



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**CENTRO DE FÍSICA APLICADA
Y TECNOLOGÍA AVANZADA**

**EVALUACIÓN DE LA GENERACIÓN DE FUENTES
RENOVABLES DE ENERGÍA (HIDRÓGENO Y METANO),
SUBPRODUCTO DEL TRATAMIENTO BIOLÓGICO DE AGUAS
RESIDUALES INDUSTRIALES**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
LICENCIADO EN TECNOLOGÍA**

PRESENTA:

ANDRÉS MARTÍNEZ ARCE

ASESOR: DR. GERMÁN BUITRÓN MÉNDEZ

JURIQUILLA, QUERÉTARO

2011



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada

Asunto: VOTOS APROBATORIOS

DR. RAMIRO PÉREZ CAMPOS
Director del CFATA
PRESENTE

ATN: MTRA. JULIETA HERNÁNDEZ PRADO
Coordinadora Administrativa

Con base en el Art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la Tesis:

" Evaluación de la generación de fuentes renovables de energía (hidrógeno y metano), subproducto del tratamiento biológico de aguas residuales industriales"

Que presenta el pasante Andrés Martínez Arce

Con número de cuenta: 30534087-0 para obtener el título de:

Licenciado en Tecnología

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Juriquilla, Qro. a 29 del mes de junio del año 2011.

PRESIDENTE

Dr. Juan Bibiano
Morales Malacara

VOCAL

Dr. Iván Moreno
Andrade

SECRETARIO

Dr. Germán Buitrón
Méndez

1er suplente

Dra. Concepción
Arenas Arrocena

2° suplente

M. en C. Gloria Moreno
Rodríguez

Agradecimientos

Al doctor Germán Buitrón Méndez, por permitirme formar parte de su grupo de trabajo, por su gran apoyo y consejos, que me han ayudado a formarme como profesionalista y como persona.

A los miembros del jurado, la Dra. Ma. Concepción Arenas Arrocena, la M. en C. Gloria Moreno Rodríguez, el Dr. Juan B. Morales Malacara y el Dr. Iván Moreno Andrade, por sus valiosas aportaciones a esta tesis y por enriquecer este trabajo con su experiencia y conocimiento.

Al Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada de la UNAM y a la Licenciatura en Tecnología, por brindarme esta gran oportunidad de preparación y por ampliar mis horizontes de manera tan innovadora.

A la Unidad Académica Juriquilla del Instituto de Ingeniería de la UNAM; el Laboratorio de Investigación en Procesos Avanzados de Tratamiento de Aguas, por brindarme todos los recursos y el apoyo necesarios para realizar esta investigación.

A la M. en C. Gloria Moreno Rodríguez, por todo su tiempo, su entusiasmo y su labor como guía durante la realización de los trabajos experimentales.

Al M. en B. Jaime Pérez Trevilla por su enorme espíritu y su valioso apoyo en el laboratorio.

Al personal administrativo de la Licenciatura en Tecnología, por su gran esmero y su inigualable dedicación.

Al personal de la biblioteca del Campus Juriquilla de la UNAM por todas sus atenciones, su compromiso y el apoyo brindado en todo momento.

Al Laboratorio de Ondas de Choque del C-FATA por la ayuda brindada para la realización de pruebas experimentales.

Al Instituto de Ingeniería de la UNAM por la beca otorgada durante la realización de este trabajo de tesis.

A la UNAM, por la formación profesional que he recibido y por la enorme oportunidad de superación que me ha brindado.

Dedico esta tesis...

*A mis profesores de la licenciatura
Sus enseñanzas y su vocación forjaron en nosotros un espíritu sin límites.*

*Especialmente a la Dra. Ana Leonor Rivera López
y al Dr. Víctor Manuel Castaño Meneses.
“Ser inventor es usar la inteligencia en búsqueda de la felicidad”*

*A mis amigos
Los momentos divertidos, las inagotables ocurrencias, las memorables
reuniones, los fabulososcampamentos, las grandiosas “retas”, los viajes y
las aventuras inesperadas, las interminables jornadas de trabajo, los
momentos difíciles, las exquisitaspláticas...son y seránparte de mí
siempre.*

*A mis hermanos
Ustedes son un tesoro enorme para mí. Muchas gracias por todos nuestros
“momentos Martínez”.*

*A mis padres
Agradezco profundamente a Dios porque me llena de amor y cariño a
través de ustedes. Gracias a ustedes soy quien soy. Los amo.*

*A Amalia y Rafaela
Con amor y cariño para dos estrellas que llenarán siempre de luz mi
camino.*

*A toda mi familia
Pilar y fuerza de mi vida.*

*A México
¡Por un mejor mañana!*

*Por todas las bendiciones con las que llenas el mundo y por tu infinito
amor este trabajo te lo dedico a ti Señor.*

Índice

Índice de figuras	VII
Índice de tablas	VIII
Abreviaturas	IX
Resumen	1
Abstract	2
Introducción	3
Objetivos e hipótesis	5
Capítulo 1 Conceptos básicos	
1.1 Procesos biológicos anaerobios para el tratamiento de aguas residuales industriales	6
1.1.1 Etapas del proceso anaerobio	9
1.2 La actualidad del hidrógeno y metano como recursos energéticos	11
1.2.1 Hidrógeno	11
1.2.1.1 Métodos convencionales de producción de hidrógeno	11
1.2.2 Metano	15
1.3 El proceso anaerobio como fuente de recursos energéticos	17
1.3.1 Bases bioquímicas de la producción fermentativa de hidrógeno	17
1.3.2 La metanogénesis y sus principales vías metabólicas	21
1.4 Reactores biológicos para el tratamiento de aguas residuales	21
1.4.1 Reactor discontinuo secuencial	22
1.4.2 Reactor anaerobio con lecho de lodos de flujo ascendente	23
Capítulo 2 Antecedentes	
2.1 Producción biológica de hidrógeno y metano	24
2.2 Factores que afectan la producción de hidrógeno y metano	26
2.2.1 Temperatura	27
2.2.2 pH	27
2.2.3 Origen del inóculo	27
2.2.4 Agitación	28
2.2.5 Composición del medio	28
2.2.6 Relación sustrato/microorganismo inicial (S_0/X_0)	28
2.2.7 Pre-tratamiento del inóculo para la producción de hidrógeno	28
2.3 La industria del tequila en México	29
2.4 La problemática de las aguas azules	30

Capítulo 3 Diseño experimental	
3.1 Técnicas analíticas	31
3.1.1 Demanda Química de Oxígeno	31
3.1.2 Ácidos grasos volátiles y solventes	32
3.1.3 Carbono orgánico total	32
3.1.4 Sólidos suspendidos totales y volátiles	32
3.1.5 Medición de la composición de biogás	33
3.2 Selección del consorcio de microorganismos productores de hidrógeno: pre-tratamiento del inóculo	33
3.3 Producción de hidrógeno a partir de la biodegradación de vinazas de la industria tequilera	34
3.3.1 Evaluación de concentraciones bajas de vinazas tequileras	34
3.3.2 Evaluación de concentraciones altas de vinazas tequileras	35
3.4 Producción de metano a partir del efluente de un reactor productor de hidrógeno que trata vinazas tequileras	36
3.4.1 Arranque de operación del reactor para la producción de metano	36
3.4.2 Efluente del reactor productor de hidrógeno como sustrato para la producción de metano	
3.5 Producción de hidrógeno a partir del tratamiento de aguas residuales inhibitorias: aguas azules	38
3.5.1 Evaluación de la producción de hidrógeno con aguas azules	38
3.5.2 Efecto de la concentración de aguas azules en la producción de hidrógeno	38
Capítulo 4 Resultados	
4.1 Producción de hidrógeno a partir de la biodegradación de vinazas de la industria tequilera	40
4.2 Producción de metano a partir del efluente de un reactor productor de hidrógeno que trata vinazas tequileras	43
4.2.1 Caracterización del efluente del reactor productor de hidrógeno	43
4.2.2 Efecto de la concentración del efluente del reactor fermentativo productor de hidrógeno en la producción de metano	47
4.2.3 Efecto del efluente del reactor productor de hidrógeno en la remoción de materia orgánica	45
4.3 Producción de hidrógeno a partir del tratamiento de aguas residuales inhibitorias: aguas azules	46
Capítulo 5 Conclusiones	57
Bibliografía	51
Anexos	57

Índice de figuras

Fig. 1	Esquema general del proceso anaerobio de degradación de la materia orgánica.	10
Fig. 2	Porcentaje de uso de tecnologías para la producción de hidrógeno, adaptado de Kothari <i>et al.</i> 2008.	14
Fig. 3	Demanda nacional de gas natural por sector (miles millones de pies cúbicos diarios). Gráfico modificado del documento de prospectiva del mercado de gas natural 2006-2015.	16
Fig. 4	Vías metabólicas empleadas por bacterias del género <i>Clostridium</i> para la conversión de carbohidratos a hidrógeno, dióxido de carbono, ácidos orgánicos y solventes. Adaptado de Valdez-Vazquez and Poggi-Varaldo 2009.	19
Fig. 6	Esquema de tratamiento anaerobio de aguas residuales en dos fases, método secuencial de obtención de hidrógeno y metano.	26
Fig. 7	Montaje experimental empleado para evaluar la producción de hidrógeno a partir de concentraciones bajas de vinazas tequileras.	34
Fig. 8	Montaje experimental empleado para evaluar la producción de hidrógeno a partir de altas concentraciones de vinazas tequileras.	35
Fig. 9	Montaje experimental del reactor metanogénico.	37
Fig. 10	Tasa volumétrica de producción de hidrógeno y volumen de hidrógeno producido, ante bajas concentraciones de vinazas tequileras.	40
Fig. 11	Cinética de producción de hidrógeno empleando una concentración de vinazas de 500 mgDQO/L.	41
Fig. 12	Tasa volumétrica de producción de hidrógeno y volumen de hidrógeno producido, ante altas concentraciones de vinazas tequileras.	42
Fig. 13	Resultado de la operación del reactor metanogénico durante 50 días.	44
Fig. 14	Evolución de la tasa volumétrica de producción de metano y su porcentaje en el biogás.	44
Fig. 15	Cinéticas de producción de biogás a partir de diferentes concentraciones de aguas azules.	46
Fig. 16	Cinéticas de producción de hidrógeno a partir de diferentes concentraciones de aguas azules.	47

Índice de tablas

Tabla 1.	Ventajas y desventajas de un sistema de tratamiento anaerobio respecto a un aerobio.	8
Tabla 2.	Principales reacciones durante la fermentación de la glucosa.	20
Tabla 3.	Producción específica de hidrógeno alcanzada con cada condición evaluada.	41
Tabla 4.	Resultados de la caracterización del efluente del reactor fermentativo.	43
Tabla 5.	Resultados de productividad de metano y eficiencia de remoción de DQO en el reactor metanogénico.	45
Tabla 6.	Producción acumulada de hidrógeno y porcentaje de hidrógeno para cada concentración de aguas azules evaluada.	48

Abreviaturas

AGV: Ácidos grasos volátiles

COT: Carbono orgánico total

DBO: Demanda bioquímica de oxígeno

DQO: Demanda química de oxígeno

SABiA: Sistema automático para la biodegradabilidad anaerobia

SBR: Reactor discontinuo secuencial

SSV: Sólidos suspendidos volátiles

SSF: Sólidos suspendidos fijos

SST: Sólidos suspendidos totales

TRH: Tiempo de retención hidráulica

UASB: Reactor anaerobio con lecho de lodos de flujo ascendente

TVPH: Tasa volumétrica de producción de hidrógeno

TVPM: Tasa volumétrica de producción de metano

Resumen

Evaluación de la generación de fuentes renovables de energía (hidrógeno y metano), subproducto del tratamiento biológico de aguas residuales industriales

Palabras clave: hidrógeno, metano, aguas residuales, vinazas tequileras, aguas azules.

El hidrógeno se considera una fuente de energía alternativa de múltiples ventajas, ya que cuenta con un alto poder calorífico y de su combustión únicamente se obtiene agua. El metano por su parte es el principal constituyente del gas natural, energético de gran valor a nivel internacional que cuenta con redes de distribución y comercialización bien establecidas. El hidrógeno y el metano pueden ser producidos biológicamente a partir de residuos, por lo que representan importantes alternativas como fuentes de energía. Se evaluó la producción biológica de hidrógeno durante el tratamiento de aguas residuales con altas cargas orgánicas: vinazas de la industria tequilera y aguas azules. Las vinazas tequileras cuentan con una composición compleja y representan una problemática ambiental por sus características de descarga. Las aguas azules, generadas en los baños públicos de diversos medios de transporte son difíciles de tratar cuando se emplea un tratamiento biológico ya que contienen compuestos inhibitorios de la actividad microbiana. Se realizaron pruebas para determinar la influencia de la concentración del sustrato en la producción de hidrógeno empleando un cultivo mixto de microorganismos. Bajo las condiciones experimentadas, se logró una muy buena producción de hidrógeno ($1.37 \text{ LH}_2/\text{L}\cdot\text{d}$) a partir del tratamiento de aguas residuales de la industria tequilera. Posteriormente, se implementó un tren de tratamiento novedoso en el cual se sometió a digestión anaerobia al efluente del reactor productor de hidrógeno que utilizó vinazas tequileras como sustrato. Se diseñó, construyó y operó un reactor anaerobio con lecho de lodos de flujo ascendente. Se eligió como inóculo un lodo granular anaerobio para degradar la materia orgánica remanente (ácidos grasos volátiles) generada en la etapa de obtención de hidrógeno y para producir gas metano útil como combustible. La producción de metano fue buena ($0.187 \text{ LCH}_4/\text{L}\cdot\text{d}$) y se lograron eficiencias de remoción de materia orgánica de hasta un 67%, estableciendo la factibilidad de un tren de tratamiento completo para aguas residuales de composición compleja como lo son las vinazas tequileras obteniendo a la vez dos energéticos de alto valor agregado como lo son el hidrógeno y el metano. Se demostró que es factible la producción de hidrógeno a partir de las aguas azules, a pesar de su carácter inhibitorio. Bajo las mejores condiciones se obtuvieron 0.14 mmol de hidrógeno con un porcentaje máximo de hidrógeno en el biogás del 17%.

Abstract

Evaluation of the generation of renewable energy sources (hydrogen and methane), as byproduct of biological treatment of industrial wastewater

Key words: hydrogen, methane, industrial wastewater, tequila vinasses, blue waters.

Hydrogen is considered an energy source with multiple advantages, since it has high calorific capacity and the fact that as result of its use it only produces steam as residue. Methane is the main constituent of natural gas and has as advantages international well-established networks for distribution and marketing. Hydrogen and methane can be produced biologically from waste, and thus represent important renewable sources of energy. We evaluated the biological production of hydrogen as a product of treatment of different wastewaters with high organic loads: tequila's industry vinasses and blue waters. Vinasses are complex waste and represent an environmental problem by their discharge characteristics. Blue waters are generated in public baths of various transport mediums and for them is particularly difficult to apply a biological treatment as they contain inhibitory compounds for microbial activity. Tests were conducted to determine the influence of substrate concentration on hydrogen production using a mixed culture of microorganisms. Under the best conditions very good production of hydrogen (1.37 L_{H₂}/L·d) from wastewater treatment of the tequila industry was achieved. Subsequently, an innovative treatment train was implemented in which the effluent of the hydrogen producing reactor in which the vinasses was used as substrate was subjected to anaerobic digestion. We designed, built and operated an up flow anaerobic sludge blanket reactor. The inoculum were selected from an anaerobic granular sludge to degrade the remaining organic matter (volatile fatty acids, generated in the process of obtaining hydrogen) to produce methane gas as a useful fuel. Methane production was very good (0.187 LCH₄/L·d) and also a high removal efficiency of organic matter was achieved (near to 67%). This was useful to establish the feasibility of a complete treatment train of wastewater with complex composition (tequila vinasses), at once obtaining two high-value-added fuels as hydrogen and methane. It was demonstrated the feasibility of hydrogen production from blue water, despite its inhibitory nature. Under the best conditions 0.14 mmol of hydrogen were obtained with a maximum composition of hydrogen in the biogas of 17%.

Introducción

Ante la actual demanda energética, es necesario plantear el uso de nuevas fuentes de energía que puedan ser obtenidas sin afectar el equilibrio ambiental y que contribuyan a mejorar la calidad de vida de la sociedad en general. En este aspecto, este trabajo propone una aplicación tecnológica que aborda dos serias problemáticas en México: la contaminación de los cuerpos de agua debido a la descarga de desechos industriales y la situación de escasez actual de los combustibles fósiles, los cuales constituyen la principal fuente de energía en nuestros días.

El problema de las aguas residuales trasciende a términos relevantes en nuestro país debido a la falta de cumplimiento de las normas por parte de empresas que vierten sus desechos en ríos y lagunas, muchas veces sin tratamiento previo. Lo anterior contribuye al deterioro ambiental y de la salud de poblaciones que se surten de este recurso en estas fuentes. Según cifras de la Comisión Nacional del Agua (CONAGUA) reportadas en el informe "Estadísticas del Agua en México 2010", en el 2008 se generaron cerca de 6 mil millones de metros cúbicos de agua residual proveniente de usos no municipales incluyendo industrias, de los cuales se trataron menos del 20%, lo que nos da una idea de la problemática presente. En este trabajo se plantea el uso de los procesos biológicos de tratamiento de efluentes industriales con alto contenido de materia orgánica de tal manera que se puedan obtener recursos energéticos de alto valor agregado como lo son el hidrógeno y el metano.

El hidrógeno es una fuente de energía alternativa con grandes ventajas ya que no solo es un combustible que puede ser empleado en motores para generar energía mecánica y térmica, obteniendo un alto rendimiento energético (122 kJ/g)(Renet *et al.* 2010), sino que además, puede generar electricidad al ser sometido a oxidación indirecta en celdas de combustible (Lin *et al.* 2007), resultando de estas reacciones únicamente vapor de agua, lo cual contribuye a la disminución de la emisión de gases nocivos al medio ambiente.

Por su parte, el metano es ampliamente utilizado como energético ya que es el componente principal del gas natural. El metano, junto con el dióxido de carbono, representa el producto final del proceso anaerobio, en el cual la materia orgánica es degradada por un conjunto de microorganismos al no existir oxígeno en el medio (Metcalf and Eddy, 2003).

Por otro lado, el hidrógeno en estado puro no está presente en la naturaleza, pero existe asociado a otras estructuras por lo que debe ser obtenido o generado a partir de ciertos métodos y de diversas tecnologías.

Actualmente, la mayor cantidad de hidrógeno es producida a partir de combustibles fósiles, una fuente limitada y contaminante, y a través de procesos de obtención que requieren generalmente de grandes aportaciones de energía (Valdez-Vazquez and Poggi-Varaldo 2009).

