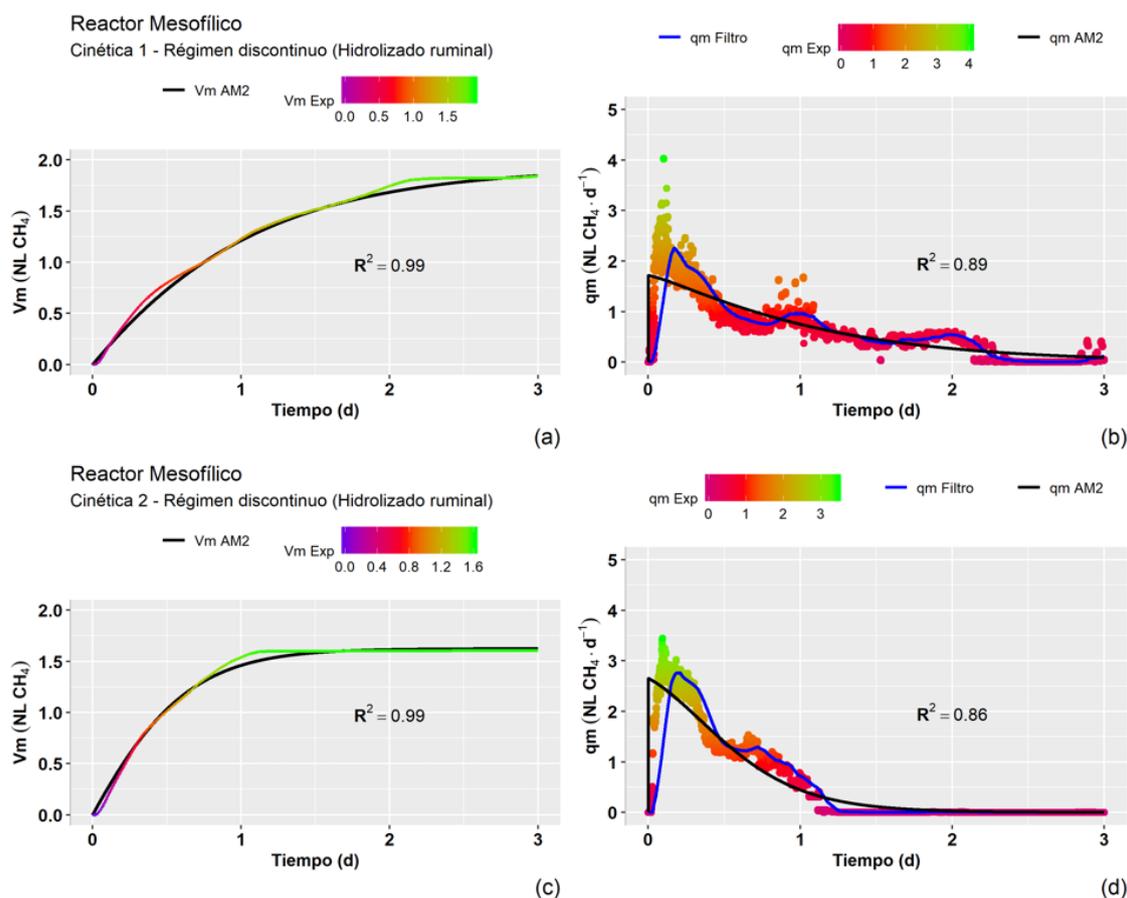


Figura 4.5. Simulaciones con hidrolizado ruminal

De las dos simulaciones realizadas con este tipo de hidrolizado (ruminal) se observó a partir de la identificación de parámetros estequiométricos y cinéticos (Tabla 4.4) un importante efecto sobre la comunidad microbológica al alimentar el reactor UASB mesofílico con un tipo de sustrato diferente. Este efecto se observó principalmente sobre la biomasa metanogénica, específicamente en los valores de μ^* al disminuir 68-70 %, y también sobre S^* al aumentar 15-32 % con respecto a lo encontrado con el hidrolizado ácido.

Tabla 4.4. Parámetros cinéticos y estequiométricos empleando hidrolizado ruminal

Simulación	$\mu_{1,max}$ (d^{-1})	k_{S1} ($gDQO \cdot L^{-1}$)	μ^* (d^{-1})	S^* (mM)	β (-)	K_{La} (d^{-1})	K_1 ($gDQO \cdot gSV$)	K_2	K_3	K_4	K_5	K_6
Nº.1	1.33	7.3	0.04	317.91	0.36	2	20	118	1000	650	650	530
Nº.2	1.33	7.3	0.04	176.00	0.29	2	20	118	1050	550	550	500

La Figura 4.6 muestra el comportamiento de la tasa de crecimiento (μ_2) correspondiente a la biomasa metanogénica en función de la concentración de AGV (S_2) para los dos tipos de hidrolizados de agave utilizados en los experimentos, y básicamente lo que se observa en esta figura es el efecto generado sobre el proceso de digestión anaerobia al alimentar el sistema experimental con otro tipo de sustrato, recordando que en un principio los experimentos realizados se iniciaron con la operación de los reactores UASB con el hidrolizado ácido y posteriormente con hidrolizado ruminal; sin embargo, cabe mencionar que estas curvas no dejan ver muy bien la forma del modelo de Haldane, lo que a su vez resulta interesante, puesto que sugiere que tal vez la concentración de AGV en ningún caso llegó a ser inhibitoria, por lo que en futuros trabajos valdría la pena discutir sobre la pertinencia de insistir en continuar usando el modelo de Haldane cuando tal vez uno de tipo Monod o incluso uno de primer orden sea más adecuado.

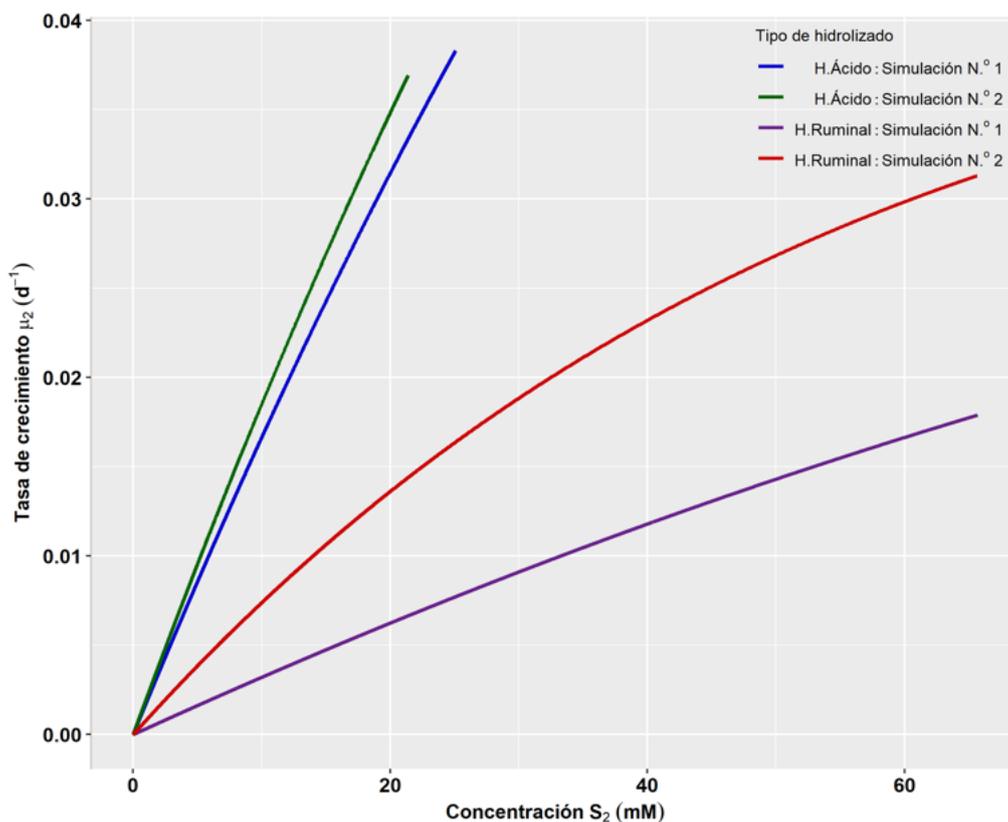


Figura 4.6. Comportamiento de μ_2 en función del tipo de hidrolizado de agave

De acuerdo con varios autores las causas que pudieron haber incidido sobre la tasa de crecimiento μ_2 de la biomasa metanogénica están relacionadas con una alta concentración de AGV, competencia y lisis celular debido al cambio de sustrato. En cuanto a la concentración de AGV, [Siegert y Banks \(2005\)](#); y [Jha y Schmidt \(2017\)](#) enfatizan en que generan un efecto inhibitorio de carácter temporal en la población de microorganismos hasta que estos se vuelven tolerantes a las nuevas concentraciones de compuestos como el acetato, propionato y butirato. Específicamente estos autores manifiestan que bajo concentraciones de AGV entre 1 a $10 \text{ g AGV} \cdot \text{L}^{-1}$ ya empiezan a ser visibles los efectos generados sobre la producción de CH_4 , lo cual se observó experimentalmente al cambiar el tipo de hidrolizado de agave debido a que la concentración de AGV aumentó de 1.3 a $4.8 \text{ g AGV} \cdot \text{L}^{-1}$.

Por otro lado, también se considera que la competencia entre especies de microorganismos pudo haber sido otro de los factores que menguaron la tasa de crecimiento de la biomasa metanogénica debido al contacto generado entre el inoculo anaerobio utilizado al inicio de los experimentos y la microflora nativa del hidrolizado ruminal, puesto que según [Morgavi et al. \(2010\)](#); y [Barragán-Trinidad et al. \(2017\)](#) esta última se encuentra compuesta principalmente de protozoos ciliados (50%) y bacterias (30%) que en determinadas condiciones pueden dejar un efecto adverso en el desarrollo del proceso debido a la colonización de nuevas especies, aunque según [Yıldırım et al. \(2017\)](#); y [Lan y Yang \(2019\)](#) los hongos de rumiantes soportan la degradación de compuestos lignocelulósicos es necesario que estos se mantengan en bajas cantidades ($< 10^5$ células $\cdot \text{g ST}$) para que el proceso de digestión anaerobia se lleve a cabo principalmente por bacterias y arqueas metanogénicas.

Para finalizar, el rompimiento de la pared celular de microorganismos productores de CH_4 por ciertos ciliados presentes en el fluido ruminal también se considera como otra de las posibles causas de la baja tasa de crecimiento de la biomasa metanogénica puesto que según [Bonhomme \(1990\)](#) todo se fundamenta en la capacidad que tienen los protozoos ciliados y hongos de hidrolizar el pseudopeptidoglicano presente en la pared celular de arqueas metanogénicas, dejándolas expuestas al medio externo e inclusive a su destrucción por procesos de lisis osmótica al no contar con una pared celular que ayude a contrarrestar la presión osmótica generada al interior de la célula ([Nelson y Cox, 2018](#)).

4.2.2. Simulaciones en reactor UASB termofílico

La Figura 4.7 muestra la primera implementación del modelo matemático AM2 para simular el proceso de digestión anaerobia en el reactor UASB termofílico alimentado con el hidrolizado ácido de agave.

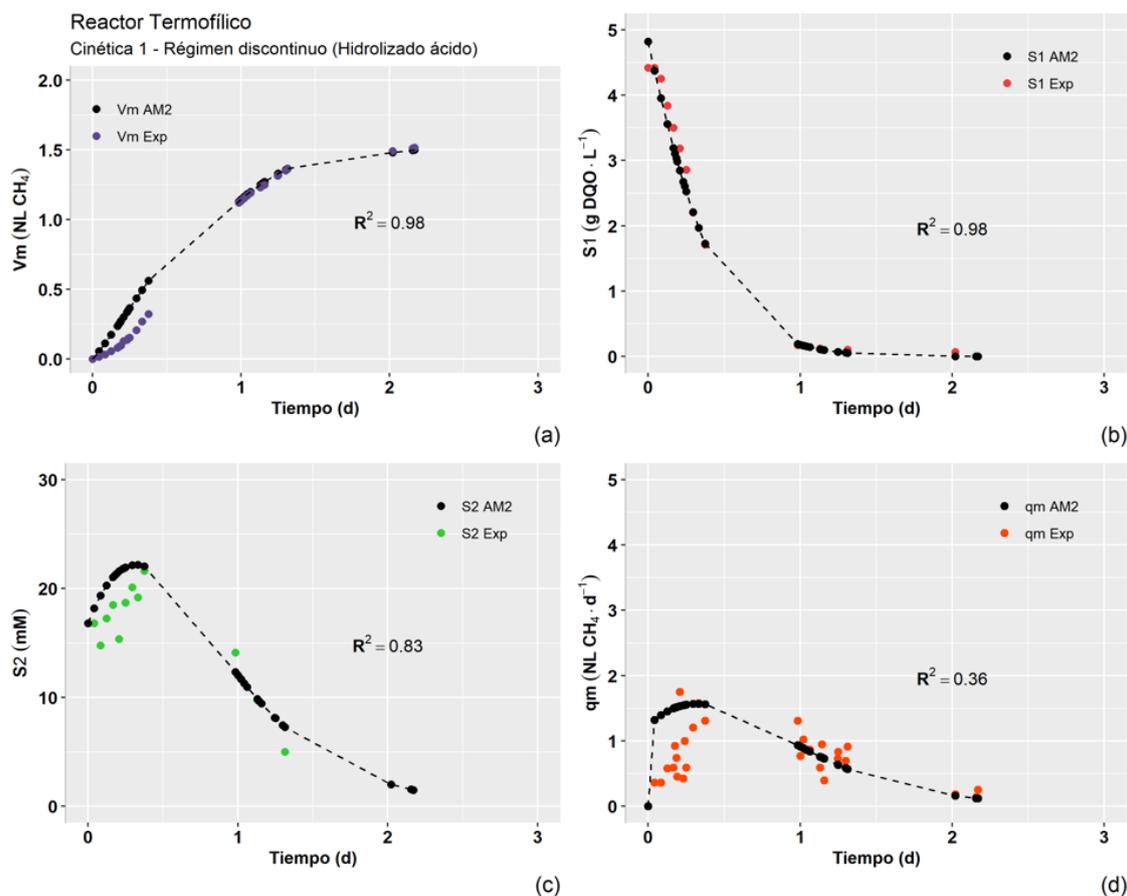


Figura 4.7. Simulación N° 1 con hidrolizado ácido

En ella se observó que de todas las variables modeladas las que mejor se ajustaron a los datos experimentales fueron V_m y S_1 con un coeficiente de determinación (R^2) igual a 0.98, valores muy similares a los determinados durante la calibración del modelo AM2 con el reactor UASB mesofílico. Por el contrario, para las variables S_2 y q_m se estimó un R^2 de 0.83 y 0.36 los cuales se encuentran por debajo de lo encontrado con las variables mencionadas inicialmente.

De la misma manera en la Figura 4.8 se observa que la predicción que tiene el modelo sobre V_m y S_1 continúa siendo alta con valores de R^2 de 0.98 y 0.96 respectivamente, en comparación a los valores de R^2 para S_2 (0.60) y q_m (0.61), aspecto que llama mucho la atención sobre la fiabilidad que tendría el modelo AM2 a la hora de querer utilizar las predicciones generadas sobre S_2 y q_m con fines de control cuando se cuenta con poca información de las variables de interés, pues como se mostrará más adelante los valores de R^2 en q_m están más asociados a la cantidad y calidad de datos disponibles para realizar una adecuada parametrización del modelo AM2, que a la falta de ajuste o predicción que pueda generar sobre el proceso de digestión anaerobia.

Otro aspecto importante que se identificó en la implementación del modelo AM2 se relaciona con la determinación de parámetros cinéticos y estequiométricos, en donde al igual que lo observado con el reactor UASB mesofílico proporcionó información sobre el proceso de adaptación y/o aclimatación del consorcio de microorganismos al utilizar el hidrolizado ácido de agave como sustrato. Tal como se muestra en las dos simulaciones (Tabla 4.5), al parecer sí hubo un mejoramiento en la velocidad de crecimiento de la biomasa acidogénica y metanogénica debido a los valores de $\mu_{1,max}$ y μ^* respectivamente; en el primer caso se encontró que la población de bacterias acidogénicas aproximadamente duplicaron su tasa de crecimiento inicial ($0.60 d^{-1}$) a $1.33 d^{-1}$ mientras que la

biomasa metanogénica al final del periodo de aclimatación lo hizo aproximadamente en un 17% tomando como referencia un valor de $0.05 d^{-1}$ correspondiente al inicio del periodo de aclimatación.

Por otro lado, aunque para la biomasa acidogénica las simulaciones no mostraron un incremento o decremento en los valores de k_{S1} para tener una idea sobre la afinidad de la biomasa sobre el sustrato (carbohidratos), sí cabe resaltar que para la biomasa metanogénica se observó una mejora en la asimilación de los AGV al pasar de $191.4 mM$ a $132.0 mM$. Este hecho también se identificó en el incremento de algunos parámetros estequiométricos (K_2 y K_3) relacionados con el producción de AGV por la biomasa acidogénica y el consumo de AGV por la biomasa metanogénica puesto que tanto K_2 y K_3 aumentaron en un 29% y 11%, respectivamente.