Durante los procesos biológicos anaerobios ciertas bacterias tienen la capacidad de producir hidrógeno ya que es un elemento intermediario en algunas rutas del metabolismo microbiano, principalmente de la fermentación (Gómez *et al.* 2009)

Se sabe que es posible obtener hidrógeno en cantidades significativas a partir de la fermentación de sustratos fácilmente degradables como la glucosa y otros de mayor complejidad como la celulosa o diversos tipos de desechos (Baghchehsaraee *et al.* 2008).

En ese sentido, este trabajo aborda un esquema innovador de tratamiento de aguas residuales que está adquiriendo importancia dentro de la comunidad científica internacional. La idea es implementar un tren de tratamiento que provea en un primer paso hidrógeno y en un segundo paso metano de manera secuencial; siendo ambos obtenidos como resultado de la degradación de la materia orgánica. El proceso de acoplar un reactor productor de hidrógeno con un reactor metanogénico, está siendo estudiado con diversidad de sustratos fácilmente degradables mostrando resultados satisfactorios. Sin embargo, es importante determinar su factibilidad con aguas residuales de composición compleja con la finalidad de proponer un método alternativo para la obtención de energía y el aprovechamiento de residuos (Zhu *et al.* 2008).

Es por ello que esta investigación enfrenta el reto de encontrar la factibilidad de producir hidrógeno y metano a partir de sustratos complejos, como lo son las vinazas de la industria tequilera y las aguas azules, que pueden llegar a presentar características inhibitorias ante la actividad microbiana.

Objetivos e hipótesis

Objetivo general

Evaluar un método para la generación de hidrógeno y metano a través del tratamiento biológico de diversos tipos de aguas residuales industriales.

Objetivos particulares

- Determinar la factibilidad de la producción de hidrógeno empleando aguas residuales de la industria tequilera.
- Evaluar el efecto de la concentración de vinazas tequileras en la producción de hidrógeno.
- Determinar la factibilidad de producción de metano a partir del efluente del reactor que produce hidrógeno que trata vinazas de la industria tequilera.
- Evaluar el efecto de la concentración del efluente del reactor productor de hidrógeno sobre la producción de metano.
- Determinar la factibilidad de emplear aguas azules como sustrato para la producción biológica de hidrógeno.
- Evaluar el efecto de la concentración de aguas azules en la producción de hidrógeno.

Hipótesis

Bajo determinadas condiciones de operación (tiempo de retención hidráulica, pH y concentración de materia orgánica) es factible obtener hidrógeno a partir de aguas residuales complejas como las vinazas tequileras y las aguas azules. Por medio de la adaptación de lodos granulares anaerobios es posible obtener metano y reducir el contenido de materia orgánica de un efluente procedente de un fermentador que trata vinazas tequileras.

Capítulo 1

Conceptos básicos

En este capítulo se presenta una revisión bibliográfica acerca de las bases teóricas en que se fundamenta este trabajo de investigación. Además, se busca transmitir el valor y la importancia de los métodos de tratamiento anaerobios de aguas residuales y las ventajas de su aplicación en aguas residuales de composición compleja. Por otro lado, se brinda un bosquejo del mecanismo metabólico a través del cual los microorganismos son capaces de producir hidrógeno y metano. Con este primer capítulo se busca establecer la factibilidad de los procesos biológicos como una alternativa de producción de energéticos a partir de materia prima renovable como es el caso de las aguas residuales.

1.1 Procesos biológicos anaerobios para el tratamiento de aguas residuales industriales

Los procesos biológicos para tratamiento de aguas residuales tienen por objeto transformar sustancias disueltas y partículas biodegradables presentes en el agua en productos finales aceptables. Mediante este tipo de procesos se busca disminuir la concentración de compuestos orgánicos e inorgánicos indeseables de este vital recurso. Esto es posible gracias a la interacción metabólica existente entre diferentes tipos de microorganismos (principalmente bacterias); llevando a cabo la transformación o eliminación de las sustancias contaminantes.

En el área del tratamiento de aguas residuales, existe una clasificación de los procesos biológicos de acuerdo a la molécula que tomará el papel de aceptor final de electrones en la cadena respiratoria. Esta característica depende de las condiciones ambientales y operacionales que se requieren para el proceso. Cuando el oxígeno se encuentra disponible en el medio, funge como aceptor y el proceso se conoce como aerobio. En caso contrario, se habla de un proceso anaerobio (Metcalf and Eddy, 2003).

La degradación de la materia orgánica por la vía anaerobia constituye un proceso conocido desde hace mucho tiempo y en las últimas décadas ha tomado gran importancia como una opción para el tratamiento de desechos orgánicos industriales (Craig, 2009). Las principales aplicaciones de este proceso se centran en el tratamiento de lodos de desecho, de desechos orgánicos difíciles de biodegradar y de aguas residuales industriales ya que han demostrado ser efectivos en estos casos.

Es importante mencionar que aunque actualmente existen plantas de tratamiento eficientes que se basan en procesos aerobios, estos cuentan con algunas problemáticas como su alta demanda energética para solventar la aireación, los reactores suelen ser muy grandes, no son capaces de soportar cargas orgánicas elevadas y finalmente, las altas tasas de replicación de los microorganismos aerobios conllevan a una generación excesiva de lodos, los cuales constituyen un residuo y requieren un método de disposición final. Los sistemas de tratamiento anaerobios, por su parte, presentan ahorros energéticos, así como ahorro en cuanto a adición de nutrientes y volúmenes de reactor. Debido a las bajas tasas de replicación en procesos anaerobios, la generación de lodos es muy baja (Metcalf and Eddy, 2003). Además, este tipo de procesos pueden preceder a un sistema aerobio, de tal manera que se remueva una cantidad considerable de materia orgánica en un primer paso y se reduzca la cantidad de lodos generados en el sistema aerobio (Wood 2008).

Debido a estos factores, los procesos anaerobios son usados ampliamente y cuentan con gran aceptación a nivel mundial (Rao et al. 2010). En diferentes países como Alemania, España e Italia estos procesos son aplicados a gran escala debido a ventajas como la baja producción de biomasa (lodos) y el ahorro energético, debido a que no se requiere un sistema de aireación. Pero dentro de todas las ventajas que los caracterizan, una razón muy importante para promover el uso de procesos anaerobios para tratar aguas residuales se centra en el hecho de que puede recuperarse energía útil en forma de biogás (El-Mashad and Zhang 2010). El biogás está constituido principalmente por metano (CH_4), en una proporción del 40 hasta un 70%, dióxido de carbono (CO_2) (Duc and Wattanavichien 2007)(Oslaj et al. 2010) y trazas de otros gases como nitrógeno (N_2) y ácido sulfhídrico (H_2S) (Rasi et al. 2007). En diversos países, entre los que destacan, España (Bruno et al. 2009), la India (Rao et al. 2010), Alemania (Poeschl et al. 2010), Dinamarca (Raven and Gregersen 2007) y Canadá (White et al. 2011) entre muchos otros, la producción de energía eléctrica a través de biogás ha alcanzado niveles que la ubican como una fuente de energía de alto potencial, al mismo tiempo que se reconoce su capacidad como un recurso renovable; resultando ambiental y económicamente favorable (Cornejo and Wilkie 2010). A manera de comparación, en la tabla 1 se presenta el listado de ventajas y desventajas que ofrece un proceso anaerobio respecto a un proceso aerobio para el tratamiento de aguas residuales. En cuestión energética, los procesos anaerobios son una gran alternativa. Al no requerir aireación, no solo se reduce el consumo de energía eléctrica (cuyo sistema de producción está basado en el uso de combustibles fósiles y al no depender de ella, se lograría obtener un impacto ambiental positivo); sino que además, al desarrollar un proceso robusto basado en esta vía metabólica, se lograría solventar las necesidades energéticas del sistema de tratamiento mismo por medio del biogás.

Tabla 1. Ventajas y desventajas de un sistema de tratamiento anaerobio respecto a un aerobio (Metcalf and Eddy, 2003).

Ventajas	Desventajas
✓ Ahorro energético, económico y de espacio al no requerir sistemas de aireación	
✓ Menor generación de lodos debido al bajo coeficiente de producción de biomasa	❖ Requiere de mayores tiempos de retención hidráulica
✓ Menor requerimiento de nutrientes	❖ La operación puede ser difícil debido a su sensibilidad ante cargas de choque
✓ Puede soportar altas cargas orgánicas	
✓ Producción de hidrógeno y metano, gases útiles como combustibles	

Por encima de las desventajas presentadas anteriormente (que son principalmente de carácter operacional) y como principal aliciente para la aplicación de los procesos anaerobios, se encuentra la obtención de biogás, el cual podría solventarla energía necesaria para llevar a cabo el control de temperatura, pH y agitación en los reactores. De esta manera los procesos anaerobios se convierten en sistemas “autosustentables” y capaces de proveer fuentes de energía a grandes niveles. En este sentido, la transformación en biogás de las moléculas orgánicas complejas presentes en la mayoría de las aguas residuales requiere la intervención de un número variado de microorganismos, cuya interacción permite el desarrollo del metabolismo a través de una serie de etapas que se describirán a continuación:

1.1.1 Etapas del proceso anaerobio

a) Hidrólisis. Constituye el primer paso de degradación de la materia orgánica. En esta fase del metabolismo, las partículas y moléculas orgánicas complejas se convierten en compuestos disueltos de bajo peso molecular. Este proceso requiere de la intervención de exo-enzimas excretadas por bacterias fermentativas. Las proteínas son degradadas como poli-péptidos y aminoácidos, los carbohidratos son transformados en azúcar soluble y los lípidos son convertidos en largas cadenas de ácidos grasos y glicerina (Cervantes *et al.* 2006). Se puede decir que la hidrólisis es de carácter fundamental en el desarrollo de todo el proceso anaerobio ya que juega un papel limitante en la tasa de conversión de sustancias orgánicas.

b) Acidogénesis. Los compuestos disueltos generados en la etapa de hidrólisis, son usados por cierto grupo de microorganismos; en su mayoría anaerobios obligados, quienes los transforman en compuestos orgánicos simples como ácidos grasos volátiles (AGV's), alcoholes y compuestos minerales como dióxido de carbono, hidrógeno (H_2), amoníaco (NH_3), ácido sulfhídrico (H_2S), etc. En esta fase del tratamiento anaerobio también hay presentes algunas bacterias facultativas que degradan el oxígeno disuelto remanente evitando de esta manera la inhibición del proceso fermentativo (Chong *et al.* 2009).

c) Acetogénesis. En este paso se da la transformación de los productos de la acidogénesis, los precursores finales para la generación de metano. Se obtiene acetato, hidrógeno y dióxido de carbono, siendo el primero el generado a mayor escala constituyendo aproximadamente un 70% de la materia orgánica original. El hecho de que se pueda producir hidrógeno como un compuesto altamente reducido quiere decir que se genera en el medio uno altamente oxidado como es el caso del CO_2 (Montes-Monsivais, 2008).

d) Metanogénesis. El último paso de la degradación anaerobia es llevado a cabo por un grupo de microorganismos denominados metanógenos que cuentan con la característica de ser anaerobios estrictos (Ramalho, 2003). Como se mencionó anteriormente, los precursores del metano son principalmente el acetato, el hidrógeno y el dióxido de carbono. Las reacciones en las que se sustenta son las siguientes:



El uso de hidrógeno como precursor de la producción de metano empleando dióxido de carbono como el aceptor final de electrones es la reacción más común en los metanógenos. Los microorganismos que emplean el hidrógeno se denominan hidrogenotróficos y su acción metabólica está gobernada por la primera reacción presentada anteriormente (ecuación 1). En cambio, los organismos encargados de llevar a cabo la transformación del acetato hacia metano y dióxido de carbono (ecuación 2) se denominan metanógenosacetotróficos. Dentro de las principales especies de este tipo se encuentran las bacterias *Methanosarcina* (Archaea, *Methanosarcinaceae*) y *Methanothrix* (Archaea, *Methanosataceae*) (Yadvika *et al.* 2004).

Como se pudo observar, se requieren varias etapas para transformar la materia orgánica mediante un proceso anaerobio. A través de la degradación por esta vía metabólica se pueden transformar compuestos orgánicos como las proteínas, los carbohidratos y los lípidos a través de la acción de diversos grupos de microorganismos siguiendo una ruta como la que se presenta, de manera general, en la figura 1.

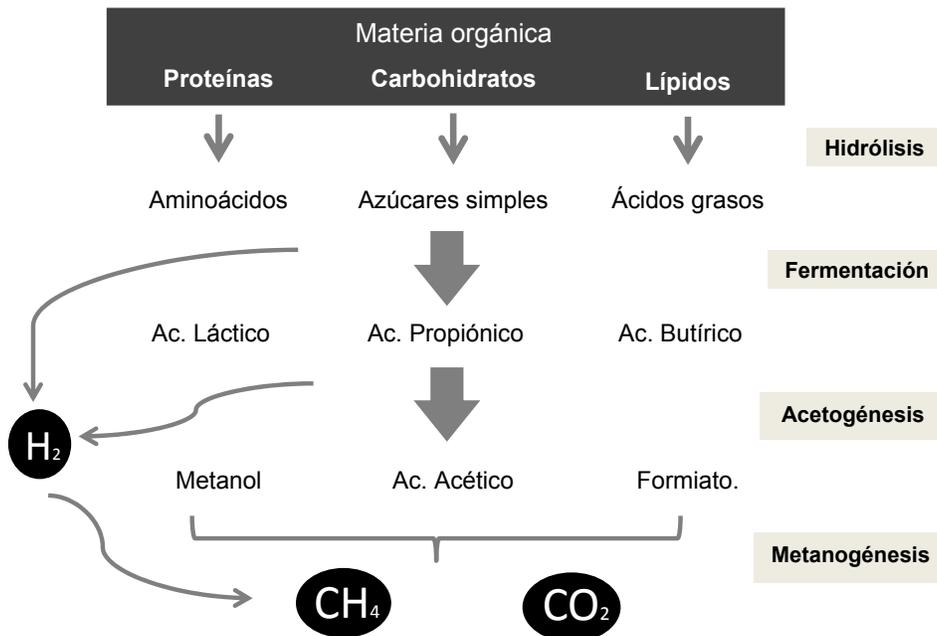


Fig. 1 Esquema general del proceso anaerobio de degradación de la materia orgánica.

Es importante mencionar que durante la generación de AGV's y solventes (etapa de acidogénesis), existe un cambio en la conformación de los compuestos orgánicos; es decir, no se remueve un alto porcentaje de materia orgánica, quedando disuelta en el medio. La reducción del mayor porcentaje de la materia orgánica presente en las aguas residuales se da en la etapa de la metanogénesis. Por ello, para lograr la reducción de la materia contaminante en las aguas residuales se debe llevar a cabo esta etapa; conservando las condiciones de operación necesarias para la metanogénesis al elegir un proceso de tratamiento anaerobio.

1.2 La actualidad del hidrógeno y metano como recursos energéticos

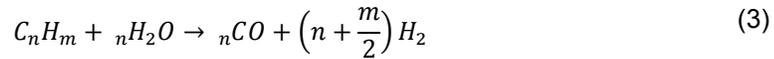
1.2.1 Hidrógeno

A pesar de que el hidrógeno representa un porcentaje alto en la composición del Universo y la materia en la Tierra (al formar parte de las moléculas orgánicas y el agua) (Das and Veziroglu 2001), es muy difícil encontrarlo en forma molecular en la atmósfera. Debido a que el hidrógeno sustenta actualmente toda una industria en el ámbito químico y petroquímico principalmente y a que está aumentando su aplicación en el ámbito energético (Holladay *et al.* 2009) se han desarrollado métodos para obtenerlo indirectamente de otros precursores.

El problema que conllevan las metodologías convencionales de generación de hidrógeno es que muchas de ellas requieren el ingreso de grandes cantidades de energía y se ven acompañadas de la producción de sustancias químicas nocivas para el ambiente o la salud. De manera general, los métodos que existen para la producción de hidrógeno son los que se presentan a continuación:

1.2.1.1 Métodos convencionales de producción de hidrógeno

a) Reformado con vapor de hidrocarburos. Es uno de los procesos más importantes y más usados en nuestros días para la producción de hidrógeno. Este método se sustenta en una reacción endotérmica de dos fases que requiere de temperaturas superiores a los 700 °C y presiones elevadas de hasta 3.5 MPa (Kothari *et al.* 2008). Con este método es posible separar el hidrógeno del carbono presente en hidrocarburos como el metano, propano y butano (Seo *et al.* 2011) y por ende del gas natural y otros compuestos como el metanol y el etanol (Iulianelli *et al.* 2010). En el primer paso, los compuestos orgánicos se descomponen en hidrógeno y monóxido de carbono por medio de una combustión incompleta (ecuación 3). A continuación ocurre una reacción de desplazamiento, en la que se transforman el monóxido de carbono y el vapor de agua en dióxido de carbono e hidrógeno (ecuación 4). Las reacciones en las que se sustenta son las siguientes:



A pesar de que este tipo de procesos puede alcanzar eficiencias energéticas de hasta un 85% (Holladay *et al.* 2009), resulta una problemática ambiental severa, dado que además de requerir el ingreso de una gran cantidad de energía, también se obtiene una gran proporción de CO₂ como producto secundario, contribuyendo a la problemática de incrementar el denominado efecto invernadero y por ende, potenciar el calentamiento global.

b) Electrólisis. En la electrólisis se logra la separación de las moléculas de agua en sus constituyentes gaseosos, hidrógeno y oxígeno a través de una corriente eléctrica. Este método también es considerado como uno de los más factibles para la producción de hidrógeno en miras de la denominada “filosofía del hidrógeno” (Li *et al.* 2009). En la electrólisis, durante el paso de la corriente, se rompen los enlaces químicos entre hidrógeno y oxígeno separándolos, creando partículas cargadas eléctricamente que son atraídas por electrodos. El hidrógeno se ve atraído por el cátodo y el oxígeno va hacia el ánodo, dejando disponibles ambas moléculas. Este proceso puede ser mejorado adicionando un electrolito para incrementar la conductividad del agua, elevando la eficiencia de aprovechamiento de la corriente eléctrica.

c) Electrólisis de vapor. En este método se agrega energía en forma de calor al proceso de la electrólisis, de tal manera que se incrementa la eficiencia del proceso. A 2500°C el agua se descompone en sus constituyentes. Esta técnica está siendo estudiada con gran interés actualmente ya que la energía térmica necesaria puede proveerse a través de un sistema de concentración solar u otros medios como el calor residual de las plantas nucleares, el cual permite elevar la temperatura del agua hasta 1000°C (Hashimoto *et al.* 2009).

d) Ruptura termoquímica de agua. En este proceso se emplean catalizadores y algunos agentes químicos como iodo o bromo acompañados de calor para llevar a cabo la ruptura de la molécula del agua. Este es un proceso complejo que requiere diversos pasos y altas temperaturas que van desde los 750 hasta los 2000 °C dependiendo la fuente de calor (Abanades *et al.* 2006) y por lo tanto necesitan el ingreso de grandes cantidades de energía, que pueden suministrarse a partir de concentradores solares o de reactores nucleares de alta energía.

e) Procesos foto-electroquímicos. En este campo se presentan dos casos. El primero emplea compuestos metálicos solubles como catalizadores, que en solución, absorben energía solar y producen una carga eléctrica que favorece la reacción de ruptura de la molécula de agua. Esta técnica asemeja al proceso natural de la fotosíntesis.