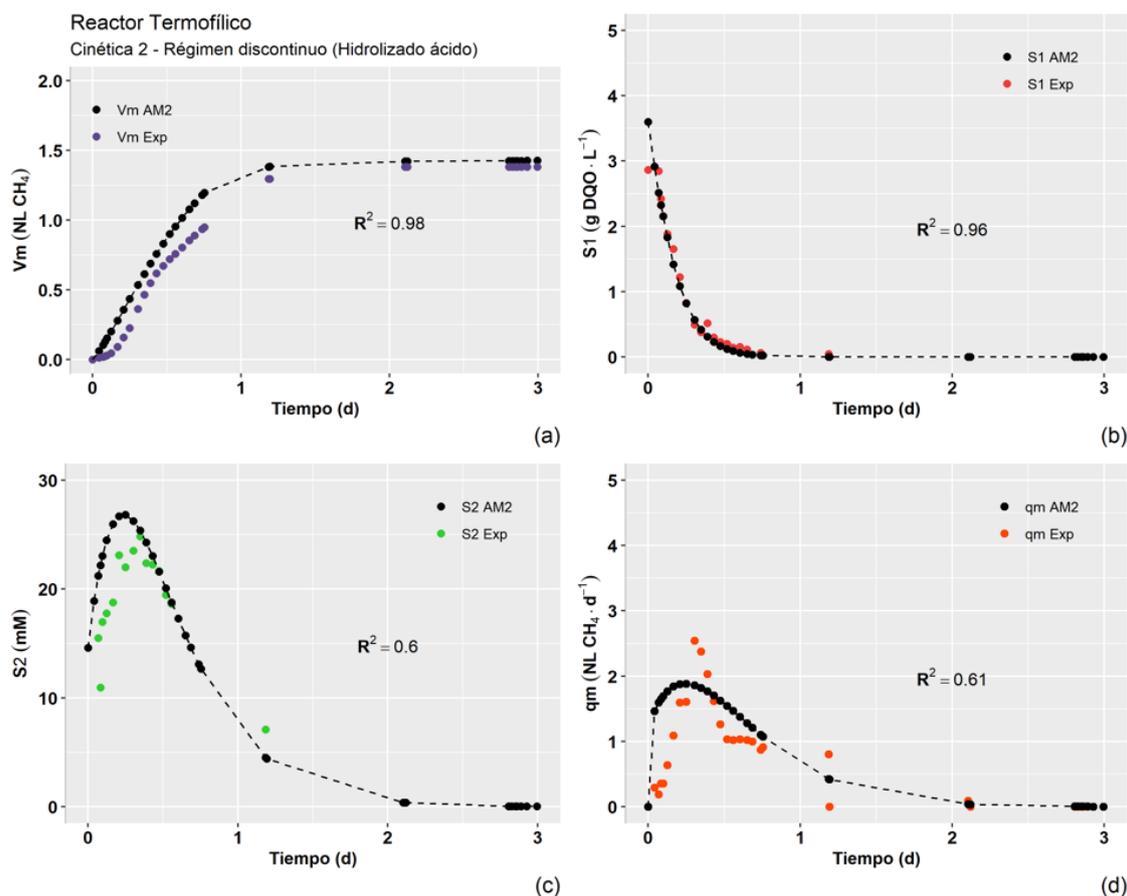


Figura 4.8. Simulación $N^{\circ} 2$ con hidrolizado ácido

Tabla 4.5. Parámetros cinéticos y estequiométricos empleando hidrolizado ácido

Simulación	$\mu_{1,max}$ (d^{-1})	k_{S1} ($gDQO \cdot L^{-1}$)	μ^* (d^{-1})	S^* (mM)	β ($-$)	K_{La} (d^{-1})	K_1 ($gDQO \cdot gSV$)	K_2	K_3	K_4	K_5	K_6
$N^{\circ} 1$	0.60	7.3	0.05	191.40	0.30	2.5	20	120	825	650	650	650
$N^{\circ} 2$	1.33	7.3	0.06	131.94	0.25	2.5	20	170	925	650	650	650

Acercas de las simulaciones realizadas con el hidrolizado ruminal (Figura 4.9) es importante resaltar el ajuste que presentaron las variables V_m y q_m con valores de R^2 iguales a 0.98 y 0.87 respectivamente, en donde se observa claramente que la parametrización y ajuste del modelo AM2 a los datos experimentales al final resulta ser una actividad muy dependiente de la calidad y cantidad de datos disponibles (si se compara con las simulaciones realizadas sobre V_m y q_m cuando se utilizó el hidrolizado ácido).

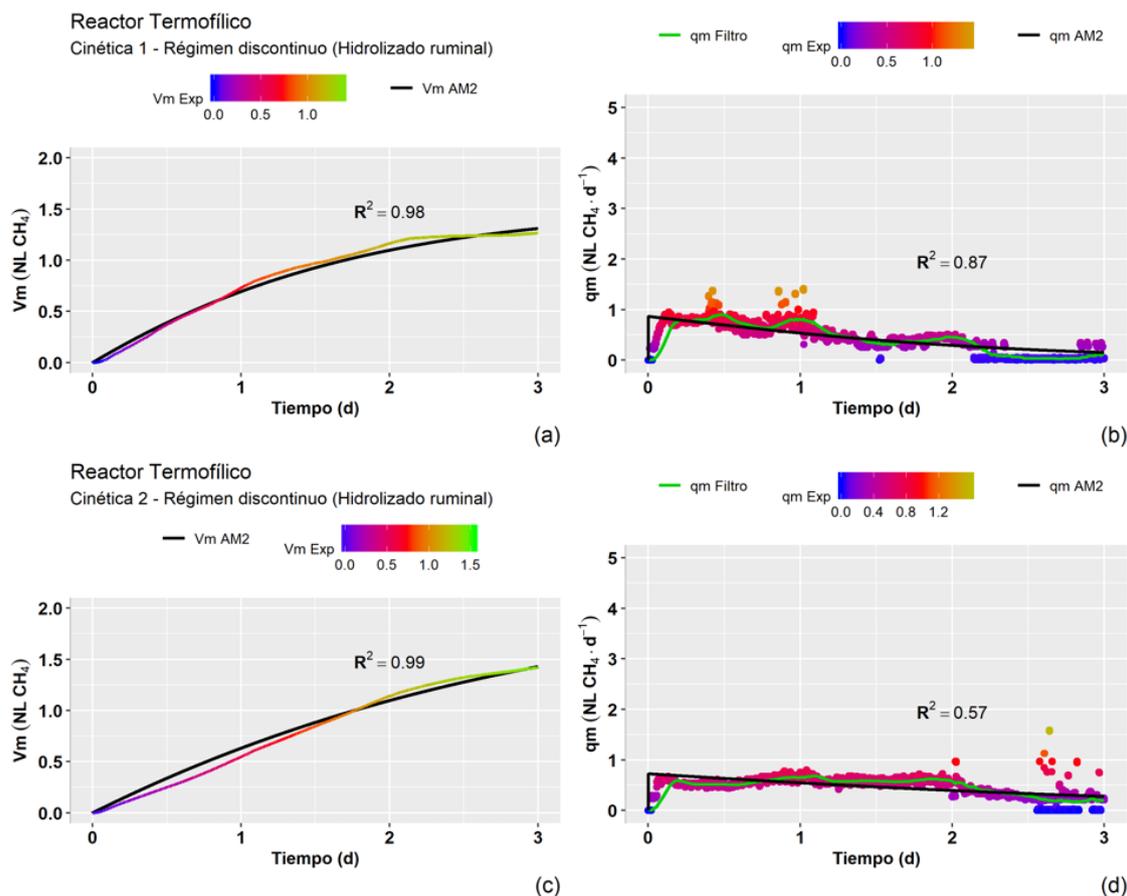


Figura 4.9. Simulaciones con hidrolizado ruminal

Tal como se muestra en la Figura 4.9, la operación del reactor UASB termofílico alimentado con el hidrolizado ruminal no generó aumentos significativos en cuanto al volumen acumulado de CH_4 (V_m), sin embargo en cuanto a los flujos de CH_4 sí se observaron reducciones importantes equivalentes al 25 a 60 % comparadas con lo obtenido con el hidrolizado ácido. Esto resulta contradictorio puesto que de acuerdo con la literatura (Aydin et al., 2017; Barragán-Trinidad et al., 2017) la implementación de hidrolizados de origen lignocelulósico ricos en AGV son más deseables para el proceso de digestión anaerobia debido a que se convierten en sustratos directos para la producción de CH_4 por la biomasa metanogénica compuesta en su mayoría por arqueas metanogénicas acetotróficas e hidrogenotróficas. Según Jeihanipour et al. (2011), es probable que la concentración de AGV en el hidrolizado ruminal se haya convertido en un obstáculo importante para la producción de CH_4 puesto que la relación de AGV entre los hidrolizados fue de 1.3 a $4.80 \text{ g AGVs} \cdot L^{-1}$; y en este caso Siegert y Banks (2005); y Jha y Schmidt (2017) mencionan que concentraciones de AGV entre 1 a $10 \text{ g AGVs} \cdot L^{-1}$ afectan considerablemente el proceso de digestión anaerobia.

Todas estas observaciones se relacionan también con los parámetros cinéticos y estequiométricos mostrados en la Tabla 4.6, específicamente con los relacionados con las tasas de crecimiento y las constantes de saturación media para acidogénicos y metanogénicos en donde se observa aparentemente una desaclimatación de ambas biomasas al disminuir las velocidades de crecimiento en un 55 % y 6 %, y aumentar las constantes de saturación en un 27 % y 10 % respectivamente, considerando también la reducción generada en parámetros estequiométricos relacionados con el consumo de AGV para la producción de CH_4 (K_3) al pasar de 1200 a $850 \text{ mmol} \cdot g \text{ SV}^{-1}$.

Tabla 4.6. Parámetros cinéticos y estequiométricos empleando hidrolizado ruminal

Simulación	$\mu_{1,max}$ (d^{-1})	k_{S1} ($gDQO \cdot L^{-1}$)	μ^* (d^{-1})	S^* (mM)	β ($-$)	K_{La} (d^{-1})	K_1 ($gDQO \cdot gSV$)	K_2	K_3 ($mmol \cdot gSV$)	K_4	K_5	K_6
Nº.1	1.33	73	0.015	290.65	0.35	2	20	118	1200	550	550	500
Nº.2	0.60	100	0.014	323.98	0.36	2	20	118	850	550	550	500

La Figura 4.10 muestra el comportamiento de la tasa de crecimiento de la biomasa metanogénica en función de los hidrolizados de agave utilizados durante el proyecto de investigación con el objetivo de hacer más visible el efecto de desaclimatación generado al cambiar el tipo de hidrolizado. Al igual que con el reactor UASB mesofílico, se continúa observando que las curvas no permiten apreciar muy bien la forma del modelo de Haldane para poder concluir con certeza si la concentración de AGV presente en hidrolizado ruminal pudo haber generado un efecto inhibitorio en la biomasa metanogénica.

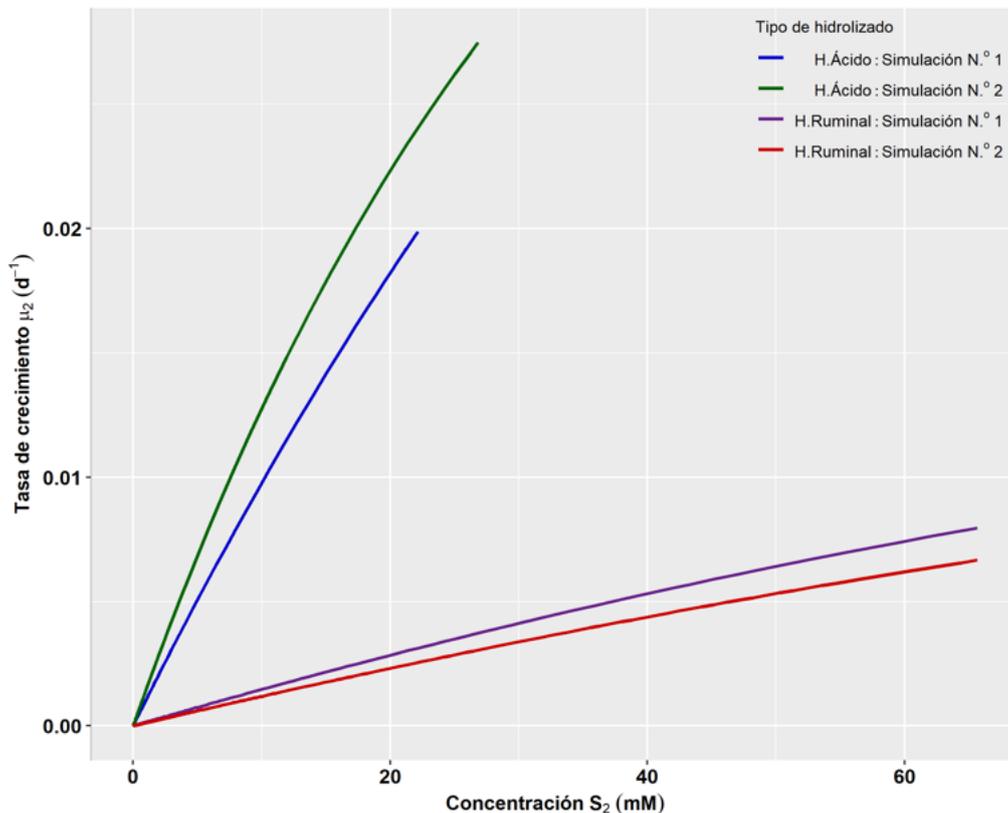


Figura 4.10. Comportamiento de μ_2 en función del tipo de hidrolizado de agave

En este sentido, las simulaciones muestran que durante el periodo (4 meses) de operación en régimen discontinuo la biomasa metanogénica sí redujo su actividad en comparación al crecimiento observado cuando se operó el sistema experimental con el hidrolizado ácido, el cual cabe resaltar se utilizó durante un periodo mucho más grande (10 meses). Estos además de estar relacionado con la alta concentración de AGV en el hidrolizado ruminal ($4.8 \text{ g AGV}_s \cdot \text{L}^{-1}$) también se asocia con el tiempo de reacción y temperatura de operación manejada en el reactor UASB termofílico (55°C), puesto que según [Ho et al. \(2014\)](#) estos dos factores pueden incidir fuertemente en la destrucción de la biomasa mediante la solubilización de los sólidos volátiles, el cambio de rutas metabólicas al favorecer la predominancia de determinados grupos de microorganismos metanogénicos hidrogenotróficos (*Methanothermobacter*) que apoyan la síntesis de CH_4 a partir de H_2 sobre microorganismos acetotróficos (*Methanosarcina*) que lo hacen a partir del acetato presente en el medio, tal como lo observado por [Karakashev et al. \(2006\)](#); y [Krakat et al. \(2010\)](#) quienes reportaron una sustitución progresiva de metanógenos acetoclásticos por metanógenos consumidores de H_2 a elevadas temperaturas. Es probable que mucho de lo mencionado por estos autores coincida con lo observado de manera experimental al final de cada ciclo de operación por la formación de una espuma de color blanca (foaming) en la superficie libre del reactor, la cual según [Ho et al. \(2014\)](#) es el resultado de la formación de orgánicos solubles sin degradar que disminuyen la tensión superficial del inóculo y se encuentra muy correlacionado con la solubilización de sólidos volátiles y el aumento en la concentración de amonio debido a la hidrólisis de proteínas a una temperatura de 55°C .

4.3. Operación de reactores en régimen continuo

Esta sección involucra el análisis de los resultados obtenidos durante la implementación de la etapa experimental en régimen continuo alimentando dos reactores UASB (mesofílico y termofílico) con dos tipos de hidrolizados de agave (ácido y ruminal). Inicialmente se hace una evaluación del proceso con base en variables de proceso que muestran cómo fue su desempeño en relación a las tasas y rendimientos de CH_4 , la remoción de materia orgánica soluble (%) y el contenido de CH_4 en el biogás generado. Adicionalmente, se incluye una subsección donde se analiza estadísticamente el comportamiento exhibido por los flujos de CH_4 en la medida que se fueron introduciendo perturbaciones en el sistema experimental a través de la implementación de la estrategia de alimentación controlada (EAC), tal como se muestra en la Figura 4.11 en donde cabe resaltar que los subíndices a, b y c representan el orden cronológico en el que se fue alternando el TRH alto (20 h) y bajo (10 h).

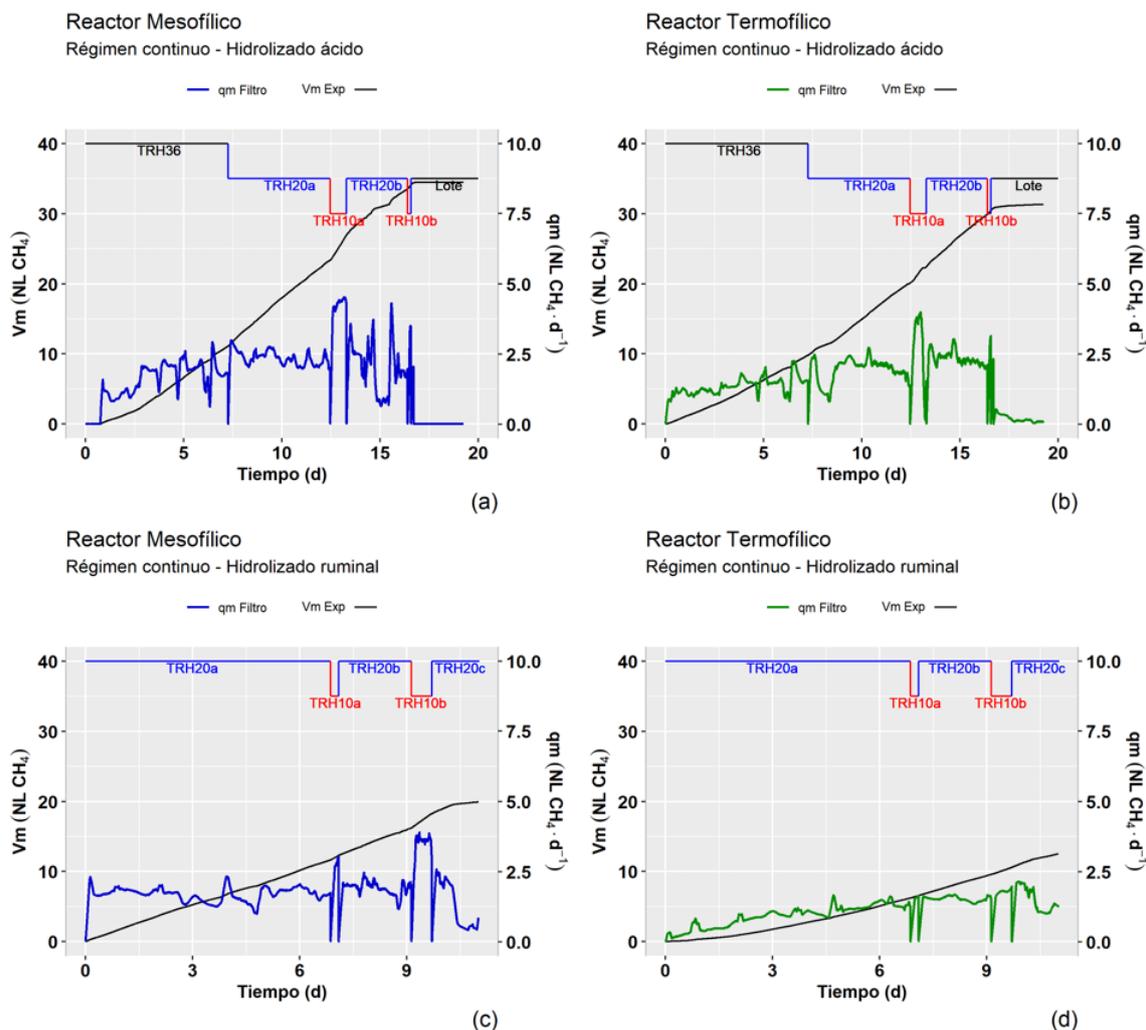


Figura 4.11. Operación de reactores UASB en continuo

Por otro lado, la información presentada en la Tabla 4.7 indica que para llevar a cabo un proceso de digestión anaerobia en reactores UASB resulta más conveniente utilizar hidrolizados ácidos que ruminales debido que se obtienen mayores cantidades de CH_4 cuando la operación de los mismos se efectúa en mesofilia ($35\text{ }^{\circ}\text{C}$) que en termofilia ($55\text{ }^{\circ}\text{C}$). Particularmente, cuando se alimentaron los reactores UASB con el hidrolizado ácido bajo un TRH de 10 h se alcanzaron tasas de producción más altas (4.21 ± 0.92 y $2.97\pm 1.30\text{ NL CH}_4 \cdot \text{d}^{-1}$) en comparación a lo obtenido con el hidrolizado ruminal (3.51 ± 1.47 y $1.79\pm 0.22\text{ NL CH}_4 \cdot \text{d}^{-1}$) en estas mismas condiciones de operación. Por otra parte, en cuanto a la remoción de materia orgánica soluble (%) se observaron resultados favorables en todas las condiciones evaluadas puesto que resultaron mayores al 70% de lo esperado teóricamente. Finalmente, en relación al contenido de CH_4 en el biogás generado no se observaron diferencias significativas debido a que se mantuvo entre un 56 y 58%.

Tabla 4.7. Rendimientos, remoción de DQO y contenido de CH_4 en régimen continuo

Tipo de Hidrolizado	Reactor UASB	TRH evaluado (h)	Tasa de producción de CH_4 ($NLCH_4 \cdot d^{-1}$)	Rendimiento de CH_4 ($NmLCH_4 \cdot gDQO^{-1}$)	Remoción de DQO (%)	Contenido de CH_4 (%)
Hidrolizado Ácido	Mesofílico	TRH_{20}^a	2.36 ± 0.57	221.36	89	59
		TRH_{10}^a	4.21 ± 0.92	204.61	88	58
Hidrolizado Ruminal	Termofílico	TRH_{20}^b	2.35 ± 0.89	250.54	80	56
		TRH_{10}^b	2.97 ± 1.30	161.04	73	56
Hidrolizado Ácido	Mesofílico	TRH_{20}^b	1.92 ± 0.83	172.17	93	58
		TRH_{10}^b	3.51 ± 1.47	163.84	89	58
Hidrolizado Ruminal	Termofílico	TRH_{20}^b	1.53 ± 0.22	163.89	77	56
		TRH_{10}^b	1.79 ± 0.22	119.72	63	56

4.4. Análisis estadístico de la operación de reactores en régimen continuo

La Figura 4.12 muestra el análisis estadístico realizado durante la operación del reactor UASB mesofílico alimentado con el hidrolizado ácido de agave. Básicamente se muestra por cada TRH evaluado información sobre la función de densidad de probabilidad, medidas de tendencia central y dispersión, y gráficos de posición tipo *boxplots* con respecto al flujo de CH_4 . En este sentido, se muestra en la Figura 4.12b que la distribución de flujos de CH_4 para la mayoría de condiciones evaluadas fue de carácter multimodal con un nivel de apuntamiento de tipo platicúrtico, salvo para el TRH_{10}^a y TRH_{10}^b que presentaron una distribución más apuntada con tendencia hacia una de tipo leptocúrtica. Por otro lado, los valores medios de flujo de CH_4 (Figura 4.12c) indican que el aumento de la carga orgánica producto de la implementación de la estrategia de alimentación controlada (EAC) sí fue útil para aumentar la producción de CH_4 a pesar de la dispersión que presentaron los datos con respecto a la media. Todas estas observaciones se relacionan también con los *boxplots* de la Figura 4.12d en donde por la longitud de las 3 primeras cajas o condiciones (TRH_{36} , TRH_{20}^a y TRH_{10}^a) se encontró que los datos presentan una distribución homogénea en comparación a las condiciones TRH_{20}^b y TRH_{10}^b donde la distribución es heterogénea (ó variable), siendo TRH_{20}^b la condición mas drástica al presentar un coeficiente de variación del 62% (Tabla 4.8).

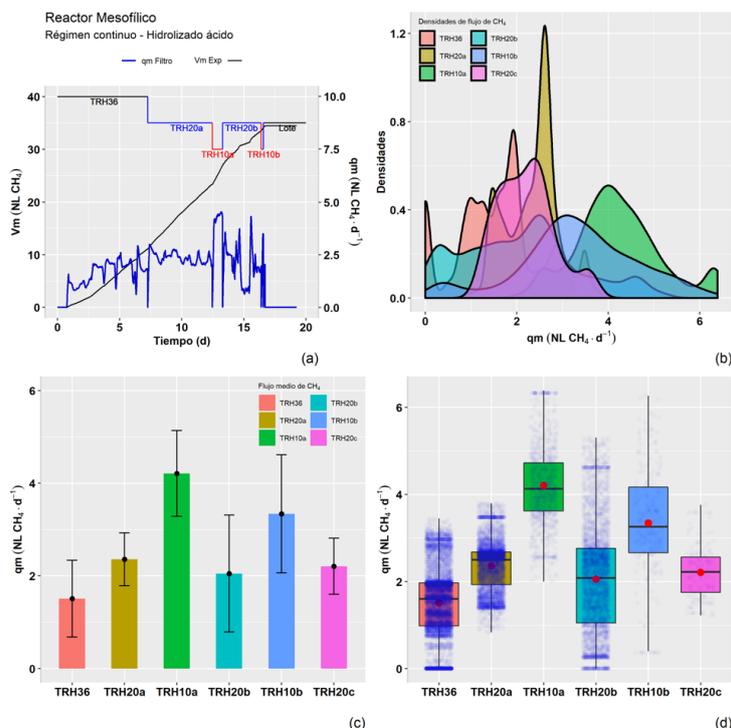


Figura 4.12. Análisis estadístico en reactor UASB mesofílico alimentado con hidrolizado ácido

Todo lo mencionado anteriormente se complementa con las medidas descriptivas mostradas en la Tabla 4.8 en donde es posible identificar con mucha más claridad las condiciones (TRH_{20}^a y TRH_{10}^a) que dieron origen a una mayor producción de CH_4 (2.36 ± 0.57 y $4.21 \pm 0.93 \text{ NL } CH_4 \cdot d^{-1}$) junto con un menor grado de dispersión al presentar coeficientes de variación de 24% y 22% respectivamente. Bajo la condición TRH_{20}^a la menor dispersión de los datos se dio en el intervalo 2.50 a $2.68 \text{ NL } CH_4 \cdot d^{-1}$, mientras que en la segunda condición en el intervalo 3.62 a $4.13 \text{ NL } CH_4 \cdot d^{-1}$. Adicionalmente, se encontró que casi todas las distribuciones de flujo de CH_4 se encuentran sesgadas negativamente, a excepción de las condiciones TRH_{10}^a , TRH_{20}^b y TRH_{20}^c donde el sesgo es positivo.

Tabla 4.8. Medidas descriptivas asociadas al flujo de CH_4 ($\text{NL} \cdot d^{-1}$) según los TRH evaluados en el reactor UASB mesofílico alimentado con hidrolizado ácido

Medidas descriptivas	Símbolo matemático	TRH_{36}	TRH_{20}^a	TRH_{10}^a	TRH_{20}^b	TRH_{10}^b	TRH_{20}^c
Media	\bar{X}	1.51	2.36	4.21	2.05	3.34	2.21
Desviación	S	0.83	0.57	0.93	1.26	1.27	0.60
Mediana	M_e	1.60	2.50	4.13	2.08	3.26	2.22
C. de variación	$C.V$	0.55	0.24	0.22	0.62	0.38	0.27
Sesgo	-	-0.12	-0.10	0.36	0.35	-0.25	0.49
Curtosis	-	-0.46	-0.41	0.09	-0.47	0.16	-0.25
Rango inter-cuartil	R_Q	0.99	0.75	1.10	1.71	1.51	0.81
1 ^{er} Cuartil	Q_1	0.98	1.93	3.62	1.05	2.66	1.75
2 ^{do} Cuartil	Q_2	1.60	2.50	4.13	2.08	3.26	2.22
3 ^{er} Cuartil	Q_3	1.97	2.68	4.73	2.76	4.17	2.56

En relación al análisis estadístico del reactor UASB alimentado con hidrolizado ruminal cabe mencionar que logró identificarse a partir de la gráfica de densidades de la Figura 4.13b que la distribución de flujo de CH_4 continúa siendo de carácter multimodal con asimetría negativa, salvo en las condiciones TRH_{20}^a y TRH_{20}^c que presentaron una asimetría (o sesgo) positivo; y en cuanto al nivel de apuntamiento determinado por el coeficiente de curtosis (Tabla 4.9) se determinó que todas las distribuciones de flujo de CH_4 presentan en común un nivel de apuntamiento del tipo platycúrtico.

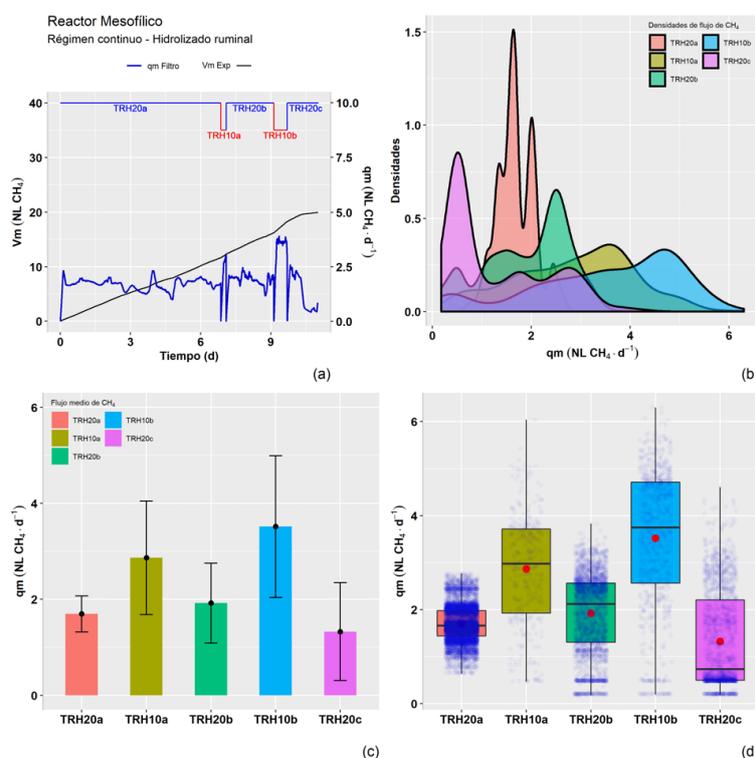


Figura 4.13. Análisis estadístico en reactor UASB mesofílico alimentado con hidrolizado ruminal

Por otra parte, la gráfica de valores medios de flujo de CH_4 mostrados en la Figura 4.13c indica que sí logra observarse un aumento en la producción de CH_4 debido al incremento de la carga orgánica durante la implementación de la EAC, aunque los datos carezcan de simetría con respecto a la media. Esto se aprecia en la Figura 4.13d, donde los datos de flujo de CH_4 de las condiciones TRH_{20}^a y TRH_{20}^b se distribuyen de manera homogénea en comparación con las condiciones TRH_{10}^a , TRH_{10}^b y TRH_{20}^c donde la distribución es variable o heterogénea en relación a la media, lo cual puede ser observado a simple vista por el tamaño de los *boxplots* o por el valor del intervalo intercuartílico de cada condición.

Como complemento de la información anterior, la Tabla 4.9 permite ver de manera más puntual que bajo las condiciones TRH_{20}^b y TRH_{10}^b se alcanzaron las mayores producciones de CH_4 (1.92 ± 0.83 y $3.51 \pm 1.47 NLCH_4 \cdot d^{-1}$, respectivamente). Sin embargo, cabe señalar que para la condición TRH_{20}^b la menor dispersión de los datos se presentó en el intervalo 2.12 a 2.56 $NLCH_4 \cdot d^{-1}$ mientras que para la condición TRH_{10}^b en el intervalo 3.74 a 4.71 $NLCH_4 \cdot d^{-1}$. Por otra parte, con base en el sesgo se determinó que efectivamente los datos se distribuyeron asimétricamente hacia la izquierda debido a los valores negativos de esta variable descriptiva, a excepción de las condiciones TRH_{20}^a ($0.22 > 0.1$) y TRH_{20}^c ($0.75 > 0.1$) que presentaron un nivel alto de asimetría positiva de acuerdo a lo mencionado por Franco (2007).

Tabla 4.9. Medidas descriptivas asociadas al flujo de CH_4 ($NL \cdot d^{-1}$) según los TRH evaluados en el reactor UASB mesofílico alimentado con hidrolizado ruminal

Medidas descriptivas	Símbolo matemático	TRH_{20}^a	TRH_{10}^a	TRH_{20}^b	TRH_{10}^b	TRH_{20}^c
Media	\bar{X}	1.69	2.86	1.92	3.51	1.33
Desviación	S	0.37	1.18	0.83	1.47	1.02
Mediana	M_e	1.66	2.97	2.12	3.74	0.74
C. de variación	$C.V$	0.22	0.41	0.43	0.42	0.77
Sesgo	-	0.22	-0.22	-0.44	-0.67	0.75
Curtosis	-	-0.02	-0.57	-0.80	-0.38	-0.74
Rango inter-cuartil	R_Q	0.54	1.78	1.26	2.14	1.71
1 ^{er} Cuartil	Q_1	1.44	1.93	1.31	2.57	0.50
2 ^{do} Cuartil	Q_2	1.66	2.97	2.12	3.74	0.74
3 ^{er} Cuartil	Q_3	1.98	3.71	2.56	4.71	2.21

En relación con el análisis estadístico realizado durante la operación del reactor UASB termofílico con el hidrolizado ácido cabe mencionar que también se tuvo en cuenta el flujo de CH_4 como variable de respuesta para enfocar el análisis de gráficos de densidades, medidas de tendencia central y dispersión, y gráficos de posición tipo *boxplots*.