El segundo caso emplea superficies de materiales semiconductores, entre ellos el óxido de titanio (TiO_2), óxido de indio (In_2O_3) y sulfuros de cadmio y cinc (CdS , ZnS). Se emplean celdas electroquímicas, en las que las superficies semiconductoras tienen dos funciones: lleva a cabo la absorción de la radiación solar y funcionan como electrodos, logrando separar las moléculas de agua. Este método presenta dos problemáticas principales, la primera se refiere a la corrosión favorecida por la incidencia de luz solar en los electrodos y la segunda es el insuficiente aprovechamiento del espectro solar de los materiales empleados (Karn and Srivastava 1998).

f) Producción biológica. La producción biológica de hidrógeno se lleva a cabo a través del mecanismo metabólico de diferentes microorganismos. Se conocen diferentes procesos de generación de bio-hidrógeno pero se sabe que todos ellos se basan en las interacciones existentes en el grupo de microorganismos que los llevan a cabo, debido principalmente a que son relaciones que favorecen su supervivencia. Los procesos que existen en este ámbito son los siguientes (Das and Veziroglu 2001):

- i. Bio-fotólisis del agua a partir de algas y cianobacterias.
- ii. Foto-descomposición de compuestos orgánicos por bacterias fotosintéticas.
- iii. Producción fermentativa de hidrógeno a partir de compuestos orgánicos.
- iv. Sistemas híbridos: fotosintético-fermentativo.

En la bio-fotólisis del agua, las algas y algunas cianobacterias, realizan un proceso semejante al de la fotosíntesis ya que logran absorber radiación solar a través de pigmentos y mediante mecanismos enzimáticos se cataliza la separación de las moléculas del agua, ya que cuentan con la adaptación enzimática que permite obtener hidrógeno y no inclinarse por la reducción del CO_2 para obtener carbono como constituyente celular. La foto-descomposición de compuestos orgánicos es un método que está tomando un gran interés en la comunidad científica para llevar a cabo la producción de hidrógeno ya que presenta ventajas como altos rendimientos de conversión, no presenta generación de oxígeno (que puede causar problema en ciertos procesos biológicos), capacidad de usar un gran espectro de la luz y la posibilidad de emplear desperdicios orgánicos.

Por su parte, algunas bacterias pueden producir hidrógeno a través de la fermentación oscura de la materia orgánica. Este es un tema estudiado ampliamente en los últimos años ya que se ha notado la posibilidad de que la fuente de carbono se provea a partir de residuos que contengan materia orgánica, como es el caso de los residuos agroindustriales.

Como podemos observar existen diferentes metodologías de generación de hidrógeno, algunas de las cuales proveen hoy día al sector industrial (principalmente la generación por reformado de hidrocarburos); sin embargo, la aplicación o generalización de un método dependerá de su rentabilidad tanto ambiental como económica para proveer de hidrógeno también al sector energético.

La figura 2 describe un panorama de las técnicas empleadas para la producción de hidrógeno a nivel mundial. Se puede observar que en su mayoría el hidrógeno es obtenido a partir de la transformación de combustibles fósiles y tan solo un 4% de los procesos de electrólisis. He aquí que el proceso biológico surge como una alternativa, dejando de lado la necesidad de emplear petróleo y sus derivados para la producción de hidrógeno.

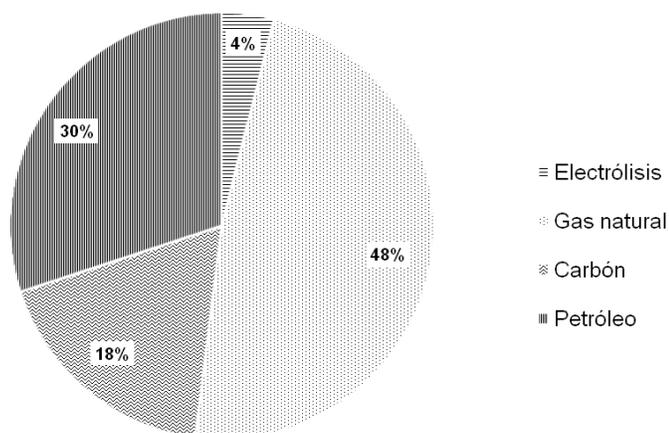


Fig. 2 Porcentaje de uso de tecnologías para la producción de hidrógeno, adaptado de Kothari *et al.* 2008.

1.2.2 Metano

El metano trasciende como recurso energético debido a que es el principal componente del gas natural. El metano constituye hasta un 95% del gas natural, dejando el resto a otros hidrocarburos simples como etano, propano y butano y otros compuestos de mayor peso molecular. Además se pueden encontrar trazas de nitrógeno, dióxido de carbono, ácido sulfhídrico y agua.

En México, el gas natural constituye una fuente de energía ampliamente utilizada. Actualmente se cuenta con toda una infraestructura para su uso ya que se transporta y distribuye hasta la población en general por medio de ductos de acero. Para que un consumidor tenga acceso a este recurso debe interconectarse sus instalaciones al sistema de transporte existente o a una red de distribución cercana (www.gas.pemex.com).

El gas natural se obtiene principalmente como un subproducto en las plantas de gas y refinerías después de la extracción de los productos licuables (gasolina y gas LP); es por ello que el mayor porcentaje de gas natural que se extrae en México entra en la clasificación de gas asociado (www.energia.gob.mx). La distribución y el uso del gas natural es una técnica llevada a cabo desde hace mucho tiempo. En el Reino Unido se comenzó la explotación de este recurso a finales del siglo XIX (Weijermars 2010) y a lo largo del tiempo ha crecido la infraestructura a nivel mundial y por regiones que sostienen una industria energética tanto en Europa como en América.

En un estudio realizado por la Secretaría de Energía (SENER) en el 2006 denominado "Prospectiva del mercado de gas natural 2006-2015", se presenta una caracterización del panorama mundial y nacional del gas natural, un análisis de sus reservas y una estimación de la demanda y la oferta en México. En cuanto a la demanda a nivel nacional se estableció la existencia de una tendencia de incremento en este mercado. En la figura 3 podemos observar la evolución y el desarrollo de este energético en diferentes sectores. Un hecho que vale la pena resaltar es que en una versión antecedente del mismo estudio, realizada por la SENER en 2002, se estipulaba una demanda de cerca de 4 mil millones de pies cúbicos diarios (mmpcd) para el 2005. Sin embargo, en ese año se registró una demanda de alrededor de 5.8 mmpcd; es decir, casi 2 mmpcd por encima de lo estipulado estadísticamente.

Esto nos permite vislumbrar que la demanda puede aumentar a lo largo de los años en contra del comportamiento estipulado este tipo de estudios, estableciendo el hecho de que el gas natural, y por ende el metano, puede ser considerado como uno de los recursos más dinámicos en el sector energético nacional.

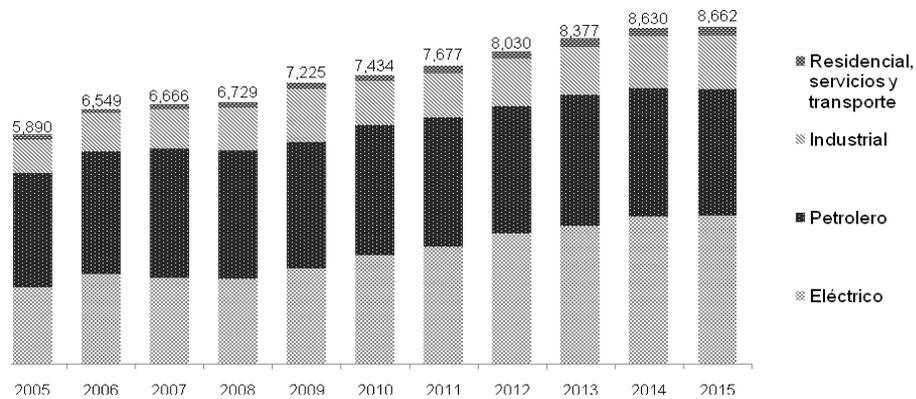


Fig. 3 Demanda nacional de gas natural por sector (miles millones de pies cúbicos diarios). Gráfico modificado del documento de prospectiva del mercado de gas natural 2006-2015.

Por otro lado, el metano (como componente del biogás) se genera como producto de la descomposición de la materia orgánica presente en rellenos sanitarios en forma de residuos sólidos urbanos, así como de desechos animales y también como producto en los sistemas de tratamiento de aguas residuales. El biogás generado en estos procesos, puede llegar a contener concentraciones de hasta el 80% en volumen de metano y su calidad dependerá del origen de los residuos (Fatih Demirbas *et al.* 2011).

El biogás puede ser empleado en máquinas de combustión interna, en donde el calor generado puede emplearse para la recuperación combinada de calor aunada a la producción de energía eléctrica. El intervalo de capacidad de generación de electricidad se encuentra entre decenas de kilowatts (KW) hasta algunos megawatts (MW). Por otro lado, el biogás también puede ser quemado en turbinas de gas, las cuales, en procesos a gran escala y mediante sistemas de ciclos combinados pueden ser económicamente justificables (Demirbas *et al.* 2009).

Según lo estipulado en la “Estrategia Nacional para la Transición Energética y el Aprovechamiento Sustentable de la Energía”, reporte publicado por la SENER en 2011, en México, el biogás cuenta con alto potencial como base del sector energético en cuanto a la producción de energía eléctrica. Sin embargo, el aprovechamiento de este recurso requiere de todos los niveles de gobierno para apoyar el desarrollo y la gestión de sistemas de instrumentación con estos fines.

1.3 El proceso anaerobio como fuente de recursos energéticos

En el apartado anterior se habló de los métodos de generación de hidrógeno y metano y se puntualizó que dentro de las técnicas empleadas actualmente, la biológica es una que surge con gran interés en la investigación científica y aplicada. En este apartado se busca dar una breve semblanza del mecanismo metabólico a partir del cual es posible la producción biológica del hidrógeno y el metano.

1.3.1 Bases bioquímicas de la producción fermentativa de hidrógeno

Desde hace décadas, es bien sabido que el hidrógeno se puede obtener de un proceso anaerobio a partir del uso de microorganismos, pero tiene poco tiempo que el hidrógeno se ha estudiado como un fin y no como un producto intermediario en el metabolismo bacteriano (Hallenbeck 2005).

Como muchos procesos biológicos, la producción fermentativa de hidrógeno está estrechamente ligada a un grupo enzimático: las hidrogenasas. Se sabe que las hidrogenasas son enzimas altamente complejas a pesar de que se encargan de llevar a cabo una de las reacciones químicas más simples: $2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \leftrightarrow \text{H}_2$. La complejidad de la enzima radica en aspectos como su conformación, ya que está constituida por un centro metálico como sitio activo, compuesto por una mezcla de hierro, níquel y en casos particulares silicio. Este centro metálico tiene la característica de ser extremadamente sensible ante el oxígeno, por lo que su exposición ante esta molécula la destruiría irreversiblemente. Además, su síntesis está relacionada con la actividad de otras enzimas a partir de complejos procesos de maduración proteica. Para entender el punto de acción de la hidrogenasa durante la fermentación, se presenta un breve panorama de las vías de degradación anaerobias de moléculas orgánicas.

La producción fermentativa de hidrógeno proviene comúnmente de la degradación anaerobia de los azúcares y dentro de esta, a través del metabolismo del piruvato. Es bien conocido que cada mol de glucosa es convertido en dos moles de piruvato a través de la glucólisis. De manera conjunta, se obtienen dos moles de nicotinamida adenina dinucleótido reducido (NADH) y dos moles de adenosina trifosfato (ATP). A continuación, el piruvato es catabolizado gracias a dos complejos enzimáticos, la piruvatoformatoliasa (PFL) y la piruvatoferredoxinaoxidoreductasa (PFOR) (Mathews and Wang 2009).

En ambos casos, en presencia de la coenzima A, se obtiene acetil-CoA; con la diferencia de que la PFL genera además formiato y en el segundo caso, con la PFOR se obtiene CO_2 y ferredoxina reducida. A partir de este punto se puede obtener hidrógeno dependiendo el grupo enzimático que reaccione.

Si entra en acción el complejo formiato: hidrógenoliasa (FHL) se puede degradar el formiato hasta CO_2 e H_2 . En esta ruta metabólica, se obtienen rendimientos bajos, de uno a dos moles de hidrógeno por mol de piruvato, debido al hecho natural de que la fermentación ha sido optimizada evolutivamente para producir biomasa celular y no hidrógeno. Esta es la causa de que una porción del sustrato se emplee para producir ATP y lo demás para producir acetato, generando un exceso de producto secundario.

El otro tipo de fermentación, que es llevado a cabo por bacterias del género *Clostridium* (Valdez-Vazquez and Poggi-Varaldo 2009), es la que se encarga de degradar el piruvato generando ferredoxina reducida y acetyl-CoA. El acetyl-CoA puede ser transformado en ATP y acetato o butirato dependiendo la enzima que actúe sobre la reacción. De esta manera al generarse ácidos orgánicos, no hay más reacciones de reducción y la ferredoxina reducida emplea los electrones transfiriéndolos a la hidrogenasa que sintetiza el hidrógeno molecular a partir de protones. De esta manera se tiene el material químico necesario para la síntesis de ATP al mismo tiempo se obtienen otros productos, entre los que destacan el etanol, butanol, acetona y acetato que tienen la finalidad de regenerar el nicotinamida adenina dinucleótido (NAD^+) necesario para continuar con la glucólisis. La aparición de cada especie depende de las condiciones ambientales principalmente. Por otra parte, en la vías metabólicas que culminan con la generación de solventes (acetona, etanol y butanol) la producción de hidrógeno es baja o casi nula.

En la figura 4 se muestra un esquema que resume las diferentes rutas metabólicas empleadas por bacterias del género *Clostridium* para producir hidrógeno. Se puede apreciar la transformación de la glucosa por medio de la glucólisis hasta llegar al piruvato, a partir del cual se llevan a cabo las reacciones enzimáticas descritas anteriormente y que permiten el uso de los electrones libres de la oxidación para sintetizar hidrógeno. Es importante mencionar que, aunque se conocen varios géneros de bacterias que tienen la capacidad de fermentar los compuestos orgánicos y producir hidrógeno, tales como *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Bacillus*, *Citrobacter* o *Escherichia* (Cheng *et al.* 2008); las bacterias del género *Clostridium* han demostrado ser el género predominante en la producción fermentativa de hidrógeno (Zhang *et al.* 2006).

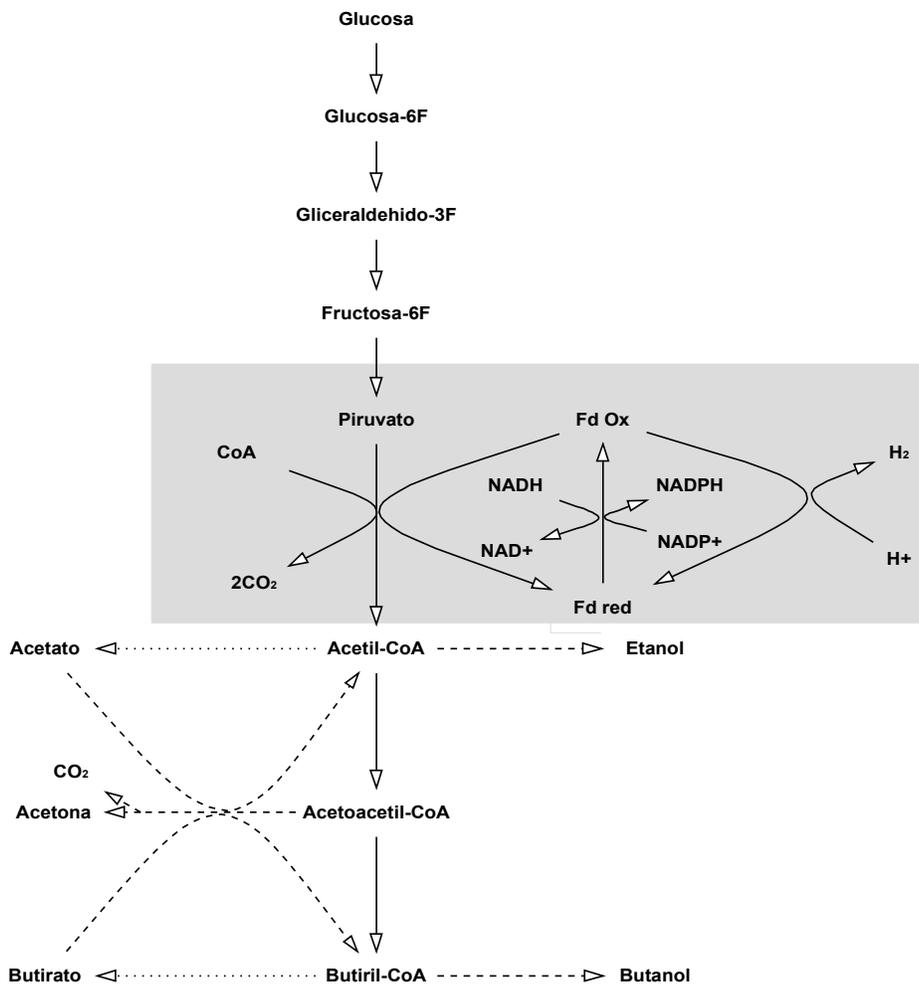
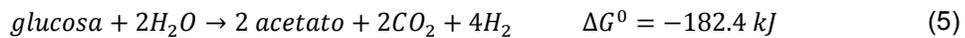


Fig. 4 Vías metabólicas empleadas por bacterias del género *Clostridium* para la conversión de carbohidratos a hidrógeno, dióxido de carbono, ácidos orgánicos y solventes. Adaptado de Valdez-Vazquez and Poggi-Varaldo 2009.

Dos de las reacciones más importantes para la generación de hidrógeno por medio de bacterias del género *Clostridium* son las presentadas a continuación:



Como se puede apreciar, el rendimiento de la producción de hidrógeno es mayor durante la producción de acetato (ecuación 5) que al obtener butirato como producto secundario (ecuación 6); sin embargo, muchas veces ambas se interrelacionan y se dan paralelamente, en parte debido a su carácter exergónico establecido por su cambio en la energía libre de Gibbs. La razón de que la fermentación acetogénica presente mayor rendimiento se debe a la acción de la NADH:ferredoxinaoxidorreductasa, la cual recicla el NAD⁺ produciendo ferredoxina reducida que lleva a cabo el transporte de electrones para la producción del hidrógeno adicional. En teoría, cuatro moles de hidrógeno por mol de glucosa es el límite máximo de producción de hidrógeno (resultado de la reacción acetogénica) a través de la fermentación que produce ATP. A este límite se le conoce también como el “Límite de Thauer” (Hallenbeck 2005).

Es necesario mencionar que existen otras fermentaciones conocidas, llevadas a cabo por bacterias de género *Clostridium*, que no necesariamente ofrecen buenos rendimientos de hidrógeno y son entre otros las que producen propionato, succinato y lactato como subproductos.

En la tabla 2 se muestra un resumen de las reacciones más comunes durante la fermentación y la aparición del hidrógeno en cada una de ellas.

Tabla 2 Principales reacciones durante la fermentación de la glucosa. Adaptado de Montes-Moncivais, 2008.

Reacción	Proceso
$C_6H_{12}O_6 + 2H_2O \rightarrow 2CH_3COOH + 2CO_2 + 4H_2$	Producción de ácido acético
$C_6H_{12}O_6 \rightarrow CH_3CH_2CH_2COOH + 2CO_2 + 2H_2$	Producción de ácido butírico
$CH_3CH_2CH_2COOH + 2H_2O \rightarrow 2CH_3COOH + 2H_2$	Consumo de butirato
$CH_3CH_2COOH + 2H_2O \rightarrow CH_3COOH + 3H_2 + CO_2$	Consumo de propionato
$CH_3CHOHCOOH + H_2O \rightarrow CH_3COOH + CO_2 + 2H_2$	Oxidación de lactato
$C_6H_{12}O_6 + 2H_2 \rightarrow 2CH_3CH_2COOH + 2H_2O$	Producción de ácido propiónico
$CH_3CHOHCOOH + H_2 \rightarrow CH_3CH_2COOH + H_2O$	Reducción de lactato
$4H_2 + 2CO_2 \rightarrow CH_3COOH + 2H_2O$	Consumo de hidrógeno
$4H_2 + CO_2 \rightarrow CH_4 + 2H_2O$	Metanogénesis

Como se puede observar, las reacciones a partir de las cuales se genera hidrógeno y las vías metabólicas involucradas son muy diversas; sin embargo, en la práctica es necesario mantener controladas las condiciones de temperatura, pH, agitación etc. para lograr los mejores rendimientos y que de esta manera sea redituable la conversión de material orgánico en hidrógeno.

1.3.2 La metanogénesis y sus principales vías metabólicas

El metabolismo anaerobio es un mecanismo de respiración de gran interés ya que representa un logro en cuestiones de adaptación biológica y supervivencia, al mismo tiempo que presenta una elevada diversidad. Al no existir oxígeno molecular en el medio en que se desarrolla el proceso de respiración, se pueden emplear otros aceptores de electrones para concluir ya sea el aprovechamiento de energía o la asimilación como aporte nutricional. Moléculas basadas en iones como el sulfato (SO_4^{2-}), nitrato (NO_3^-), nitrito (NO_2^-), hierro (Fe^{3+}) y el dióxido de carbono (CO_2) funcionan como aceptores en las vías anaerobias (Madigan et al, 2004). Por su parte, la producción biológica de metano es llevada a cabo por un grupo de bacterias arqueas anaerobias estrictas: las bacterias metanogénicas o metanógenos. La metanogénesis se lleva a cabo a través de dos vías principales: reducción de CO_2 a CH_4 y a partir de compuestos metilados y acetato. Es importante señalar que la respiración por vías anaerobias se lleva a cabo a través de una serie de reacciones con intervención de coenzimas especiales de complejidad sorprendente. Para el primer caso de las rutas de producción de metano, el CO_2 se reduce empleando electrones provenientes del hidrógeno molecular (principalmente), aunque también pueden provenir de la oxidación de compuestos orgánicos como alcoholes, formiato e incluso monóxido de carbono. Algunas enzimas que actúan en este mecanismo son el metanofurano, que interviene en la reducción inicial del CO_2 a grupos formilo, la metanopterina, que lleva a cabo la transformación molecular de los grupos formilo a grupos metilo y la coenzima M, la cual, interacciona con los grupos metilo y es reducida hasta formar metano. La producción de metano puede darse también a partir de compuestos metilados y de acetato; proceso apoyado en grupos de proteínas variados y de vías de degradación como la de la acetil-CoA, que se especializa en proveer material para generación y biosíntesis celular. Finalmente, es importante tomar en cuenta que a pesar de que este proceso brinda menor energía que la oxidación en presencia de oxígeno, constituye un método de supervivencia para los microorganismos en ambientes anaerobios. Parte de esta energía es almacenada en el biogás y es aquí donde radica la importancia práctica del proceso anaerobio, al obtener este recurso energético a partir del metabolismo microbiano.

1.4 Reactores biológicos para el tratamiento de aguas residuales

Para llevar a cabo el tratamiento biológico de aguas residuales es necesario el uso de tanques que permitan a los microorganismos entrar en contacto con el sustrato que deberán degradar y les brinden las mejores condiciones para su supervivencia. Existen diversas configuraciones de reactores empleados para procesos biológicos. En esta sección se discuten los principios de operación y características de los reactores discontinuos secuenciales, configuración primordial mantenida en las pruebas llevadas a cabo durante en este trabajo de investigación.

1.4.1 Reactor discontinuo secuencial

Un reactor discontinuo secuencial; SBR por sus siglas en inglés (*Sequencing Batch Reactor*), es una tecnología empleada en el tratamiento de aguas residuales que se caracteriza primordialmente por que el volumen dentro del reactor es variable en el tiempo (Buitrón et al, 2005). Este tipo de reactores plantea una propuesta ante los sistemas de tratamiento convencionales debido a las diversas ventajas que presenta, lo que ha conllevado un auge en su estudio y aplicación actual. Entre algunas de ellas destaca que los reactores SBR presentan bajos costos de construcción en plantas a gran escala, ahorros energéticos y de espacio al no requerir tanques extras para clarificación y sedimentación, ya que estas operaciones suceden en el mismo tanque (Cheong and Hansen 2008) y además se han aplicado con resultados exitosos para tratar influentes de diversos tipos (domésticos, lixiviados, contaminantes orgánicos específicos, etc.) (Mohan et al. 2007) y aguas industriales de composición compleja (Arooj et al. 2008).

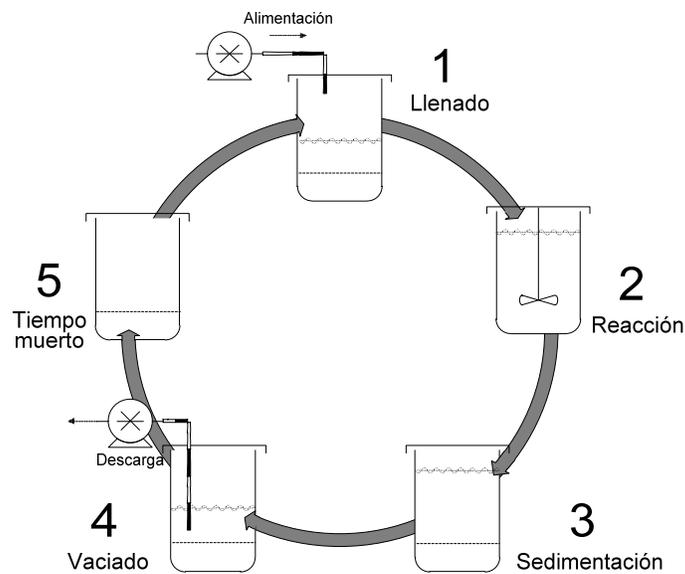


Fig. 5 Esquema de las etapas de un reactor discontinuo secuencial.

La ventaja de este tipo de tecnologías es que permite controlar los tiempos de cada etapa dentro del proceso de tratamiento, por lo que se denomina un proceso discontinuo orientado en el tiempo. El proceso SBR cuenta con cinco etapas: alimentación, reacción, sedimentación, vaciado y tiempo muerto (Timur and Ízturk 1999). En la figura 5 se puede apreciar un esquema que detalla el modo de operación de un reactor SBR.

Esta metodología de operación hace posible crear las condiciones más propicias para el establecimiento y la permanencia de cierto grupo o especie de microorganismos dentro del reactor. De esta manera es posible especializar un consorcio a un sustrato en particular a través de la presión de selección ocasionada por las características de operación del reactor (Buitrón *et al.* 2005). Esto es importante para nuestro estudio ya que de esta manera se beneficia la producción de hidrógeno al enriquecer el reactor con bacterias productoras de hidrógeno a través del establecimiento de tiempos de retención hidráulica que permitan eliminar a las bacterias que compiten con la producción de hidrógeno del reactor, al mismo tiempo que se busca adaptarlas al sustrato alimentado, en este caso, un efluente industrial de composición compleja.

1.4.2 Reactor anaerobio con lecho de lodos de flujo ascendente

Un reactor anaerobio con lecho de lodos de flujo ascendente; UASB por sus siglas en inglés (Upflow Anaerobic Sludge Blanket) es una configuración de reactores biológicos ampliamente estudiada para llevar a cabo el tratamiento anaerobio de muchos tipos de aguas residuales como las de la industria de alimentos, de bebidas, la azucarera, las provenientes de destilerías, la industria química y petroquímica, farmacéutica y de desechos municipales (Singh *et al.* 1997). El uso de este reactor ha sobresalido debido a características como la alta calidad del efluente y al relativo bajo costo del tratamiento de aguas residuales de baja y mediana carga orgánica.

El reactor está conformado por tres secciones principales: una cama de lodos en la parte baja, un separador de fases (gas-líquido-sólido) y un sistema hidráulico completo para llevar a cabo la distribución de la alimentación y la descarga del efluente. En este sentido, la alimentación se provee por la parte inferior, logrando con ello la expansión de la cama de lodos hasta la parte superior. En esta zona, el separador de fases actúa como sedimentador evitando pérdida de lodos y favorece la salida del biogás (Singh *et al.* 1997).

Un hecho importante por el que se ha extendido el uso de los reactores UASB a gran escala, es que brinda características muy favorables para la granulación del lodo anaerobio. La granulación es el proceso de inmovilización de biomasa en agregados celulares; a partir del cual, se crean interrelaciones entre microorganismos que brinda a los gránulos una alta actividad de degradación, así como se permite la permanencia del lodo en el reactor al aumentar su sedimentabilidad (Kosaric *et al.* 1990).

Capítulo 2

Antecedentes

En este capítulo, inicialmente se presentará un método innovador que se ha planteado para la valoración de residuos en el ámbito del tratamiento de aguas residuales, a partir del cual, un efluente con alta carga orgánica, puede ser empleado para la producción secuencial de hidrógeno y metano. También se hablará de las características que influyen en el desarrollo de este proceso biológico y el control al que deben ser sometidas para lograr resultados satisfactorios. Finalmente, se conceptualiza la problemática que generan las aguas residuales evaluadas en el presente estudio y la importancia de encontrar métodos de tratamiento para efluentes de composición compleja, buscando obtener recursos energéticos de alto valor agregado.

2.1 Producción biológica de hidrógeno y metano

Actualmente se ha planteado un método para tratar los residuos generados de procesos agroindustriales integrando dos fases del proceso anaerobio: la fermentación y la metanogénesis (Benemann 1996). El esquema se fundamenta en la obtención de recursos energéticos como lo son el hidrógeno y el metano; subproductos de la actividad microbiana, al tiempo que se cumple con la normatividad gubernamental para la descarga de las aguas en cuerpos receptores. Es por ello que la degradación anaerobia ha sido ampliamente reconocida como el núcleo del manejo sostenible de desechos (Hammes *et al.* 2000).

La idea se centra en la búsqueda de una solución para un problema que surge del proceso de la producción fermentativa de hidrógeno. Este problema radica en que al finalizar la generación de hidrógeno, gran parte de la fracción orgánica del sustrato alimentado permanece de manera soluble en el agua como productos de la fermentación. Es por ello que una etapa complementaria es necesaria para la eliminación de la DQO. Por otro lado, es bien sabido que los AGV's formados durante la acidogénesis constituyen algunos de los precursores de la metanogénesis (Venetsaneas *et al.* 2009).

Es por ello que se ha estudiado en los últimos años un proceso que acople eficientemente de manera secuencial la digestión anaerobia, en la que los compuestos orgánicos remanentes de la fermentación sean convertidos a biogás, teniendo a disposición otro combustible con alto valor agregado, si es que la materia orgánica proviene de residuos orgánicos.

La manera en que se ha trabajado este sistema es a través de la separación de las fases del proceso anaerobio en dos reactores diferentes, con la finalidad de optimizar el crecimiento de cada tipo de consorcio. En el primer reactor se trabaja buscando el crecimiento de bacterias acetogénicas principalmente mediante el manejo de pH ácido (entre 5 y 6) y valores bajos de TRH. Para la segunda etapa se requiere preservar valores de pH neutros y TRH más altos, con la finalidad de favorecer el crecimiento de las bacterias metanogénica (Cooney *et al.* 2007).

Diferentes escritos detallan la producción de hidrógeno y metano en dos fases. Venetsaneas *et al.* (2009), trabajaron con suero de queso en un sistema de reactores fermentativos acoplados en serie, encontrando posibilidad de producción de ambos gases. Wang *et al.* (2008), estudiaron el pre-tratamiento del lodo granular y su efecto en la producción de AGV's para la obtención de metano empleando residuos porcinos como sustrato.

Por otro lado, en diferentes investigaciones se han empleado reactores anaerobios de lecho de lodos de flujo ascendente (UASB, por sus siglas en inglés Upflow Anaerobic Sludge Blanket) para la producción de metano a partir del efluente del reactor productor de hidrógeno, encontrando buenos resultados al utilizar desechos de comida como sustrato. Han *et al.* (2005) y Wang *et al.* (2008), mostraron de esta manera la factibilidad para el esquema propuesto. Es por ello que en esta investigación se propone desarrollar un consorcio microbiano que lleve a cabo el consumo de los AGV's; resultantes de la fermentación de las vinazas tequileras (y por lo tanto la producción de hidrógeno), concretando el proceso anaerobio mediante la generación de metano, con la finalidad de lograr la remoción de la materia orgánica del medio.

Es importante mencionar que actualmente ya existe un estudio que demostró la factibilidad de la producción de hidrógeno empleando vinazas tequileras como sustrato. En este estudio se determinó la importancia de establecer valores bajos de TRH y condiciones mesofílicas para lograr una buena producción de hidrógeno a partir de un cultivo mixto de microorganismos (Buitrón and Carvajal 2010). En este caso se realizará la evaluación del potencial del efluente del reactor productor de hidrógeno para llevar a cabo la metanogénesis y la remoción de la materia orgánica proveniente de las vinazas de la industria tequilera.

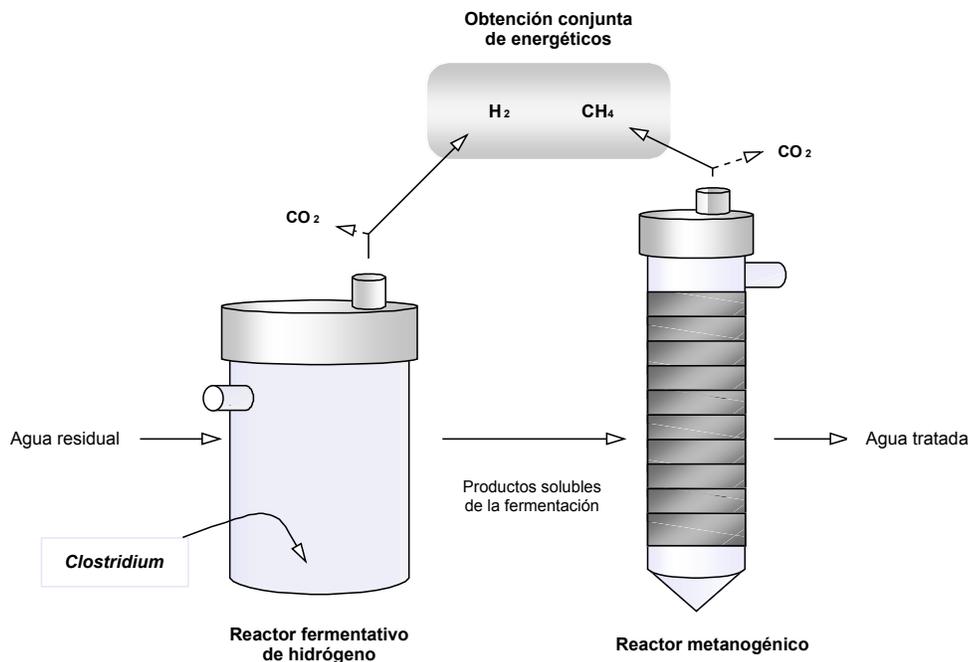


Fig. 6 Esquema de tratamiento anaerobio de aguas residuales en dos fases, método secuencial de obtención de hidrógeno y metano.

El esquema de la figura 6 muestra la idea conceptual del proceso acoplado de generación de hidrógeno y metano. Se puede observar cómo, a través de la operación de un reactor inoculado con bacterias especializadas, se puede llevar a cabo la producción de hidrógeno para posteriormente, emplear el efluente cargado de ácidos orgánicos y solventes, como sustrato para obtener metano a partir de un consorcio anaerobio metanogénico. Con este esquema, se logra la producción de dos recursos energéticos al tiempo que se trata el agua residual.

2.2 Factores que afectan la producción de hidrógeno y metano

Como todo proceso biológico, la producción fermentativa de hidrógeno y la metanogénesis se llevan a cabo bajo ciertas condiciones ambientales que determinan las vías metabólicas de degradación de los sustratos empleados como fuente de energía. Los siguientes son algunos de los parámetros que deben mantenerse bajo control para obtener buenos resultados en la producción de hidrógeno y metano:

2.2.1 Temperatura

La temperatura es uno de los principales factores que afecta los procesos biológicos, ya que tiene la capacidad de aumentar o disminuir la actividad microbiana. Los efectos que conlleva son el de incrementar las velocidades de reacción y la actividad enzimática.

Diferentes estudios han reportado que la temperatura óptima para la producción de hidrógeno se encuentra cercana a los 40°C (Ueno *et al.* 2001)(Wang and Wan 2008), pero se han desarrollado también procesos que emplean condiciones psicrófilicas y termófilicas, obteniendo resultados buenos hasta cierto umbral de temperatura.

Por su parte, la metanogénesis es un proceso que puede darse a temperaturas bajas (desde 4°C); sin embargo, la eficiencia del proceso se incrementa al establecer mayores temperaturas de operación. En condiciones mesófilicas (de 30 a 40°C) se logran obtener buenos resultados en cuanto a estabilidad y eficiencia energética (Cullimore *et al.* 1985); sin embargo, el intervalo termófilico ofrece mejores resultados en cuanto a la degradación de materia orgánica y velocidad de producción de metano (van Lier *et al.* 1993).