En este sentido, la Figura 4.14b indica que aunque la densidad de flujo de CH_4 siguió manteniendo un comportamiento multimodal sesgado positivamente con un nivel de apuntamiento de característica platicúrtica (en la mayoría de los casos), se resalta el hecho de que los datos se encuentran más centrados a la media del flujo de CH_4 en cada condición de TRH evaluado. Tal como se muestra en la Figura 4.14c, donde las desviaciones estándar y coeficientes de variación ya no se observan tan grandes como lo observado durante la operación del reactor UASB mesofílico (Figura 4.12c). Adicionalmente, por los incrementos obtenidos en los valores medios de flujo de CH_4 se tiene que independientemente de que la temperatura de operación en el reactor UASB termofílico haya sido más alta (55 °C), la implementación de una estrategia de alimentación controlada (EAC) permitió mejorar la producción de CH_4 considerablemente, siendo visible cada vez que se introdujo una perturbación en el sistema experimental.

Sin embargo, vale la pena recalcar que aunque se observaron mejoras en los flujos medios de CH_4 estos no dejaron de presentar cierta dispersión con respecto a la media, tal como se indica en la Figura 4.14d para las condiciones TRH_{36} y TRH_{20}^a cuyo conjunto de datos se muestran agrupados de manera más homogénea en contraste con las demás condiciones (TRH_{10}^a , TRH_{20}^b , TRH_{10}^b y TRH_{20}^c), lo cual también coincide con los coeficientes de variación (69%, 38%, 44% y 45%) mostrados en la Tabla 4.10 para estas últimas 4 condiciones, respectivamente.

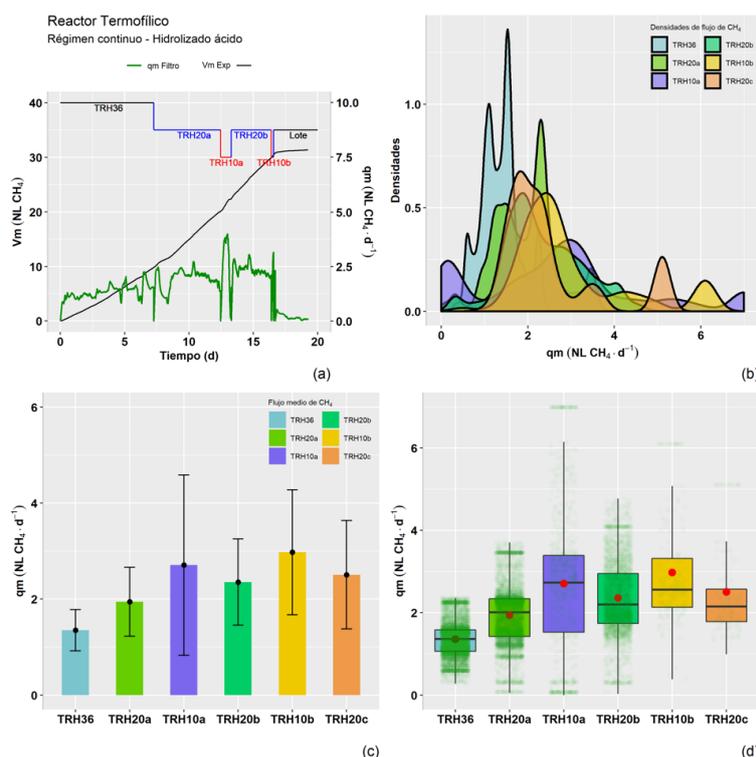


Figura 4.14. Análisis estadístico en reactor UASB termofílico alimentado con hidrolizado ácido

Teniendo en cuenta lo mencionado anteriormente, se indica en la Tabla 4.10 el valor de distintas medidas descriptivas (media, desviación estándar, coeficiente de variación, entre otros.) relacionadas con el flujo de CH_4 cada vez se que perturbó el sistema experimental al disminuir o aumentar el TRH . De esta manera, se tiene que el flujo medio de CH_4 alcanzó su valor más alto en las condiciones TRH_{20}^b y TRH_{10}^b al ser igual a 2.35 ± 0.90 y 2.97 ± 1.30 $NL CH_4 \cdot d^{-1}$ respectivamente; aunque cabe mencionar que para la primera condición se obtuvo un coeficiente de variación del 38 %, mientras que en la segunda condición se determinó un coeficiente de variación del 44 %. Otro aspecto también muy importante se refiere al valor obtenido del rango inter-cuartil (R_Q) en las condiciones TRH_{36} , TRH_{20}^b y TRH_{10}^b puesto que resultaron ser mucho menores a los valores obtenidos con el reactor UASB mesofílico (Tabla 4.8), mostrando así homogeneidad o poca variabilidad de los datos en relación a la media. Con respecto al sesgo que presentaron los datos de flujo de CH_4 se tiene que en general la mayoría de las condiciones presentan una asimetría positiva notoria debido a que superan el valor de 0.1 propuesto por Franco (2007).

Tabla 4.10. Medidas descriptivas asociadas al flujo de CH_4 ($NL \cdot d^{-1}$) según los TRH evaluados en el reactor UASB termofílico alimentado con hidrolizado ácido

Medidas descriptivas	Símbolo matemático	TRH_{36}	TRH_{20}^a	TRH_{10}^a	TRH_{20}^b	TRH_{10}^b	TRH_{20}^c
Media	\bar{X}	1.35	1.94	2.71	2.35	2.97	2.51
Desviación	S	0.43	0.72	1.88	0.90	1.30	1.13
Mediana	M_e	1.36	2.01	2.73	2.20	2.56	2.15
C. de variación	$C.V$	0.32	0.37	0.69	0.38	0.44	0.45
Sesgo	-	0.21	0.07	0.55	0.26	1.26	1.39
Curtosis	-	-0.19	-0.01	-0.04	-0.17	0.77	0.75
Rango inter-cuartil	R_Q	0.52	0.92	1.86	1.21	1.18	0.79
1 ^{er} Cuartil	Q_1	1.06	1.42	1.53	1.74	2.13	1.78
2 ^{do} Cuartil	Q_2	1.36	2.01	2.73	2.20	2.56	2.15
3 ^{er} Cuartil	Q_3	1.58	2.34	3.39	2.95	3.32	2.57

En cuanto a la implementación del análisis estadístico a la serie de datos obtenida de la operación del reactor UASB termofílico alimentado con el hidrolizado ruminal se tiene que, la distribución de flujos de CH_4 (Figura 4.15b) siguió manteniendo un comportamiento multimodal pero en cuanto a su nivel de apuntamiento se encontró en general que este corresponde a una distribución de

tipo platicúrtica, salvo en un caso muy particular (TRH_{20}^b) donde se observó el cambio a una distribución de tipo leptocúrtica debido al aumento generado en el flujo de CH_4 . Esto se aprecia en la Figura 4.15c, donde paulatinamente se observa un incremento en la producción de CH_4 al introducir perturbaciones en el reactor modificando el TRH ; específicamente en las condiciones TRH_{20}^b y TRH_{10}^b es que se observa la transición en cuanto al tipo de distribución puesto que se alcanzan producciones de CH_4 iguales a 1.53 ± 0.22 y $1.79 \pm 0.20 \text{ NL } CH_4 \cdot d^{-1}$. Adicionalmente, la Figura 4.15d indica que bajo estas condiciones es que se obtiene la menor dispersión de datos puesto que el tamaño de los *boxplots* correspondientes resultan ser muchos menores a las otras condiciones de operación (TRH_{20}^a , TRH_{10}^a y TRH_{20}^c).

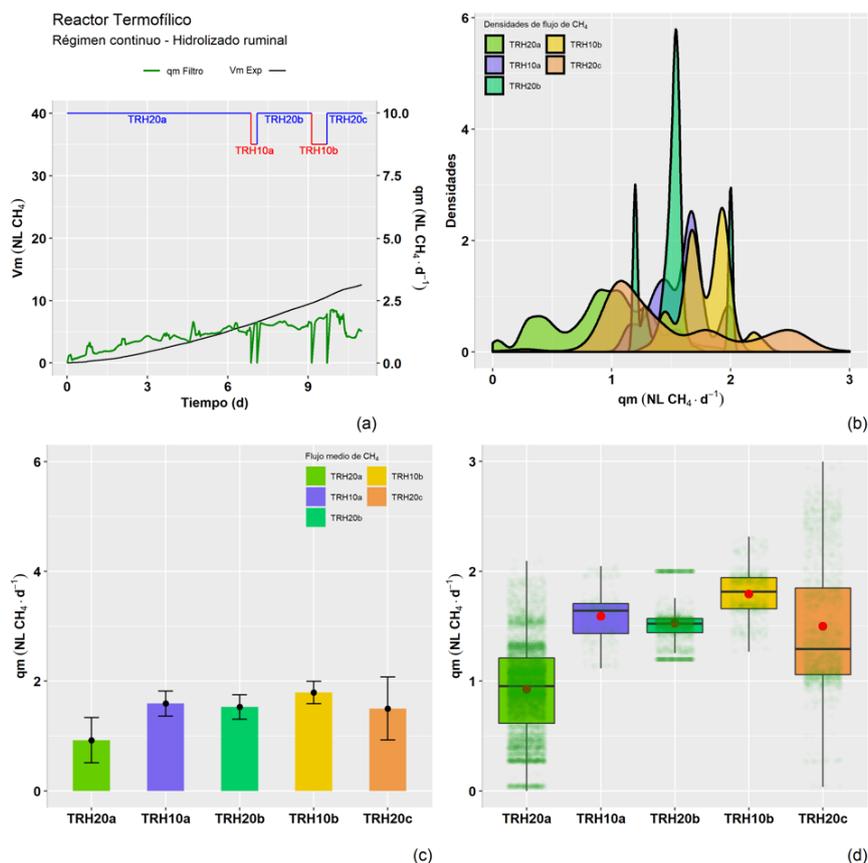


Figura 4.15. Análisis estadístico en reactor UASB termofílico alimentado con hidrolizado ruminal

Todas estas observaciones se complementan también con la información de la Tabla 4.11 en donde por los valores del flujo de CH_4 pueden establecerse directamente distinciones entre cada una de las condiciones de operación del reactor UASB. En primer lugar, por la magnitud del flujo medio de CH_4 fue posible definir las condiciones TRH_{20}^b y TRH_{10}^b que permitieron obtener una producción de CH_4 igual a 1.53 ± 0.22 y $1.79 \pm 0.20 \text{ NL } CH_4 \cdot d^{-1}$ junto con un menor grado de dispersión al presentar coeficientes de variación de 15% y 11% respectivamente. En segundo lugar, los bajos valores obtenidos en el rango inter-cuartil de las condiciones TRH_{20}^b y TRH_{10}^b muestran a partir del tamaño de los *boxplots* de la Figura 4.15d que fueron significativamente diferente al obtenido en las otras condiciones puesto que se observó una mayor heterogeneidad en la distribución de flujos de CH_4 .

Tabla 4.11. Medidas descriptivas asociadas al flujo de CH_4 ($NL \cdot d^{-1}$) según los TRH evaluados en el reactor UASB termofílico alimentado con hidrolizado ruminal

Medidas descriptivas	Símbolo matemático	TRH_{20}^a	TRH_{10}^a	TRH_{20}^b	TRH_{10}^b	TRH_{20}^c
Media	\bar{X}	0.92	1.59	1.53	1.79	1.50
Desviación	S	0.41	0.23	0.22	0.20	0.57
Mediana	M_e	0.95	1.64	1.52	1.81	1.29
C. de variación	$C.V$	0.45	0.14	0.15	0.11	0.38
Sesgo	-	-0.10	-0.02	0.72	-0.07	0.64
Curtosis	-	-0.48	-0.45	0.38	-0.23	-0.51
Rango inter-cuartil	R_Q	0.59	0.27	0.13	0.28	0.79
1 ^{er} Cuartil	Q_1	0.62	1.43	1.44	1.66	1.06
2 ^{do} Cuartil	Q_2	0.95	1.64	1.52	1.81	1.29
3 ^{er} Cuartil	Q_3	1.21	1.71	1.57	1.94	1.85

A partir de todo lo mencionado anteriormente, se puede deducir de manera general que la distribución de flujos de CH_4 en un reactor anaerobio de tipo UASB operado en condiciones mesofílicas y termofílicas puede ser de tipo multimodal, con asimétrica negativa o positiva, y niveles de apuntamiento leptocúrtico (curtosis > 0.263) o platicúrtico (curtosis < 0.263) que condiciona el tratamiento y/o procesamiento de la información al campo de la estadística no paramétrica al no presentar similitud con una distribución normal, cada vez que se introduzcan perturbaciones en el sistema experimental a través de la manipulación del TRH . Sin embargo, cabe resaltar que lo deseable sería tratar de garantizar que los flujos de CH_4 se parezcan más a una distribución normal a través de niveles de apuntamiento leptocúrtico que platicúrtico, debido a que de esta manera se obtendrían conjuntos de datos menos dispersos con respecto a la media, tal como se observó en la mayoría de los gráficos de densidades y *boxplots* de las Figuras 4.12 a 4.15.

Teniendo en cuenta que gran parte de la adquisición de información para realizar este tipo de análisis esta ligada a los equipos de medición y al ruido que de forma inherente los afectan, se recomienda en primera instancia mejorarlos y posteriormente hacer uso de técnicas o metodologías de procesamiento numérico que depuren la información para realizar un mejor análisis del proceso, al mismo tiempo que posibilitan la implementación y calibración de modelos matemáticos dinámicos como el AM2; considerando el hecho de que a partir de ensayos experimentales se ha llegado a la conclusión de que disminuir temporalmente el TRH o aplicar “choques de carga” genera efectos benéficos en la producción de CH_4 (Caraman et al., 2017; Hess y Bernard, 2009; Vargas y Moreno, 2015). Es así que la implementación de este tipo de estrategias de operación acompañada de un componente fuerte de instrumentación y modelación matemática, se configuran como una estrategia de control promisoria para la operación de reactores anaerobios en mesofilia y termofilia.

4.5. Implementación del modelo matemático AM2 en régimen continuo

En la siguiente sección se exponen los resultados obtenidos de la implementación del modelo matemático AM2 en régimen continuo a partir de la medición de variables experimentales relacionadas con el flujo (q_m) y volumen acumulado (V_m) de CH_4 en dos reactores UASB alimentados con hidrolizados de agave (ácido y ruminal). En primer lugar, se resalta la capacidad del modelo AM2 en predecir el comportamiento de dos variables de proceso o control (q_m y V_m) ligadas a la producción de CH_4 bajo condiciones de operación determinadas por el TRH . En segundo lugar, se discierne sobre el valor de parámetros cinéticos y estequiométricos obtenidos de la sintonización del modelo AM2 a los datos experimentales en función del tipo de hidrolizado de agave utilizado. En tercer lugar, se exponen los resultados de la determinación de los puntos de equilibrio del modelo AM2 con base en la extrapolación de la tasa de dilución (D). Finalmente, se elaboran distintos escenarios (nominal, experimental, optimista y lavado) relacionados con la implementación de la estrategia de alimentación controlada (EAC) en función del tipo de hidrolizado y régimen de temperatura, para terminar de consolidar este tipo de estrategia de control como promisoria para la operación de reactores anaerobios.

4.5.1. Simulaciones en reactor UASB mesofílico

De acuerdo con lo anterior, se presenta en la Figura 4.16 las simulaciones realizadas con el modelo AM2 cuando se alimentaron los hidrolizados de agave en el reactor UASB mesofílico para llevar a cabo la producción de CH_4 . De las variables simuladas se observó que independientemente del tipo de hidrolizado de agave utilizado (ácido y ruminal), la que mejor se ajustó a los datos experimentales fue V_m al presentar en ambos casos un coeficiente de determinación (R^2) de 0.99, mientras que para la variable q_m los valores correspondientes de R^2 fueron 0.67 y 0.31, respectivamente. En cuanto a esta última variable (q_m) se tiene que el bajo nivel de ajuste a los datos experimentales puede estar asociado a la falta de homogeneidad de los datos experimentales puesto que como se mostró en la sección anterior la distribución de flujos de CH_4 se caracteriza principalmente por presentar un nivel de asimetría, apuntamiento y dispersión considerable con respecto a la media.

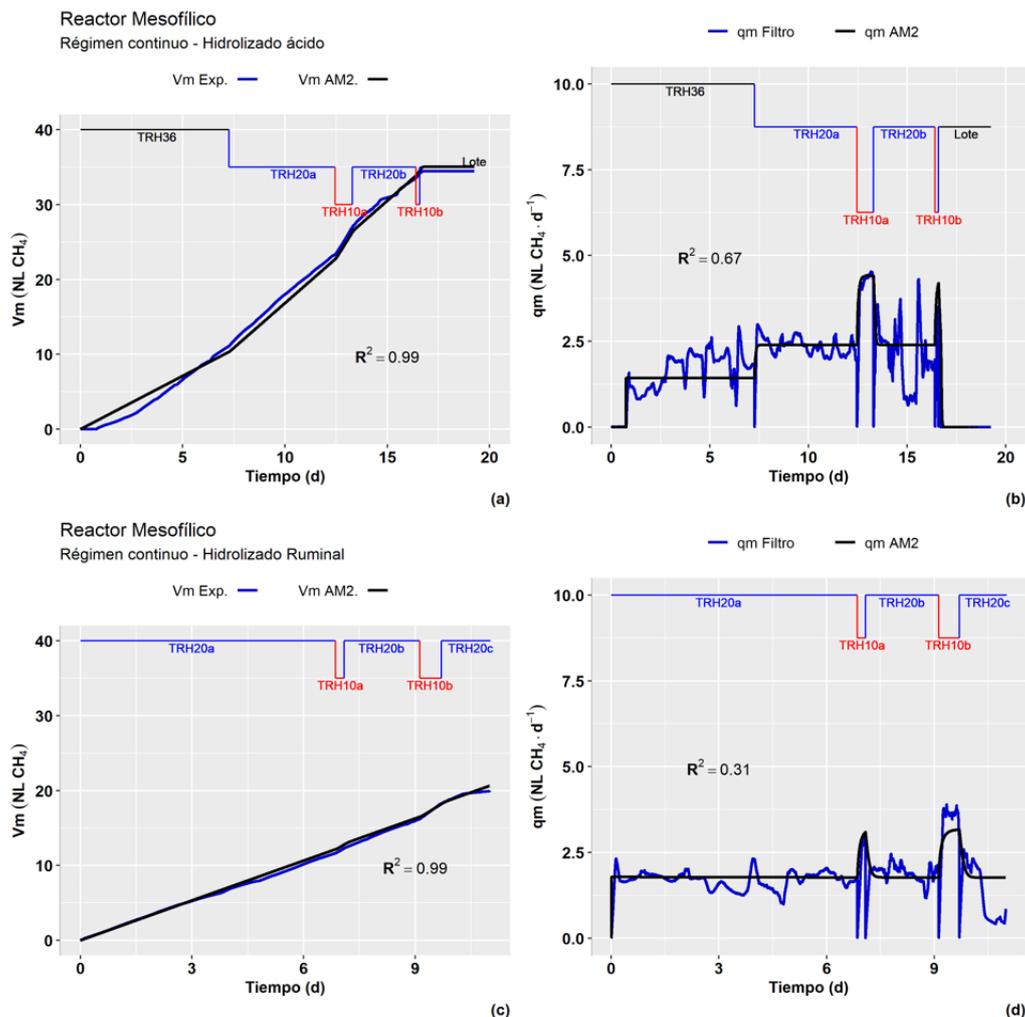


Figura 4.16. Simulaciones con hidrolizados de agave en reactor UASB mesofílico

Sin embargo, uno de los aspectos a resaltar dentro de la implementación del modelo AM2 como herramienta de predicción a nivel de proceso es la capacidad de proporcionar información sobre los transitorios al disminuir o aumentar el TRH con la implementación una estrategia de alimentación controlada, tal como se muestra en la Figura 4.16b y 4.16d en donde sin importar las características de los hidrolizados de agave lograron identificarse varios picos de producción de CH_4 .

Aspecto que previamente ya ha sido reportado por varios autores (Caraman et al., 2017; Hess y Bernard, 2009; Steyer et al., 1999) en el que a partir de la manipulación de variables operacionales como el caudal influente o tiempo de retención hidráulico se ha logrado estimular a los microorganismos para que produzcan CH_4 a mayor velocidad, mejorando en este sentido el desempeño de reactores anaerobios.

Por otro lado, los parámetros cinéticos y estequiométricos determinados por tipo de hidrolizado de agave (Tabla 4.12) muestran diferencias muy importantes en cuanto a la forma como pudo haberse dado el crecimiento de microorganismos acidogénicos y metanogénicos. En primer lugar, por los valores de la tasa de crecimiento máxima ($\mu_{1,max}$) y constante de saturación (k_{S1}) de la biomasa acidogénica se observó que, aparentemente el cambio de sustrato no significó efecto alguno para este grupo de microorganismos debido a que durante la evaluación del proceso los valores de estos dos parámetros se mantuvo constante ($1.33 d^{-1}$ y $0.4 gDQO \cdot L^{-1}$, respectivamente). Sin embargo, para el caso de la biomasa metanogénica sí se encontraron diferencias derivadas del uso de los hidrolizados de agave puesto que cuando se utilizó el hidrolizado ácido de agave se obtuvo una tasa de crecimiento (μ^*) de $0.16 d^{-1}$ y una S^* de $27.06 mM$, mientras que con el hidrolizado ruminal los valores correspondientes de estos parámetros fueron de $0.20 d^{-1}$ y $49.82 mM$.

Tabla 4.12. Parámetros cinéticos y estequiométricos por tipo de hidrolizado de agave

Tipo de hidrolizado	$\mu_{1,max}$ (d^{-1})	k_{S1} ($gDQO \cdot L^{-1}$)	μ^* (d^{-1})	S^* (mM)	β (-)	K_{La} (d^{-1})	K_1 ($gDQO \cdot gSV$)	K_2	K_3	K_4	K_5	K_6
Hidrolizado ácido	1.33	0.4	0.164	27.06	0.09	20	20	200	1390	1400	1335	1135
Hidrolizado ruminal	1.33	0.4	0.200	42.82	0.14	20	20	118	1200	550	550	550

4.5.2. Simulaciones en reactor UASB termofílico

Al igual que las simulaciones realizadas con el reactor UASB mesofílico, la Figura 4.17 muestra la implementación del modelo AM2 referente al reactor UASB termofílico alimentado con el hidrolizado ácido y ruminal. En este sentido, se tiene que de las variables modeladas la que mejor se ajustó a los datos experimentales fue el volumen acumulado de CH_4 (V_m) al presentar un R^2 de 0.99 y 0.97 para el hidrolizado ácido y ruminal; mientras que para el flujo de CH_4 (q_m) los valores de R^2 (0.62 y 0.63) variaron correspondientemente según el tipo de hidrolizado de agave utilizado. Cabe mencionar con respecto a esta última variable de proceso (q_m), que el bajo nivel de correlación podría estar asociado al hecho de que los datos no presentan una distribución homogénea de tipo normal, sino todo lo contrario, de tipo multimodal con niveles de asimetría y apuntamiento considerables que muestran en primer lugar, la heterogeneidad de los datos cuantificados por el equipo de medición; y en segundo lugar, la actividad y/o velocidad de los microorganismos en producir CH_4 .

Por otro lado, se observó que de la misma manera como el modelo AM2 predijo los picos de producción de CH_4 en el reactor UASB mesofílico, al trabajar con el reactor UASB termofílico se identificó la formación de transitorios luego de disminuir o aumentar el TRH con la implementación de la estrategia de alimentación controlada (Figura 4.17b y 4.17d) en donde sin importar las características de los hidrolizados de agave y régimen de temperatura lograron identificarse picos de producción de CH_4 . Validando lo mencionado por diferentes autores (Caraman et al., 2017; Hess y Bernard, 2009; Steyer et al., 1999) en el que a partir de la manipulación de variables operacionales como el caudal influente o tiempo de retención hidráulico se excitó a los microorganismos para que produjeran CH_4 a una mayor tasa o velocidad.

Sin embargo, teniendo en cuenta la información de parámetros cinéticos y estequiométricos de la Tabla 4.13 logró observarse que hubo un efecto de desaclimatación en la comunidad microbiana del reactor UASB termofílico al cambiar de hidrolizado de agave puesto que se observó una disminución considerable en la tasa de crecimiento de la biomasa metanogénica (μ^*) al pasar de $0.12 d^{-1}$ a $0.06 d^{-1}$, además de que también se identificó un aumento importante en los valores de S^* al pasar de $37 mM$ a $111 mM$ respectivamente. Estos aspectos se ven reflejados en la baja producción de CH_4 cuando se alimentó el reactor UASB termofílico con el hidrolizado ruminal (Figura 4.17d) y que de alguna manera permite entender que el modelo AM2 también puede ser considerado como una herramienta alterna para ver *grosso modo* lo que podría estar sucediendo con los microorganismos, aunque con estudios microbiológicos más detallados.

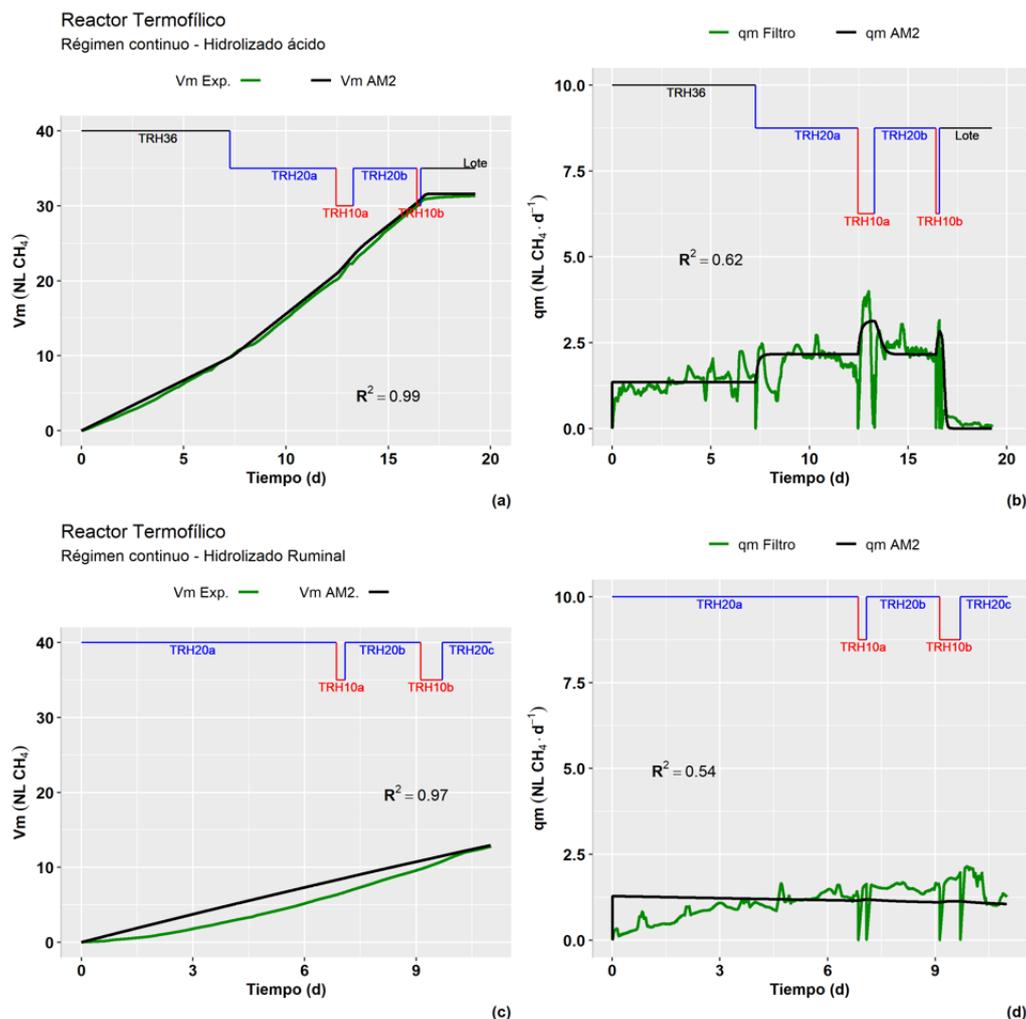


Figura 4.17. Simulaciones con hidrolizados de agave en reactor UASB termofílico

Tabla 4.13. Parámetros cinéticos y estequiométricos por tipo de hidrolizado de agave

Tipo de hidrolizado	$\mu_{1,max}$ (d^{-1})	k_{S1} ($gDQO \cdot L^{-1}$)	μ^* (d^{-1})	S^* (mM)	β ($-$)	K_{La} (d^{-1})	K_1 ($gDQO \cdot gSV$)	K_2	K_3	K_4 ($mmol \cdot gSV$)	K_5	K_6
Hidrolizado ácido	1.33	0.4	0.116	36.84	0.11	20	20	200	1470	1400	1200	1100
Hidrolizado ruminal	1.33	0.4	0.064	110.85	0.23	2	20	118	950	750	650	650

4.5.3. Determinación de puntos de equilibrio del modelo AM2

A partir de todo lo mencionado anteriormente, se expone en la Figura 4.18 los resultados de la determinación de los puntos de equilibrio del modelo AM2 con base en la extrapolación de la tasa de dilución (D) por tipo de hidrolizado de agave (ácido y ruminal) y régimen de temperatura (mesofílico y termofílico) para predecir las condiciones de operación en que el sistema experimental podría dejar de operar eficientemente. Es necesario recalcar, que aunque en un reactor UASB se logra desacoplar el tiempo de retención de sólidos (TRS) del tiempo de retención hidráulico (TRH), la implementación del concepto de tasa de dilución (D) en este tipo de reactores sigue siendo viable en el sentido de que no se puede asegurar totalmente la permanencia de la biomasa (sólidos) dentro de este tipo de reactores sino se mantiene un control estricto sobre D que impida su lavado. De acuerdo con Von Sperling y de Lemos Chernicharo (2005), el manejo de altos valores de D ($1.7-6 d^{-1}$) en reactores UASB puede ser crítico en los siguientes aspectos: i) pérdida excesiva de sólidos como resultado de la aplicación de altas velocidades ascensionales en los compartimentos de digestión y sedimentación, ii) reducción del TRS y por ende de la estabilidad de los sólidos, y iii) desestabilización del sistema, una vez que el TRS resulta ser menor que su tasa de crecimiento.

Teniendo en cuenta lo anterior, se incluyó dentro de la estructura del modelo AM2 el parámetro α precisamente para simular la retención parcial de biomasa ($\alpha=0.5$) y con ello desacoplar el TRS del TRH , para representar *grosso modo* el proceso de digestión anaerobia en cada una de las simulaciones realizadas con los reactores UASB operados en mesofilia y termofilia.

De esta manera, se muestra en la Figura 4.18 el comportamiento de 9 variables; de las cuales 6 corresponden a variables de estado consideradas por el modelo AM2 (X_1 , X_2 , S_1 , S_2 , Z y C) y las restantes (pH , R_{alc} y q_m) a variables de proceso que muy bien podrían ser tomadas en cuenta para fines de control dada su importancia en procesos de digestión anaerobia.

En este sentido, enfatizando sobre el comportamiento de la biomasa metanogénica (X_2) y el flujo de CH_4 (q_m) cabe mencionar que el proceso podría fallar si se alcanzan condiciones de operación críticas definidas por la tasa de dilución (D^*) que conllevan al lavado de X_2 y disminución de q_m . Por otro lado, se observa también que con el lavado de X_2 se fomenta paulatinamente la acumulación de AGV en el sistema, que ocasiona simultáneamente la acidificación o disminución del pH del medio hasta valores no deseados que podrían impedir el crecimiento de microorganismos metanogénicos, tal como lo señalan varios autores (Lettinga, 1995; Pérez y Torres, 2011) al mostrar que en procesos de digestión anaerobia es deseable que el pH del medio se mantenga cercano a la neutralidad. Finalmente en cuanto al comportamiento exhibido por la variable R_{alc} , considerada también como un parámetro de operación importante en reactores anaerobios debido a que cuantifica la relación entre la concentración de iones bicarbonato y AGV, logró observarse de las simulaciones que una vez se alcanzan los valores de D^* las condiciones de operación se tornan desfavorables para que ocurra la producción de CH_4 puesto que se obtienen valores de R_{alc} menores a 0.25, lo cual según Rojas Chacón et al. (1987); y Pérez y Torres (2011) no es lo apropiado debido a que durante el arranque y operación de reactores anaerobios en condiciones estables se recomienda que esta variable (o parámetro) se encuentre en el rango de 0.5 a 0.7.

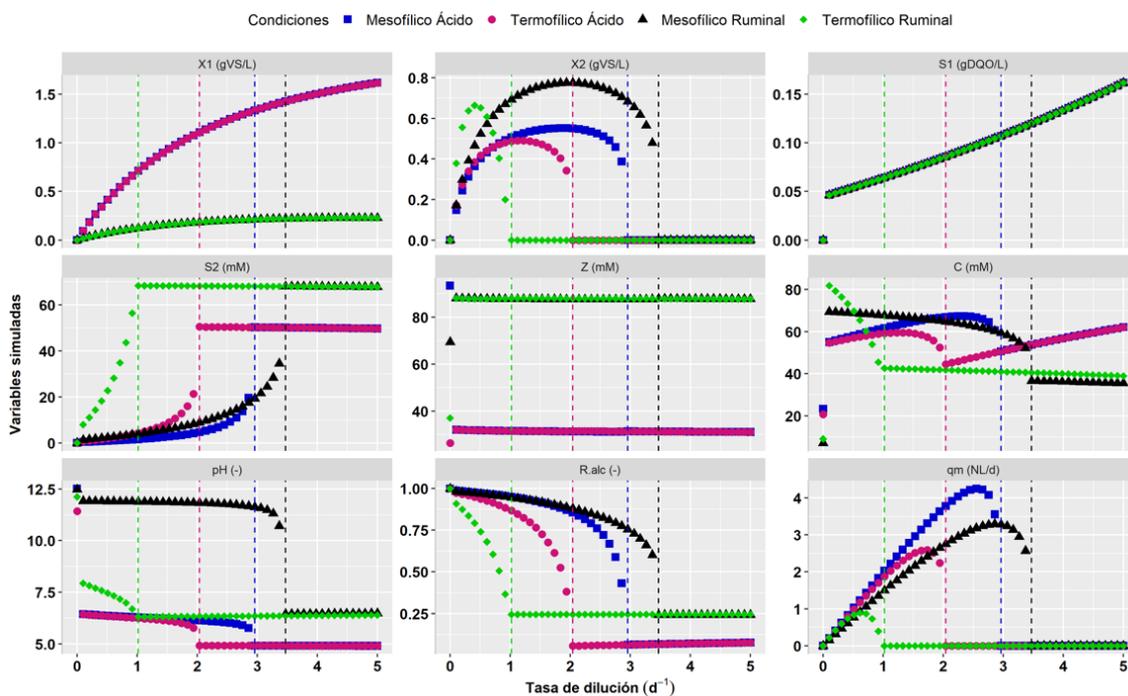


Figura 4.18. Puntos de equilibrio del modelo AM2 por tipo de hidrolizado y régimen de temperatura

Todo lo mostrado anteriormente, resultó ser muy importante dentro del arreglo experimental principalmente para identificar más que nada hasta dónde se podría llegar con la implementación de la EAC, definiendo en función de las características de los hidrolizados de agave (ácido y ruminal) y los regímenes de temperatura (mesofílico y termofílico) en los que se llevó a cabo la operación de los reactores UASB, los valores de la tasa de dilución crítica (D^*) que hicieron posible maximizar la producción de CH_4 sin fomentar la acidificación del medio y el lavado de sólidos o biomasa metanogénica.