2.2.2 pH

Debido a que cada organismo tiene un rango de pH en el cual es más viable (Madigan *et al.*, 2004), se han realizado estudios para conocer la influencia del pH inicial en la producción biológica de hidrógeno. Se ha determinado que este proceso se lleva a cabo con los mejores resultados en condiciones ligeramente ácidas (5.0-6.5) (Fang and Liu 2002). En el caso de la metanogénesis, se sabe que el proceso de digestión anaerobia preferentemente se da en un intervalo de pH neutro (≈ 7) (Cullimore *et al.* 1985).

2.2.3 Origen del inóculo

Moreno-Andrade y Buitron (2004), llevaron a cabo un estudio sobre la influencia del origen del inóculo en las pruebas de biodegradabilidad anaerobia, mostrando que cada inóculo cuenta con características y un consorcio microbiano propio, llegando a la conclusión de que para obtener buenos resultados es necesario elegir un inóculo que presente gran actividad metanogénica, es decir que este altamente activo. Esta última característica se debe buscar tanto para realizar el pretratamiento térmico como para emplear el inóculo para las pruebas de producción de metano.

2.2.4 Agitación

Mantener una agitación adecuada permite un contacto homogéneo entre los microorganismos y el sustrato que se requiere degradar, además contribuye a la salida del biogás de la fase líquida. Algunos estudios mencionan que la agitación incrementa la velocidad y reduce los tiempos de reacción (Moreno *et al.* 1999).

2.2.5 Composición del medio

Es necesario suministrar los nutrientes que las bacterias emplean para su desarrollo a través del medio alimentado. Por ello se han estudiado diferentes soluciones de nutrientes en las pruebas de producción biológica de hidrógeno y para llevar a cabo la metanogénesis. El objetivo de estas es cubrir las necesidades fisiológicas de los microorganismos y evitar limitaciones metabólicas por este factor (Mizuno *et al.* 2000).

2.2.6 Relación sustrato/microorganismo inicial (S_0/X_0)

La relación inicial sustrato/microorganismos es una medida de la cantidad de nutrientes (carbono y energía) proporcionados al sistema con relación a los microorganismos dispuestos para consumirlos (Montes-Moncivais *et al.* 2008). En las pruebas de producción de hidrógeno también se ha encontrado que es un factor importante al ejercer un impacto en la producción de hidrógeno (Pakarinen *et al.* 2008). En las pruebas de biodegradabilidad anaerobia este es un factor que influye de manera importante en parámetros como el tiempo de latencia y la actividad de degradación (Moreno-Andrade and Buitron 2004).

2.2.7 Pre-tratamiento del inóculo para la producción de hidrógeno

Para llevar a cabo la producción biológica de hidrógeno a partir de consorcios mixtos de microorganismos resulta necesario un pre-tratamiento, debido a que están constituidos por una gran variedad de microorganismos, algunos de los cuales ejercen cierta competencia contra los productores de hidrógeno. Por ello es necesario implementar un método que permita seleccionar preferentemente a las bacterias productoras de hidrógeno.

Se han llevado a cabo variadas investigaciones con la finalidad de determinar la metodología más apropiada y capaz de inactivar y aniquilar a las bacterias que compiten con este proceso, como lo son las bacterias metanogénicas, sulfato-reductoras y otras presentes en un cultivo mixto. Dentro de las técnicas de selección se encuentran los procedimientos por choque térmico (Maintinguer *et al.* 2008), a través de tratamiento químico con cloroformo (Argun and Kargi 2009) o mediante 2-Bromoetanosulfonato ácido (BESA) (Thong *et al.* 2009), por congelamiento (Dong *et al.* 2010), choque con ultrasonido (Guo *et al.* 2010b), mediante microondas (Thungklin *et al.* 2011) o bien tratamiento prolongado con ácido (Lee *et al.* 2009) o base (Cai *et al.* 2004). Cada uno de estos procedimientos ha mostrado resultados en cuanto a la especialización del consorcio productor de hidrógeno; por ello, resulta necesario elegir algún método que represente las mejores características de requerimiento energético y mejores resultados de selección.

2.3 La industria del tequila en México

La industria del tequila es un importante sector económico de México. Un grave problema que presenta se refiere al hecho de que al finalizar el proceso de elaboración, los residuos generados como el bagazo de agave y efluentes tequileros o vinazas, en especial estos últimos, tienen un alto potencial contaminante al descargarse sin un tratamiento eficiente afectando severamente a los cuerpos receptores (ríos, lagos, suelo, etc.) (Linerio and Guzmán 2004).

Las vinazas se catalogan como aguas residuales complejas debido a la elevada concentración de materia orgánica que contienen (40 - 60g DQO/L), la diversidad de sustancias que la forman, su alta temperatura de descarga ($\approx 90^{\circ}\text{C}$) y su pH ácido (< 4) (Linerio y Guzmán, 2004). Aunado a esto, por cada litro de tequila producido se generan alrededor de 10 L de agua residual (Cedeño *et al.*, 2005), factor alarmante si se toma en cuenta que la producción de tequila superó los 200 millones de litros en 2010 (www.crt.org.mx); lo que se traduce en una cifra superior a 2 mil millones de litros de agua residual en ese año (alrededor de 5 millones de litros de vinazas por día), aunado a que muchas veces no se lleva a cabo de manera eficiente el manejo y el tratamiento de los residuos generados por este sector industrial.

Es por ello que resulta necesario encontrar metodologías que impulsen el tratamiento de las vinazas tequileras por vías que promuevan la preservación del ambiente. En este contexto la investigación no solo persigue el hecho de eliminar la materia contaminante de las aguas residuales por métodos sincronizados con la naturaleza (biológicos); sino también busca lograr la obtención de recursos útiles para la sociedad a partir de desechos industriales, en este caso energías renovables.

2.4 La problemática de las aguas azules

Las aguas residuales colectadas en los sanitarios de diferentes medios de transporte como aviones, autobuses, transbordadores, yates y de baños públicos portátiles; son conocidos como aguas azules debido a que en los tanques de almacenamiento se aplica un compuesto sanitizante color azul (azul de metileno).

Las aguas azules se caracterizan por tener altas concentraciones de materia orgánica, papel disuelto y compuestos químicos como formaldehidos, alquil-fenoles y glicoles (U.S. Patent, 1999). Debido a la acción bactericida del producto sanitizante azul, esta agua es inhibitoria para los tratamientos biológicos convencionales.

Debido a las altas cargas orgánicas presentes en las aguas azules, estas constituyen un sustrato con alta posibilidad de ser aprovechado por las bacterias productoras de hidrógeno; no solo por la posible generación de esta fuente renovable de energía, sino también por el hecho de que se contribuye a la eliminación de la materia orgánica presente en estas aguas (Guo *et al.* 2010a).

Algunos aeropuertos cuentan actualmente con sistemas de tratamiento de aguas residuales; sin embargo, existen algunos que se dedican a descargar o depositar los efluentes de las aeronaves en plantas de tratamiento municipales.

La importancia y el interés de realizar una investigación para determinar la factibilidad de la producción de hidrógeno a partir de las aguas azules radica en que actualmente en algunos aeropuertos se cuenta con sistemas de tratamiento de aguas residuales pero no en todos es eficaz, por lo que si a este proceso se le agrega un valor como es la generación de fuentes de energía renovables puede que a largo plazo resulte atractiva esta alternativa de tratamiento de residuos ya que además de cumplir con las normas ambientales se estará generando un combustible que se podrá emplear en el mismo aeropuerto (incluyendo la industria aeronáutica).

Capítulo 3

Diseño experimental

Este capítulo servirá para comprender las técnicas analíticas empleadas durante la realización de este estudio. Los principales análisis que se llevan a cabo sirven como parámetros para determinar la eficacia del proceso en el área del tratamiento de aguas residuales. Por otro lado, se establece el método que se siguió para evaluar la producción de energéticos implementando el tren de tratamiento descrito en el capítulo anterior a partir de vinazas tequileras y el esquema operacional para determinar la producción de hidrógeno a partir de aguas azules.

3.1 Técnicas analíticas

3.1.1 Demanda Química de Oxígeno

Para estimar el contenido de materia orgánica en las aguas residuales empleadas, se llevó a cabo la prueba de la Demanda Química de Oxígeno (DQO), por el método del dicromato (APHA, 1992). El ensayo consiste en someter a oxidación la muestra en presencia de un agente químico fuerte, en este caso dicromato de potasio. Esta es una prueba importante ya que, en caso de una presencia nula de tóxicos o compuestos orgánicos complejos, el resultado será una buena estimación de la cantidad materia fácilmente accesible para los microorganismos.

Se emplearon tubos de la marca HACH con una solución de dicromato de potasio y ácido sulfúrico para estimar valores en el intervalo de 0-1500 mgDQO/L. A cada tubo se le agregaron 2mL de la muestra, diluida a razón 1:10 y 1:100.

Posteriormente, se colocaron los tubos en un reactor HACH precalentado a $150 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 2 h. Al terminar la digestión, los tubos se dejaron enfriar por 20 minutos. La medición se llevó a cabo a partir de un espectrofotómetro HACH a una longitud de onda de 620 nm. También se preparó un tubo con agua destilada como blanco.

3.1.2 Ácidos grasos volátiles y solventes

Es importante determinar la presencia de Ácidos grasos volátiles (AGV's) y solventes ya que el análisis de los mismos permitirá conocer la ruta metabólica seguida durante los procesos fermentativos. La técnica consiste en centrifugar una muestra del efluente del reactor a 2500 rpm durante 5 min, filtrar con filtro de fibra de vidrio (Whatman GF/A de 2.5cm de diámetro) y posteriormente con un filtro de nitrocelulosa (Whatman de 0.45 μm) para evitar dañar el equipo analítico. Se coloca 1 mL de la muestra en un tubo tipo Eppendorf de 1.5 mL con una gota de HCl 1:1, manteniéndola en refrigeración (4°C) hasta realizar su análisis.

El análisis se lleva a cabo inyectando 0.4 μL de muestra en un cromatógrafo de gases (AgilentTech 6890N) que cuenta con un detector FID (ionización de flama) y una columna capilar Agilent de 30m x 0.25 μm x 0.25 μm , con HP-5 (5% fenilmetilsiloxano) como fase estacionaria. Los datos obtenidos se interpolan en curvas patrón realizadas previamente para cada ácido graso y solvente a analizar.

3.1.3 Carbono orgánico total

La medición del Carbono Orgánico Total (COT) se emplea para detectar la concentración de carbono proveniente de compuestos orgánicos y también es empleada para determinar la contaminación de una muestra. Para llevar a cabo la técnica se toma una muestra de 10 mL que se centrifuga a 2500 rpm por 5 minutos y se filtra con un filtro Whatman de fibra de vidrio de 2.5 cm de diámetro. De esta muestra se toma 1 mL y se diluye en 9 mL de agua conservándola con 35 μL de HCl 1:1. Posteriormente el COT se determinó mediante un analizador Shimadzu 5050.

3.1.4 Sólidos suspendidos totales y volátiles

La determinación de sólidos suspendidos se realizó mediante técnica gravimétrica (APHA, 1992); para lo cual se preparó un filtro de fibra de vidrio lavándolo con agua destilada en el matraz de filtración. Se enjuagó tres veces y se eliminó el exceso de agua. Posteriormente, se colocó en una charola de aluminio y se secó en una estufa a una temperatura entre 103 y 105°C por 1h. Al término de este periodo se coloca en el desecador por 15 minutos y se pesa en la balanza analítica. Este valor es registrado como el peso constante.

A continuación, se coloca nuevamente el filtro en el matraz de filtración y se enjuaga con agua destilada. Después se toman 5 o 10 mL de muestra perfectamente mezclada y se vierten cuidadosamente en el filtro permitiendo que se elimine el exceso de agua. En este punto se regresa a la estufa a la temperatura indicada antes por 1 h. Al terminar, se traspasan al desecador y se espera 15 minutos. Se realiza la medición de peso en la balanza. El peso registrado se denominará peso de estufa.

Por último, se coloca el filtro en la mufla por un periodo de 15 minutos a una temperatura de $550 \pm 50^\circ\text{C}$. Se deja enfriar el filtro trasladándolo a la estufa por 15 min y por último al desecador por 15 min antes de medir su peso en la balanza analítica. Se registra este valor como peso de mufla.

Los cálculos para determinación de sólidos suspendidos totales (SST), fijos (SSF) y volátiles (SSV) se muestran a continuación:

$$[SST]g/L = \frac{\text{Peso de estufa (g)} - \text{peso constante (g)}}{\text{Volumen de muestra (mL)}} * 1000, gSST/L \quad (7)$$

$$[SSF]g/L = \frac{\text{Peso de mufla (g)} - \text{peso constante (g)}}{\text{Volumen de muestra (mL)}} * 1000, gSSF/L \quad (8)$$

$$[SSV] = [SST] - [SSF], \quad gSSV/L \quad (9)$$

3.1.5 Medición de la composición de biogás

La determinación analítica de la composición del biogás se llevó a cabo a través de cromatografía de gases. Se tomaron muestras de 7 mL y se inyectaron en un cromatógrafo de gases (AgilentTech 6890N) provisto de un detector de conductividad térmica (TCD) y una columna capilar Agilent de 30m x 0.25 μm x 0.25 μm de fase estacionaria HP-5 MS (5% fenilmetilsiloxano). El gas acarreador empleado fue nitrógeno y los resultados obtenidos como unidades de área fueron cotejados con curvas patrón realizado para cada gas analizado (hidrógeno, oxígeno, metano y dióxido de carbono).

3.2 Selección del consorcio de microorganismos productores de hidrógeno: pre-tratamiento del inóculo

Como se mencionó anteriormente, para llevar a cabo la producción de bio-hidrógeno resulta necesario aplicar un pre-tratamiento si se trabaja con un consorcio mixto de microorganismos. El método que en esta investigación se eligió fue el choque térmico. La fuente del inóculo fue lodo granular anaerobio de un reactor UASB que trata las aguas residuales de una industria cervecera. El tratamiento consistió en someter al lodo a una temperatura de 104°C por un periodo de 24h. Una vez que el lodo pasó ese tiempo en la estufa se procedió al tamizado y homogeneizado del mismo a partir de una malla con tamiz de $450\mu\text{m}$ para comenzar con cada prueba de producción biológica de hidrógeno.

3.3 Producción de hidrógeno a partir de la biodegradación de vinazas de la industria tequilera

Con la finalidad de evaluar el efecto de la concentración vinazas tequileras sobre la producción de hidrógeno, se llevaron a cabo dos experimentos.

3.3.1 Evaluación de concentraciones bajas de vinazas tequileras

El primer experimento se llevó a cabo en un reactor SBR anaerobio con la finalidad de probar concentraciones bajas de vinazas tequileras, siendo la concentración medida como DQO. El reactor (ApplikonTech) en esta etapa consistió de un tanque de vidrio de 6L de capacidad, con un volumen útil de 4 L y 2 L de espacio libre. El reactor contaba con un sistema de control automático (Applikon ADI 1030 BioController) para mantener el pH cercano a 5.5 mediante la adición por medio de bombas peristálticas de soluciones de NaOH y HCl 1M. También se controló la temperatura aun valor de 35°C mediante una chaqueta térmica y la agitación. El montaje experimental se muestra en la figura 7.

El reactor se inoculó con 15 g/L de lodo granular pre-tratado térmicamente. En esta etapa de la experimentación se evaluaron cinco concentraciones de vinazas: 50, 100, 500, 1000 y 5000 mgDQO/L empleando un TRH de 18h. Cada concentración se probó por triplicado permitiendo transcurrir tres ciclos para cada una, midiendo la cantidad de biogás generada en cada caso. Al agua empleada como sustrato se le agregaron soluciones minerales como suplemento de nutrientes para los microorganismos tal como lo describe Mizuno *et al.*(2000).

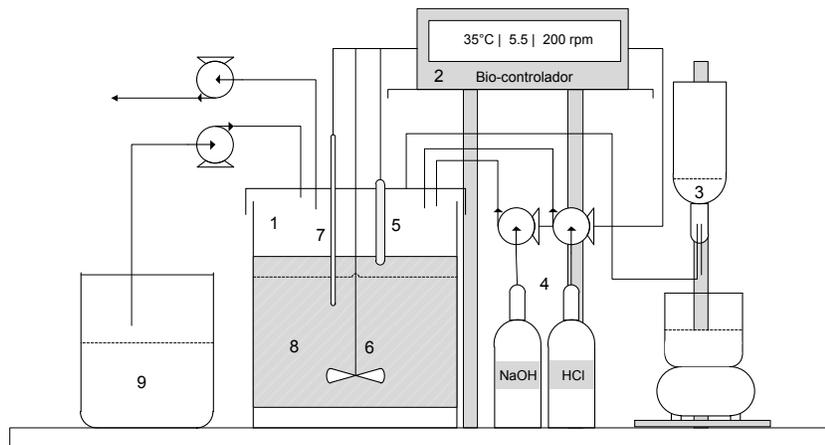


Fig. 7 Montaje experimental empleado para evaluar la producción de hidrógeno a partir de concentraciones bajas de vinazas tequileras. Se puede observar: 1. Reactor SBR 2. Biocontrolador 3. Dispositivo de medición de biogás 4. Ácido y base para control de pH 5. Electrodo de pH 6. Agitador 7. Termómetro 8. Chaqueta térmica para control de temperatura 9. Alimentación.

3.3.2 Evaluación de concentraciones altas de vinazas tequileras

El segundo experimento, en el que se evaluaron concentraciones más altas de vinazas, se llevó a cabo utilizando como reactor un matraz Erlenmeyer de 600 mL de volumen total. El reactor se operó con 400 mL de volumen de trabajo y 200 mL de volumen libre. Las concentraciones a evaluar en este experimento fueron las siguientes: 2, 6, 8, 12, 14 y 16 gDQO/L y como en el caso anterior, las pruebas fueron realizadas por triplicado. En este caso, el TRH empleado fue de 6h y el pH se controló empleando el buffer orgánico MES (ácido 2-Morfolinoetanosulfónico monohidratado). La temperatura se controló a 35°C a partir de un baño de agua provisto mediante una incubadora Linberg/BLue de 20 L con control programable de temperatura.

En ambos casos, la producción de biogás fue determinada a partir del método de desplazamiento de agua saturada con NaCl a una concentración de 30g/L. Esta agua se acidificó mediante H_2SO_4 concentrado hasta un valor cercano a 3 para evitar que el dióxido de carbono generado durante el proceso se diluyera en el dispositivo de almacenamiento de biogás. El montaje experimental empleado en esta etapa se muestra en la figura 8.

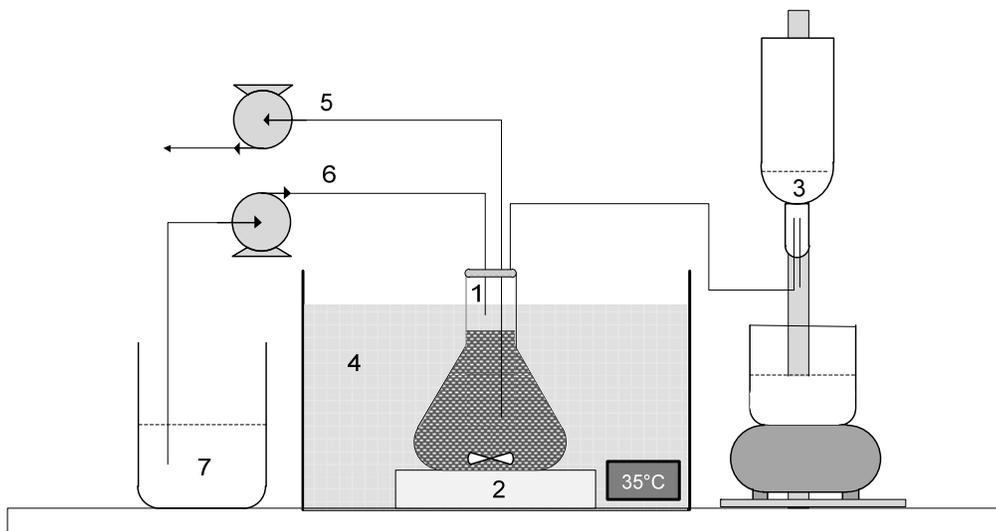


Fig. 8 Montaje experimental empleado para evaluar la producción de hidrógeno a partir de altas concentraciones de vinazas tequileras. Se puede observar: 1. Reactor SBR 2. Agitador magnético 3. Dispositivo de medición de biogás 4. Incubadora para control de temperatura 5. Bomba de descarga 6. Bomba de alimentación 7. Alimentación.

3.4 Producción de metano a partir del efluente de un reactor productor de hidrógeno que trata vinazas tequileras

Como se mencionó anteriormente, es necesario plantear esquemas de tratamiento de efluentes con altos niveles de contaminación de tal manera que se puedan obtener recursos de alto valor agregado. Siguiendo esta finalidad se construyó un reactor UASB con acrílico como material inerte ante la actividad microbiana. Se diseñó con un volumen de trabajo de 500 mL y en el fondo se colocó un embudo con la finalidad de concentrar la cama de lodos y permitir su expansión mediante la recirculación del líquido. Además se implementó un sistema de separación de fases en la parte superior del mismo mediante un embudo con la finalidad de recolectar el biogás generado durante la operación del reactor UASB.

3.4.1 Arranque de operación del reactor para la producción de metano

Para comenzar la operación del reactor, se inocularon 20 mL de lodo granular anaerobio manteniendo una concentración de 12 g/L medido como sólidos suspendidos volátiles. Posteriormente se alimentó con una solución de glucosa de 1 g/L a la que se le agregaron 10 mL de solución de vitaminas y 10 mL de elementos traza como lo proponen (Moreno-Andrade and Buitron 2004) y 50 mL de bicarbonato de sodio (60g/L) como solución amortiguadora para mantener el pH en un intervalo de 6.8 a 7.5. Para llevar a cabo estas pruebas se empleó un TRH de 24 h y se realizó la medición de biogás por el método de desplazamiento de volumen en una probeta invertida. El montaje empleado en esta fase experimental se muestra en la figura 9, en la que se puede observar la configuración del reactor y el método de la probeta invertida para obtener la medición del biogás.

En esta etapa, al terminar cada ciclo se determinó la capacidad buffer del sistema a partir de la relación de alcalinidad o el parámetro α (Gan, 2010). La relación de alcalinidad se determinó mediante la valoración con ácido clorhídrico 0.1N de una muestra de 25 mL tomada del reactor al llevarla a un pH de 5.75 y posteriormente a un pH de 4.3. Se registró el volumen de ácido empleado para ambos casos. Finalmente, se calculó la relación de alcalinidad mediante la fórmula mostrada en la ecuación 10. Este factor es una medida de la estabilidad de un reactor anaerobio y asegura el buen funcionamiento de las bacterias metanogénicas si su valor se mantiene por debajo de 0.5 (Jiménez, 1999).

$$\alpha = \frac{V_{4.3} - V_{5.75}}{V_{4.3}} \quad (10)$$

El hecho de implementar esta metodología de arranque del reactor UASB se debió a la necesidad de asegurar el funcionamiento óptimo del mismo antes de iniciar las pruebas con el efluente del reactor fermentativo. De esta manera el posible efecto inhibitorio del sustrato y la respuesta del sistema pueden ser observados desde un inicio.

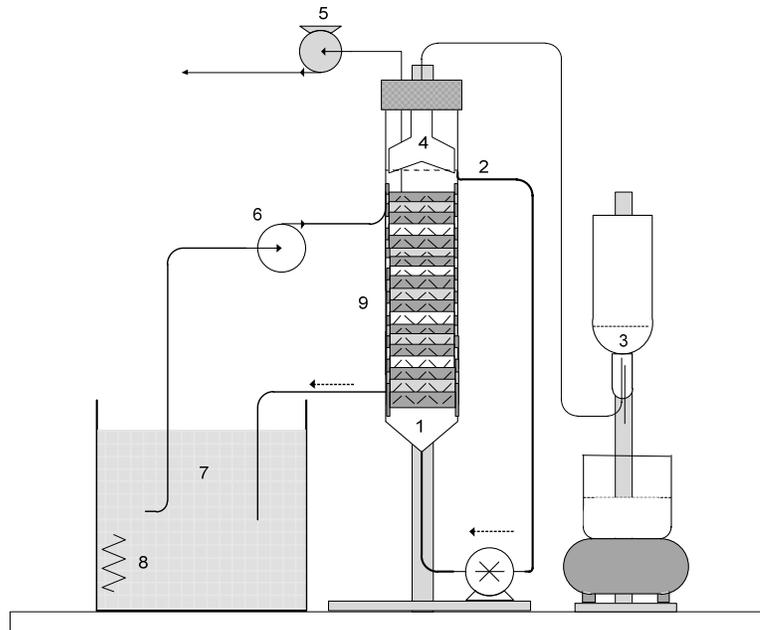


Fig. 9 Montaje experimental del reactor metanogénico. Se distingue: 1. Reactor UASB 2. Recirculación 3. Dispositivo de medición de biogás 4. Separador de fases 5. Alimentación y descarga 6. Bomba de circulación de agua caliente 7. Agua a 35°C 8. Termostato para control de temperatura 9. Chaqueta térmica.

3.4.2 Efluente del reactor productor de hidrógeno como sustrato para la producción de metano

Una vez alcanzada la estabilidad en cuanto al volumen de biogás generado y a la relación α , se procedió a alimentar el reactor UASB con el efluente del reactor productor de hidrógeno. La variable que fue evaluada en este caso fue el efecto de la concentración de efluente alimentado en la producción de metano. Para ello se propusieron tres concentraciones: 400, 1085 y 1636 mgDQO/L manejando un TRH de 24h. Estas concentraciones fueron el resultado de diluir el efluente del reactor productor de hidrógeno en las proporciones 1:3, 2:3 y 3:3. Además, la concentración más alta se probó manteniendo un TRH de 18h con la finalidad de definir el efecto del incremento del tiempo de reacción en la actividad metanogénica. De esta manera se consiguió evaluar cuatro condiciones diferentes de carga orgánica alimentada al reactor: 0.36, 0.719, 1.08 y 1.43 kgDQO/m³ d.

La forma de operación en esta etapa consistió en alimentar el reactor UASB con la concentración más baja, manteniendo esta concentración hasta alcanzar la estabilidad en la producción de biogás, durante un lapso mínimo de cinco días. A partir de ese momento la concentración de sustrato fue elevada, repitiendo esta metodología con cada concentración. Este método se empleó para definir un punto de inhibición y con ello determinar la mejor condición para la producción de metano a partir del efluente del reactor fermentativo.

3.5 Producción de hidrógeno a partir del tratamiento de aguas residuales inhibitorias: aguas azules

Se diseñaron dos experimentos que tuvieron la finalidad de evaluar si es posible emplear las aguas azules provenientes de los aviones como fuente de materia orgánica para la producción de hidrógeno por vía biológica. Posteriormente se implementó una estrategia experimental para determinar en qué concentración de aguas azules se lograría obtener la mayor producción de hidrógeno.

3.5.1 Evaluación de la producción de hidrógeno con aguas azules

El diseño experimental para esta fase de la investigación consistió en llevar a cabo pruebas en lote para la producción de hidrógeno a 35°C empleando aguas azules como sustrato.

Las pruebas fueron realizadas en botellas de 300 mL colocando una concentración de 20g/L de inóculo (microorganismos pre-tratados térmicamente) en cada botella y manteniendo el pH en valores cercanos a 5.5. El seguimiento de la producción de biogás se realizó por medio del Sistema Automático para la Biodegradabilidad Anaerobia (SABiA), equipo desarrollado en el Instituto de Ingeniería de la UNAM.

El equipo permite realizar mediciones en línea de la presión que el biogás genera dentro de las botellas. Posteriormente, el sistema convierte digitalmente los valores adquiridos, registrándolos mediante un transductor en un programa desarrollado en Labview, para obtener medidas cuantificables de la cantidad de hidrógeno producido.

3.5.2 Efecto de la concentración de aguas azules en la producción de hidrógeno

Una vez realizadas las pruebas de producción de hidrógeno y al comprobar la presencia del mismo mediante los análisis de cromatografía, se llevó a cabo un experimento que consistió en la evaluación del efecto de la concentración de las aguas azules en la producción de hidrógeno. El estudio consistió de evaluar cinco concentraciones diferentes medidas como DQO: 500, 750, 1000, 2000 y 2300 mg/L conservando las características de mesofilia y acidez antes mencionadas. Las pruebas se llevaron a cabo en botellas serológicas de 120 mL de volumen total empleando 70 mL como volumen de trabajo. Para mantener a los microorganismos en el mayor contacto posible con el sustrato se hizo uso de un agitador orbital.

Cada concentración se realizó por duplicado. La primera botella sirvió para llevar a cabo la medición de la presión generada y la segunda para tomarlas muestras de biogás para su posterior análisis. Las pruebas control consistieron en duplicados de blancos que contenían agua azul sin inóculo, agua de la llave con inóculo y una última con solución de glucosa a una concentración de 1g/L con inóculo. Los dos últimos casos con la misma concentración de inóculo que las pruebas principales (20g/L de lodo anaerobio pre-tratado) dando como resultado un total de 26 botellas en esta fase experimental.

La medición de la presión se llevó a cabo mediante un equipo transductor de presión adaptado con agujas de jeringa de 10 mL. El procedimiento consistió en introducir la aguja en el cabezal (tapón de caucho) de cada botella, cuidando no provocar la fuga del biogás. Se llevó a cabo la medición de la presión en las botellas durante un lapso de 5 días de tal forma que se pudiera construir una curva de producción de biogás y una para la producción de hidrógeno mediante el análisis por cromatografía de las muestras de biogás en cada ocasión. De esta manera se buscó determinar la concentración con mejores resultados de generación de hidrógeno a partir de aguas azules.

Capítulo 4

Resultados

4.1 Producción de hidrógeno a partir de la biodegradación de vinazas de la industria tequilera

Bajo las condiciones de baja concentración de vinazas tequileras no se obtuvieron resultados de inhibición de la producción de hidrógeno. Como se puede observar en la figura 10, al incrementar la concentración de vinazas tequileras se obtuvo un incremento en la producción de hidrógeno, por lo que este comportamiento sugiere la aclimatación del inóculo a las vinazas.

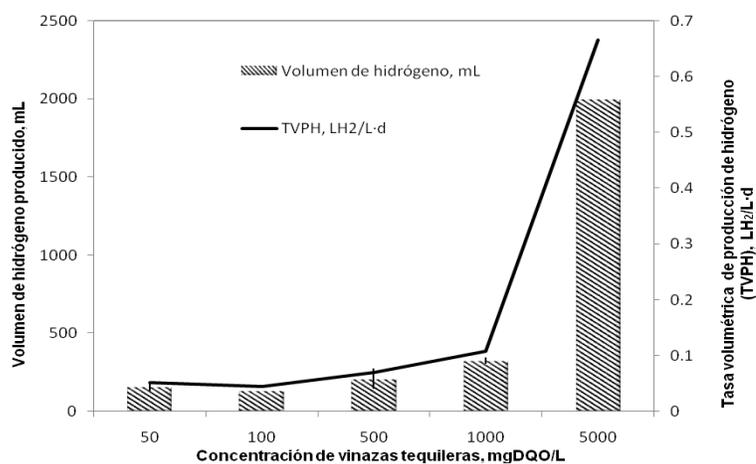


Fig. 10 Tasa volumétrica de producción de hidrógeno y volumen de hidrógeno producido, ante bajas concentraciones de vinazas tequileras.

Se realizó la medición paulatina del volumen generado para determinar la cinética de producción de hidrógeno a partir de las vinazas tequileras. La concentración que se evaluó en la misma fue de 500 mg DQO/L y se pudo observar que fueron suficientes 3 h para alcanzar la máxima actividad de producción de hidrógeno.

En la figura 11 se puede apreciar este comportamiento, lo cual sirvió como antecedente para reducir el TRH en pruebas posteriores.

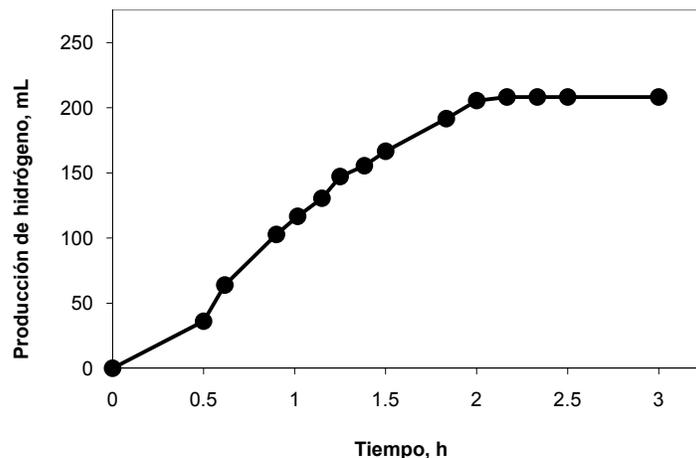


Fig. 11 Cinética de producción de hidrógeno empleando una concentración de vinazas de 500 mgDQO/L.

Gong *et al.*(2005), empleando un reactor en continuo y melazas como sustrato, encontraron una producción específica de hidrógeno de 163 y 276 mL H₂/gSSV·d, con cargas orgánicas de 3 y 7 gDQO/L·d, respectivamente. En este trabajo con una carga orgánica de 1.67 gDQO/L·d se obtuvo una producción específica de hidrógeno de 177.4 mL/gSSV·d comparable con lo reportado por los citados autores¹. Los resultados de la producción específica de hidrógeno se muestran en la tabla 3.

Tabla 3. Producción específica de hidrógeno alcanzada con cada condición evaluada.

Concentración de vinazas, gDQO/L	Carga orgánica, gDQO/L d	Producción específica de hidrógeno, mL/gSSV d
50	0.01	13.7
100	0.03	11.8
500	0.16	18.5
1000	0.33	28.7
5000	1.67	177.4

¹ Las melazas son residuos industriales provenientes principalmente de procesos de destilación. Se caracterizan por contener altas cargas orgánicas, colorantes, compuestos fenólicos y otras moléculas de alta complejidad (Bilad *et al.* 2011).

Posteriormente, al continuar con el incremento de la concentración de vinazas, no se obtuvieron resultados de inhibición por sustrato durante las pruebas de producción de hidrógeno; lo cual sugiere la posibilidad de seguir incrementando la concentración de las vinazas hasta hallar la dilución mínima permisible para obtener resultados satisfactorios. En la figura 12 se muestra como al aumentar la concentración de vinazas tequileras, existió un aumento en la producción de hidrógeno por parte de los microorganismos.

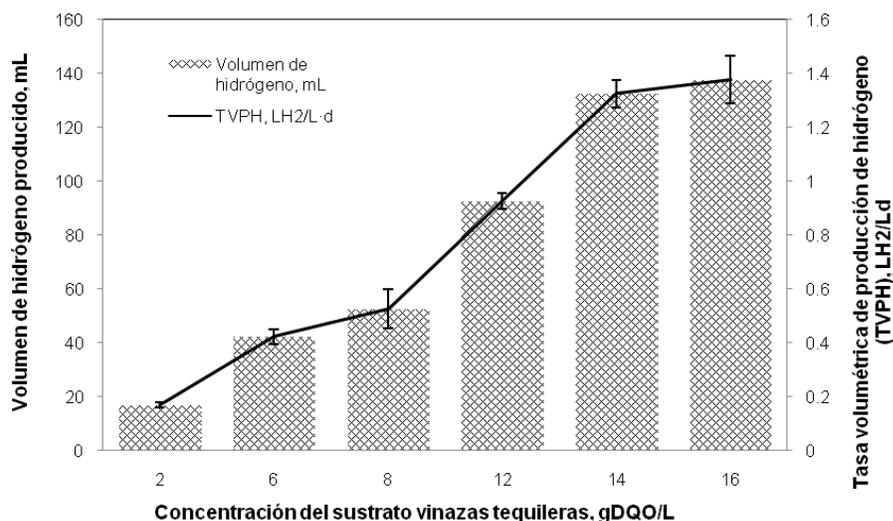


Fig. 12 Tasa volumétrica de producción de hidrógeno y volumen de hidrógeno producido, ante altas concentraciones de vinazas tequileras.

La producción máxima de hidrogeno obtenida por ciclo de operación fue de 137mL, lo cual se traduce en una tasa volumétrica de producción de 1.37 LH₂/L·d. Fang y Liu (2002) usando un cultivo mixto de microorganismos y 7 g glucosa/L como sustrato, lograron una producción específica de hidrógeno de 4.6 LH₂/gVSS·d. En este estudio se alcanzó una producción específica máxima de 918 mLH₂/gSSV·d al emplear la concentración de sustrato de 16gDQO/L. Como podemos observar este valor está por debajo de lo reportado por Fang y Liu (2002); sin embargo, hay que tomar en cuenta las características inhibitorias y la complejidad del sustrato empleado ya que en este estudio se emplearon las vinazas tequileras y no glucosa que es un sustrato fácilmente biodegradable. Por otro lado, esta diferencia también puede atribuirse a la presencia de bacterias consumidoras de hidrógeno.

4.2 Producción de metano a partir del efluente de un reactor productor de hidrógeno que trata vinazas tequileras

4.2.1 Caracterización del efluente del reactor productor de hidrógeno

Para emplear el efluente del reactor productor de hidrógeno para la producción de metano, fue necesario hacer el análisis de las características iniciales de estas aguas para conocer los parámetros que pudieran afectar a la biomasa activada con glucosa.

La tabla 4 presenta un resumen del resultado de los análisis de la caracterización del efluente del reactor fermentativo. Los valores de DQO estuvieron en un rango de 2300 ± 39 y 1636 ± 17 mg/L en lo referente a la porción total y la soluble, respectivamente. En cuanto a los AGV's, fueron el producto presente en mayor cantidad, guardando la siguiente proporción: acetato 71 ± 7 , propionato 49 ± 5 y butirato 40 ± 3 mg/L (DQO = 222 mg/L), representando una fracción baja de la DQO de todo el efluente. El valor de SSV ($297 \text{ mg/L} \pm 14$) representa el 88% de los SST (338 ± 16), lo cual indica una alta fracción orgánica del total de sólidos encontrado como SST.

Tabla 4 Resultados de la caracterización del efluente del reactor fermentativo.

Parámetro	Valor	Parámetro	Valor
SST, mg/L	338 ± 16	Sulfuro, mg/L	N.D.
SSV, mg/L	297 ± 14	pH	8 ± 0.5
DQO total, mg/L	2300 ± 39	Acetato, mg/L	71 ± 6
DQO soluble, mg/L	1636 ± 17	Propionato, mg/L	49 ± 5
COD, mg/L	416 ± 16	Butirato, mg/L	40 ± 6
Alcalinidad, mg CaCO ₃ /L	510 ± 10	Etanol, mg/L	7 ± 2
Sulfato, mg/L	N.D.	Acetona, mg/L	109 ± 12

4.2.2 Efecto de la concentración del efluente del reactor fermentativo productor de hidrógeno en la producción de metano

El efluente del reactor fue alimentado en el reactor UASB una vez alcanzada la estabilidad en cuanto a la relación α y la producción de biogás empleando glucosa como sustrato fácilmente biodegradable. Al modificar la concentración inicial del sustrato se obtuvo un comportamiento como el que se puede apreciar en la figura 13.

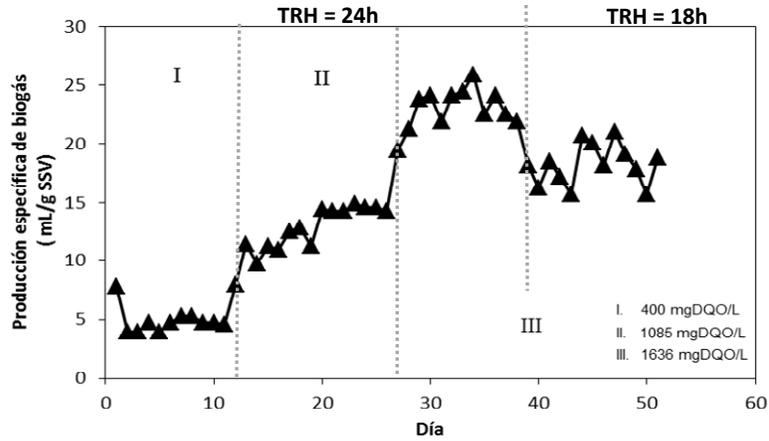


Fig. 13 Resultado de la operación del reactor metanogénico durante 50 días.

Los resultados muestran que existió un incremento en la producción de biogás al aumentar la carga orgánica alimentada estableciendo un TRH de 24h. Por otro lado, la cantidad de metano en el biogás varió de forma significativa en cada etapa. En orden ascendente (con respecto a la concentración evaluada) se obtuvieron porcentajes de metano en el biogás de 57, 76 y 68%. La concentración de 1085 mgDQO/L evaluada a 24h de TRH fue la que permitió obtener el mejor porcentaje de metano. Un resultado interesante mostró que al disminuir el TRH a 18 h, el contenido de metano bajó a 40%. Lo anterior sugiere que el reactor UASB, no es estable ante cambios repentinos en cuanto al valor de TRH empleado en el proceso.

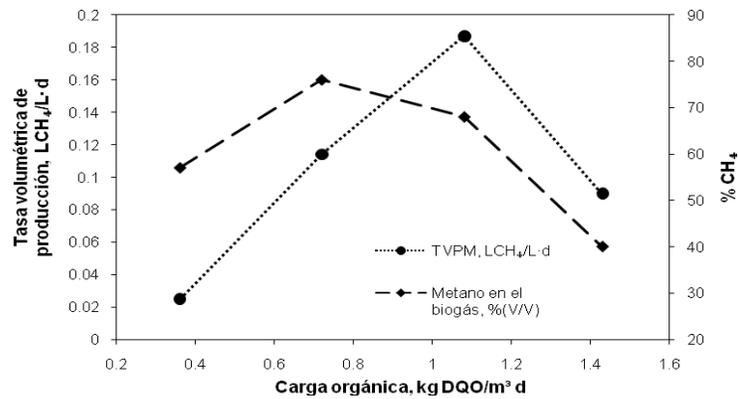


Fig. 14 Evolución de la tasa volumétrica de producción de metano y su porcentaje en el biogás.

La tasa volumétrica de producción de metano (TVPM) y la productividad de metano (PM) fueron también evaluadas. Los mejores resultados fueron 0.187LCH₄/L·d y 0.173 LCH₄/kgDQO, de TVPM y PM respectivamente, usando una concentración inicial de 1636 mgDQO/L con un TRH de 24h, es decir, con la carga orgánica de 1.08 kgDQO/m³·d.

Los resultados son comparables a aquellos encontrados por Koutrouli *et al.*(2009), quienes obtuvieron una TVMP de 0.21 LCH₄/L·d usando pulpa de aceitunas como sustrato. En su estudio, emplearon concentraciones de 1, 0.7 y 1.3 g/L para los ácidos acético, propiónico y butírico respectivamente, cantidades mucho mayores a las usadas en este estudio.

4.2.3 Efecto del efluente del reactor productor de hidrógeno en la remoción de materia orgánica

Se encontró que puede alcanzarse una remoción del 67% del carbón orgánico presente en el agua residual cuando se alimenta el reactor metanogénico con el efluente del reactor fermentativo sin dilución y con el TRH de 24h; es decir, empleando una carga orgánica de 1.08 kgDQO/m³·d. Empleando el influente de forma diluida y en la prueba en la que se manejó un menor TRH, se obtuvieron menores condiciones de remoción de carbón. Los valores fueron de 50, 65 y 52% de remoción bajo las condiciones de carga orgánica de 0.36, 0.719 and 1.43 kgDQO/m³·d, respectivamente.

Un resultado importante en esta fase del diseño experimental fue que después del análisis de cromatografía, no se detectaron AGV's en el efluente del reactor metanogénico, lo cual sugiere que se llevó a cabo de manera completa la mineralización de la materia orgánica presente como ácidos.

Finalmente, la tabla 5 muestra el resumen de las características que fueron evaluadas para determinar el efecto de la concentración del efluente del reactor productor de hidrógeno sobre la producción de metano en un reactor UASB.

Tabla 5 Resultados de productividad de metano y eficiencia de remoción de DQO en el reactor metanogénico.

Concentración evaluada(mgDQO/L)	TRH (h)	Productividad de metano(LCH ₄ /kgDQO)	Eficiencia de remoción(%)
700		0.08	50
1400	24	0.164	65
2100		0.173	67
2100	18	0.06	52

4.3 Producción de hidrógeno a partir del tratamiento de aguas residuales inhibitorias: aguas azules

Se determinó la factibilidad de obtener hidrógeno empleando aguas azules como fuente de materia orgánica en las pruebas llevadas a cabo en el SABiA. El análisis de cromatografía demostró la presencia de hidrógeno en el biogás obtenido en esta fase experimental.

Posteriormente, al llevar a cabo las pruebas para evaluar el efecto de la concentración de aguas azules en la producción de biogás, se encontró que a medida que se incrementa la concentración de aguas azules se obtiene mayor producción de biogás, como se puede observar en la figura 15.

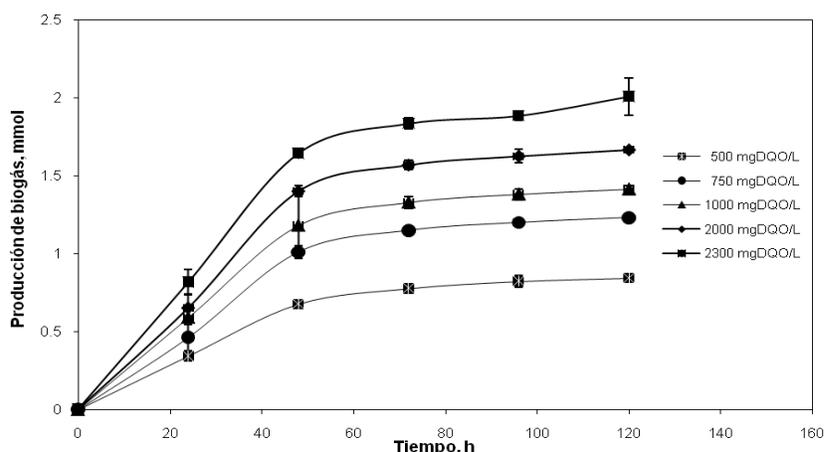


Fig. 15 Cinéticas de producción de biogás a partir de diferentes concentraciones de aguas azules.

El resultado anterior es un hecho que nos permite sugerir que la capacidad respiratoria de los microorganismos no se ve afectada por la concentración de materia orgánica en el influente ni por la capacidad inhibitoria del mismo al elevar la concentración de aguas azules.

Por otro lado, al someter las muestras de biogás al análisis de cromatografía, se determinó un comportamiento interesante. Se obtuvo un incremento en la producción de hidrógeno a medida que aumentó la concentración de las aguas azules hasta llegar a un punto de inhibición reflejado en cuanto a la composición del biogás y a la cantidad total de hidrógeno de las pruebas.

La figura 16 muestra el resultado de las cinéticas de producción de hidrógeno para cada concentración evaluada. Se observa claramente que al aumentar la concentración de aguas azules la producción de hidrógeno aumentó. Sin embargo, la condición de 2300 mgDQO/L no continuó este comportamiento ya que bajo esta concentración la producción de hidrógeno disminuyó un 22% con respecto al total obtenido bajo las mejores condiciones, es decir, con la concentración de 2000 mgDQO/L.

Empleando este parámetro se logró obtener una composición de hidrógeno en el biogás del 17% y una producción total de 0.14 mmol. Para las demás concentraciones, la cantidad de hidrógeno en el biogás fue muy baja, al no superar el 10.6%. En cuanto a la producción acumulada de hidrógeno se obtuvieron: 0.012, 0.011, 0.017 y 0.1 mmol para las concentraciones de 500, 750, 1000 y 2300 mgDQO/L respectivamente.

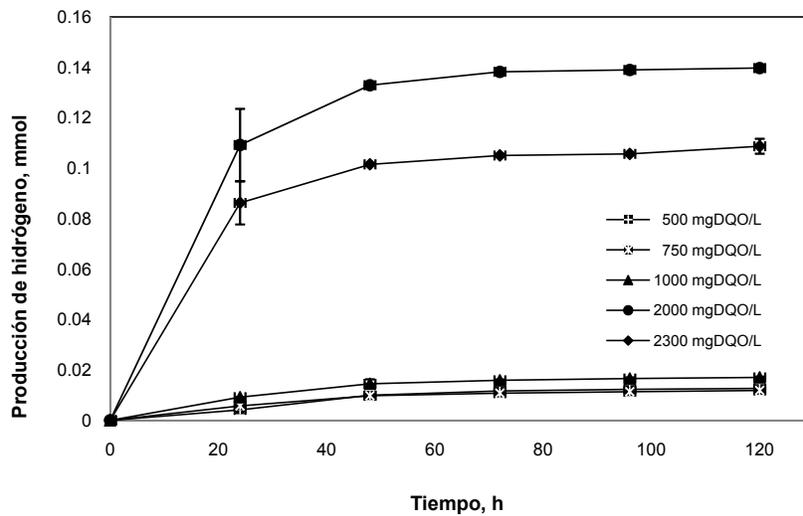


Fig. 16 Cinéticas de producción de hidrógeno a partir de diferentes concentraciones de aguas azules.

La siguiente tabla expresa los resultados obtenidos de la producción total de hidrógeno y su porcentaje en el biogás para cada concentración evaluada.

Tabla 6. Producción acumulada de hidrógeno y porcentaje de hidrógeno para cada concentración de aguas azules evaluada.

Concentración de materia orgánica, mgDQO/L	Hidrógeno producido, mmol	Porcentaje de hidrógeno en el biogás, %(V/V)
500	0.012	4.18
750	0.011	1.59
1000	0.017	1.55
2000	0.139	16.76
2300	0.108	10.56

Los resultados obtenidos al emplear aguas azules como fuente de materia orgánica para producir hidrógeno, dejan por sentado el conocimiento de que el proceso de fermentación de residuos orgánicos tiene la capacidad de ser adaptado tanto a sustratos de fácil degradación como lo son las azúcares y otros tipos de compuestos orgánicos simples, como a sustratos complejos como lo son las aguas residuales y en este caso aguas con carácter inhibitorio.

El hecho de obtener bajas cantidades de hidrógeno en esta investigación no debe ser tomado como una limitante para este tipo de estudios; por el contrario, el hecho de hallar factible la producción de hidrógeno, debe ser tomado como un aliciente para continuar indagando y acrecentar la búsqueda de métodos de aclimatación de los microorganismos a sustratos complejos, con la finalidad de proveer a la sociedad de un proceso práctico de obtención de energéticos de alto valor agregado.

Capítulo 5

Conclusiones

Es factible generar hidrógeno a partir del tratamiento biológico de vinazas de la industria tequilera a pesar de su composición compleja.

Se observó que la aclimatación eficiente de los microorganismos fue necesaria para evitar su inhibición por las altas concentraciones de vinazas tequileras.

En la primera fase experimental, la más alta producción de hidrógeno se obtuvo al alimentar una concentración de 5 gDQO/L de vinazas sin llegar a inhibir al sistema, observándose robustez para seguir aumentando la concentración.

En la segunda fase experimental se determinó que es factible aumentar la concentración del sustrato ya que se obtuvo la más alta producción de hidrógeno ($1.37 \text{ LH}_2/\text{L}\cdot\text{d}$) al alimentar con una concentración de 16 g de vinazas/L.

Se determinó que es factible la producción de metano empleando el efluente del reactor fermentativo productor de hidrógeno que trata vinazas de la industria tequilera como sustrato en un reactor anaerobio con lecho de lodos de flujo ascendente.

Se logró una tasa volumétrica de producción de metano máxima de $0.187 \text{ LCH}_4/\text{L}\cdot\text{d}$ comparable con lo obtenido por estudios internacionales de producción de hidrógeno y metano de manera secuencial con efluentes de la industria agroalimentaria.

Se alcanzaron eficiencias de remoción de materia orgánica de hasta un 67%, hecho a resaltar tomando en cuenta el carácter inhibitorio de las aguas residuales empleadas. Este resultado se alcanzó manteniendo una carga orgánica de $1.08 \text{ kgDQO}/\text{m}^3\cdot\text{d}$, es decir, la máxima concentración evaluada bajo un TRH de 24 h.

Fue nula la presencia de AGV's en el efluente del reactor UASB, lo cual sugiere un buen desempeño del consorcio microbiano y del proceso anaerobio como método de tratamiento para este tipo de efluentes.

Gracias a la metodología empleada en esta investigación, se demostró que es factible la producción de hidrógeno a partir de las aguas azules, a pesar de su carácter inhibitorio. Bajo las mejores condiciones se obtuvieron 0.14 mmol de hidrógeno, encontrando un porcentaje máximo de hidrógeno en el biogás del 17%.

Se encontró que al aumentar la concentración de aguas azules se incrementó la producción de hidrógeno hasta llegar a un punto máximo. Los mejores resultados se obtuvieron al emplear las aguas azules con una concentración de 2000 mgDQO/L, valor a partir del cual se encontró una disminución significativa del hidrógeno, tanto en la proporción en el biogás como en la cantidad total generada.

Este resultado es un aliciente para trabajos posteriores en los que propone buscar una estrategia de aclimatación de los microorganismos a sustratos de alta complejidad y con componentes inhibitorios de la actividad microbiana; esto con la finalidad de encontrar un método biológico que provea hidrógeno, útil como fuente de energía.

Con base en los resultados obtenidos a lo largo de este estudio se determinó que es factible la producción de hidrógeno empleando como fuente de materia orgánica aguas residuales de composición compleja: vinazas de la industria tequilera y aguas azules. Además, bajo las condiciones de operación evaluadas, el proceso empleado es capaz de proveer gas metano útil como combustible y al mismo tiempo, disminuir el contenido de materia orgánica del efluente del fermentador que trató vinazas tequileras, llevando a cabo de manera paralela, la producción de dos recursos energéticos y el tratamiento de residuos industriales de alta complejidad.

Como comentario final, esta investigación busca trascender científica y tecnológicamente al plantear una alternativa para el desarrollo de procesos sustentables, en este caso en materia de saneamiento de aguas residuales, pero con gran potencial para ser aplicado en otros ámbitos de la ingeniería ambiental. El presente trabajo no solo busca aportar una propuesta tecnológica ante dos necesidades torales de la sociedad actual (la ambiental y la energética); sino que también busca ser pieza del motor que resuelva otra necesidad vital en el país: la necesidad de cambio; cambio en nuestra forma de pensar, cambio en la forma de percibir nuestro entorno y en la forma de responder a él, el cambio de mentalidad necesario para prosperar.

Bibliografía

Abanades S, Charvin P, Flamant G, Neveu P (2006) Screening of water-splitting thermochemical cycles potentially attractive for hydrogen production by concentrated solar energy. *Energy***31**, 2805-2822.

American Public Health Association; American Water Works Association; Water Environment Federation. (1992) Standard Methods for Examination of Water and Wastewater, 18th Ed. Greenberg, A.E.; Clesceri, A, E.; Eaton, A.D.; American Public Health Association: Washington, D.C.

Argun H, Kargi F (2009) Effects of sludge pre-treatment method on bio-hydrogen production by dark fermentation of waste ground wheat. *International Journal of Hydrogen Energy***34**, 8543-8548.

Arooj MF, Han SK, Kim SH, Kim DH, Shin HS (2008) Effect of HRT on ASBR converting starch into biological hydrogen. *International Journal of Hydrogen Energy***33**, 6509-6514.

Baghchehsaraee B, Nakhla G, Karamanev D, Margaritis A, Reid G (2008) The effect of heat pretreatment temperature on fermentative hydrogen production using mixed cultures. *International Journal of Hydrogen Energy***33**, 4064-4073.

Benemann J (1996) Hydrogen Biotechnology process and prospect. *Nature Biotechnology***14**, 1101-1103.

Bilad MR, Declerck P, Piasecka A, Vanysacker L, Yan X, Vankelecom IFJ (2011) Treatment of molasses wastewater in a membrane bioreactor: Influence of membrane pore size. *Separation and Purification Technology***78**, 105-112.

Bruno JC, Ortega-Lopez V, Coronas A (2009) Integration of absorption cooling systems into micro gas turbine trigeneration systems using biogas: Case study of a sewage treatment plant. *Applied Energy***86**, 837-847.

Buitrón G, Carvajal C (2010) Biohydrogen production from Tequila vinasses in an anaerobic sequencing batch reactor: Effect of initial substrate concentration, temperature and hydraulic retention time. *Bioresource Technology***101**, 9071-9077.

Buitrón G, Schoeb ME, Moreno-Andrade I, Moreno JA (2005) Evaluation of two control strategies for a sequencing batch reactor degrading high concentration peaks of 4-chlorophenol. *Water Research***39**, 1015-1024.

Cai M, Liu J, Wei Y (2004) Enhanced Biohydrogen Production from Sewage Sludge with Alkaline Pretreatment. *Environmental Science and Technology***38**, 3195-3202.

Cervantes FJ, Pavlostathis SG, van Haandel AC (2006) 'Advanced Biological Treatment Processes for Industrial Wastewaters.' (IWA Publishing: Seattle)

Cheng CH, Hung CH, Lee KS, Liao PY, Liang CM, Yang LH, Lin PJ, Lin CY (2008) Microbial community structure of a starch-feeding fermentative hydrogen production reactor operated under different incubation conditions. *International Journal of Hydrogen Energy***33**, 5242-5249.

- Cheong DY, Hansen CL (2008) Effect of feeding strategy on the stability of anaerobic sequencing batch reactor responses to organic loading conditions. *Bioresource Technology***99**, 5058-5068.
- Chong ML, Sabaratnam V, Shirai Y, Hassan MA (2009) Biohydrogen production from biomass and industrial wastes by dark fermentation. *International Journal of Hydrogen Energy***34**, 3277-3287.
- Cooney M, Maynard N, Cannizzaro C, Benemann J (2007) Two-phase anaerobic digestion for production of hydrogen-methane mixtures. *Bioresource Technology***98**, 2641-2651.
- Cornejo C, Wilkie AC (2010) Greenhouse gas emissions and biogas potential from livestock in Ecuador. *Energy for Sustainable Development***14**, 256-266.
- Craig F (2009) Anaerobic digestion strategies for dairy manure. (Ph.D. Thesis, Washington State University). Retrieved from:
http://www.dissertations.wsu.edu/Dissertations/Summer2009/c_frear_061509.pdf
- Cullimore DR, Maule A, Mansuy N (1985) Ambient temperature methanogenesis from pig manure waste lagoons: Thermal gradient incubator studies. *Agricultural Wastes***12**, 147-157.
- Das D, Veziroglu TN (2001) Hydrogen production by biological processes: a survey of literature. *International Journal of Hydrogen Energy***26**, 13-28.
- Demirbas MF, Balat M, Balat H (2009) Potential contribution of biomass to the sustainable energy development. *Energy Conversion and Management***50**, 1746-1760.
- Dong L, Zhenhong Y, Yongming S, Longlong M (2010) Evaluation of pretreatment methods on harvesting hydrogen producing seeds from anaerobic digested organic fraction of municipal solid waste (OFMSW). *International Journal of Hydrogen Energy***35**, 8234-8240.
- Duc PM, Wattanavichien K (2007) Study on biogas premixed charge diesel dual fuelled engine. *Energy Conversion and Management***48**, 2286-2308.
- El-Mashad HM, Zhang R (2010) Biogas production from co-digestion of dairy manure and food waste. *Bioresource Technology***101**, 4021-4028.
- Estadísticas del Agua en México (2010) Comisión Nacional del Agua (CONAGUA). Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). México, D.F.
- Estrategia Nacional para la Transición Energética y el Aprovechamiento Sustentable de la Energía (2011) Dirección General de Planeación Energética. Secretaría de Energía (SENER). México, D.F.
- Fang HHP, Liu H (2002) Effect of pH on hydrogen production from glucose by a mixed culture. *Bioresource Technology***82**, 87-93.
- Fatih Demirbas M, Balat M, Balat H (2011) Biowastes-to-biofuels. *Energy Conversion and Management***52**, 1815-1828.

- Gan J J (2010). Eliminación de materia carbonada de residuos líquidos orgánicos municipales en un filtro anaerobio. Tesis de especialidad. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa, México, D.F.
- Gómez X, Cuetos MJ, Prieto JI, Morbn A (2009) Bio-hydrogen production from waste fermentation: Mixing and static conditions. *Renewable Energy***34**, 970-975.
- Gong ML, Ren NQ, Xing DF (2005) Start-up of bio-hydrogen production reactor seeded with sewage sludge and its microbial community analysis. *Water Science and Technology***52**, 115-121.
- Guo XM, Trably E, Latrille E, CarrFre H, Steyer JP (2010a) Hydrogen production from agricultural waste by dark fermentation: A review. *International Journal of Hydrogen Energy***35**, 10660-10673.
- Guo Y, Kim S, Sung S, Lee P (2010b) Effect of ultrasonic treatment of digestion sludge on bio-hydrogen production from sucrose by anaerobic fermentation. *International Journal of Hydrogen Energy***35**, 3450-3455.
- Hallenbeck PC (2005) Fundamentals of the fermentative production of hydrogen. *Water Science and Technology***52**, 21-29.
- Hammes F, Kalogo Y, Verstraete W (2000) Anaerobic digestion technologies for closing the domestic water, carbon and nutrient cycles. *Water Science and Technology***41**, 203-211.
- Han SK, Kim SH, Shin HS (2005) UASB treatment of wastewater with VFA and alcohol generated during hydrogen fermentation of food waste. *Process Biochemistry***40**, 2897-2905.
- Hashimoto S, Liu Y, Mori M, Funahashi Y, Fujishiro Y (2009) Study of steam electrolysis using a microtubular ceramic reactor. *International Journal of Hydrogen Energy***34**, 1159-1165.
- Holladay JD, Hu J, King DL, Wang Y (2009) An overview of hydrogen production technologies. *Catalysis Today***139**, 244-260.
- Iulianelli A, Liguori S, Calabro V, Pinacci P, Basile A (2010) Partial oxidation of ethanol in a membrane reactor for high purity hydrogen production. *International Journal of Hydrogen Energy***35**, 12626-12634.
- Jiménez G A (1999) Tratamiento anaerobio de un surfactante no iónico y los efluentes del lavado de un suelo contaminado con hidrocarburos. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa, México, D.F.
- Karn RK, Srivastava ON (1998) On the structural and photochemical studies of In₂O₃-admixed nanostructured TiO₂ with regard to hydrogen production through photoelectrolysis. *International Journal of Hydrogen Energy***23**, 439-444.
- Kosaric N, Blaszczyk R, Orphan L, Valladares J (1990) The characteristics of granules from upflow anaerobic sludge blanket reactors. *Water Research***24**, 1473-1477.

- Kothari R, Buddhi D, Sawhney RL (2008) Comparison of environmental and economic aspects of various hydrogen production methods. *Renewable and Sustainable Energy Reviews***12**, 553-563.
- Koutrouli EC, Kalfas H, Gavala HN, Skiadas IV, Stamatelatos K, Lyberatos G (2009) Hydrogen and methane production through two-stage mesophilic anaerobic digestion of olive pulp. *Bioresource Technology***100**, 3718-3723.
- Lee MJ, Song JH, Hwang SJ (2009) Effects of acid pre-treatment on bio-hydrogen production and microbial communities during dark fermentation. *Bioresource Technology***100**, 1491-1493.
- Li SD, Wang CC, Chen CY (2009) Water electrolysis for H₂ production using a novel bipolar membrane in low salt concentration. *Journal of Membrane Science***330**, 334-340.
- Lin CN, Wu SY, Lee KS, Lin PJ, Lin CY, Chang JS (2007) Integration of fermentative hydrogen process and fuel cell for on-line electricity generation. *International Journal of Hydrogen Energy***32**, 802-808.
- Linerio J, Guzmán A (2004). Tratamiento de efluentes y aprovechamiento de residuos en *Ciencia y tecnología del tequila: avances y perspectivas*. Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco. CIATEJ A.C. Guadalajara, Jalisco, México, 259-281
- Madigan TM, Martinko MJ, Parker J (2004) Brock, Biología de los microorganismos. Pearson Educación. 10° Edición
- Maintinguer SI, Fernandes BS, Duarte ICS, Saavedra NK, Adorno MA, Varesche MB (2008) Fermentative hydrogen production by microbial consortium. *International Journal of Hydrogen Energy***33**, 4309-4317.
- Mathews J, Wang G (2009) Metabolic pathway engineering for enhanced biohydrogen production. *International Journal of Hydrogen Energy***34**, 7404-7416.
- Metcalf and Eddy, Inc (2003) Wastewater engineering. Treatment and reuse. Fourth Edition. McGraw Hill. USA.
- Mizuno O, Dinsdale R, Hawkes FR, Hawkes DL, Noike T (2000) Enhancement of hydrogen production from glucose by nitrogen gas sparging. *Bioresource Technology***73**, 59-65.
- Mohan SV, Rao NC, Sarma PN (2007) Low-biodegradable composite chemical wastewater treatment by biofilm configured sequencing batch reactor (SBBR). *Journal of Hazardous Materials***144**, 108-117.
- Montes-Moncivais JA (2008) Evaluación de los parámetros operacionales para la producción de hidrógeno a partir de la biodegradación de vinazas. Tesis de maestría. Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Moreno G, Cruz A, Buitron G (1999) Influence of So/Xo ratio on anaerobic activity test. *Water Science and Technology***40**, 9-15.

- Moreno-Andrade I, Buitron G (2004) Influence of the origin of the inoculum on the anaerobic biodegradability test. *Water Science and Technology***49**, 53-59.
- Oslaj M, Mursec B, Vindis P (2010) Biogas production from maize hybrids. *Biomass and Bioenergy***34**, 1538-1545.
- Pakarinen O, Lehtomski A, Rintala J (2008) Batch dark fermentative hydrogen production from grass silage: The effect of inoculum, pH, temperature and VS ratio. *International Journal of Hydrogen Energy***33**, 594-601.
- Poeschl M, Ward S, Owende P (2010) Prospects for expanded utilization of biogas in Germany. *Renewable and Sustainable Energy Reviews***14**, 1782-1797.
- Prospectiva del mercado del gas natural 2006-2015 (2006) Dirección General de Planeación Energética. Secretaría de Energía (SENER). México, D.F.
- Ramalho RS (2003) Tratamiento de Aguas Residuales. Reverté. España.
- Rao PV, Baral SS, Dey R, Mutnuri S (2010) Biogas generation potential by anaerobic digestion for sustainable energy development in India. *Renewable & Sustainable Energy Reviews***14**, 2086-2094.
- Rasi S, Veijanen A, Rintala J (2007) Trace compounds of biogas from different biogas production plants. *Energy***32**, 1375-1380.
- Raven RPJM, Gregersen KH (2007) Biogas plants in Denmark: successes and setbacks. *Renewable and Sustainable Energy Reviews***11**, 116-132.
- Ren NQ, Tang J, Liu BF, Guo WQ (2010) Biological hydrogen production in continuous stirred tank reactor systems with suspended and attached microbial growth. *International Journal of Hydrogen Energy***35**, 2807-2813.
- Seo JG, Youn MH, Bang Y, Song IK (2011) Hydrogen production by steam reforming of simulated liquefied natural gas (LNG) over mesoporous nickel-M-alumina (M=Ni, Ce, La, Y, Cs, Fe, Co, and Mg) aerogel catalysts. *International Journal of Hydrogen Energy***36**, 3505-3514.
- Singh RP, Kumar S, Ojha CSP (1998) A critique on operational strategies for start-up of UASB reactors: effects of sludge loading rate and seed/biomass concentration. *Biochemical Engineering Journal* **1**, 107-119.
- Thong S, Prasertsan P, Birkeland NK (2009) Evaluation of methods for preparing hydrogen-producing seed inocula under thermophilic condition by process performance and microbial community analysis. *Bioresource Technology***100**, 909-918.
- Thungklin P, Reungsang A, Sittijunda S (2011) Hydrogen production from sludge of poultry slaughterhouse wastewater treatment plant pretreated with microwave. *International Journal of Hydrogen Energy***36**, 8751-8757.
- Timur H, İztürk I (1999) Anaerobic sequencing batch reactor treatment of landfill leachate. *Water Research***33**, 3225-3230.

Ueno Y, Haruta S, Ishii M, Igarashi Y (2001) Characterization of a microorganism isolated from the effluent of hydrogen fermentation by microflora. *Journal of Bioscience and Bioengineering***92**, 397-400.

US Patent 5980756 (1999) Treatment method and system for aircraft toilet waste water. US Patent November 9, 1999.

Valdez-Vazquez I, Poggi-Varaldo HM (2009) Hydrogen production by fermentative consortia. *Renewable and Sustainable Energy Reviews***13**, 1000-1013.

van Lier JB, Hulsbeek J, Stams AJM, Lettinga G (1993) Temperature susceptibility of thermophilic methanogenic sludge: Implications for reactor start-up and operation. *Bioresource Technology***43**, 227-235.

Venetsaneas N, Antonopoulou G, Stamatelatos K, Kornaros M, Lyberatos G (2009) Using cheese whey for hydrogen and methane generation in a two-stage continuous process with alternative pH controlling approaches. *Bioresource Technology***100**, 3713-3717.

Wang J, Wan W (2008) Effect of temperature on fermentative hydrogen production by mixed cultures. *International Journal of Hydrogen Energy***33**, 5392-5397.

Wang X, Niu Dj, Yang Xs, Zhao Yc (2008) Optimization of methane fermentation from effluent of bio-hydrogen fermentation process using response surface methodology. *Bioresource Technology***99**, 4292-4299.

Weijermars R (2010) Value chain analysis of the natural gas industry: Lessons from the US regulatory success and opportunities for Europe. *Journal of Natural Gas Science and Engineering***2**, 86-104.

White AJ, Kirk DW, Graydon JW (2011) Analysis of small-scale biogas utilization systems on Ontario cattle farms. *Renewable Energy***36**, 1019-1025.

Wood N (2008) Pretreatment of pulp mill wastewater treatment residues to improve their anaerobic digestion. University of Toronto.

Yadvika, Santosh, Sreekrishnan TR, Kohli S, Rana V (2004) Enhancement of biogas production from solid substrates using different techniques--a review. *Bioresource Technology***95**, 1-10.

Zhang H, Bruns MA, Logan BE (2006) Biological hydrogen production by *Clostridium acetobutylicum* in an unsaturated flow reactor. *Water Research***40**, 728-734.

Zhu H, Stadnyk A, Bolland M, Seto P (2008) Co-production of hydrogen and methane from potato waste using a two-stage anaerobic digestion process. *Bioresource Technology***99**, 5078-5084.

www.crt.org.mx

www.gas.pemex.com

www.energia.gob.mx

Participación en el Coloquio de Tecnología de la UNAM

- A. Martínez, J.A. Montes & G. Buitrón. Producción de hidrógeno a partir de la biodegradación de vinazas de la industria tequilera. Memorias del Primer Coloquio de Tecnología de la UNAM. 19 de junio de 2008. Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada. Campus UNAM, Juriquilla. Querétaro, México.
- A. Martínez, C. Carvajal, G. Moreno & G. Buitrón. Producción de hidrógeno a partir de la biodegradación de vinazas de la industria tequilera. Memorias del Segundo Coloquio de Tecnología de la UNAM. 14 de enero de 2009. Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada. Campus UNAM, Juriquilla. Querétaro, México
- A. Martínez, G. Moreno & G. Buitrón. Producción de Hidrógeno a partir del tratamiento de aguas de la industria Tequilera. Memorias del Tercer Coloquio de Tecnología de la UNAM. 25 de junio de 2009. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Cuautitlán. Edo. de México, México.
- A. Martínez, G. Moreno & G. Buitrón. Producción de hidrógeno a partir de la biodegradación de vinazas de la industria tequilera. Fase metanogénica. Cuarto Coloquio de Tecnología de la UNAM. 27 de enero de 2010. Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada. Campus UNAM, Juriquilla. Querétaro, México
- A. Martínez, G. Moreno, I. Moreno & G. Buitrón. Producción de hidrógeno a partir del tratamiento de aguas residuales inhibitorias. Memorias del Quinto Coloquio de Tecnología de la UNAM. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Cuautitlán: ISBN: 978- 607-02-1439-4, UNAM, 23 de junio de 2010
- A. Martínez, G. Moreno & G. Buitrón. Effect of tequila vinasse concentration on organic matter removal, hydrogen and methane production. Sexto Coloquio de Tecnología de la UNAM. 29 de junio de 2011. Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada. Campus UNAM, Juriquilla. Querétaro, México.

Participación en congresos nacionales

- A. Martínez, G. Moreno and G. Buitrón. Methane co-production from effluent of a hydrogen fermentation reactor treating tequila vinasses. México National YWP Conference - Querétaro, México 12-April-10 - 14-April-10

Participación en eventos internacionales

- Andrés Martínez, Gloria Moreno, Iván Moreno-Andrade and Germán Buitrón. Potential of Bio-hydrogen production from aircrafts wastewaters. 12th World Congress on Anaerobic Digestion. October 31st – November 4th 2010. Guadalajara. México.
- Andrés Martínez, Carolina Carvajal, Gloria Moreno y Germán Buitrón Generación de Bio-Hidrógeno a partir de Aguas Residuales Industriales. III Foro Internacional de Ciencia e Ingeniería Categoría Supranivel. Exposición oral. 27 de abril de 2009. Santiago, Chile.

Premios obtenidos durante el desarrollo del tema de tesis

Segundo lugar

Exposiciones del Bajío. Área: Medio Ambiente
Categoría: Superior. Septiembre 2008.

Primer lugar

Exposiciones Nacional. Área Medio Ambiente
Categoría: Superior. Octubre 2008.

Segundo lugar

Segundo Coloquio de Tecnología.
UNAM Campus Juriquilla. Enero 2009.

Primer lugar

Tercer Coloquio de Tecnología. Área: Tecnología Ambiental.
FES Cuautitlán. Junio 2009.

Primer lugar

Exposiciones del Bajío. Área: Medio Ambiente.
Categoría: Superior. Septiembre 2009.

Primer lugar

Cuarto Coloquio de Tecnología. Área: Tecnología Ambiental.
UNAM Campus Juriquilla. Enero 2010.

Mención honorífica

Second México Young Water Professional Conference.
UNAM campus Juriquilla. Querétaro. April 2010.

Primer lugar

Quinto Coloquio de Tecnología. Área: Tecnología Ambiental.
FES Cuautitlán. Junio 2010.

Primer lugar

Sexto Coloquio de Tecnología. Área: Tecnología Ambiental.
UNAM Campus Juriquilla.
Enero 2011.

Por mi raza hablará el espíritu.