En este sentido, se indica en la Tabla 4.14 un resumen de los puntos de equilibrio simulados para el flujo de CH_4 (q_m) en función de la tasa de dilución (D) por tipo de hidrolizado de agave y régimen de temperatura. De los resultados mostrados cabe mencionar en primer lugar, que la operación del reactor UASB en régimen mesofílico no conviene llevarla a cabo con tasas de dilución (D^*) superiores a $3 d^{-1}$ o tiempos de retención hidráulico (TRH) mayores a $8 h$ debido a que se corre el riesgo de que el proceso de digestión anaerobia deje de funcionar eficientemente a causa del lavado de biomasa metanogénica (X_2) y/o acidificación del medio por la acumulación de AGV (S_2). En segundo lugar, la operación del reactor UASB en régimen termofílico resulta ser aún más sensible puesto que puede suceder que el proceso falle de manera más temprana al operar con valores de D menores, tal como se muestra en las distintas simulaciones realizadas con el hidrolizado ácido y ruminal en donde el flujo de CH_4 , concentración de X_2 y pH disminuyen después de alcanzar valores de D^* iguales a $2 d^{-1}$ y $0.92d^{-1}$ respectivamente.

Tabla 4.14. Puntos de equilibrio para el flujo de CH_4 (q_m) por tipo de hidrolizado y régimen de temperatura

D (d^{-1})	TRH (h)	Flujo de CH_4 ($NLCH_4 \cdot d^{-1}$)			
		Régimen Mesofílico		Régimen Termofílico	
Simulado		H. Ácido	H. Ruminal	H. Ácido	H. Ruminal
0.62	39	1.23	0.92	1.17	0.89
0.67	36	1.35	1.00	1.28	0.88
0.71	34	1.44	1.06	1.36	0.87
0.83	29	1.64	1.21	1.53	0.73
0.92	26	1.83	1.35	1.71	0.40*
1.00	24	2.03	1.50	1.87	-
1.14	21	2.22	1.64	2.03	-
1.20	20	2.41	1.77	2.18	-
2.00	12	3.64	2.75	2.24*	-
2.18	11	3.92	2.86	-	-
2.40	10	4.14	3.04	-	-
3.00	8	3.56*	3.28	-	-
3.43	7	-	2.57*	-	-
4.00	6	-	-	-	-

Otro aspecto muy importante que vale la pena resaltar se relaciona con la fiabilidad del modelo AM2 al momento de predecir condiciones estables en reactores anaerobios operados bajo “choques de carga orgánica” al introducir perturbaciones mediadas por la manipulación de una variable operacional como el tiempo de retención hidráulico (TRH) o la tasa de dilución (D). Tal como se muestra en la Tabla 4.15 en donde se comparan los flujos de CH_4 determinados por el modelo AM2 y los experimentales para cada uno de los TRH evaluados (36, 20 y 10 h).

En este sentido, para las evaluaciones realizadas con los dos hidrolizados de agave (ácido y ruminal) en régimen mesofílico se determinó un error relativo entre los valores predichos por el modelo AM2 y los experimentales del 2 al 15 %, mientras que para las evaluaciones realizadas en régimen termofílico el error relativo no superó el 7 %, aunque cabe mencionar que en este último caso las predicciones obtenidas del modelo AM2 fallaron al indicar el lavado de la biomasa metanogénica (X_2) antes de lo encontrado experimentalmente.

Tabla 4.15. Comparación de los flujos de CH_4 predichos por el modelo AM2 y experimentales en condiciones estables

D (d^{-1})	TRH (h)	Flujo de CH_4 ($NLCH_4 \cdot d^{-1}$)							
		Régimen Mesofílico				Régimen Termofílico			
		H. Ácido		H. Ruminal		H. Ácido		H. Ruminal	
		AM2	Exp	AM2	Exp	AM2	Exp	AM2	Exp
0.67	36	1.35	1.5 ± 0.83	1.00	-	1.28	1.35 ± 0.43	0.88	-
1.20	20	2.41	2.36 ± 0.57	1.77	1.92 ± 0.83	2.18	2.35 ± 0.89	-	1.53 ± 0.22
2.40	10	4.14	4.21 ± 0.92	3.04	3.51 ± 1.47	-	2.97 ± 1.30	-	1.79 ± 0.22

4.5.4. Simulación de escenarios para la implementación de la estrategia de alimentación controlada (EAC) en reactores UASB

Como parte de toda la discusión abordada anteriormente, se simularon distintos escenarios (*nominal*, *referencia*, *experimental*, *optimista* y *lavado*) relacionados con la implementación de la estrategia de alimentación controlada (EAC) con la intención de mostrar que mediante este tipo de estrategia de control se pueden obtener resultados promisorios para maximizar la producción de CH_4 en reactores UASB alimentados con hidrolizados de agave (ácido y ruminal) y operados en distintos regímenes de temperatura (mesofílico y termofílico).

En cada uno de estos escenarios básicamente se simuló el proceso de digestión anaerobia bajo diferentes condiciones de operación definidas por el tiempo de retención hidráulico (TRH); en los escenarios inicialmente se contempla una etapa de aclimatación en régimen discontinuo seguido de una etapa de aclimatación en régimen continuo bajo un TRH de 36 h, y posteriormente se da lugar a la evaluación de los escenarios *nominal*, *referencia*, *experimental*, *optimista* y *lavado* con las características que se mencionan a continuación:

Nominal. En este escenario se simula la operación de los reactores UASB bajo un TRH de 20 h hasta que finalice el proceso y se ponga nuevamente en lote; se llama “*nominal*” porque representa el escenario base mediante el cual se comparan las producciones de CH_4 generadas en los otros escenarios (*referencia*, *experimental*, *optimista* y *lavado*) como consecuencia de la aplicación de la EAC.

Referencia. Guarda cierta similitud con el escenario anterior (*nominal*), solo que en este se simula la operación de los reactores UASB bajo un TRH de 10 h hasta que finalice el proceso y se ponga nuevamente en lote.

Experimental. En este escenario se simulan las condiciones experimentales evaluadas a lo largo de todo el proyecto de investigación alternando la operación de los reactores entre un TRH alto (20 h) y un TRH bajo (10 h) hasta su puesta en lote; mediante este escenario se replica exactamente el trabajo realizado de manera experimental.

Optimista. En este escenario se modelan las condiciones óptimas de operación identificadas a partir de los puntos de equilibrio presentados en la Tabla 4.14; aquí se representan las condiciones ideales de operación de reactores UASB según el tipo de hidrolizado de agave (ácido y ruminal) y régimen de temperatura (mesofílico y termofílico), por lo que los valores de TRH alto y bajo pueden resultar diferentes a los fijados en el escenario *experimental*.

Lavado. En este escenario se modelan las condiciones extremas de operación, al mantener la alimentación de los reactores UASB en un TRH alto (20 h) y uno muy bajo TRH (6 h) que asegura el lavado de la biomasa metanogénica (X_2), acumulación de AGV (S_2) y disminución del flujo de CH_4 (q_m), entre otros.

En la Tabla 4.16 se resumen los valores de TRH alto (\uparrow) y TRH bajo (\downarrow) utilizados para simular cada uno de los escenarios considerados (*nominal*, *referencia*, *experimental*, *optimista* y *lavado*) en el marco de la implementación de la estrategia de alimentación controlada (EAC) en reactores UASB.

Tabla 4.16. Características de escenarios simulados durante la implementación de la EAC en reactores UASB

Escenarios	Tiempo de retención hidráulico (TRH) (h)							
	Régimen Mesofílico				Régimen Termofílico			
	H. Ácido		H. Ruminal		H. Ácido		H. Ruminal	
	$TRH \uparrow$	$TRH \downarrow$	$TRH \uparrow$	$TRH \downarrow$	$TRH \uparrow$	$TRH \downarrow$	$TRH \uparrow$	$TRH \downarrow$
Nominal		20		20		20		20
Referencia		10		10		10		10
Experimental	20	10	20	10	20	10	20	10
Optimista	20	10	20	8	20	12		39
Lavado	20	6	20	6	20	6	20	6

En la Figura 4.19 se presentan las simulaciones del escenario *nominal* para el flujo y volumen acumulado de CH_4 , en donde se observa que después de finalizados los periodos de aclimatación en régimen discontinuo (lote) y continuo (TRH), y mantener constante la operación de los reactores UASB a un TRH de 20 h, el flujo de CH_4 aumenta progresivamente hasta estabilizarse por el resto del periodo de operación (156 d) sin presentar alteraciones que conlleven a pensar fallas en el proceso.

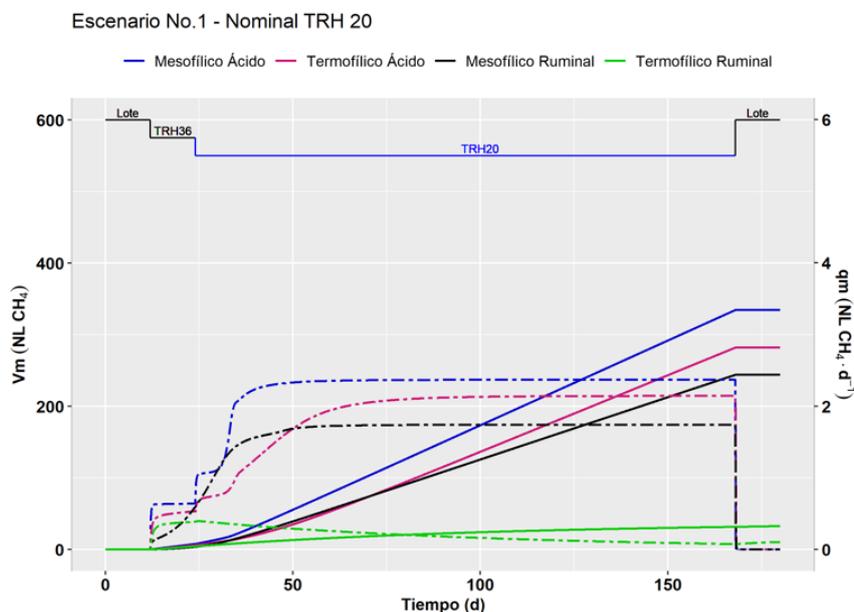


Figura 4.19. Escenario *nominal* implementado en reactores UASB

Mientras que el escenario de *referencia* (Figura 4.20) además de mostrar diferencias importantes en cuanto al flujo y volumen acumulado de CH_4 producido por régimen de temperatura, responde al interrogante sobre por qué no se recomienda llevar a cabo la operación de reactores UASB durante TRH bajos (< 10 h) de forma permanente o prolongada, al mismo tiempo en que se justifica la implementación de estrategias de alimentación como la EAC para mejorar su desempeño debido al control que se mantiene sobre ciertos fenómenos físicos y biológicos asociados tanto al lavado de biomasa metanogénica como a la exposición de esta ante concentraciones elevadas de AGV e inhibidores (fenoles, furfural e hidroximetilfurfural, entre otros).

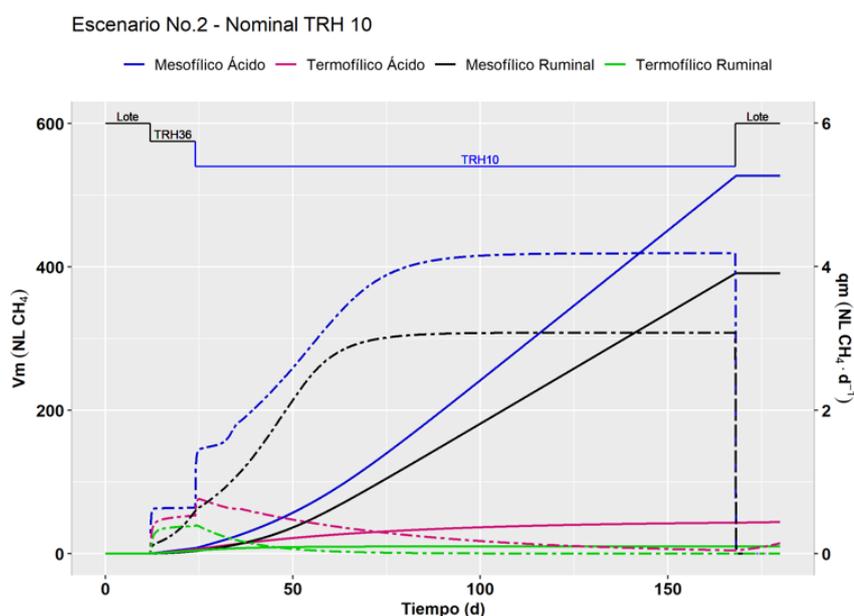


Figura 4.20. Escenario de *referencia* implementado en reactores UASB

En cambio, en el escenario *experimental* (Figura 4.21), después del periodo de aclimatación ya se empiezan a percibir los efectos de la implementación de la estrategia de alimentación controlada (EAC) al alternar la operación de los reactores entre un *TRH* alto (20 h) y *TRH* bajo (10 h), siendo notorio el comportamiento que presenta tanto el flujo y volumen acumulado de CH_4 no solo por sus valores máximos en comparación a lo observado en los escenarios anteriores (Figura 4.19 y Figura 4.20) sino también por la periodicidad que muestran al manipular solamente una variable operacional como el *TRH*.

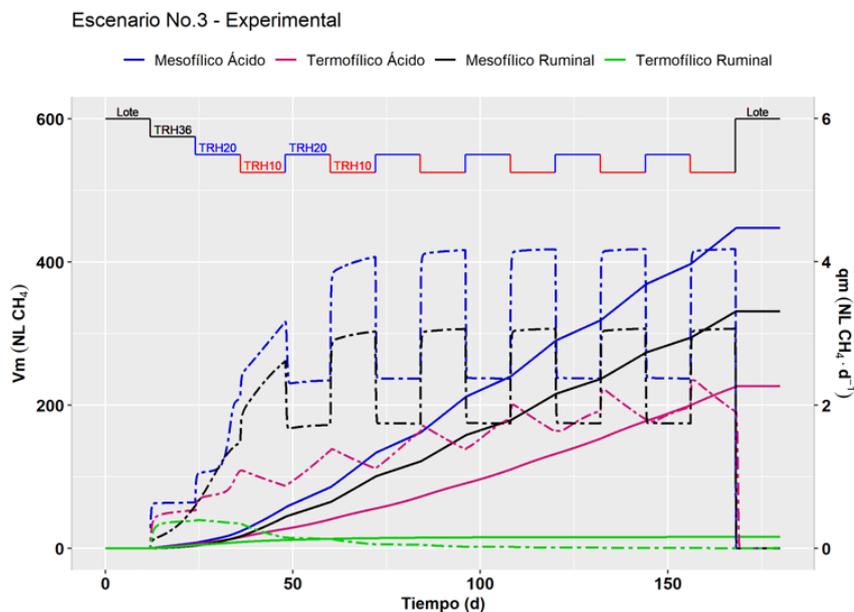


Figura 4.21. Escenario *experimental* implementado en reactores UASB

Por otra parte, aunque en el escenario *optimista* (Figura 4.22) se obtienen mejoras en cuanto a la producción de CH_4 debido a una operación mucho más controlada al simular cada uno de los casos bajo un *TRH* en donde se evita el lavado de biomasa metanogénica principalmente, al final del proceso la producción de CH_4 dista muy poco de lo alcanzado en el escenario *nominal* salvo en las simulaciones obtenidas para el reactor UASB termofílico alimentado con hidrolizado ruminal en donde se observa que la producción de CH_4 mejora significativamente (210 %).

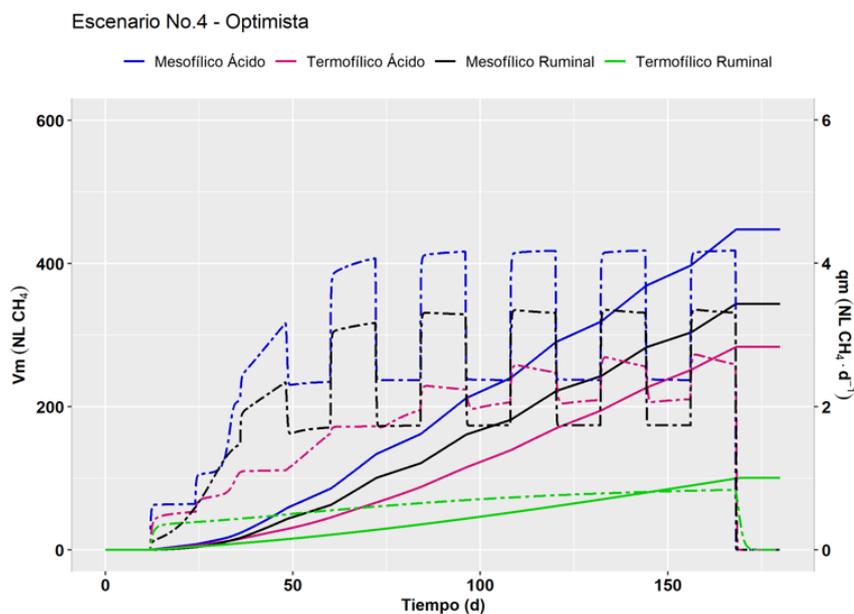


Figura 4.22. Escenario *optimista* implementado en reactores UASB

Finalmente, el escenario de *lavado* (Figura 4.23) resulta ser la condición menos favorable y deseada para llevar a cabo la implementación de la estrategia de alimentación controlada (EAC) puesto que periódicamente se incentiva el lavado de biomasa metanogénica (X_2) y acumulación de AGV (S_2) en los reactores al mantener la operación de estos entre un *TRH* alto (20 h) y un *TRH* muy bajo (6 h).

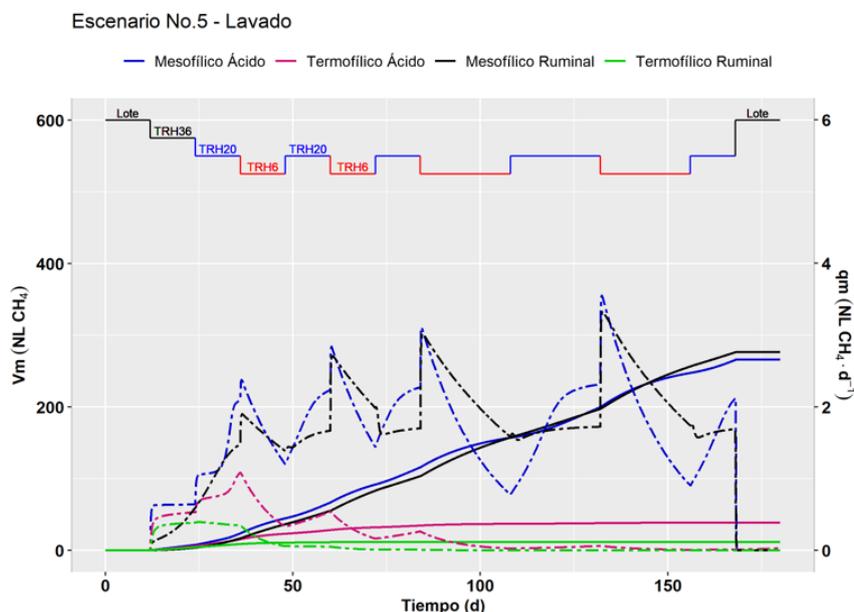


Figura 4.23. Escenario de *lavado* implementado en reactores UASB

Teniendo en cuenta lo anterior, se resumen en la Tabla 4.17 los resultados obtenidos de la simulación de escenarios (*nominal*, *referencia*, *experimental optimista* y *lavado*) para evaluar la implementación de la estrategia de alimentación controlada (EAC) en reactores UASB mesofílico y termofílico alimentados con los hidrolizados de agave (ácido y ruminal). Las signos indican incremento (+) o decremento (-) en la producción de CH_4 .

Tabla 4.17. Producción acumulada de CH_4 según los escenarios simulados durante la implementación de la EAC

Escenarios	Producción acumulada de CH_4 (NL)			
	Régimen Mesofílico		Régimen Termofílico	
	H. Ácido	H. Ruminal	H. Ácido	H. Ruminal
Nominal	334.48	243.95	282.08	32.48
Referencia	526.54 (+ 57 %)	391.00 (+ 60 %)	44.04 (- 84 %)	9.91 (- 69 %)
Experimental	447.05 (+ 34 %)	330.82 (+ 36 %)	226.61 (- 20 %)	15.73 (- 52 %)
Optimista	447.05 (+ 34 %)	343.53 (+ 41 %)	283.53 (+ 1 %)	100.6 (+ 210 %)
Lavado	265.93 (- 21 %)	276.31 (+ 13 %)	38.61 (- 86 %)	11.61 (- 64 %)

Tomando como referencia el escenario *nominal*, se tiene que la producción de CH_4 en un reactor UASB alimentado con hidrolizados de agave puede aumentar de la siguiente manera:

Referencia. En este escenario un reactor UASB mesofílico alimentado con hidrolizado ácido y ruminal puede incrementar su producción de CH_4 en 57 % y 60 %; mientras que un reactor UASB termofílico alimentado con hidrolizados del mismo tipo (ácido y ruminal) puede llegar a reducir su producción en un 84 % y 69 %, respectivamente.

Experimental. En este escenario un reactor UASB mesofílico alimentado con hidrolizado ácido y ruminal puede incrementar su producción de CH_4 en 34 % y 36 %; mientras que un reactor UASB termofílico alimentado con hidrolizados del mismo tipo (ácido y ruminal) puede llegar a reducir su producción en un 20 % y 52 %, respectivamente.

Optimista. En este escenario un reactor UASB mesofílico alimentado con hidrolizado ácido y ruminal puede incrementar su producción de CH_4 en 34 % y 41 %; mientras que la producción de un reactor UASB termofílico alimentado con hidrolizados del mismo tipo (ácido y ruminal) puede llegar a aumentar su producción en 1 % y 210 %, respectivamente.

Lavado. Representa el escenario menos deseado para llevar a cabo la producción de CH_4 puesto que resulta ser el menos adecuado para implementar la estrategia de alimentación controlada (EAC) en reactores UASB alimentados con hidrolizados de agave.

Capítulo 5

Conclusiones

- La implementación de cinéticas de remoción de sustrato en reactores UASB operados en régimen discontinuo (lote) bajo condiciones mesofílicas y termofílicas resultó ser una herramienta fundamental para seleccionar adecuadamente un modelo matemático (AM2) que representara bien la dinámica del proceso de digestión anaerobia, puesto que durante las cinéticas logró diferenciarse claramente la degradación de hidrolizados de agave (ácido) a través de la acidogénesis de carbohidratos para la formación de AGV, y posteriormente su consumo por parte de microorganismos metanogénicos para la producción de CH_4 .
- El balance de electrones realizado a partir de las cinéticas de remoción de sustrato en reactores UASB operados en régimen discontinuo bajo condiciones mesofílicas y termofílicas, también permitió corroborar que durante la digestión anaerobia de hidrolizados de agave (ácido) los electrones disponibles inicialmente en el sustrato ($1.34 \pm 0.06 \text{ mol } e^-$) se destinan en un 52-65 % a la producción de biogás, 2-3 % hacia la síntesis de biomasa celular, 28 % permanecen como sustrato residual y un 6-19 % como no determinados (N.D).
- La parametrización y calibración del modelo AM2 en régimen discontinuo permitieron realizar un ajuste adecuado a los datos experimentales en función del tipo de hidrolizado de agave y régimen de temperatura. El modelo sí puede generar predicciones idóneas en variables de proceso relacionadas con el flujo de CH_4 (R^2 : 0.60-0.88), volumen acumulado de CH_4 (R^2 : 0.92-0.98), carbohidratos (R^2 : 0.86-0.96) y ácidos grasos volátiles (R^2 : 0.61-0.66).
- La aplicación de la estrategia de alimentación controlada (EAC) en reactores UASB alimentados con hidrolizados de agave mostró, a partir de las condiciones experimentales evaluadas que sí se puede aumentar significativamente la producción de CH_4 sin perjudicar otros aspectos del proceso asociados a la remoción de la DQO y contenido de CH_4 en el biogás generado. Específicamente, la implementación de la EAC en un reactor UASB mesofílico alimentado con hidrolizados de agave (ácido y ruminal) puede aumentar la producción de CH_4 en 78-83 %, mientras que en un reactor UASB termofílico alimentado con hidrolizados del mismo tipo puede mejorar la producción de CH_4 en 17-26 %, con respecto a la operación de los reactores UASB bajo un TRH nominal (20 h).
- El modelo matemático AM2 puede ser considerado como una herramienta de control importante para maximizar la producción de CH_4 en reactores UASB operados en régimen continuo, debido a que simula muy bien la dinámica del proceso de digestión anaerobia, genera predicciones adecuadas sobre variables de proceso relacionadas con el flujo de CH_4 (R^2 : 0.54-0.67) y volumen acumulado de CH_4 (R^2 : 0.97-0.99), y se adecúa muy bien a estrategias de control promisorias como la EAC.

- A partir de los escenarios simulados (*nominal, referencia, experimental, optimista y lavado*) se determinó que el escenario *optimista* representa las condiciones idóneas en las cuales se debería llevar a cabo la EAC, puesto que en reactores UASB operados en mesofilia y alimentados con hidrolizados de agave (ácido y ruminal) podría aumentar la producción de CH_4 en un 32 %; mientras que en reactores UASB operados en termofilia y alimentados con hidrolizados del mismo tipo podría incrementar la producción de CH_4 en 1 % y 210 %, respectivamente. También se muestra que se corre el riesgo de lavado de biomasa si la EAC se aplica extendiendo demasiado la operación con un *TRH* bajo (escenario de *lavado*).
- De acuerdo con los escenarios simulados, la implementación de la EAC en reactores UASB operados en mesofilia resulta más conveniente que en termofilia debido a que se obtienen mejores resultados en cuanto a la producción de CH_4 y permite que la operación se lleve a cabo bajo tiempos de retención hidráulico (*TRH*) más bajos. Particularmente, en reactores UASB operados en mesofilia se recomienda implementar la EAC en rangos de *TRH* de 36-8 h independientemente del tipo de hidrolizado de agave (ácido y ruminal). Por el contrario, en reactores UASB operados en termofilia la aplicación de la EAC si depende del tipo de hidrolizado, siendo recomendable en hidrolizados ácidos rangos de *TRH* de 36-12 h, mientras que en hidrolizados de tipo ruminal rangos de *TRH* 36-29 h.

Bibliografía

- Akunna, J. C. (2018). *Anaerobic waste-wastewater treatment and biogas plants: a practical handbook*. CRC Press.
- Alcantara, M. S., Grisotti, G., Tavares, M. H., y Gomes, S. D. (2017). Anaerobic digestion stability test by shewhart control chart. *Engenharia Agrícola*, 37(3):618–626.
- Andrews, J. F. (1965). Kinetics and characteristics of volatile acid production in anaerobic fermentation process. *Journal of Air Water Pollution*, 9:439–469.
- Angelidaki, I., Ellegaard, L., y Ahring, B. K. (1993). A mathematical model for dynamic simulation of anaerobic digestion of complex substrates: Focusing on ammonia inhibition. *Biotechnology and Bioengineering*, 42(2):159–166.
- Angelidaki, I. y Sanders, W. (2004). Assessment of the anaerobic biodegradability of macropollutants. *Re/Views in Environmental Science & Bio/Technology*, 3(2):117–129.
- Arreola-Vargas, J., Ojeda-Castillo, V., Snell-Castro, R., Corona-González, R. I., Alatrister-Mondragón, F., y Méndez-Acosta, H. O. (2015). Methane production from acid hydrolysates of agave tequilana bagasse: evaluation of hydrolysis conditions and methane yield. *Bioresource technology*, 181:191–199.
- Aydin, S., Yildirim, E., Ince, O., y Ince, B. (2017). Rumen anaerobic fungi create new opportunities for enhanced methane production from microalgae biomass. *Algal research*, 23:150–160.
- Badshah, M., Lam, D. M., Liu, J., y Mattiasson, B. (2012). Use of an automatic methane potential test system for evaluating the biomethane potential of sugarcane bagasse after different treatments. *Bioresource Technology*, 114:262 – 269.
- Barragán-Trinidad, M., Carrillo-Reyes, J., y Buitrón, G. (2017). Hydrolysis of microalgal biomass using ruminal microorganisms as a pretreatment to increase methane recovery. *Bioresource technology*, 244:100–107.
- Barredo, M. S. y Evison, L. M. (1991). Effect of propionate toxicity on methanogen-enriched sludge, methanobrevibacter smithii, and methanospirillum hungatii at different ph values. *Applied and Environmental Microbiology*, 57(6):1764–1769.
- Batstone, D. (2002). *Anaerobic Digestion Model:(ADM1)*. IWA publishing.
- Bernard, O., Hadj-Sadok, Z., Dochain, D., Genovesi, A., y Steyer, J.-P. (2001). Dynamical model development and parameter identification for an anaerobic wastewater treatment process. *Biotechnology and Bioengineering*, 75(4):424–438.
- Bonhomme, A. (1990). Rumen ciliates: their metabolism and relationships with bacteria and their hosts. *Animal feed science and technology*, 30(3-4):203–266.
- Boone, D. R. y Xun, L. (1987). Effects of ph, temperature, and nutrients on propionate degradation by a methanogenic enrichment culture. *Applied and Environmental Microbiology*, 53(7):1589–1592.
- Boopathy, R., Bokang, H., y Daniels, L. (1993). Biotransformation of furfural and 5-hydroxymethyl furfural by enteric bacteria. *Journal of Industrial Microbiology*, 11(3):147–150.

- Borisov, M., Dimitrova, N., y Simeonov, I. (2016). Mathematical modelling of anaerobic digestion with hydrogen and methane production**this research has been partially supported by the bulgarian science fund under contract no. dfni-e02/13. the work of the second author has been partially supported by sofia university “st kl. ohridski” under contract no. 58/06.04.2016. *IFAC-PapersOnLine*, 49(26):231 – 238. Foundations of Systems Biology in Engineering - FOSBE 2016.
- Breton-Deval, L., Méndez-Acosta, H. O., González-Álvarez, V., Snell-Castro, R., Gutiérrez-Sánchez, D., y Arreola-Vargas, J. (2018). Agave tequilana bagasse for methane production in batch and sequencing batch reactors: Acid catalyst effect, batch optimization and stability of the semi-continuous process. *Journal of environmental management*, 224:156–163.
- Bryers, J. (1985). Structured modeling of the anaerobic digestion of biomass particulates. *Bio-technology and bioengineering*, 27(5):638–649.
- Buitrón, G., Schoeb, M.-E., Moreno-Andrade, I., y Moreno, J. A. (2005). Evaluation of two control strategies for a sequencing batch reactor degrading high concentration peaks of 4-chlorophenol. *Water Research*, 39(6):1015 – 1024.
- Campos, J. R. (1999). *Tratamento de esgostos sanitários por processo anaeróbico e disposição controlada no solo*. ABES.
- Caraman, S., Barbu, M., Ifrim, G., Titica, M., y Ceanga, E. (2017). Anaerobic digester optimization using extremum seeking and model-based algorithms. a comparative study. *IFAC-PapersOnLine*, 50(1):12673 – 12678. 20th IFAC World Congress.
- Chae, K., Jang, A., Yim, S., y Kim, I. S. (2008). The effects of digestion temperature and temperature shock on the biogas yields from the mesophilic anaerobic digestion of swine manure. *Bioresource Technology*, 99(1):1 – 6.
- Chen, Y., Cheng, J. J., y Creamer, K. S. (2008). Inhibition of anaerobic digestion process: A review. *Bioresource Technology*, 99(10):4044 – 4064.
- Chen, Y., Zhang, F., Wang, T., Shen, N., Yu, Z.-W., y Zeng, R. J. (2016). Hydraulic retention time affects stable acetate production from tofu processing wastewater in extreme-thermophilic mixed culture fermentation. *Bioresource technology*, 216:722–728.
- Chen, Y.-R. y Hashimoto, A. G. (1978). Kinetics of methane fermentation. Technical report, Science and Education Administration, Clay Center, NE (USA). Meat Animal . . .
- CONACYT, CIATEJ, y AGARED (2017). *Panorama del aprovechamiento de los agaves en México*.
- Contois, D. (1959). Kinetics of bacterial growth: relationship between population density and specific growth rate of continuous cultures. *Microbiology*, 21(1):40–50.
- Corona, V. M. y Razo-Flores, E. (2018). Continuous hydrogen and methane production from agave tequilana bagasse hydrolysate by sequential process to maximize energy recovery efficiency. *Bioresource technology*, 249:334–341.
- Costello, D., Greenfield, P., y Lee, P. (1991). Dynamic modelling of a single-stage high-rate anaerobic reactor—ii. model verification. *Water Research*, 25(7):859 – 871.
- CRT (2019). Consumo agave para tequila y tequila 100URL: <https://bit.ly/2eIEAbX>.
- Díaz, M. C. y Espitia, S. E. (2002). *Digestión anaerobia, una aproximación a la tecnología*. Universidad Nacional de Colombia.
- del Real Olvera, J. y Lopez-Lopez, A. (2012). Biogas production from anaerobic treatment of agro-industrial wastewater. In *Biogas*. InTech.
- Donoso-Bravo, A., Pérez-Elvira, S., y Fdz-Polanco, F. (2015). Simplified mechanistic model for the two-stage anaerobic degradation of sewage sludge. *Environmental technology*, 36(10):1334–1346.
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. t., y Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical chemistry*, 28(3):350–356.
- Eastman, J. A. y Ferguson, J. F. (1981). Solubilization of particulate organic carbon during the acid phase of anaerobic digestion. *Journal (Water Pollution Control Federation)*, pages 352–366.

- Fang, H. y Chung, D.-C. (1999). Anaerobic treatment of proteinaceous wastewater under mesophilic and thermophilic conditions. *Water Science and Technology*, 40(1):77 – 84. Waste Management Problems in Agro-Industries 1998.
- Franco, V. V. (2007). *Estadística descriptiva para ingeniería ambiental con SPSS*. Univ. Nacional de Colombia.
- Gadhamshetty, V., Arudchelvam, Y., Nirmalakhandan, N., y Johnson, D. C. (2010). Modeling dark fermentation for biohydrogen production: Adm1-based model vs. gompertz model. *International Journal of Hydrogen Energy*, 35(2):479 – 490.
- García, C. G. y Álvarez, A. (2014). *Biocombustibles en México: una alternativa para la reducción de la dependencia de los hidrocarburos y la mitigación de los gases efecto invernadero*. Programa de Investigación en Cambio Climático, Universidad Nacional Autónoma
- Ghosh, S. (1981). Kinetics of acid-phase fermentation in anaerobic digestion. In *Biotechnol. Bioeng. Symp.:(United States)*, volume 11. Inst Gas Tech, Chicago, IL 60616.
- Gomez-Tovar, F., Celis, L. B., Razo-Flores, E., y Alatríste-Mondragón, F. (2012a). Chemical and enzymatic sequential pretreatment of oat straw for methane production. *Bioresource Technology*, 116:372 – 378.
- Gomez-Tovar, F., Celis, L. B., Razo-Flores, E., y Alatríste-Mondragón, F. (2012b). Chemical and enzymatic sequential pretreatment of oat straw for methane production. *Bioresource technology*, 116:372–378.
- Grady Jr, C., Daigger, G., y Filipe, C. (2011). Biological wastewater treatment. *CRC press*.
- Graef, S. P. y Andrews, J. F. (1974). Stability and control of anaerobic digestion. *Journal (Water Pollution Control Federation)*, pages 666–683.
- Grau, P., Dohanyos, M., y Chudoba, J. (1975). Kinetics of multicomponent substrate removal by activated sludge. *Water Research*, 9(7):637–642.
- Hassam, S., Ficara, E., Leva, A., y Harmand, J. (2015). A generic and systematic procedure to derive a simplified model from the anaerobic digestion model no. 1 (adm1). *Biochemical Engineering Journal*, 99:193 – 203.
- Henze, M. y Harremoës, P. (1983). Anaerobic Treatment of Wastewater in Fixed Film Reactors – A Literature Review. *Water Science and Technology*, 15(8-9):1–101.
- Hess, J. y Bernard, O. (2009). Advanced dynamical risk analysis for monitoring anaerobic digestion process. *Biotechnology Progress*, 25(3):643–653.
- Hill, D. (1982). A comprehensive dynamic model for animal waste methanogenesis. *Transactions of the ASAE*, 25(5):1374–1380.
- Hill, D. y Barth, C. (1977). A dynamic model for simulation of animal waste digestion. *Journal (Water Pollution Control Federation)*, pages 2129–2143.
- Ho, D., Jensen, P., y Batstone, D. (2014). Effects of temperature and hydraulic retention time on acetotrophic pathways and performance in high-rate sludge digestion. *Environmental science & technology*, 48(11):6468–6476.
- Ho, D. P., Jensen, P. D., y Batstone, D. J. (2013). Methanosarcinaceae and acetate-oxidizing pathways dominate in high-rate thermophilic anaerobic digestion of waste-activated sludge. *Appl. Environ. Microbiol.*, 79(20):6491–6500.
- Jarrell, K. F., Saulnier, M., y Ley, A. (1987). Inhibition of methanogenesis in pure cultures by ammonia, fatty acids, and heavy metals, and protection against heavy metal toxicity by sewage sludge. *Canadian Journal of Microbiology*, 33(6):551–554. PMID: 3621086.
- Jeihanipour, A., Niklasson, C., y Taherzadeh, M. J. (2011). Enhancement of solubilization rate of cellulose in anaerobic digestion and its drawbacks. *Process biochemistry*, 46(7):1509–1514.
- Jha, P. y Schmidt, S. (2017). Reappraisal of chemical interference in anaerobic digestion processes. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 75:954–971.
- Kafle, G. K. y Chen, L. (2016). Comparison on batch anaerobic digestion of five different livestock manures and prediction of biochemical methane potential (bmp) using different statistical models. *Waste Management*, 48:492 – 502.

- Kaparaju, P., Serrano, M., y Angelidaki, I. (2009a). Effect of reactor configuration on biogas production from wheat straw hydrolysate. *Bioresource Technology*, 100(24):6317 – 6323.
- Kaparaju, P., Serrano, M., y Angelidaki, I. (2009b). Effect of reactor configuration on biogas production from wheat straw hydrolysate. *Bioresource technology*, 100(24):6317–6323.
- Karakashev, D., Batstone, D. J., Trably, E., y Angelidaki, I. (2006). Acetate oxidation is the dominant methanogenic pathway from acetate in the absence of methanosaetaceae. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(7):5138–5141.
- Khan, M., Ngo, H., Guo, W., Liu, Y., Nghiem, L., Hai, F., Deng, L., Wang, J., y Wu, Y. (2016). Optimization of process parameters for production of volatile fatty acid, biohydrogen and methane from anaerobic digestion. *Bioresource Technology*, 219:738 – 748.
- Khanal, S. K. (2011). *Anaerobic biotechnology for bioenergy production: principles and applications*. John Wiley & Sons.
- Kleinstreuer, C. y Poweigha, T. (1982). Dynamic simulator for anaerobic digestion processes. *Biotechnology and bioengineering*, 24(9):1941–1951.
- Krakat, N., Westphal, A., Schmidt, S., y Scherer, P. (2010). Anaerobic digestion of renewable biomass: Thermophilic temperature governs methanogen population dynamics. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(6):1842–1850.
- Kroeker, E. J., Schulte, D. D., Sparling, A. B., y Lapp, H. M. (1979). Anaerobic treatment process stability. *Journal (Water Pollution Control Federation)*, 51(4):718–727.
- Ladu, J. L. C. y wu Lü, X. (2014). Effects of hydraulic retention time, temperature, and effluent recycling on efficiency of anaerobic filter in treating rural domestic wastewater. *Water Science and Engineering*, 7(2):168 – 182.
- Lan, W. y Yang, C. (2019). Ruminant methane production: Associated microorganisms and the potential of applying hydrogen-utilizing bacteria for mitigation. *Science of The Total Environment*, 654:1270 – 1283.
- Lawrence, A. W. (1971). *Application of process kinetics to design of anaerobic processes*. Water Resources and Environmental Engineering, Department of Civil
- Lettinga, G. (1995). Anaerobic digestion and wastewater treatment systems. *Antonie van Leeuwenhoek*, 67(1):3–28.
- Liu, Z. L., Slininger, P. J., Dien, B. S., Berhow, M. A., Kurtzman, C. P., y Gorsich, S. W. (2004). Adaptive response of yeasts to furfural and 5-hydroxymethylfurfural and new chemical evidence for hmf conversion to 2,5-bis-hydroxymethylfuran. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 31(8):345–352.
- Lo, K. y Liao, P. (1989). Anaerobic-aerobic biological treatment of a mixture of cheese whey and dairy manure. *Biological Wastes*, 28(2):91 – 101.
- Loaiza Arbelález, R. D. (2013). Gráficos de control no paramétricos basados en r-estadísticos con aplicación al caso multivariante. B.S. thesis.
- Mao, C., Feng, Y., Wang, X., y Ren, G. (2015). Review on research achievements of biogas from anaerobic digestion. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 45:540 – 555.
- McDougall, E. (1948). Studies on ruminant saliva. 1. the composition and output of sheep's saliva. *Biochemical journal*, 43(1):99.
- Moletta, R., Verrier, D., y Albagnac, G. (1986). Dynamic modelling of anaerobic digestion. *Water Research*, 20(4):427–434.
- Monlau, F., Sambusiti, C., Barakat, A., Quéméneur, M., Trably, E., Steyer, J.-P., y Carrère, H. (2014). Do furanic and phenolic compounds of lignocellulosic and algae biomass hydrolyzate inhibit anaerobic mixed cultures? a comprehensive review. *Biotechnology Advances*, 32(5):934 – 951.
- Monod, J. (1949). The growth of bacterial cultures. *Annual Reviews in Microbiology*, 3(1):371–394.
- Monroy, O., Johnson, K., Wheatley, A., Hawkes, F., y Caine, M. (1994). The anaerobic filtration of dairy waste: Results of a pilot trial. *Bioresource Technology*, 50(3):243 – 251.

- Morgavi, D., Forano, E., Martin, C., y Newbold, C. (2010). Microbial ecosystem and methanogenesis in ruminants. *Animal*, 4(7):1024–1036.
- Mosey, F. (1983). Mathematical modelling of the anaerobic digestion process: regulatory mechanisms for the formation of short-chain volatile acids from glucose. *Water Science and Technology*, 15(8-9):209–232.
- Nelson, D. L. y Cox, M. M. (2018). *Principios de Bioquímica de Lehninger-7*. Artmed Editora.
- O'Rourke, J. T. (1968). *Kinetics of anaerobic treatment at reduced temperatures*.
- Park, J.-H., Yoon, J.-J., Park, H.-D., Kim, Y. J., Lim, D. J., y Kim, S.-H. (2011). Feasibility of biohydrogen production from gelidium amansii. *International Journal of Hydrogen Energy*, 36(21):13997 – 14003. 2010 Asian/APEC BioH2.
- Parkin, G. F., Speece, R. E., Yang, C. H. J., y Kocher, W. M. (1983). Response of methane fermentation systems to industrial toxicants. *Journal (Water Pollution Control Federation)*, 55(1):44–53.
- Pavlostathis, S. G. y Giraldo-Gomez, E. (1991). Kinetics of anaerobic treatment: A critical review. *Critical Reviews in Environmental Control*, 21(5-6):411–490.
- Pavlostathis, S. G. y Gossett, J. M. (1988). Preliminary conversion mechanisms in anaerobic digestion of biological sludges. *Journal of Environmental Engineering*, 114(3):575–592.
- Pérez, A. y Torres, P. (2011). Indices de alcalinidad para el control del tratamiento anaerobio de aguas residuales fácilmente acidificables. *INGENIERÍA Y COMPETITIVIDAD*, 10(2):41–52.
- Pullammanapallil, P., Owens, J., Svoronos, S., Lyberatos, G., y Chynoweth, D. (1991). Dynamic model for conventionally mixed anaerobic digestion reactors. *AIChE Annu Meet*, pages 43–53.
- Quéménéur, M., Hamelin, J., Barakat, A., Steyer, J.-P., Carrère, H., y Trably, E. (2012). Inhibition of fermentative hydrogen production by lignocellulose-derived compounds in mixed cultures. *International Journal of Hydrogen Energy*, 37(4):3150 – 3159. International Conference on Renewable Energy (ICRE 2011).
- Ramalho, R. (2003). *Tratamiento de aguas residuales*.
- Rasmussen, H., Sørensen, H. R., y Meyer, A. S. (2014). Formation of degradation compounds from lignocellulosic biomass in the biorefinery: sugar reaction mechanisms. *Carbohydrate Research*, 385:45 – 57.
- Rivard, C. j. y Grohmann, k. (1991). Degradation of furfural (2- furaldehyde) to methane and carbon dioxide by an anaerobic consortium. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 28(1):285–295.
- Rojas Chacón, O. et al. (1987). Relación alcalinidad-ácidos grasos volátiles. In *Curso Arranque y Operación de Sistemas de Flujo Ascendente con Manto de Lodo UASB*, pages 1–32. UNIVALLE.
- Ruggeri, B., Tommasi, T., y Sanfilippo, S. (2015). *BioH₂ & BioCH₄ through anaerobic digestion: from research to full-scale applications*. Springer.
- Sawyer, C., McCarty, P., y Parkin, G. (2016). *Chemistry for environmental engineering and science*.
- Sbarciog, M., Loccufier, M., y Noldus, E. (2010). Determination of appropriate operating strategies for anaerobic digestion systems. *Biochemical engineering journal*, 51(3):180–188.
- Sbarciog, M., Loccufier, M., y Wouwer, A. V. (2011). On the optimization of biogas production in anaerobic digestion systems*. *IFAC Proceedings Volumes*, 44(1):7150 – 7155. 18th IFAC World Congress.
- Sbarciog, M., Moreno, J. A., y Wouwer, A. V. (2012). A biogas-based switching control policy for anaerobic digestion systems. *IFAC Proceedings Volumes*, 45(15):603–608.
- Siegert, I. y Banks, C. (2005). The effect of volatile fatty acid additions on the anaerobic digestion of cellulose and glucose in batch reactors. *Process Biochemistry*, 40(11):3412–3418.
- Siegrist, H., Renggli, D., y Gujer, W. (1993). Mathematical Modelling of Anaerobic Mesophilic Sewage Sludge Treatment. *Water Science and Technology*, 27(2):25–36.

- Sklyar, V., Epov, A., Gladchenko, M., Danilovich, D., y Kalyuzhnyi, S. (2003). Combined biologic (anaerobic-aerobic) and chemical treatment of starch industry wastewater. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 109(1):253–262.
- Soetaert, K. (2014). Package rootsolve: roots, gradients and steady-states in r. URL <https://cran.r-project.org/web/packages/rootSolve/vignettes/rootSolve.pdf>.
- Souto, T. F., Aquino, S. F., Silva, S. Q., y Chernicharo, C. A. L. (2010). Influence of incubation conditions on the specific methanogenic activity test. *Biodegradation*, 21(3):411–424.
- Speece, R. E. (1983). Anaerobic biotechnology for industrial wastewater treatment. *Environmental science & technology*, 17(9):416A–427A.
- Steyer, J.-P., Buffière, P., Rolland, D., y Moletta, R. (1999). Advanced control of anaerobic digestion processes through disturbances monitoring. *Water research*, 33(9):2059–2068.
- Tezel, U., Guven, E., Erguder, T. H., y Demirer, G. N. (2001). Sequential (anaerobic/aerobic) biological treatment of dalaman seka pulp and paper industry effluent. *Waste Management*, 21(8):717 – 724.
- Van Soest, P. v., Robertson, J., y Lewis, B. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of dairy science*, 74(10):3583–3597.
- Vargas, A. y Moreno, J. A. (2015). On-line maximization of biogas production in an anaerobic reactor using a pseudo-super-twisting controller. *IFAC-PapersOnLine*, 48(8):14–19.
- von Sperling, M. y de Lemos Chernicharo, C. A. (2005). *Biological wastewater treatment in warm climate regions*. IWA.
- Von Sperling, M. y de Lemos Chernicharo, C. A. (2005). *Biological wastewater treatment in warm climate regions*, volume 1. IWA publishing.
- Wagner, A. O., Reitschuler, C., y Illmer, P. (2014). Effect of different acetate:propionate ratios on the methanogenic community during thermophilic anaerobic digestion in batch experiments. *Biochemical Engineering Journal*, 90:154 – 161.
- Wang, J. y Wan, W. (2009). Kinetic models for fermentative hydrogen production: A review. *International Journal of Hydrogen Energy*, 34(8):3313 – 3323.
- Wang, Y., Zhang, Y., Wang, J., y Meng, L. (2009). Effects of volatile fatty acid concentrations on methane yield and methanogenic bacteria. *Biomass and Bioenergy*, 33(5):848 – 853.
- Ward, A. J., Hobbs, P. J., Holliman, P. J., y Jones, D. L. (2008). Optimisation of the anaerobic digestion of agricultural resources. *Bioresource Technology*, 99(17):7928 – 7940.
- Wickham, H. (2016). *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag New York.
- Yıldırım, E., Ince, O., Aydin, S., y Ince, B. (2017). Improvement of biogas potential of anaerobic digesters using rumen fungi. *Renewable Energy*, 109:346–353.
- Zhang, T. C. y Noike, T. (1994). Influence of retention time on reactor performance and bacterial trophic populations in anaerobic digestion processes. *Water Research*, 28(1):27 – 36.
- Zinder, S. H. y Mah, R. A. (1979). Isolation and characterization of a thermophilic strain of methanosarcina unable to use h₂-co₂ for methanogenesis. *Applied and Environmental Microbiology*, 38(5):996–1008.
- Zárate, M. A. (2013). Estimación de parámetros y validación del modelo AM2 para un proceso de digestión anaerobia a escala piloto. Master's thesis, Universidad de Guadalajara, Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías.