



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN INGENIERÍA
INGENIERÍA ENERGÍA – FUENTES RENOVABLES

SEGUIMIENTO DE LA DIGESTIÓN ANAEROBICA DE BIOMASA ALGAL EN UN
DEMO-SITE. EVALUACIÓN DEL PRETRATAMIENTO TÉRMICO Y
COSUSTRATOS

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

PRESENTA:
I.Q. LAURA GABRIELA VARGAS ESTRADA

TUTOR PRINCIPAL:
DR. JOSEPH SEBASTIAN PATHIYAMATTOM
INSTITUTO DE ENERGÍAS RENOVABLES

TEMIXCO, MORELOS

AGOSTO 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

Presidente: Dr. Gamboa Sánchez Sergio Alberto
Secretario: Dra. Longoria Hernández Adriana Margarita
Vocal: Dr. Pathiyamattom Joseph Sebastian
1 er. Suplente: Dr. Álvarez Gallegos Alberto A.
2 d o. Suplente: Dr. Moreira Acosta Joel

Lugar o lugares donde se realizó la tesis:
Temixco, Morelos, México
Barcelona, España

TUTOR DE TESIS:

Dr. Joseph Sebastian Pathiyamattom

FIRMA

*"La vida no es la que uno vivió, sino la que uno
recuerda, y cómo la recuerda para contarla".
-Gabriel García Márquez*

"Sin sacrificio no hay victoria"

Contenido

Agradecimientos	13
Dedicatorias	15
Abstract	17
Resumen	18
Capítulo 1 Introducción	19
1.1 Microalgas	21
1.2 Digestión Anaerobia	23
1.2.1 Factores Ambientales y Operacionales	25
1.2.2 Inhibición del Proceso Anaerobio	26
1.3 Co-digestión Anaerobia	27
1.4 Digestión Anaerobia de Microalgas	28
1.5 Pretratamiento	29
1.5.1 Pretratamiento Térmico	34
1.6 Co-digestión Anaerobia de Microalgas	35
Objetivos	39
Justificación	40
Marco de Referencia	42
Capítulo 2 Metodología	44
2.1 Demo-site	45
2.1.1 Línea de Digestión Anaerobia	48
2.1.1.1 Tanque de Homogeneización de Co-sustrato	49

2.1.1.2 Tanque de Homogeneización de Algas	49
2.1.1.3 Tanque de Hidrólisis	50
2.1.1.4 Digestor Anaerobio	51
2.1.1.5 Medidor de Gas	52
2.1.1.6 Gasómetro	53
2.1.1.7 Tanque de Salida	54
2.2 Biomasa Algal	54
2.3 Lodo Primario y Lodo Secundario	57
2.4 Inóculo	57
2.5 Pretratamiento Térmico	58
2.5.1 Solubilidad de la Materia Orgánica	59
2.6 Ensayos para Determinar el Potencial Bioquímico de Metano (BMP)	59
2.6.1 Cinética de Degradación	65
2.6.2 Contenido de Metano	66
2.7 Reactor Continuo	69
2.7.1 Efecto del Pretratamiento Térmico	71
2.7.2 Relación Carbono/Nitrógeno (C/N)	72
2.7.3 Tasa de Carga Orgánica (OLR)	73
2.7.4 Remoción de Sólidos Totales (ST) y Sólidos Volátiles (SV)	73
2.7.5 Producción Teórica de Biogás	74
2.7.6 Producción Diaria de Biogás ($PD_{\text{Biogás}}$)	75
2.7.7 Contenido de Metano	76
2.7.8 Tasa de Producción de Biogás ($P_{\text{Biogás}}$) y Tasa de Producción de Metano (P_{Metano})	76
2.7.9 Producción Específica de Biogás ($PE_{\text{Biogás}}$) y Producción Específica de Metano (PE_{Metano})	76

Capítulo 3 Discusión de Resultados	78
3.1 Ensayos BMP	78
3.1.1 Evaluación del Pretratamiento Térmico	78
3.1.2 Efecto del Pretratamiento Térmico y Co-sustratos en la Producción de Biogás	80
3.2 Reactor Continuo	88
3.2.1 Evaluación del Pretratamiento Térmico	88
3.2.1.1 Análisis del Contenido de ST y SV	88
3.2.1.2 Análisis de la DQO _T , DQO _s , Amonio y Fósforo Total	91
3.2.2 Co-digestión Anaerobia de la Biomasa Algal y Lodo Secundario	97
3.2.2.1 Evaluación del Desempeño del Reactor Anaerobio en el Primer Periodo de Estudio	98
3.2.2.2 Evaluación del Desempeño del Reactor Anaerobio en el Segundo Periodo de Estudio	102
3.2.2.3 Evaluación del Desempeño del Reactor Anaerobio en el Tercer Periodo de Estudio	106
Capítulo 4 Conclusiones y Recomendaciones	113
Bibliografía	115
ANEXO	122
Determinación Colorimétrica de Amonio	123
Determinación de la DQO (Demanda Química de Oxígeno): Método de Reflujo Cerrado - Método Colorimétrico	129
Determinación de Fósforo Total	135
Determinación de Sólidos Totales y Sólidos Volátiles	138
Determinación de TC y TN	141
Determinación de Grasas - Método Soxhlet	143
Determinación de Proteínas - Método Kjeldahl	147
Determinación de Carbohidratos - Método de Dubois (fenol/sulfúrico)	150

Índice de Figuras

Figura 2.1 Ubicación del parque experimental Agrópolis de la UPC	45
Figura 2.2 Diagrama de flujo del demo-site	47
Figura 2.3 Diagrama de flujo de la línea de digestión anaerobia del demo-site	48
Figura 2.4 Tanque de homogeneización de co-sustrato	49
Figura 2.5 Tanque de homogeneización de algas	50
Figura 2.6 Tanque de hidrólisis	51
Figura 2.7 Digestor anaerobio	52
Figura 2.8 Medidor de gas	53
Figura 2.9 Gasómetro	53
Figura 2.10 Muestreador de gas	53
Figura 2.11 Tanque de salida	54
Figura 2.12 Fotobiorreactores tubulares horizontales semi-cerrados	55
Figura 2.13 Sedimentador	56
Figura 2.14 Preparación de los ensayos BMP	61
Figura 2.15 Preparación de los ensayos BMP	61
Figura 2. 16 Crimper utilizado para sellar las botellas de suero	62
Figura 2.17 Incubadora con botellas	62
Figura 2.18 Manómetro digital	63

Figura 2.19 Medición de la presión en el interior de las botellas	64
Figura 2.20 Cromatógrafo de gases Thermo Finnigan	66
Figura 2.21 Jeringa de gases	67
Figura 2.22 Cromatograma	68
Figura 2.23 Pantalla principal del software que controla los equipos e instrumentos de la línea de digestión anaerobia	70
Figura 2.24 Consignas de temperatura y niveles	70
Figura 2.25 Control de temporizadores de bombas	71
Figura 2.26 Muestras de biomasa algal del demo-site	72
Figura 2.27 Analizador de TOC/TN _b	73
Figura 3.1 Producción acumulada de biogás [mL/gSV] después de 40 días	80
Figura 3.2 Producción acumulada de metano [mL _{CH₄} /gSV] después de 40 días de incubación.	82
Figura 3.3 Producción acumulada de metano [mL _{CH₄} /gSV] después de 40 días de incubación.	83
Figura 3.4 Contenido de Sólidos Totales [g/L] en la biomasa algal antes y después del pretratamiento térmico	89
Figura 3.5 Contenido de Sólidos Volátiles (g/L) en la biomasa algal antes y después del pretratamiento térmico	89
Figura 3.6 DQO _T en la biomasa algal antes y después del pretratamiento térmico	92
Figura 3.7 DQO _S en la biomasa algal antes y después del pretratamiento térmico	93
Figura 3.8 Concentración de amonio en la biomasa algal antes y después del pretratamiento térmico	96

Figura 3.9 Contenido de fósforo total en la biomasa algal antes y después del pretratamiento térmico	97
Figura 3.10 Contenido de Sólidos Totales (ST) en el influente y en el efluente, y porcentaje de ST removidos durante los tres periodos de estudio	99
Figura 3.11 Contenido de Sólidos Volátiles (SV) en el influente y en el efluente, y porcentaje de SV removidos durante los tres periodos de estudio	99
Figura 3.12 Registro del pH del digestor durante el primer periodo de estudio	100
Figura 3.13 Registro de temperatura del digestor durante el primer periodo de estudio	101
Figura 3.14 Concentración de amonio [mg/L] en el influente y en el efluente durante los diferentes periodos de estudio	102
Figura 3.15 Valores de Temperatura registrados durante el segundo periodo de estudio	104
Figura 3.16 Valores de pH durante el segundo periodo de estudio	105
Figura 3.17 Valores de Temperatura registrados durante el tercer periodo de estudio	107
Figura 3.18 Valores de pH durante el tercer periodo de estudio	108

Índice de Tablas

Tabla 1.1 Comparación del rendimiento experimental de CH ₄ de diferentes especies de microalgas antes y después de recibir un pretratamiento	32
Tabla 1.2 Comparación del rendimiento de metano de biomasa algal sin pretratar, pretratada y co-digerida con sustratos ricos en carbono	37
Tabla 2.1 Características fisicoquímicas de la biomasa utilizada en este estudio	58
Tabla 2.2 Proporciones de biomasa algal pretratada térmicamente y co-sustrato evaluadas en éste estudio	60
Tabla 3.1. DQOs antes y después del pretratamiento térmico en la biomasa algal	79
Tabla 3.2 Resultados de los ensayos BMP después de 40 días de incubación	84
Tabla 3.3 Aumento en la producción de biogás en los ensayos de co-digestión	86
Tabla 3.4 Biodegradación de la materia orgánica en cada ensayo	87
Tabla 3.5 Contenido de SV en la biomasa algal antes y después del pretratamiento térmico	91
Tabla 3.6 Grado de Solubilidad en la biomasa algal después del pretratamiento térmico durante el periodo de estudio	94
Tabla 3.7 Resultados de la evaluación de la digestión anaerobia de los diferentes periodos de estudio	109
Tabla 3.8 Comparación de la producción teórica y producción experimental de biogás durante los diferentes periodos de estudio	110

Agradecimientos

Quiero agradecer al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo económico que me brindó para realizar mis estudios de maestría y sobre todo por hacer posible mi estancia en la Universitat Politècnica de Catalunya (UPC) BarcelonaTech.

A la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) es un orgullo salir y decir que formo parte la máxima casa de estudios de México, gracias por la oportunidad.

Al Instituto de Energías Renovables (IER) la institución que me ha formado, gracias por los conocimientos y experiencias adquiridos en tus aulas, gracias por tu calurosa hospitalidad.

Al Dr. Joseph Sebastian Pathiyamatton, mi tutor, gracias doctor por compartir parte de sus conocimientos y experiencias en las aulas, por su apoyo y tutoría, gracias por siempre brindar apoyo a sus alumnos en sus estudios de posgrado.

A la Dra. Adriana Longoria, gracias por ser una pieza fundamental en mi etapa de formación, gracias por la asesoría y el apoyo que siempre me ha brindado.

Quiero hacer un especial agradecimiento a la Universitat Politècnica de Catalunya (UPC) Barcelona.Tech Campus Nord, por el convenio que hizo posible éste trabajo de maestría, en especial al Grupo de Ingeniería Ambiental y Microbiología (GEMMA), gracias por dejarme hacer uso de sus instalaciones y equipos. Gracias al proyecto INCOVER de la Unión Europea por la oportunidad de realizar mis experimentos.

A los investigadores y alumnos del GEMMA que compartieron sus conocimientos y experiencias, los cuales fueron una pieza fundamental en mi formación y estancia en al UPC, los cuales nombro a continuación:

Un especial agradecimiento al IQ Javier Carretero, Javi gracias por las enseñanzas lo que bien se aprende jamás se olvida y tus enseñanzas siempre llevarán un lugar muy especial en mí.

También quiero hacer un agradecimiento especial a la estudiante de Doctorado del GEMMA Larissa Terumi Arashiro, gracias por compartir tus conocimientos, por tu amabilidad y tu amistad. A Dulce Arias, Marco Hartl, Vojtech Belohlav, estudiantes de doctorado del GEMMA, a mis lab partners, Albert, Catalina, Arnau y Toni, gracias por los gratos momentos.

Por último, quiero agradecer a la Dra. María de Jesús García Galán, a la Dra. Enrica Uggetti y al Dr. Joan García.

Dedicatorias

Realizar éste trabajo no fue fácil, desde el inicio hasta el final ha sido uno de los mayores retos que se me ha presentado en mi corta vida, por eso, quiero agradecer a Dios, por nunca abandonarme, sobre todo en los momentos que pasé lejos de casa, gracias por la fuerza y la esperanza.

“La vida no es la que uno vivió, sino la que uno recuerda, y cómo la recuerda para contarla” ¡cuánta razón guarda Gabriel García Márquez en esa frase! Pocas son las personas que han seguido mi travesía desde que comencé mis estudios de maestría, por eso, primero que nada, quiero dedicar mi trabajo a mis padres, gracias por siempre alentarme a seguir mis sueños y por nunca cortar mis alas sin importar que tan lejos me lleven de ustedes; sé que la hija que se fue no es la misma hija que regresó, la transición ha sido difícil, pero gracias por su esfuerzo de volverla amena. Sé que nunca podré recuperarles esos cumpleaños, ni esa Navidad ni Año Nuevo, pero quiero que sepan que ustedes (y Jake) siempre estuvieron presentes en mi mente y en mi corazón. Gracias mami por siempre apoyar mis locuras. Discúlpenme por ser esa hija rebelde que siempre tiene los pies en la tierra y la cabeza en las nubes, pero, ¡no puedo evitarlo! Gracias, los amo, es bueno estar en casa.

A mi hermana, Karla, gracias por ser mi confidente y amiga, por escucharme y secar mis lágrimas, aunque fuera por FaceTime, cuando más lo necesité. Eres de las pocas personas que conoció parte de mi travesía, gracias por entender y siempre escuchar sin importar la diferencia de horario, quiero que sepas que tu visita a Barcelona me alegró la vida, espero que la hayas disfrutado tanto como yo. Gracias, te amo.

A Joel Jaime, you have made this journey easier, happier and unforgettable! A pesar de que nos separaban 9,612 km y una diferencia de horario de 9 horas, convertiste los km en cm y desapareciste la diferencia de horario, fueron meses difíciles, pero tu paciencia, esfuerzo y dedicación me hizo entender que la distancia jugó a nuestro favor y nos enseñó que cuando el amor es fuerte ningún océano, frontera, muro, río o desierto lo destruirá. Gracias por ser mi

alarma, por acompañarme a desayunar, por secar mis lágrimas cuando lo necesité, por poner una sonrisa en mi cara todos los días, por tomar vino conmigo, pero, sobre todo, gracias por volver posible el sueño de cruzar el Atlántico y ponerle más puntitos a mi mapa. Gracias por tu amor, tu amistad y tu fidelidad, nunca ninguna magnitud será suficiente para medir el amor que siento por ti. Gracias por alentarme y animarme todos los días, por siempre creer en mí, incluso cuando yo misma dejé de hacerlo, llenas mi mundo de colores. ¡T' estimo hilo rojo!

A mis familiares y amigos que me siguieron. Gracias.

Finalmente, quiero dedicar este párrafo para hablar un poco de mi experiencia en Barcelona, si bien no fue nada fácil, fue una experiencia inolvidable de principio a fin y, después de todo, solo quiero decir gracias Barcelona por adoptarme este tiempo, fuiste y serás un trago semi-amargo que siempre querré tomar. Extrañaré tus calles, tus colores, tus olores y tus sabores, eres una ciudad única y rica en belleza y cultura, te conocí de una manera especial y así es como siempre te recordaré, me transformaste y sacaste a relucir un lado que no sabía que tenía ¡gracias! Aprendí a vivir contigo, me enseñaste quien de verdad me quiere y me aprecia, me enseñaste que las envidias vienen hasta de tu propia familia y que hasta tus propios compatriotas te dan la espalda, pero también me enseñaste a sonreír a pesar de todo, me enseñaste lo que es un buen pan y a tomar buen vino, gracias por ampliar mis gustos gastronómicos, culturales, sociales, etc. Por esto y mucho más siempre tendrás un lugar muy especial en mi corazón. Barça I had the time of my life fighting dragons with you!

Abstract

Microalgae have the potential to reach future energy demands but its high production cost limits its use. The cultivation of microalgae in wastewater promises to be a technique that reduces production costs of this type of biomass resulting in economic and environmental benefits. The use of microalgae for biogas production and its subsequent use as a source of heat, electricity or even transport fuel promises to be a simple and direct pathway to recover energy from this algal biomass. Previous studies have shown that the biogas production from microalgae is enhanced when the algal biomass is pretreated and co-digested with a different substrate.

This study evaluates the biochemical methane potential of algal biomass cultivated in wastewater, thermally pretreated (75°C, 20h), and two different co-substrates: primary and secondary sludge, to find the optimal co-substrate and relation of algal biomass/co-substrate for its subsequent scaling in a demo-site. BMP tests were carried out in the laboratory and three different proportions of algal biomass were evaluated (25%, 45% and 70%, in VS basis). After 40 days of incubation under mesophilic conditions, the highest biogas yields were recorded when 25% of algal biomass was added, obtaining 452.23 mL_{biogas}/gVS for primary sludge and 253.5 mL_{biogas}/gVS for secondary sludge.

Thus, the optimal conditions were scaled in the demo-site and an average daily biogas production up to 50.45 L/d was registered at an organic loading rate of 0.77 gVS/Ld and input flow of 22.5 L/d with a working volume of 450 L.

Resumen

Las microalgas poseen el potencial suficiente para cubrir las demandas energéticas futuras, pero su alto costo de producción ha limitado su uso. Recientemente se ha demostrado que el cultivo de microalgas en aguas residuales reduce significativamente los costos de producción. La digestión anaerobia, es una técnica simple y directa para recuperar energía de las microalgas. Recientemente se ha reportado que la producción de biogás de microalgas se aumenta cuando la biomasa es pretratada y co-digerida con un sustrato diferente.

En éste estudio se evalúa el potencial bioquímico de metano de biomasa algal, cultivada en aguas residuales la cual es pretratada térmicamente (75°C, 20 h), con dos sustratos diferentes: lodo primario y lodo secundario, con el fin de encontrar el co-sustrato y la relación óptima de co-sustrato/biomasa algal para su posterior escalamiento. Se llevaron a cabo ensayos BMP a nivel laboratorio en donde se evaluaron tres proporciones diferentes de biomasa algal (25%, 45%, 70%, en términos de SV). Después de 40 días de incubación bajo condiciones mesofílicas, los mayores rendimientos de biogás se registraron cuando se agregó 25% de biomasa algal y 75% de co-sustrato, obteniendo 452.23 mL_{biogás}/gSV para lodo primario y 253.5 mL_{biogás}/gSV para lodo secundario.

Posteriormente, se aplicaron las condiciones óptimas de co-digestión anaerobia en un demo-site y se registró una producción promedio diaria de biogás de hasta 50.45 L/d, a una carga orgánica de 0.77 gSV/Ld y un caudal de entrada de 22.5 L en un volumen de trabajo de 450 L.

Capítulo 1

Introducción

En los últimos 50 años, la población mundial ha aumentado de manera significativa y descontrolada, trayendo como consecuencia un aumento en la demanda energética. Actualmente se estima que más del 88% de la demanda energética mundial es abastecida con combustibles fósiles (Ajeej et al., 2015; Chen et al., 2013; Milano et al., 2016). Para el año 2040, se espera que la demanda energética mundial aumente en un tercio; además, se estima que para el año 2030 las reservas mundiales de petróleo disminuirán (Mussgnug et al., 2010a; Zhu et al., 2016), ocasionando un aumento en el precio de los energéticos.

El uso descontrolado de combustibles fósiles ha ocasionado un daño ambiental que puede ser mitigado y reparado si se reduce o elimina su uso. La combustión de combustibles fósiles emite gases de efecto invernadero (GEI), como el dióxido de carbono (CO_2) (Brennan & Owende, 2010; Milano et al., 2016) los cuales quedan suspendidos en el medio ambiente, ocasionando, un aumento en la temperatura que puede llegar a causar daños irreversibles en los ecosistemas naturales e incluso la extinción de especies. Así, investigadores de todo el mundo, especialmente de países industrializados, se han enfocado en el desarrollo de alternativas energéticas que sean renovables, económicamente competitivas y ambientalmente compatibles que sustituyan o disminuyan el uso de los combustibles fósiles. Las fuentes limpias de energía, además de tener beneficios ambientales, también poseen beneficios sociales pues están íntimamente ligados a una

estabilidad global, una prosperidad económica y a una buena calidad de vida en la población de los países que las utilizan (Chen et al., 2013; Maurya et al., 2016; Parmar et al., 2011).

Para reducir el uso de combustibles fósiles se han desarrollado diferentes fuentes renovables de energía como son la solar, la eólica, la mareomotriz, la geotérmica y la bioenergía. Debido a que la mayor fuente de energía en el mundo es la radiación solar, se han desarrollado métodos y tecnologías que la recuperen y aprovechen al máximo, como son los paneles fotovoltaicos, los colectores solares, los concentradores solares, sistemas de calentamiento solar y la producción de biomasa para su subsecuente conversión a energía (Lam & Lee, 2012; Mussnug et al., 2010b).

Las plantas poseen un gran potencial para capturar y almacenar una gran cantidad de energía solar en forma de biomasa a través del proceso de la fotosíntesis. La biomasa producida puede ser convertida en biocombustibles como biogás, biodiesel, gas de síntesis y/o etanol para la producción de energía en forma de calor o electricidad e incluso, para ser utilizados como combustibles de transporte. De acuerdo a un estudio realizado por la Agencia Internacional de Energía (IEA, por sus siglas en inglés), la energía producida de combustibles renovables y desperdicios orgánicos es la que presenta un mayor potencial entre las demás fuentes renovables.

La biomasa utilizada para la producción de energía, ya sea en forma de electricidad o calor, va desde cultivos energéticos, desechos municipales y organismos como las micro y macroalgas. Los cultivos energéticos se refieren a cultivos como el maíz o caña de azúcar que están destinados a la producción de energía, como el etanol. Los cultivos energéticos tienen la ventaja de poseer excelentes rendimientos de producción de biocombustibles, sin embargo, existe una gran controversia tanto ética como social en su uso y es por eso que se ha optado por el uso de residuos orgánicos para la producción de biocombustibles. La ventaja de utilizar residuos orgánicos, como son los residuos agrícolas, residuos de ganadería, residuos industriales y la fracción orgánica de residuos urbanos, es que se hace una buena disposición de los desperdicios, evitando la contaminación ambiental, y se genera energía de una manera renovable sin causar controversias sociales, sin embargo, sobre todo en países en desarrollo, la población no tiene la cultura de separar sus desechos, lo cual es un factor que limita y dificulta el uso de la fracción orgánica de los desechos municipales. La desventaja que tiene el uso de desechos orgánicos para la producción de biocombustibles es que presenta bajos rendimientos de producción debido principalmente a su composición química. En los últimos años, se han buscado nuevas fuentes de biomasa que no tengan un impacto negativo y controversial en la sociedad con altos rendimientos de producción

de biocombustibles como los cultivos energéticos. Las micro y macro algas han ganado la atención de los científicos alrededor del mundo para la producción de biocombustibles debido a que presentan grandes ventajas sobre otros tipos de biomasa. Las microalgas cuentan con el potencial para satisfacer las necesidades energéticas futuras de la población mundial y, aunque aún falta mucha investigación por realizar para que su uso alcance un nivel de producción industrial, los estudios reportados hasta ahora muestran resultados comprometedores (Heaven et al., 2011; Vasco-Correa et al., 2018; Ward et al., 2014).

1.1 Microalgas

Las microalgas son microorganismos fotosintéticos unicelulares que, a través del proceso de fotosíntesis, utilizan la luz solar y el CO₂ que se encuentra en el ambiente para producir biomasa hasta 100 veces más rápido que las plantas (Bahadar & Bilal Khan, 2013; Klassen et al., 2016; Lam & Lee, 2012). Actualmente, las microalgas se han convertido en una alternativa atractiva, interesante y viable para la producción de biocombustibles (Erkelens et al., 2014; Ward et al., 2014) debido a que poseen ciertas ventajas sobre los cultivos energéticos como la capacidad de producirse todo el año a diferencia de algunos cultivos energéticos que sólo pueden cultivarse en ciertas temporadas (Brennan & Owende, 2010) además, requieren una menor cantidad de agua y menores áreas de terreno que los cultivos terrestres.

En el mundo existen al menos 30,000 especies conocidas de microalgas y el principal reto de la investigación para su comercialización con fines energéticos ha sido clasificarlas y detectarlas de acuerdo a su composición y facilidad de cultivo y procesamiento (Roberts et al., 2016). La composición de las microalgas dependerá de la especie y de las condiciones en las que sean cultivadas, pero sus proporciones pueden encontrarse entre un 5-23% de carbohidratos, 6-52% de proteínas y un 7-23% de lípidos (S. Park & Li, 2012). Debido a que algunas microalgas presentan un alto contenido de lípidos, los cuales pueden ser aprovechados para la producción de biodiesel, la atención de los investigadores se centró en la producción de éste biocombustible, pero se ha demostrado que la sola producción de biodiesel de microalgas no es un proceso económicamente ni energéticamente viable, por lo que es necesario acoplarlo a la obtención de otros biocombustibles o productos de valor agregado para explotar al máximo éstos microorganismos, creando así una biorrefinería de microalgas.

A pesar de que en las últimas décadas las microalgas han mostrado tener un gran potencial para la producción de biocombustibles que puedan abastecer las demandas energéticas futuras, aún no se ha alcanzado un nivel industrial de producción. Una de las mayores limitantes para la producción de biocombustibles de microalgas a gran escala ha sido el alto costo de producción de la biomasa ya que se requieren nutrientes como el fósforo y nitrógeno, los cuales llegan a tener un precio muy elevado. Recientemente, se ha demostrado que las microalgas pueden cultivarse en aguas residuales la cual utilizan como una fuente de nutrientes esenciales como el fósforo y el nitrógeno para su crecimiento, reduciendo los costos de producción. (Arenas et al., 2017; A. A. H. Khalid et al., 2016; J. B. K. Park, et al., 2011; Passos et al., 2016; L. Wang et al., 2016). La especie *Scenedesmus* sp. ha demostrado tener la capacidad de crecer en agua residual con buenos rendimientos de producción de biomasa y de remoción de nutrientes (Arias et al., 2018a; González-Fernández, Sialve, Bernet, & Steyer, 2012), lo que reduce de manera significativa los costos de producción.

Cuando las microalgas son cultivadas en lagunas abiertas o en vías acuáticas, normalmente para el tratamiento de aguas residuales y propósitos ambientales, presentan un bajo contenido de lípidos lo cual automáticamente le da un menor valor a la especie, además, el cultivo pierde su pureza debido a la presencia de otros microorganismos como diatomeas y cianobacterias. Las especies de algas presentes en las lagunas de tratamiento de aguas dependen de la carga orgánica existente en el afluente. En aguas que presentan una alta contaminación se desarrollan principalmente especies como *Euglena* y *Chlamydomonas*. A medida que va disminuyendo la carga orgánica en el afluente, aparecen algas de la familia de las clorofíceas como *Scenedesmus*, *Chlorella* y *Micractinium*. El desarrollo de otros tipos de algas verdes, cianobacterias y diatomeas, generalmente indican una baja carga orgánica en el agua (Richmond, 2004).

Cuando una especie de microalga posee un bajo contenido de lípidos o cuando se desarrollan otro tipo de microorganismos en el cultivo, la opción más adecuada, simple y viable para recuperar energía de la biomasa algal es la digestión anaerobia para la producción de biogás (Kumar et al., 2017; Zhao et al., 2014). La ventaja de producir biogás de microalgas es que puede llevarse a cabo usando la biomasa húmeda, reduciendo un gasto energético y económico al evitar el proceso de secado. Aunque aún quedan retos por resolver para llevar la producción de biogás de microalgas a un nivel industrial, se espera que en un futuro no muy lejano esto se vuelva una realidad.

1.2 Digestión Anaerobia

La digestión anaerobia es un proceso que se ha utilizado desde los años 50's para el tratamiento de aguas municipales. La digestión anaerobia es un proceso complejo en donde la materia orgánica es descompuesta por un consorcio de bacterias en la ausencia de oxígeno (O_2), produciendo biogás como producto principal.

El biogás tiene una composición aproximada de 60-70% de metano (CH_4), 30-40% de dióxido de carbono (CO_2) y el resto es de otras impurezas como el ácido sulfhídrico (H_2S), el contenido de CH_4 en el biogás dependerá del tipo de sustrato y de las condiciones operacionales del proceso de digestión anaerobia. Como producto secundario se obtiene digestato, el cual es rico en nutrientes y puede ser usado como fertilizante. En los últimos 10 años la industria del biogás se ha desarrollado y revolucionado. Aunque la mayoría del biogás producido está destinado a la producción de electricidad y calor, recientemente se han realizado investigaciones para aumentar el contenido de CH_4 en el biogás, esto se logra removiendo el CO_2 presente, con la finalidad de utilizarlo como combustible para transporte. En el 2013 Suiza usó más del 50% de su biogás producido como combustible de transporte; países como Suecia, Alemania, China, Estados Unidos de América y Francia, están desarrollando sistemas de transporte a base de gas, lo cual aumenta la demanda de éste combustible. (J. B. K. Park et al., 2011; Xia & Murphy, 2016), así, el reto de la investigación es encontrar las condiciones óptimas y técnicas para maximizar la producción de biogás y su contenido de CH_4 .

La digestión anaerobia ha sido implementada para el tratamiento de residuos agrícolas, residuos alimenticios y tratamiento de lodos activados gracias a su capacidad para reducir la demanda química de oxígeno (DQO) y la demanda biológica de oxígeno (DBO), además de producir energía de una manera limpia (Adinurani et al., 2015; Jain et al., 2015; Passos & Ferrer, 2015; Xia & Murphy, 2016; Yang et al., 2011). La digestión anaerobia ha ganado popularidad entre los investigadores para la producción de energía porque es un método simple y directo, además, no requiere de equipos muy sofisticados para llevarse a cabo.

La digestión anaerobia es un proceso que consiste en 4 etapas principales: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis (Adinurani et al., 2015; Klassen et al., 2016; Yang et al., 2011).

Hidrólisis

También llamada hidrólisis enzimática, es la primera etapa de la digestión anaerobia en el cual las enzimas hidrolíticas reducen los compuestos orgánicos complejos como proteínas, lípidos y carbohidratos a compuestos solubles más simples como aminoácidos, ácidos grasos de cadena larga y azúcares. El grado de descomposición dependerá de la naturaleza del sustrato (tamaño de la partícula y tipo de materia orgánica). Ésta primera etapa es la que determinará la velocidad de todo el proceso de digestión anaerobia así como la calidad y cantidad de biogás generado (Elias Castells, 2005; Jain et al., 2015).

Acidogénesis

También conocida como fermentación. En ésta etapa los compuestos reducidos en la etapa anterior (aminoácidos, ácidos grasos de cadena larga y azúcares) son transformados en alcoholes como etanol, ácidos grasos volátiles de cadena corta tales como el ácido acético, láctico, propiónico, butírico y valérico, y en CO₂ e hidrógeno (H₂) (Elias Castells, 2005; Jain et al., 2015; Solera del Río et al., 2014).

Acetogénesis

En esta etapa actúan bacterias acetogénicas, las cuales convierten los productos de la etapa anterior acetato, formiato, CO₂ e H₂ a partir de dos rutas metabólicas diferentes:

- Deshidrogenación acetogénica. Consiste en la producción de acetato a partir de ácidos grasos volátiles, lactato, propianato y alcoholes.
- Hidrogenación acetogénica. Consiste en la producción de acetato a partir de H₂ y CO₂.

El acetato producido en ésta etapa junto con el CO₂ y el H₂, serán utilizados como sustratos para la producción de CH₄ (Elias Castells, 2005; Jain et al., 2015; Solera del Río et al., 2014).

Metanogénesis

Es la etapa final del proceso de digestión anaerobia, una variedad de bacterias metanogénicas consumen el acetato, formiato, CO₂ e H₂ para producir CH₄. Existen dos grupos de bacterias metanogénicas:

- Hidrogenitrólicas. Este grupo de bacterias consumen H_2 , CO_2 y ácido fórmico.
- Acetoclásticas. Este grupo de bacterias consumen acetato, metanol y algunas metilaminas.

Los organismos metanogénicos son anaerobios estrictos, y tanto el oxígeno molecular (O_2) como fuentes inorgánicas de O_2 inhiben su crecimiento; la presencia de nitrógeno amoniacal, ácidos grasos volátiles y algunos cationes también llegan a inhibir su crecimiento. (Elias Castells, 2005; Jain et al., 2015; Solera del Río et al., 2014).

1.2.1 Factores Ambientales y Operacionales

La digestión anaerobia puede verse afectada por factores ambientales y operacionales como el pH, la temperatura, la carga orgánica (OLR), la relación carbono-nitrógeno (C/N), el contenido de sólidos totales (ST) y sólidos volátiles (SV), el tiempo de retención hidráulica (TRH), las características del inóculo, el contenido de nutrientes, el mezclado del reactor, entre otros (Jain et al., 2015; Klassen et al., 2016).

Temperatura

De acuerdo a la temperatura de operación, la digestión anaerobia puede clasificarse en tres escenarios diferentes:

- Psicrófila: se lleva a cabo en un rango de temperatura de 10-15°C.
- Mesófila: se lleva a cabo en un rango de temperatura de 30-45°C.
- Termófila: se lleva a cabo a temperaturas mayores a 50°C.

La mayoría de los procesos de digestión anaerobia se llevan a cabo bajo condiciones mesofílicas porque no requieren de un gasto energético mayor, aunque se ha demostrado que las condiciones termofílicas aceleran el proceso de hidrólisis y como consecuencia mejoran los rendimientos de producción de CH_4 y la remoción de patógenos. Cualesquiera que sean las condiciones de temperatura bajo las cuales se lleve a cabo la digestión anaerobia, es importante que ésta permanezca constante durante el proceso, pues los cambios drásticos y fluctuaciones afectan directamente la producción de biogás (Weiland, 2010).

pH

El pH varía en las diferentes etapas de la digestión anaerobia, en las primeras dos etapas de la digestión anaerobia, el pH suele ser de 6 o menos. Después, el pH suele aumentar a medida que los ácidos grasos son consumidos para la formación de CH_4 . Para mantener una producción constante de biogás, es importante que el digestor se mantenga en un rango óptimo de pH entre 6.5 y 7.5. Si el pH llega a ser menor de 6.5, se favorecerá la acumulación de ácidos grasos, en cambio, si el pH sube por arriba de 7.5, se favorece la formación de amonio (NH_4^+), ambos casos inhiben el crecimiento microbiano.

Relación carbono-nitrógeno (C/N)

Los sustratos ricos en proteínas presentan altas concentraciones de nitrógeno, mientras que los sustratos ricos en carbohidratos presentan altas concentraciones de carbono; durante el proceso de digestión anaerobia las proteínas son convertidas en nitrógeno amoniacal. Altas concentraciones de nitrógeno amoniacal pueden ocasionar la acumulación de ácidos grasos volátiles, los cuales inhiben a los microorganismos metanogénicos. Para evitar la acumulación de éstos compuestos inhibidores, se debe tener una relación C/N en un rango de 15-30 (Dalkılıç & Ugurlu, 2015; Jain et al., 2015; Klassen et al., 2016). Una manera de mantener la relación C/N en el rango óptimo es llevando a cabo una co-digestión anaerobia con dos sustratos diferentes.

1.2.2 Inhibición del Proceso Anaerobio

Los principales compuestos que inhiben el proceso anaerobio son el oxígeno, el amoníaco, el sulfuro, los metales y algunos compuestos orgánicos como los ácidos grasos y el sulfuro de hidrógeno (Yan et al., 2016).

Inhibición por amoníaco

El ion amonio (NH_4^+) y el amoníaco libre son las principales formas de nitrógeno inorgánico que se producen durante la digestión anaerobia cuando las proteínas y la urea son biodegradadas. Las bacterias metanogénicas son más sensibles a las concentraciones de amonio, el riesgo de inhibición por amonio aumenta cuando se aumenta la temperatura del proceso. Una concentración inferior a 200 mg/L es benéfica para las bacterias anaerobias.

Inhibición por Compuestos Orgánicos

Los principales compuestos orgánicos que pueden inhibir el proceso de digestión anaerobia son alcanos, alcoholes, aldehídos, éteres, cetonas y algunos ácidos carboxílicos como los ácidos de cadena larga. La acumulación de ácidos grasos volátiles (VFA, por sus siglas en inglés) puede llegar a disminuir el pH del proceso de digestión anaerobia, aunque no en todos los casos suele ocurrir esto debido a la capacidad amortiguadora que pueda llegar a tener el sustrato (Weiland, 2010). También, polímeros como la lignina y sus derivados son tóxicos para las bacterias anaerobias.

Inhibición por metales

Iones como sodio (Na^+), potasio (K^+), calcio (Ca^{2+}) y magnesio (Mg^{2+}) en concentraciones muy altas, deshidratan la pared celular de los microorganismos inhibiendo su crecimiento (Yan et al., 2016). Este tipo de sales son muy comunes en aguas residuales. Micronutrientes como el hierro, níquel, cobalto, selenio, molibdeno y tungsteno son necesarios para el crecimiento de los microorganismos en bajas concentraciones, su rango se encuentra entre 0.05 y 0.06 mg/L (Weiland, 2010).

1.3 Co-digestión Anaerobia

La co-digestión anaerobia es una variación de la digestión anaerobia en la cual se procesan dos sustratos orgánicos de diferente origen con el propósito de mejorar la estabilidad del proceso, aumentar la carga orgánica, mejorar el nivel C/N y mejorar el contenido de micronutrientes; con esto se logra un aumento en la alcalinidad y en la capacidad de amortiguación del proceso, una dilución de compuestos tóxicos y un aumento en el rendimiento de producción de biogás y metano (Choong et al., 2018; Fang, 2010; A. Khalid et al., 2011).

A pesar de que la co-digestión anaerobia tiene muchas ventajas, presenta las mismas limitaciones y retos que la digestión anaerobia como son inhibición del proceso y la formación de espuma. El éxito del proceso de co-digestión anaerobia dependerá de la composición de los sustratos.

Uno de los escenarios más estudiados es la co-digestión anaerobia de lodos primarios y secundarios de aguas residuales con otros residuos orgánicos biodegradables, debido a que la digestión

anaerobia es la única forma de estabilizar los lodos antes de ser descargados al ambiente y de producir energía simultáneamente.

1.4 Digestión Anaerobia de Microalgas

La producción de biogás de microalgas ha ganado un importante interés debido a que se ha estimado que se puede producir hasta 1 kWh/kgSV de electricidad (J. B. K. Park et al., 2011; Xia & Murphy, 2016).

Una de las ventajas de la digestión anaerobia de microalgas es que es una ruta simple y directa para recuperar la energía de la biomasa debido a que no requiere de una intensa concentración de biomasa o extracción de alguna macromolécula (lípidos, carbohidratos o proteínas) específica que la componga (Passos et al., 2016).

Desde finales de los años 50's nació el interés por producir biogás de microalgas (Golueke, Oswald, & Gotaas, 1957), y aunque teóricamente las microalgas poseen un gran potencial para la producción de biogás, su rendimiento es bajo debido a dos razones principales:

- Poseen paredes celulares recalcitrantes, lo cual limita el acceso a la materia orgánica biodegradable a los microorganismos anaerobios.
- Poseen bajas relaciones C/N, lo cual puede ocasionar una acumulación de amonio, inhibiendo el crecimiento de las bacterias metanogénicas.

Como se mencionó en la sección 1.1, la composición de las microalgas dependerá de la especie y de las condiciones en la que es cultivada, dependiendo de la complejidad de los polímeros que formen su pared celular variará su biodegradabilidad, i.e. *Dunaliella salina* carece de pared celular, *Euglena gracilis* presenta una pared celular a base de proteínas y *Scenedesmus obliquus* tiene una pared celular formada principalmente por polisacáridos; la complejidad de la pared celular determinará el acceso a la materia orgánica biodegradable a los microorganismos anaerobios. Independientemente de la especie, se ha reportado que la biomasa algal cultivada en aguas residuales presenta una pared celular rígida, limitando la producción de biogás de microalgas. Así, se ha llegado a la conclusión de que para aumentar los rendimientos de producción de biogás de microalgas es necesario aplicar un pretratamiento previo a la digestión anaerobia que rompa los

polímeros que componen su pared celular en moléculas más simples y así, facilitar el acceso a la materia orgánica a los microorganismos anaerobios.

Por otro lado, el alto contenido de proteínas en algunas especies de microalgas ocasiona una baja relación C/N, lo cual es un factor que afecta el proceso de digestión anaerobia, ocasionando una acumulación de amonio y/o de ácidos grasos volátiles generando una baja producción de biogás y, en algunos casos, incluso, se puede llegar a inhibir el proceso. La adición de otro sustrato rico en carbono además de lograr un equilibrio en la relación C/N, logra estabilizar el proceso de digestión anaerobia, beneficiando la producción de biogás. La co-digestión anaerobia de microalgas y co-sustratos que presentan un alto contenido de carbono es una solución que puede ser implementada con facilidad.

Así, el proceso de producción de biogás de microalgas dependerá del proceso de producción de la biomasa, el pretratamiento previo, la relación carbono-nitrógeno (C/N) y de los parámetros de la digestión anaerobia como son el pH, la temperatura, la carga orgánica, el tiempo de retención hidráulica, entre otros.

1.5 Pretratamiento

A finales de los años 50's, Golueke et al., (1957) demostraron que una fracción significativa de microalgas permanecieron intactas después de 30 días bajo condiciones anaerobias y desde entonces, la investigación se ha centrado en estudiar los componentes de la pared celular de las microalgas para encontrar técnicas que faciliten su biodegradación. La pared celular de las microalgas presenta una gran diversidad en términos de componentes intra e intermoleculares; pero principalmente se componen de carbohidratos, proteínas, lípidos, carotenoides e incluso lignina, éstos compuestos forman redes complejas, como glicoproteínas, polisacáridos y polímeros alifáticos como esporopolenina y algaenan, que pueden llegar a ser barreras insuperables para las comunidades microbianas anaerobias. Así, se creía que algunas especies de microalgas no eran adecuadas para la producción de biogás debido a la complejidad de su pared celular.

Las principales razones por las cuáles algunas materias primas no son ideales para la producción de biogás son:

- No pueden ser digeridas por los microorganismos.
- La digestión por los microorganismos es difícil de llevarse a cabo.
- La digestión puede llevarse a cabo, pero de manera muy lenta.
- La presencia de inhibidores o la producción y acumulación de compuestos que inhiben la digestión anaerobia.

A pesar de que algunas especies de microalgas poseen paredes recalcitrantes, se sigue insistiendo en el uso de este tipo de biomasa por todos los beneficios ambientales, económicos y sociales a los que conlleva, de modo que se han empleado y desarrollado técnicas como la aplicación de pretratamientos que aumenten la solubilidad de la materia orgánica biodegradable por los microorganismos anaerobios.

El objetivo principal de un pretratamiento a la digestión anaerobia, es romper la pared celular de las microalgas para: facilitar el acceso de la materia orgánica biodegradable a los microorganismos anaerobios; acelerar el proceso de digestión anaerobia y aumentar la producción de biogás. Existen diferentes tipos de pretratamientos y se clasifican de la siguiente manera:

Pretratamiento Mecánico

El objetivo del pretratamiento mecánico es aumentar la superficie específica de contacto entre el sustrato y el inóculo, esto se logra rompiendo las partículas que forman al sustrato mediante la aplicación de una fuerza. Existen diferentes tipos de pretratamientos mecánicos entre los que destacan la sonicación, lisis-centrífuga, cizalla líquida, colisión, homogeneización a alta presión, maceración y licuefacción.

Pretratamiento Térmico

El pretratamiento térmico consiste en la aplicación de calor, normalmente en un rango de temperatura entre 50 y 250°C, al sustrato. El pretratamiento térmico es el más común y usado a nivel industrial. Algunas de las ventajas del pretratamiento térmico son:

- Remueve patógenos.
- Mejora el rendimiento de deshidratación.
- Reduce la viscosidad del digestato.

Pretratamiento Químico

Los pretratamientos químicos se sirven de sustancias químicas ácidas, alcalinas u oxidables para destruir los compuestos orgánicos que forman la pared celular del sustrato. Los procesos químicos alcalinos son los más utilizados debido a que ayudan a controlar el pH del proceso de digestión anaerobia. Los pretratamientos ácidos normalmente se utilizan cuando los sustratos presentan un alto contenido de compuestos lignocelulósicos.

Pretratamiento Biológico

Los pretratamientos biológicos utilizan microorganismos tanto aerobios como anaerobios para hidrolizar los compuestos complejos que forman la pared celular del sustrato. La ventaja de los pretratamientos biológicos es que no generan residuos tóxicos ni generan compuestos que puedan inhibir el proceso de digestión anaerobia. La desventaja que presenta este tipo de pretratamiento es que las enzimas pueden tener costos muy elevados y utilizarlas a un nivel industrial no sería económicamente viable.

El tipo de pretratamiento dependerá principalmente de la composición y características de la especie de microalga. El reto de la investigación es encontrar el tipo de pretratamiento adecuado para la especie estudiada, así como las condiciones óptimas que maximicen la producción de biogás sin generar un alto gasto energético. En los últimos años se han investigado diferentes pretratamientos en diferentes especies de microalgas. La **Tabla 1.1** muestra algunos de los estudios reportados.

Tabla 1.1 Comparación del rendimiento experimental de CH₄ de diferentes especies de microalgas antes y después de recibir un pretratamiento.

Especie	Condiciones	Tipo de pretratamiento	Rendimiento de CH ₄ [mL CH ₄ /gSV]		Referencia
			Original	Pretratada	
<i>Acutodesmus obliquus</i>	Batch, 36 °C, 30-38 días	Ultrasonido	191 ¹	292 ¹	(Gruber-Brunhumer et al., 2015)
<i>Acutodesmus obliquus</i>	Batch, 36 °C, 30-38 días	Molienda	191 ¹	289 ¹	(Gruber-Brunhumer et al., 2015)
<i>Acutodesmus obliquus</i>	Batch, 36 °C, 30-38 días	Térmico	191 ¹	230 ¹	(Gruber-Brunhumer et al., 2015)
<i>Acutodesmus obliquus</i>	Batch, 36 °C, 30-38 días	Enzimático	191 ¹	218 ¹	(Gruber-Brunhumer et al., 2015)
<i>Acutodesmus obliquus</i>	Batch, 36 °C, 30-38 días	Molienda +Enzimático	191 ¹	300 ¹	(Gruber-Brunhumer et al., 2015)
<i>Chlorella</i> sp	Batch, mesofílicas	Biológico	339	416	(He et al., 2016)
<i>Chlorella</i> sp. <i>Monoraphidium</i> sp.	Batch, 35°C, 32 días	Termoquímico	78.13	142.50	(Passos, Felix, et al., 2016)
<i>Chlorella</i> sp. <i>Monoraphidium</i> sp.	Batch, 35°C, 32 días	Termoquímico	78.13	145.10	(Passos, Felix, et al., 2016)
<i>Chlorella vulgaris</i>	Batch, 35°C, 30 días	Térmico	162.50±2.20 ²	266.70±6.90 ²	(Mahdy, Mendez, Ballesteros, & González-Fernández, 2014)
Flóculos de <i>Chlorella</i> , <i>Acutodesmus</i> y <i>Chlamydomonas</i>	Batch, 37±1°C, 29 días	Enzimático	216.72±3.52	271.34±3.64	(Wieczorek, Kucuker, & Kuchta, 2015)
<i>Oocystis</i> sp. diatomeas, bacterias y otros microorganismos	Batch, 35°C, 32 días	Enzimático comercial	83±1	100±7	(Hom-Diaz, Passos, Ferrer, Vicent, & Blánquez, 2016)
<i>Oocystis</i> sp. diatomeas, bacterias y otros microorganismos	Batch, 35°C, 32 días.	Enzimático caldo de hongos	83±1	144±2	(Hom-Diaz, Passos, Ferrer, Vicent, & Blánquez, 2016)

<i>Scenedesmus</i> 19%, <i>Oscillatoria</i> 30%, <i>Ulothrix</i> 50%, <i>Anabaena</i> , <i>Oocystis</i> 1%	Batch, 35°C, 30 días	Ozonación	247.30	326	(Cardeña, Moreno, Bakonyi, & Buitrón, 2017)
<i>Scenedesmus</i> 35%, <i>Keratococcus</i> 15%, <i>Oscillatoria</i> 10%, <i>Monoraphidium</i> 8%, <i>Dictyosphaerium</i> 30%, <i>Nitzschia</i> 2%	Batch, 35°C 30 días	Ozonación	260	432.70	(Cardeña et al., 2017)
<i>Scenedesmus</i> 79%, <i>Keratococcus</i> 19% <i>Oscillatoria</i> 2%	Batch, 35°C, 30 días	Ozonación	253.30	309.30	(Cardeña et al., 2017)
<i>Tetraselmis striata</i> M8	Batch, 38±1 °C	Químico	161	250	(Bai, Lant, Jensen, Astals, & Pratt, 2016)

¹ Las unidades son Nm³/t VS_{harvest}

² Las unidades son mL gas/ g DQO_{alimentados}

Como se observa en la **Tabla 1.1**, para todos los casos reportados se obtuvo un incremento en el rendimiento experimental de CH₄ después de aplicar un pretratamiento. Gruber-Brunhumer et al., 2015, aplicaron diferentes pretratamientos a la especie *Acutodesmus obliquus*, obteniendo un incremento de hasta el 57% más comparado con el control cuando se combinan dos tipos de pretratamiento. A pesar de que el incremento de producción de CH₄ fue considerable, también debe tomarse en cuenta el gasto energético, costo de los reactivos empleados en el pretratamiento y sobre todo, la producción de subproductos durante el pretratamiento que pudieran afectar o inhibir el proceso de digestión anaerobia.

Los pretratamientos biológicos, como son el uso de enzimas o caldo de hongos, han demostrado ser pretratamientos nobles para el pretratamiento de microalgas, debido a que no generan subproductos tóxicos que afecten el proceso de digestión anaerobia, además de que no requieren un gasto energético extra, sin embargo, el elevado costo de las enzimas limita su aplicación sobre todo en proyectos de gran escala.

La aplicación de pretratamientos térmicos ha reportado tener incrementos en la producción de CH₄ superiores al 20% (Gruber-Brunhumer et al., 2015; Mahdy et al., 2014) comparados con la biomasa sin pretratar, lo cual vuelve al pretratamiento térmico la opción más atractiva y viable para aplicar a un nivel escala piloto e incluso industrial. Otra de las ventajas que presentan los pretratamientos térmicos es que no genera desechos tóxicos y no requiere de procedimientos y/o equipos muy sofisticados para llevarse a cabo.

La aplicación de pretratamientos en biomasa algal para aumentar la producción de biogás aún es un tema novedoso que no ha sido totalmente estudiado sobre todo a nivel planta piloto.

1.5.1 Pretratamiento Térmico

Uno de los métodos de pretratamiento que ha mostrado tener mejores rendimientos para solubilizar la biomasa algal es el térmico (Passos et al., 2015), incluso se cree que éste método puede alcanzar niveles industriales con balances energéticos positivos si parte del biogás producido en la digestión anaerobia es utilizado para cubrir el gasto energético requerido en el pretratamiento.

El pretratamiento térmico consiste en aplicar calor en un rango de temperatura de 50-270 °C a diferentes tiempos de exposición (Klassen et al., 2016). Sin embargo, en estudios previos se ha demostrado que cuando se aplican temperaturas altas, normalmente superiores a los 70°C, se forman moléculas melanoideas lo cual reduce el rendimiento de producción de biogás. Por otra parte, cuando se aplican temperaturas inferiores a los 100°C, las moléculas complejas se degradan, evitando la formación de flóculos además de que se genera un gasto energético menor. (González-Fernández et al., 2012; Jain et al., 2015; Passos et al., 2013).

Passos et al., 2015 utilizó diferentes pretratamientos (térmico, hidrotérmico, microondas y ultrasonido) en biomasa algal que consistía principalmente de algas verdes (*Stigeoclonium* sp y *Monoraphidium* sp.) y diatomeas (*Nitzschia* sp. y *Navicula* sp.), posteriormente evaluó el potencial bioquímico de metano (BMP) de la biomasa pretratada, concluyendo que la mayor solubilidad de la materia orgánica de la biomasa algal se obtuvo cuando se aplicó un pretratamiento térmico de 95°C por 10 horas, además, el pretratamiento térmico no solo mostró efectos positivos en la solubilidad de la materia orgánica, también hubo un incremento en el rendimiento de producción de metano y se obtuvo un balance energético neto, pues el biogás producido es suficiente para cubrir las necesidades energéticas del pretratamiento térmico.

1.6 Co-digestión Anaerobia de Microalgas

A pesar de que el proceso de digestión anaerobia es una técnica muy conocida, la co-digestión anaerobia de biomasa algal es un campo nuevo y aún requiere de investigación, sobre todo a una escala mayor a la escala laboratorio.

La digestión anaerobia de microalgas promete tener un gran potencial para recuperar energía de una manera fácil y directa, sin embargo, aún quedan retos por resolver. Como se mencionó en la sección 1.1, la composición de las microalgas está íntimamente relacionada a la especie y a las condiciones en las que son cultivadas, pero la mayoría de las especies presentan una baja relación C/N, lo cual produce una acumulación de amonio y en consecuencia una digestión anaerobia fallida.

Una forma de lograr un equilibrio óptimo en el proceso de digestión anaerobia de microalgas es añadiendo un co-sustrato de diferente origen, como puede ser lodos de aguas residuales, residuos de frutas y verduras, residuos de las industrias papeleras, entre otros. La co-digestión anaerobia de microalgas es un campo que no ha sido estudiado ampliamente, sin embargo, algunos autores han reportado un incremento en los rendimientos de metano cuando la biomasa algal es co-digerida con otros sustratos ricos en carbono (**Tabla 1.2**).

Como se observa en la **Tabla 1.2**, existen muy pocos estudios de la co-digestión de microalgas con otros co-sustratos y en la mayoría de las investigaciones reportadas han sido utilizando lodos producidos del tratamiento de aguas. Como se muestra en la **Tabla 1.2**, los resultados de la co-digestión anaerobia de microalgas y los diferentes lodos producidos en las plantas de tratamiento de aguas, son muy diversos y contradictorios. Mahdy et al., 2015 reportaron rendimientos menores de metano cuando co-digerieron *C. vulgaris* y lodo secundario en diferentes proporciones comparados con la digestión anaerobia de *C. vulgaris* incluso después de haber pretratado térmicamente la biomasa. En otro estudio, los mismos autores (Mahdy et al., 2015) co-digerieron *C. vulgaris* y estiércol de ganado y aunque obtuvieron un mayor rendimiento de producción de metano cuando agregaron un 80% de *C. vulgaris* y 20% de estiércol, no observaron un aumento significativo entre la digestión anaerobia de *C. vulgaris* y la co-digestión de *C. vulgaris* con estiércol de ganado. Por otro lado, Arias et al., 2018, observaron aumentos de hasta 39% en la co-digestión anaerobia de biomasa algal y residuos de lodos activados previamente pretratados mediante un preproceso de autohidrólisis, comparados con la digestión anaerobia de la biomasa algal. M. Wang et al., 2013 también observaron aumentos en la co-digestión anaerobia de *Chlorella* sp y residuos de lodos activados comparados con la sola digestión anaerobia de *Chlorella* sp.

Con esto, se puede decir que el éxito del proceso de co-digestión anaerobia dependerá tanto de la especie de microalga como de la naturaleza del co-sustrato. Para encontrar el co-sustrato óptimo para una especie de microalga se debe experimentar con diferentes tipos de sustratos, ya que no existe una regla que indique qué tipo de co-sustrato es el ideal para una especie de microalga.

Tabla 1.2 Comparación del rendimiento de metano de biomasa algal sin pretratar, pretratada y co-digerida con sustratos ricos en carbono.

Sustratos	Condiciones	Rendimiento de Metano		Tipo de Pretratamiento	Referencia
		Normal	Pretratada		
<i>C. vulgaris</i>		162.5±2.2 ¹	266.7±6.9 ¹	Térmico	
Lodo primario		393.93±21.4 ¹	-		
Lodo secundario	Batch, 35°C, 30 días	121.8±3.6 ¹	136.1±4.6 ¹	Térmico	(Mahdy et al., 2015)
75% <i>C. vulgaris</i> 25%LS		101.8 ²	155.3 ²		
50% <i>C. vulgaris</i> 50% LS		94.6 ²	135.2 ²		
25% <i>C. vulgaris</i> 75% LS		87.5 ²	115 ²		
EFB, <i>Tetraselmis suecica</i>	Batch, 48°C	3900.8 ³			(Choong et al., 2018)
EFB, <i>Nannochloropsis oculata</i>		5018 ³			
EFB, <i>Chlorella sp.</i>		5295.8 ³			
<i>Chlorella</i>	55±1°C, 30 días	415			(Mahdy et al., 2015)a.
Estiércol de ganado		297-339			
80% <i>Chlorella</i> 20% estiércol		>420			
Biomasa algal	Batch, 35°C, 41 días	82±10	134±6	Autohidrólisis	(Arias et al., 2018a)
WAS		139±3	204±3	Autohidrólisis	
20% M 80% WAS			187±9		
50% M 50% WAS			162±6		
80% M 20% WAS			132±2		
<i>Chlorella sp</i>	Mesofílicas, 45 días	262 ⁴			(M. Wang et al., 2013)
WAS		483 ⁴			
4% alga		463 ⁴			
11% alga		453 ⁴			
41% alga		468 ⁴			

WAS: residuo de lodos activados, LS: lodo secundario, EFB: aceite de palma racimos de fruta vacía, POME: efluente de industria de aceite de palma

¹ Unidades en mL gas/ g DQO_{alimentada}

² Unidades en mL CH₄/g DQO_{alimentada}

⁵ Unidades en mL biogás/ g SV_{alimentados}

⁴ Unidades en mL CH₄/L POME/d

Otro factor importante a considerar en la co-digestión anaerobia de microalgas y otro co-sustrato es la relación que se agrega. Como se observa en la **Tabla 1.2**, la relación de microalga-sustrato también dependerá de la especie, i.e. Mahdy et al., 2015 y M. Wang et al., 2013 obtuvieron mayores rendimientos de metano cuando agregaron biomasa algal en mayor proporción, mientras que Arias et al., 2018 obtuvieron mayores rendimientos de metano cuando agregaron biomasa algal en menor proporción.

Así, el reto de la investigación está dirigido a encontrar un sustrato adecuado para la especie de microalga que se quiera utilizar, además de encontrar la relación óptima de biomasa algal-sustrato que deba agregarse para aumentar el rendimiento de producción de metano y maximizar la recuperación de energía de la biomasa.

Objetivos

El objetivo principal de esta tesis de maestría es evaluar el potencial bioquímico de metano de biomasa algal, la cual es cultivada en agua residual y pretratada térmicamente, y lodos provenientes de una planta de tratamiento de agua residual.

Los objetivos específicos de esta tesis son:

- Evaluar el efecto del pretratamiento térmico a baja temperatura en términos de solubilidad de la materia orgánica de la biomasa algal cultivada en aguas residuales a un nivel planta piloto.
- Evaluar el potencial bioquímico de metano (BMP) de la biomasa algal pretratada con dos co-sustratos diferentes: lodo primario y lodo secundario en diferentes proporciones, para encontrar el co-sustrato y la proporción óptima para su posterior aplicación en un demo-site.
- Monitorear la producción de biogás del demo-site en función de la tasa de carga orgánica alimentada al día, y evaluar el efecto del caudal y el volumen de trabajo en la producción de biogás.

Para cumplir con los objetivos del trabajo, el estudio se llevó a cabo de la siguiente manera:

- Primero, se realizaron ensayos BMP a nivel laboratorio con la biomasa algal tomada del demo-site.
- Posteriormente se evaluaron las condiciones óptimas de co-sustrato - biomasa algal en el demo-site aumentando la carga orgánica alimentada al día.

Justificación

En todo el mundo, el manejo de aguas residuales siempre ha sido un tema controversial, sobre todo en países en desarrollo. La escasez de agua potable ha llevado a desarrollar técnicas para el tratamiento de aguas residuales que sean tanto económicamente como ambientalmente viables. Por otra parte, la creciente demanda energética mundial y el deterioro ambiental han llevado a que países desarrollados, principalmente, y países en desarrollo, como el caso de México, se comprometan a reducir y si es posible, eliminar el uso de combustibles fósiles, estableciendo metas y planes que los obligan a reducir sus emisiones de CO₂. Todo esto ha llevado a los países desarrollados a la búsqueda y desarrollo de fuentes de energía renovables y sustentables. Afortunadamente, los países desarrollados han compartido sus experiencias, conocimientos e infraestructura a países en desarrollo, los cuales pueden valerse de estos recursos para estudiar, experimentar y adquirir el conocimiento y experiencia necesaria para su posterior aplicación y adecuación a su país.

El uso de biomasa de tercera generación, como son las microalgas, presenta el potencial suficiente para cumplir las necesidades energéticas futuras. Además, el uso de microalgas para el tratamiento de aguas residuales está siendo un tema novedoso porque presenta un beneficio tanto ambiental como energético al tratar el agua de una manera noble produciendo biomasa que posteriormente puede ser transformada en energía ya sea en forma de calor, electricidad o incluso biocombustibles. Tras varias investigaciones, se ha demostrado que la producción de bioenergéticos de microalgas, como el biogás, se ve beneficiada cuando la biomasa algal es pretratada y co-digerida con otro sustrato de naturaleza diferente.

Éste trabajo está enfocado a enfatizar estas dos principales ideas, por un lado, el tratamiento de aguas residuales agropecuarias y urbanas con microalgas para producir biomasa de una manera sustentable y ambientalmente compatible. Posteriormente, la biomasa será pretratada y co-digerida con un sustrato de características diferentes con el objetivo de aumentar la producción de biogás, todo esto es producido y llevado a cabo a un nivel planta piloto, que hasta la fecha no ha sido reportado.

Marco de Referencia

En estudios anteriores realizados en el Grupo de Ingeniería Ambiental y Microbiología (GEMMA) de la Universitat Politècnica de Catalunya (UPC) Barcelona.Tech, se habían realizado experimentaciones para producir biogás de microalgas a nivel laboratorio. En sus estudios de doctorado, la Ph.D. Fabiana Passos evaluó diferentes tipos de pretratamientos y su efecto en el BMP de microalgas cultivadas en agua residual.

Passos, 2014 utilizó biomasa cultivada en un tanque de algas de alta carga (HRAP, por sus siglas en inglés) alimentado con agua residual urbana. La biomasa algal consistía principalmente de algas verdes del género *Monoraphidium*, *Oocystis*, *Scenedesmus*, *Stigeoclonium* y diatomeas del género *Nitzschia* y *Navicula*. Posteriormente, cosechó la biomasa y evaluó el efecto de 4 diferentes pretratamientos: microondas, térmico, hidrotérmico y ultrasonido, en la producción de biogás. Después de realizar una serie de ensayos BMP bajo condiciones mesofílicas, comparó sus resultados y realizó un balance energético concluyendo que el pretratamiento óptimo para la biomasa algal cultivada con aguas residuales en un HRAP fue el pretratamiento térmico a baja temperatura (70-90°C) a un tiempo de exposición de 10 horas. Después, evaluó la producción de biogás de microalgas pretratadas en un reactor en modo continuo a nivel laboratorio a diferentes tiempos de retención hidráulica (TRH), obteniendo los mejores rendimientos de producción de biogás cuando el TRH fue de 20 días.

También, Sicart Mensa, 2014, en su trabajo de maestría en el GEMMA, evaluó el BMP de biomasa algal cultivada en un HRAP alimentado con agua residual. Al igual que Passos, 2014, realizó ensayos BMP para evaluar la producción de biogás de biomasa algal y lodo primario en diferentes proporciones, obteniendo un mayor rendimiento de biogás cuando agregó 25% de biomasa algal y 75% de lodo primario. Posteriormente, evaluó la co-digestión anaerobia de biomasa algal y lodo primario en la misma proporción en un reactor continuo a nivel laboratorio

con un TRH de 20 días, concluyendo que era necesario realizar un pretratamiento a la biomasa algal para aumentar la producción de biogás.

Así, este trabajo tiene como objetivo conjuntar ambas investigaciones, pero a una escala mayor. La biomasa algal a evaluar es cultivada en un demo-site, el cual consiste en tres fotobiorreactores tubulares horizontales semi-cerrados, con una capacidad para tratar 10 m³ de agua residual cada uno. Tomando como base los resultados de los pretratamientos que evaluó Passos, 2014, la biomasa algal cultivada en el demo-site es pretratada en un tanque de hidrólisis de forma continua a 75°C con un TRH de 20 h. Los co-sustratos a evaluar serán lodo primario y lodo secundario, provenientes de una planta de tratamiento de aguas residuales, en proporciones similares a las reportadas por Sicart Mensa, 2014.

Capítulo 2

Metodología

El periodo de estudio para realizar esta tesis de maestría correspondió a los meses de Agosto 2017 a Marzo 2018. A continuación, se describen los métodos, equipos y materiales utilizados para llevar a cabo la evaluación del potencial bioquímico de la biomasa algal, térmicamente pretratada y cultivada en agua residual, y lodos de provenientes de una planta de tratamiento de agua residual.

La biomasa algal es cultivada, cosechada y térmicamente pretratada en un demo-site. El demo-site es una biorrefinería a escala planta piloto que forma parte del proyecto INCOVER (Innovative Eco-Technologies for Resource Recovery from Wastewater), de la Unión Europea (UE).

El proyecto INCOVER tiene como propósito utilizar agua residual para producir energía y productos de valor agregado de una forma sustentable y verde. En años anteriores, la UPC ha realizado investigaciones que permiten aprovechar el agua residual como un medio de cultivo para producir biomasa algal, la cual posteriormente, será transformada en bioenergéticos y productos de valor agregado como bioplásticos o biofertilizantes. Así, con el apoyo de la UE y varias empresas privadas, se ha logrado la construcción de un demo-site, nivel planta piloto experimental, en el que se trata agua residual agrícola y urbana con una tecnología basada en microalgas.

2.1 Demo-site

El demo-site está ubicado en el parque experimental Agropolis de la Universitat Politècnica de Catalunya Barcelona.Tech (UPC) ubicado en Camí de les Filipines 110, Viladecans, Barcelona, España (**Figura 2.1**).



Figura 2.1 Ubicación del parque experimental Agròpolis de la UPC. *Fuente: Google Maps.*

El demo-site es una biorefinería en donde se lleva a cabo el tratamiento de agua residual agrícola y urbana en fotobioreactores (PBR) en los cuales las microalgas aprovechan la luz solar, los nutrientes presentes en el agua residual y el CO₂ que se encuentra en el ambiente y, a través del proceso de fotosíntesis, los convierten en biomasa. Posteriormente, la biomasa es recuperada y pretratada térmicamente antes de ser co-digerida anaerobicamente para producir biogás. El biogás producido es recuperado y almacenado para su posterior uso. El digestato, producto secundario de la co-digestión anaerobia, es dirigido a una laguna de estabilización para ser utilizado como biofertilizante. Por otra parte, el agua tratada es llevada a una desinfección solar para

posteriormente, ser utilizada como agua de riego. La **Figura 2.2** muestra el diagrama de flujo del proceso de la biorrefinería.

El demo-site opera de manera continua y automática, y es controlada mediante softwares comerciales, los cuales operan de acuerdo a las condiciones que se quieran estudiar.

Debido a que el objetivo de esta tesis es la evaluación del pretratamiento térmico y la co-digestión de la biomasa algal producida en el demo-site, sólo se describirá la línea de digestión anaerobia del demo-site.

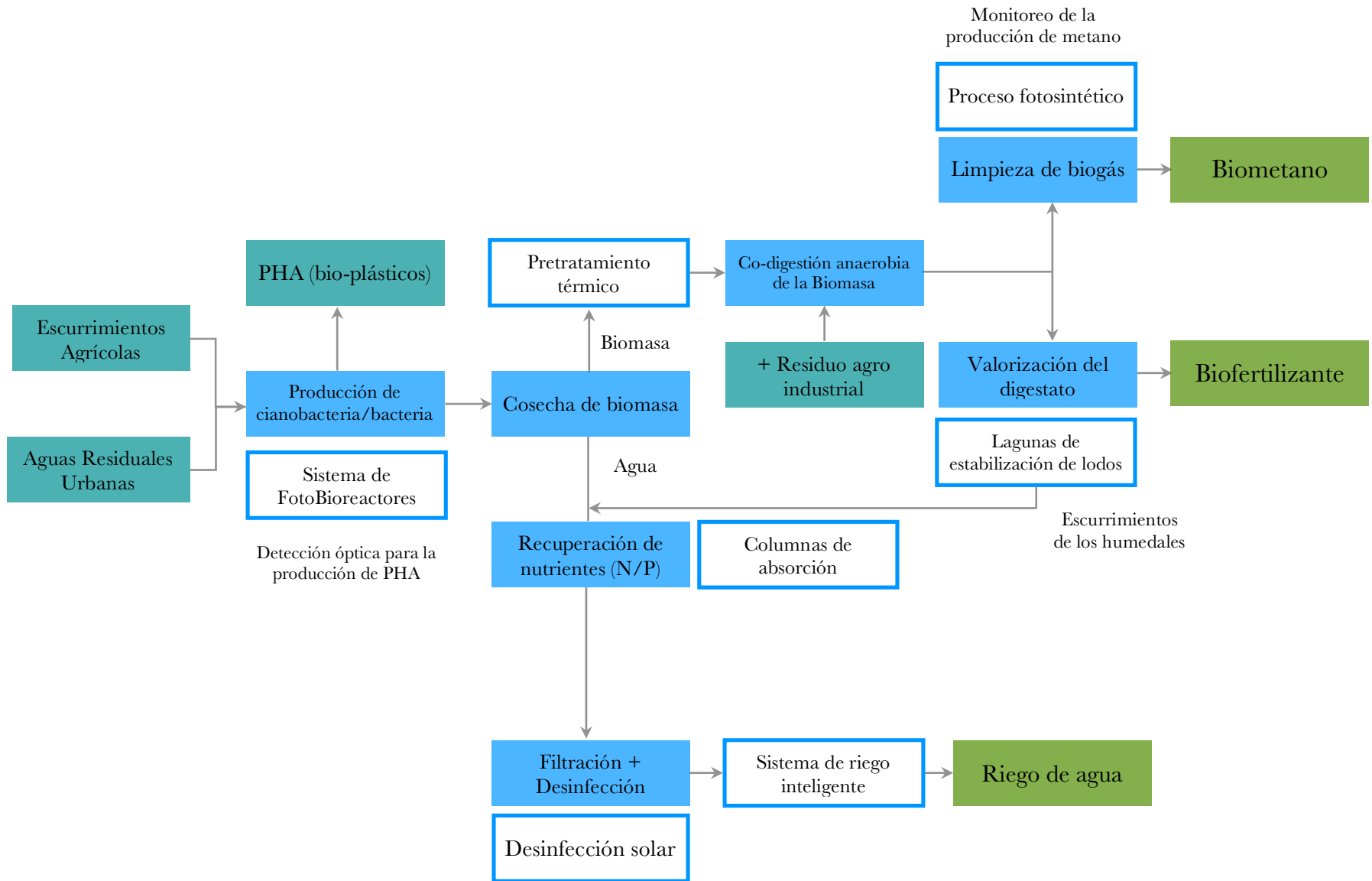


Figura 2.1 Diagrama de flujo del demo-site. Fuente: INCOVER

2.1.1 Línea de Digestión Anaerobia

En la línea de digestión anaerobia se lleva a cabo la producción de biogás. El biogás es producido a partir de biomasa algal térmicamente pretratada y un co-sustrato diferente. La línea de digestión anaerobia del demo-site opera de forma continua y automática. Las bombas que componen la línea de digestión anaerobia del demo-site están programadas mediante un software comercial (AERIS) para operar de acuerdo a las condiciones a evaluar. La línea de digestión anaerobia del demo-site se compone de los siguientes equipos:

- Tanque de homogeneización de co-sustrato.
- Tanque de homogeneización de algas.
- Tanque de hidrólisis.
- Digestor anaerobio.
- Gasómetro.
- Tanque de salida.

La **Figura 2.3** muestra el diagrama de la línea de digestión anaerobia del demo-site. En la **Figura 2.3** también se muestran las bombas que componen la línea de digestión anaerobia.

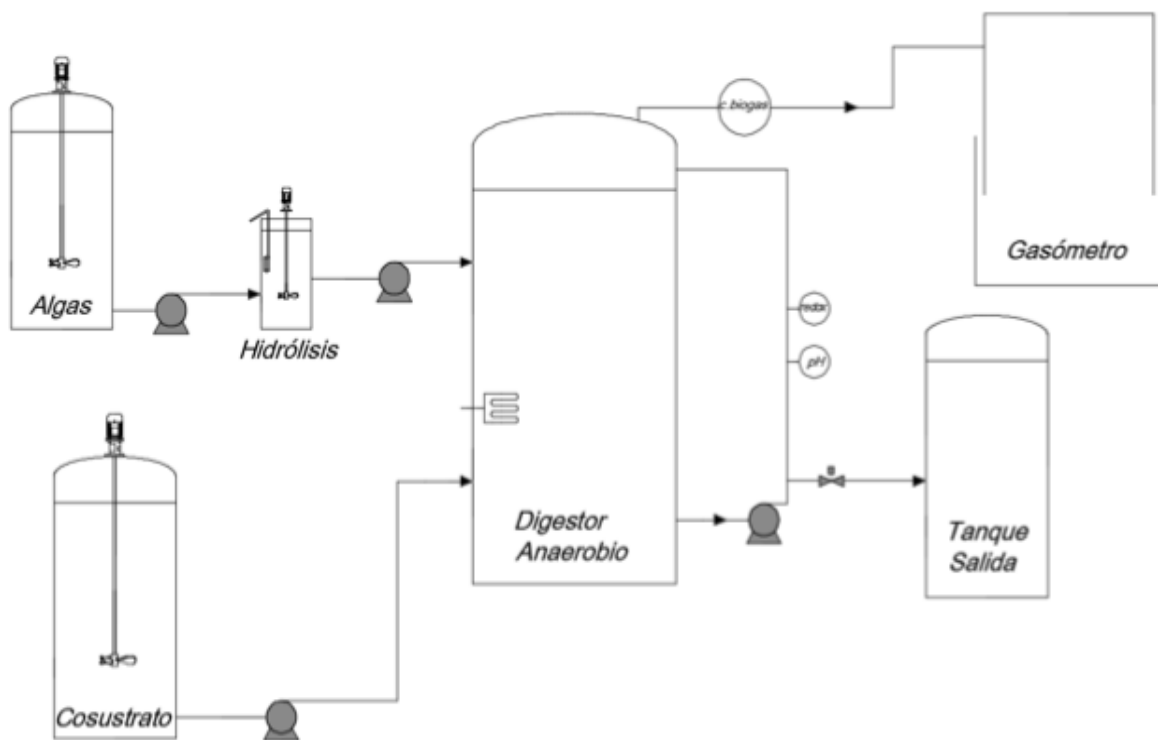


Figura 2.3 Diagrama de flujo de la línea de digestión anaerobia del demo-site.

2.1.1.1 Tanque de Homogeneización de Co-sustrato

El co-sustrato es almacenado y homogeneizado en un depósito de poliestireno de 500 L de capacidad con dimensiones de 118.50 cm de altura y 76 cm de diámetro. El tanque de homogeneización de co-sustrato dispone de una escala graduada y una tapa roscada, tiene incorporado un agitador lento de 200 rpm; el agitador cuenta con un eje de 110 cm de longitud de acero inoxidable AISI316 y una hélice de 22 cm de diámetro. El agitador funciona con un motor monofásico de 0.12 kW (**Figura 2.4**).



Figura 2.4 Tanque de homogeneización de co-sustrato.

2.1.1.2 Tanque de Homogeneización de Algas

El tanque de homogeneización de algas (**Figura 2.5**) es un depósito de poliestireno de 100 L de capacidad con dimensiones de 64 cm de altura y 46 cm de diámetro. El tanque de homogeneización de algas dispone de una escala graduada y una tapa roscada, tiene incorporado un agitador lento de 200 rpm; el agitador cuenta con un eje de 60 cm de longitud de acero

inoxidable AISI316 y una hélice de 15 cm de diámetro. El agitador funciona con un motor monofásico de 0.12 kW.



Figura 2.5 Tanque de homogeneización de algas.

2.1.1.3 Tanque de Hidrólisis

El tanque de hidrólisis es un depósito de acero inoxidable AISI316 de 25 L de capacidad con dimensiones de 55 cm de altura y 25 cm de diámetro fabricado por la empresa AERIS. Cuenta con 4 tuberías (entrada de algas, salida de algas, vaciado y toma de muestra). El tanque de hidrólisis se encuentra recubierto y aislado para evitar pérdidas de calor (**Figura 2.6**). Tiene incorporado un agitador de eje de acero inoxidable AISI316 de 60 cm de longitud y una hélice de 15 cm de diámetro. El agitador funciona con un motor monofásico de 0.12 kW y proporciona 200 rpm. La temperatura del tanque de hidrólisis es programada por computadora y funciona en automático siempre y cuando el tanque mantenga un nivel mínimo de 19 L. El tanque de hidrólisis es calentado con una resistencia eléctrica de acero inoxidable AISI 316L marca Electricfor modelo SL 1.5, la resistencia eléctrica tiene una potencia de 1.50 kW y una longitud de 40 cm. El tanque de hidrólisis

opera de manera continua y está programado para tener un tiempo de retención hidráulica de 20 horas, que es el tiempo de exposición del pretratamiento térmico.



Figura 2.6 Tanque de hidrólisis. En éste tanque se lleva a cabo el pretratamiento térmico de la biomasa algal.

2.1.1.4 Digestor Anaerobio

En el digestor anaerobio (**Figura 2.7**) se lleva a cabo la biodegradación de algas y co-sustrato para producir biogás. El digestor es un tanque de acero inoxidable AISI304 de 1.18 L de capacidad, tiene una altura de 150 cm y un diámetro de 100 cm. Su contenido se mantiene agitado mediante la recirculación del líquido con una bomba helicoidal. El digestor anaerobio es calentado con una resistencia eléctrica de acero inoxidable AISI 316L marca Electricfor modelo CR212II0030 M77 LIR-589, la resistencia eléctrica tiene una potencia de 3 kW y una longitud de 38 cm.



Figura 2.7 Digestor anaerobio.

2.1.1.5 Medidor de Gas

La línea de digestión anaerobia cuenta con un medidor de gas marca Ritter, modelo TG0.5-PVC-PVC. El medidor de gas tiene un rango de medida de 1 - 60 L/h, trabaja a una presión máxima de 50 mbar (**Figura 2.8**). El medidor de gas se encuentra ubicado a la salida del digestor anaerobio, antes de que el biogás sea almacenado en el gasómetro.



Figura 2.8 Medidor de gas.

2.1.1.6 Gasómetro

El gasómetro es de tipo campana invertida y tiene una capacidad para almacenar 1 m³ de biogás. Tiene un diámetro inferior de 140 cm y un diámetro superior de 120 cm y una presión de trabajo de 25 mbar (**Figura 2.9**). El gasómetro cuenta con un muestreador de gas que fue acondicionado en la tubería de entrada con el propósito de hacer un muestreo del biogás producido y analizar su composición por cromatografía de gases en el laboratorio de la UPC (**Figura 2.10**).



Figura 2.9 Gasómetro.



Figura 2.10 Muestreador de gas.

2.1.1.7 Tanque de Salida

El tanque de salida es un depósito de poliestireno de 220 L de capacidad. Dispone de una escala graduada, una tapa roscada y una tubería de salida que facilita el muestreo de digestato. El digestato es direccionado a una laguna de estabilización por medio de la tubería de salida (**Figura 2.11**).



Figura 2.11 Tanque de salida.

2.2 Biomasa Algal

La biomasa algal se obtuvo del demo-site del parque experimental Agropolis de la UPC. La biomasa algal es cultivada en una mezcla de aguas residuales agrícolas y urbanas en tres PBR tubulares horizontales semi-cerrados (**Figura 2.12**), cada PBR tiene una capacidad total de 10 m³ y cuenta con un tanque de 2.5 m³ capacidad. Cada tanque posee 16 tubos, los cuales tienen un volumen de 0.46 m³, con dimensiones de 0.11 m de diámetro y 48 m de largo. La velocidad del flujo dentro de los tubos es de 15-22 cm/s, el tiempo de residencia dentro de los tubos es de 3-4

minutos. La producción de la biomasa algal varía durante el año, pero en promedio es de 1.40 kgVSS/d en el verano y 0.90 kgVSS/d en el otoño (VSS se refiere a Sólidos Volátiles Suspendingidos, por sus siglas en inglés).



Figura 2.12 Fotobiorreactores tubulares horizontales semi-cerrados del parque experimental Agropolis.

La biomasa algal es recuperada en un sedimentador (**Figura 2.13**) donde se le agrega un floculante para ser separada del agua tratada, la dosis de floculante fue determinada mediante ensayos Jar Test descritos en el **ANEXO**. Durante los primeros 70 días del periodo de estudio, la biomasa era recuperada con un floculante orgánico ECOTAN, el cual no afecta el proceso de digestión anaerobia si es aplicado en dosis de 10-50 mg/L (Gutiérrez et al. , 2015). Sin embargo, en el día 70, debido a un problema con el flujo de entrada al sedimentador el cual está fuera de los objetivos de esta tesis y no será discutido, se cambió el floculante, y a partir de éste día se utilizó PAX-18 para recuperar la biomasa algal.

Después, la biomasa algal recuperada es dirigida a un tanque de homogeneización de algas, donde es almacenada antes de recibir el pretratamiento térmico.



Figura 2.13 Sedimentador. La biomasa algal es recuperada con la adición de un floculante.

La biomasa algal fue tomada del demo-site y llevada al laboratorio de la UPC para determinar sus parámetros fisicoquímicos (sólidos totales, ST; sólidos volátiles, SV; demanda química de oxígeno total, DQO_T; demanda química de oxígeno soluble, DQO_s; y pH) y su composición (% de carbohidratos, proteínas y lípidos) de acuerdo a métodos estandarizados APHA descritos en el **ANEXO**. Antes de ser caracterizada, la biomasa fue decantada en conos Imhoff para aumentar su contenido de ST y SV, posteriormente fue almacenada a 5°C hasta su uso. Las características de la biomasa algal se muestran en la **Tabla 2.1**.

En el licor de los PBRs, se identificaron, mediante observación al microscopio, 3 especies con mayor frecuencia: la diatomea cf. *Cyclotella* sp., el alga verde *Oocystis* sp. y la cianobacteria cf. *Synechocystis* sp.

2.3 Lodo Primario y Lodo Secundario

En una planta de tratamiento de aguas residuales, el lodo primario es obtenido de una primera filtración en donde se remueven los sólidos de gran tamaño, los sólidos suspendidos y los sólidos flotantes de las aguas residuales, el lodo primario se caracteriza por tener un mayor contenido de materia orgánica.

El lodo secundario es producto de un tratamiento secundario en el cual se remueve la materia orgánica mediante un proceso aerobio, el lodo secundario presenta un menor contenido de materia orgánica, además de poseer microorganismos aerobios.

Los lodos primario y secundario se obtuvieron de la planta de tratamiento de aguas residuales EDAR Gavà-Viladecans, ubicada en Camí Pineda 2, Barcelona, España. Ambos lodos fueron decantados en conos Imhoff para aumentar su contenido de ST y SV. Se determinaron parámetros fisicoquímicos (ST, SV, DQO y pH) y su composición (% de carbohidratos, proteínas y lípidos) de acuerdo a métodos estandarizados APHA (**ANEXO**) y posteriormente fueron almacenados a 5°C hasta su uso. Las características de los lodos se presentan en la **Tabla 2.1**.

2.4 Inóculo

El inóculo, al igual que los lodos, se obtuvo de la planta de tratamiento de aguas residuales EDAR Gavà-Viladecans, ubicada en Camí Pineda 2, Barcelona, España. El inóculo fue decantado en conos Imhoff para aumentar su contenido de ST y SV; posteriormente, se determinaron sus parámetros fisicoquímicos (ST, SV, y DQO) y su composición (% de carbohidratos, proteínas y lípidos) y se almacenó a 5°C hasta su uso, las características del inóculo se presentan en la **Tabla 2.1**.

Tabla 2.1 Características fisicoquímicas de la biomasa utilizada en este estudio

	Microalgas¹	Lodo Primario	Lodo Secundario	Inóculo
ST [g/L]	11.96	33.60	10.55	40.06
SV [g/L]	4.37	28.07	7.05	32.69
DQO [g/L]	6.69 ² , 0.87 ³	55.70	11.79	7226.66
pH	8.36	5.28	7.28	-
Lípidos [%]	5	40	29	51
Proteínas [%]	30	25	54	39
Carbohidratos [%]	44	20	24	23

Nota:

¹ se refiere a las microalgas después del pretratamiento térmico

² se refiere a la DQO total

³ se refiere a la DQO soluble

2.5 Pretratamiento Térmico

El pretratamiento térmico se lleva a cabo en el demo-site del parque experimental Agropolis de la UPC en el tanque de “hidrólisis”. El pretratamiento térmico consiste en calentar la biomasa algal a 75°C por 20 horas y 200 rpm, de manera continua en el demo-site.

Como se mencionó en la sección 1.5, el propósito de la aplicación de un pretratamiento a la biomasa algal es aumentar la disponibilidad de la materia orgánica a los microorganismos anaerobios. Para evaluar el efecto del pretratamiento térmico en la biomasa algal se determinó la materia orgánica soluble antes y después de recibir el pretratamiento térmico.

2.5.1 Solubilidad de la Materia Orgánica

La materia orgánica soluble es la fracción biodegradable, por lo que el contenido de materia orgánica soluble es un parámetro útil para determinar cuánta materia orgánica puede ser transformada a biogás. Para evaluar la eficiencia del pretratamiento térmico se determinó la solubilidad de la materia orgánica de la biomasa algal antes y después de recibir el pretratamiento térmico, para esto, se calculó el grado de solubilidad (S_D) (%) de la materia orgánica (DQO) de acuerdo a la **ecuación 2.1** (Alzate et al., 2012):

$$S_D(\%) = \frac{[(DQO_{SP}) - (DQO_{S0})]}{[(DQO_T) - (DQO_{S0})]} \times 100 \quad (2.1)$$

Dónde:

S_D : grado de solubilidad (%)

DQO_{SP} : DQO_{Soluble} después del pretratamiento

DQO_{S0} : DQO_{Soluble} antes del pretratamiento

DQO_T : DQO_{Total} de la biomasa algal

2.6 Ensayos para Determinar el Potencial Bioquímico de Metano (BMP)

En esta parte del estudio se realizaron ensayos para evaluar el BMP de la biomasa algal cultivada y pretratada térmicamente en un demo-site y dos co-sustratos diferentes (lodo primario y lodo secundario). Los ensayos BMP se realizan a nivel laboratorio en modo batch y nos permiten determinar:

- La tasa máxima de producción de biogás (mL CH₄/gSV).
- La composición del biogás.
- La tasa de biodegradabilidad anaerobia del sustrato.

En éste estudio se evaluaron tres proporciones diferentes de biomasa algal pretratada térmicamente y co-sustrato (en una base de SV) sumando un total de 6 ensayos diferentes, también se preparó un blanco (que sólo contenía inóculo) y tres controles (lodo primario, lodo secundario y

algas pretratadas), cada ensayo se hizo por triplicado, sumando un total de 30 ensayos. La **Tabla 2.2** muestra las proporciones que fueron evaluadas.

Tabla 2.2 Proporciones de biomasa algal pretratada térmicamente y co-sustrato evaluadas en éste estudio.

Ensayo	Tipo de Cosustrato	Contenido de Microalga [%SV]	Contenido de Co-sustrato [%SV]
Blanco	-	-	-
BA	Microalga	100	-
BLP	Lodo primario	-	100
BLS	Lodo secundario	-	100
25A 75LP	Lodo primario	25	75
45A 55LP	Lodo primario	45	55
70A 30LP	Lodo primario	70	30
25A 75LS	Lodo secundario	25	75
45A 55LS	Lodo secundario	45	55
70A 30LS	Lodo secundario	70	30

Nota:

BA: Blanco de biomasa algal.

BLP: Blanco de lodo primario.

BLS: blanco de lodo secundario.

A: Biomasa algal pretratada.

LP: Lodo primario.

LS: Lodo secundario.

Los ensayos BMP se llevaron a cabo en botellas de suero con capacidad de 160 mL. El volumen de trabajo fue de 100 mL, dejando libre 60 mL para la acumulación del biogás producido y evitar un aumento en la presión de la botella.

Cada botella se preparó con una relación de sustrato-inóculo (S/I) de 0.50 de acuerdo a Alzate et al., 2012; los gramos de inóculo y sustrato se calcularon de acuerdo a la **ecuación 2.2**; se pesaron

los gramos de sustratos e inóculo correspondientes con una balanza de precisión marca KERN modelo 440 y se agregó agua destilada hasta alcanzar 100 mL de volumen (**Figura 2.14** y **2.15**).

$$\text{gramos de biomasa requerida} = \frac{(V_{\text{trabajo}})(SV_S)}{(R)(SV_B)\left(\frac{1\text{kg}}{1000\text{g}}\right)} \quad (2.2)$$

Dónde:

V_{trabajo} : Volumen de trabajo.

SV_S : Concentración de sólidos volátiles del sustrato (5 gSV/L) (Alzate et al., 2012).

R : Relación sustrato-inoculo.

SV_B : Sólidos volátiles de la biomasa.



Figura 2.14 y Figura 2.15. Preparación de los ensayos BMP. A cada botella se le agregó inóculo y sustratos de acuerdo a la ecuación 2.2 y agua destilada hasta alcanzar un volumen de 100 mL.

Posteriormente, cada botella fue gasificada con helio por un minuto para desplazar el oxígeno y asegurar condiciones anaerobias. Las botellas fueron selladas con un crimper (**Figura 2.16**) e incubadas en una incubadora marca OVAN a 35°C y 85 rpm por 40 días (**Figura 2.17**).

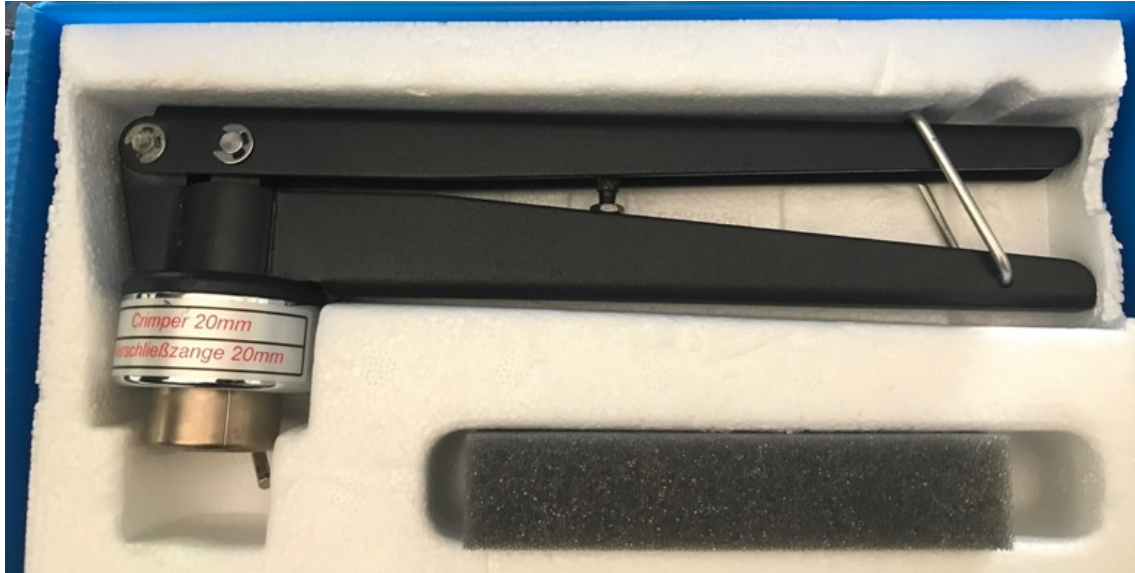


Figura 2.16 Crimper utilizado para sellar las botellas de suero.



Figura 2.17 Incubadora con botellas. Las botellas fueron incubadas a 35°C, 85 rpm durante 40 días.

Para determinar el volumen de biogás producido, se midió la presión al interior de cada una de las botellas con un manómetro digital GREISINGER modelo GMH 3151 (**Figura 2.18**); durante los primeros 10 días de la digestión anaerobia, la presión en las botellas se midió diariamente, posteriormente se midió cada tercer día hasta el día 40. Después de medir la presión en las botellas, cada una de ellas era llevada a la presión atmosférica, dejando escapar el biogás producido, para tener un mejor control de la producción del mismo (**Figura 2.19**).



Figura 2.18 Manómetro digital.

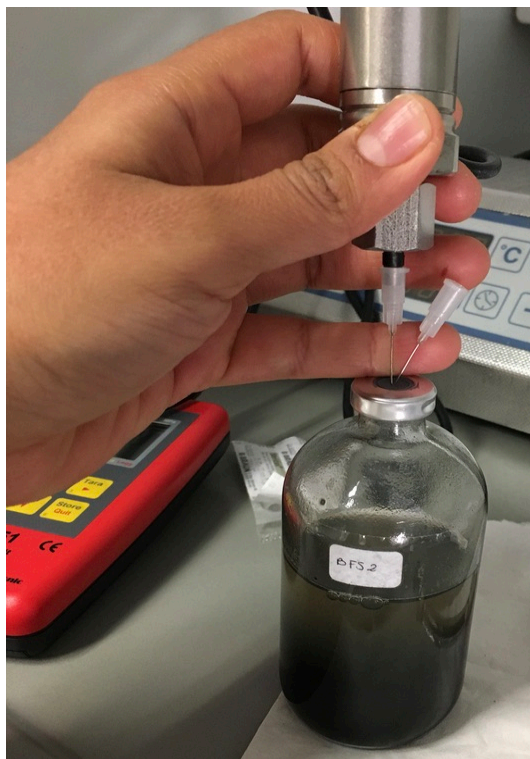


Figura 2.19 Medición de la presión en el interior de las botellas. Las botellas eran llevadas a la presión atmosférica con ayuda de una aguja después de medir la presión.

La producción de biogás se determinó con la **ecuación 2.3**

$$\Delta P = (P_{final}) - (P_{inicial}) \quad (2.3)$$

En donde:

ΔP : Presión acumulada (kPa).

P_{final} : Presión correspondiente a la lectura del manómetro (kPa).

$P_{inicial}$: Presión atmosférica del día anterior (kPa).

El número de moles de biogás producido se calculó con la ecuación de los gases ideales (**ecuación 2.4**):

$$n = \frac{\sum_{i=1}^n \Delta}{R.T} \quad (2.4)$$

Dónde:

$\sum_{i=1}^n \Delta P$: Presión acumulada en las botellas (kPa).

i : Muestra.

V : Volumen del biogás (0.60 L).

R : Constante de los gases ideales ($8.314 \frac{\text{kPa}\cdot\text{L}}{\text{mol}\cdot\text{K}}$).

T : Temperatura (308 K).

Posteriormente, el número de moles de biogás obtenido con la **ecuación 2.4** fue corregido a condiciones normales de presión y temperatura (100 kPa y 273 K, respectivamente). Para determinar la producción acumulada de biogás de cada ensayo, se restó el volumen de biogás producido por el blanco a cada una de las botellas. Finalmente, el volumen acumulado de biogás de cada ensayo fue dividido entre los gSV alimentados.

2.6.1 Cinética de Degradación

Debido a que el metano es el principal producto de la digestión anaerobia, puede ser usado para estudiar la cinética del proceso. La cinética del proceso discontinuo fue analizada para cada uno de los ensayos realizados de acuerdo a la **ecuación 2.5**:

$$G = G_m[1 - \exp(-kt)] \quad (2.5)$$

Dónde:

G : Volumen de metano acumulado (mL CH₄/gSV).

G_m : Volumen máximo de metano acumulado en un tiempo infinito de digestión (mL CH₄/gSV).

k : Constante cinética del proceso (día⁻¹).

t : Tiempo (día).

La **ecuación 2.5** corresponde a un modelo cinético de primer orden y describe la producción de metano como una curva exponencial. La ventaja de usar un modelo de primer orden es que brinda

información como la tasa inicial de producción de metano y el rendimiento total de metano, los cuales son útiles para el proceso de diseño (Juan L. Ramos-Suárez & Carreras, 2014; Juan Luis Ramos-Suárez, et al., 2014; Zhen et al., 2016).

La constante cinética del proceso (k) y el volumen máximo de metano acumulado en un tiempo infinito de digestión (G_m) fueron calculados haciendo una regresión de mínimos cuadrados usando la función SOLVE de Excel.

2.6.2 Contenido de Metano

El contenido de metano fue determinado por cromatografía de gases utilizando un cromatógrafo con un detector de conductividad térmica Trace GC marca Thermo Finnigan (**Figura 2.20**). Las temperaturas del detector y horno fueron de 120 y 35 °C respectivamente, la presión fue de 250 psi y se utilizó helio como gas de transporte.

Para medir la composición del biogás producido en cada una de las botellas se utilizaba una jeringa de gases de 1 mL de capacidad para extraer una muestra de gas (**Figura 2.21**), el gas era inyectado en el cromatógrafo y se obtenía un cromatograma (**Figura 2.22**) en el cual aparecían dos picos, el primer pico corresponde al metano (CH_4) y el segundo pico corresponde al dióxido de carbono (CO_2). El área de cada pico es directamente proporcional al volumen de cada gas a partir de las curvas de calibración.

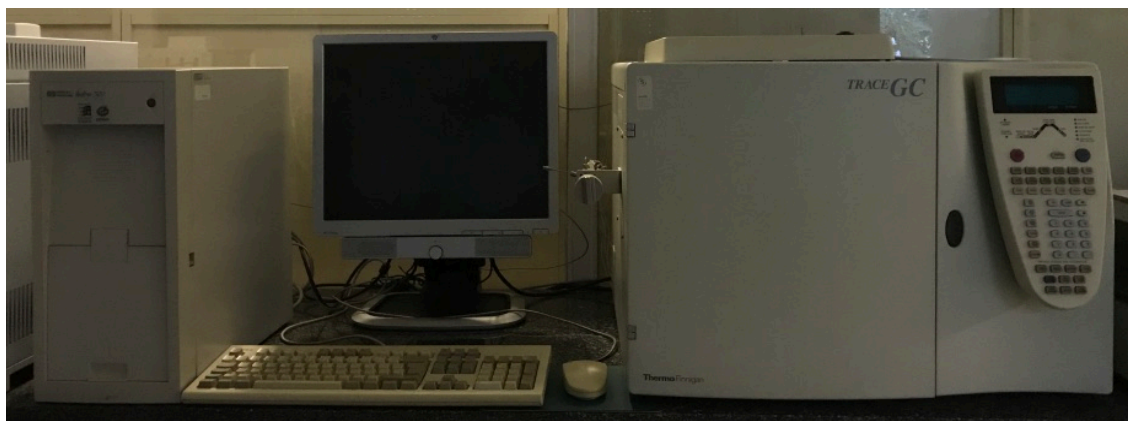


Figura 2.20 Cromatógrafo de gases Thermo Finnigan.

Las curvas de calibración se determinaron inyectando diferentes volúmenes en un rango de 0.10 a 1 mL de cada gas (CH_4 y CO_2), después se obtenía un cromatograma con el pico correspondiente al volumen inyectado; en el cromatograma se leía el área de cada pico, y, mediante una regresión lineal en Excel se obtuvo la curva de calibración de cada gas.



Figura 2.21 Jeringa de gases con la que se muestreaba el biogás producido en los ensayos BMP.

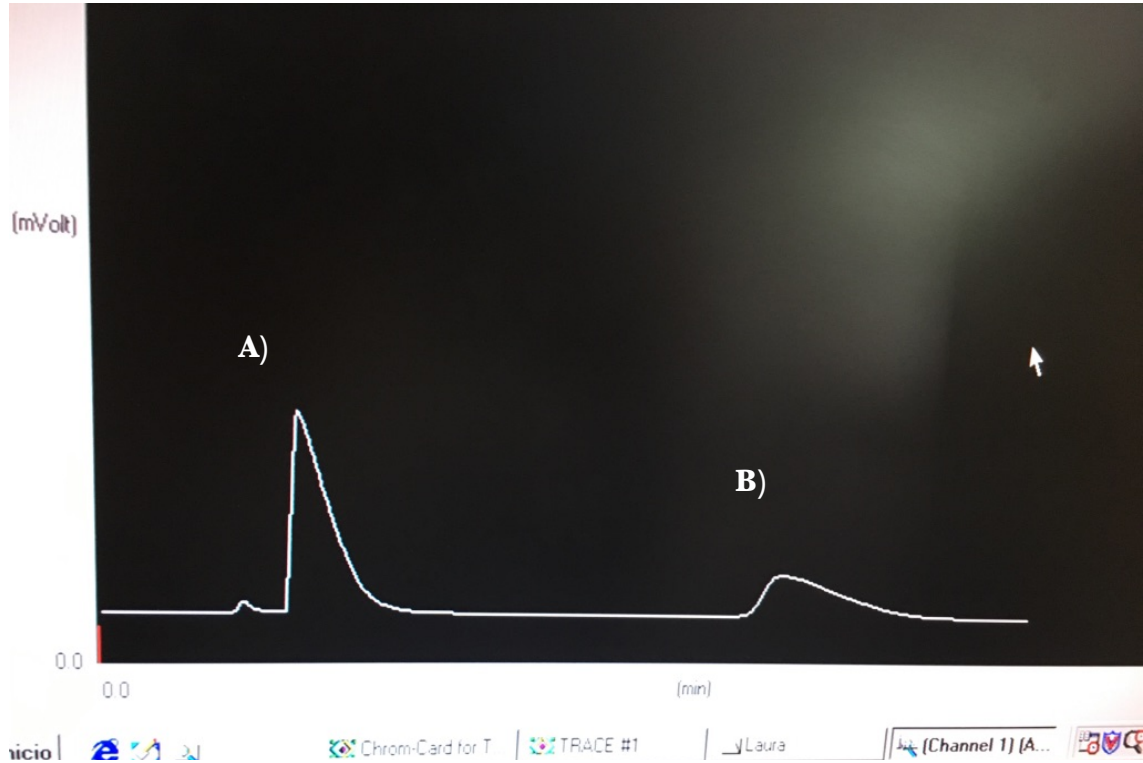


Figura 2.22 Cromatograma. A) pico de CH₄ B) pico de CO₂.

Las **ecuaciones 2.6** y **2.7** corresponden a las curvas de calibración obtenidas para el CH₄ y el CO₂ respectivamente.

$$V_{CH_4}: (\text{Área}_{CH_4} \times 5.700535 \times 10^{-5}) - (0.6037863) \quad (2.6)$$

$$V_{CO_2}: (\text{Área}_{CO_2} \times 3.275999 \times 10^{-5}) + (5.155055). \quad (2.7)$$

Dónde:

V_{CH_4} : Volumen de metano

V_{CO_2} : Volumen de dióxido de carbono

Área_{CH_4} : Área del pico correspondiente a metano obtenido en el cromatograma

Área_{CO_2} : Área del pico correspondiente a dióxido de carbono obtenido en el cromatograma

2.7 Reactor Continuo

La operación del reactor anaerobio fue monitoreada semanalmente a partir del mes de octubre 2017 hasta febrero 2018. Para evaluar la eficiencia de la digestión anaerobia se muestreó la entrada (algas pretratadas y lodo) y la salida del reactor (digestato), y se realizaban las mismas técnicas analíticas que a los sustratos de acuerdo a métodos estandarizados APHA (**ANEXO**).

Para evaluar la producción de biogás en el demo-site, se llevaron a cabo tres periodos de estudio en los cuales se modificó el caudal de alimentación y el volumen de trabajo del reactor como se describe a continuación:

- Periodo I: caudal de alimentación al reactor 15 L/d y un volumen de trabajo de 300 L.
- Periodo II: caudal de alimentación al reactor 15 L/d y un volumen de trabajo de 300 L.
- Periodo III: caudal de alimentación al reactor de 22.5 L/d y un volumen de trabajo de 450 L.

Para todos los periodos de estudio evaluados, el tiempo de residencia hidráulica fue el mismo (20 días). Los caudales de alimentación de la biomasa algal y del co-sustrato eran controlados mediante un software comercial de la empresa Aeris. La operación de todos los equipos e instrumentos que componen la línea de digestión anaerobia del demo-site eran controlados por el mismo software.

La operación de los equipos e instrumentos se hace a través de una pantalla táctil en la que se muestra un diagrama de flujo de la línea de digestión anaerobia (**Figura 2.23**), desde la pantalla principal se puede observar si los equipos se encuentran operando o si existe algún fallo, también, puede observarse algunos de los parámetros operacionales como el nivel de los tanques, el pH y temperatura del reactor, el volumen de biogás producido, entre otros.

Los niveles mínimos y máximos de cada tanque y la temperatura del tanque de hidrólisis y el digestor anaerobio se pueden modificar desde la opción “Configuración” (**Figura 2.24**). La operación de las bombas que alimentan el reactor anaerobio se pueden modificar desde la opción “Temporizadores” de acuerdo a las condiciones que se quieran evaluar (**Figura 2.25**).

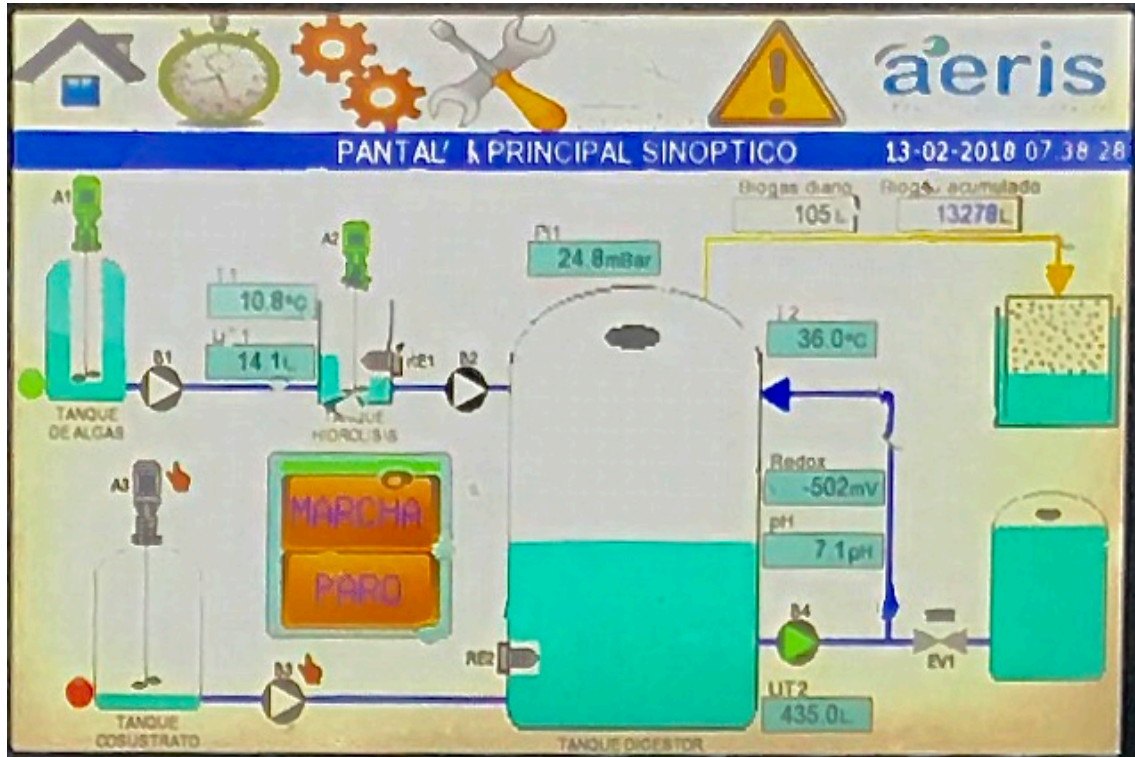


Figura 2.23 Pantalla principal del software que controla los equipos e instrumentos de la línea de digestión anaerobio.

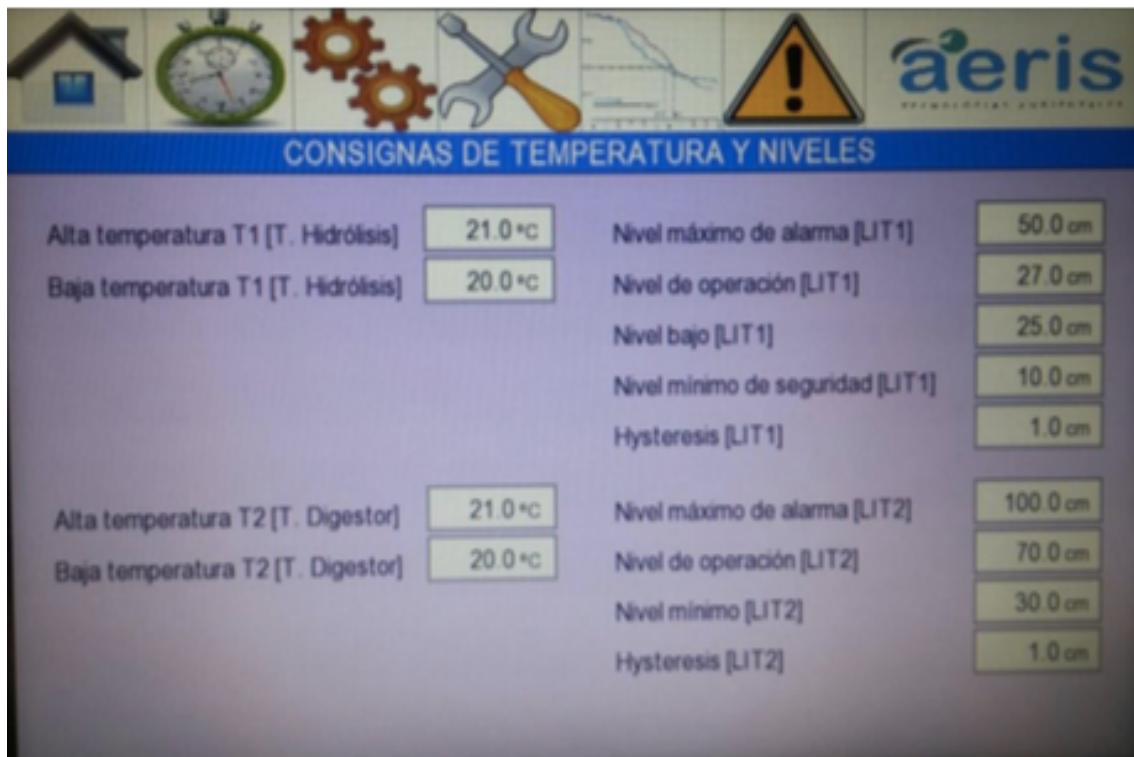


Figura 2.24 Consignas de temperatura y niveles.

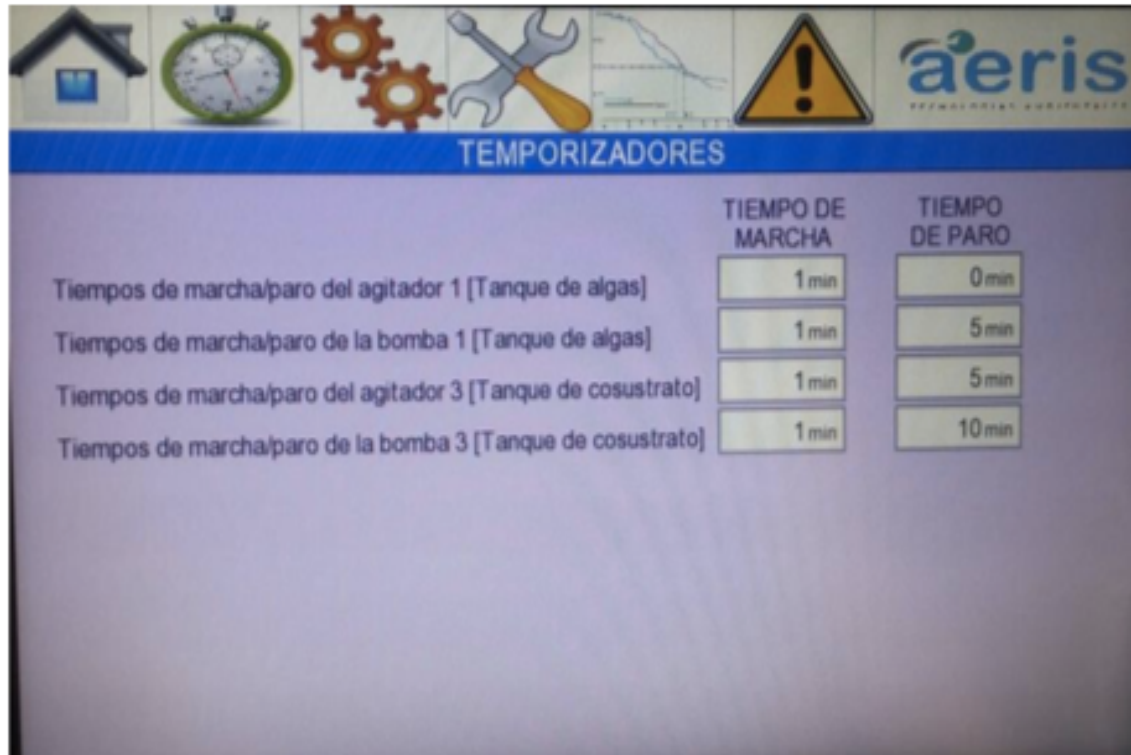


Figura 2.25 Control de temporizadores de bombas.

2.7.1 Efecto del Pretratamiento Térmico

Para la evaluación de la eficiencia del pretratamiento térmico se tomaron muestras de la biomasa algal del demo-site antes y después de recibir el pretratamiento térmico (**Figura 2.26**). Las muestras eran tomadas semanalmente del tanque de homogeneización y del tanque de hidrólisis y eran llevadas inmediatamente al laboratorio del GEMMA en la UPC Campus Nord para evaluar su contenido de sólidos totales (ST), sólidos volátiles SV, demanda química de oxígeno total (DQO_T), demanda química de oxígeno soluble (DQO_S), fósforo total y nitrógeno amoniacal (N-NH₃) de acuerdo a métodos estandarizados APHA. Es importante destacar que el contenido de nitrógeno amoniacal fue determinado con el método colorimétrico de Solórzano, el cual se encuentra descrito en el **ANEXO**.

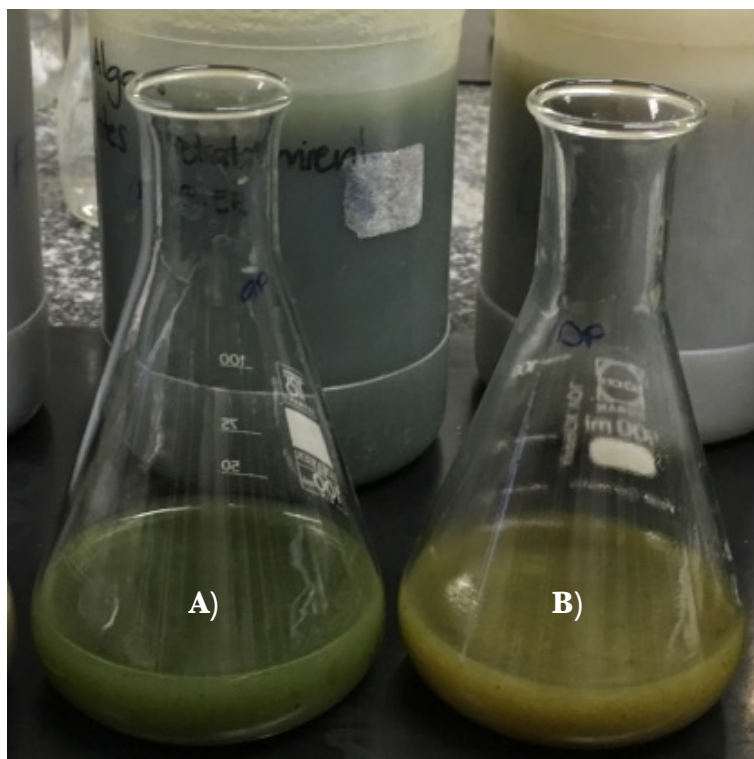


Figura 2.26 Muestras de biomasa algal del demo-site. A) antes del pretratamiento térmico, B) después del pretratamiento térmico.

La eficiencia del pretratamiento térmico se evaluó calculando el grado de solubilidad (S_D) (%) de la materia orgánica (en términos de DQOs) de acuerdo a la **ecuación 2.1**.

2.7.2 Relación Carbono/Nitrógeno (C/N)

La relación C/N fue calculada de acuerdo al contenido de carbono total (TC) y nitrógeno total (TN) de cada sustrato. El TC y TN fueron determinados con un analizador de TOC/TN_b modelo Multi N/C® 2100/2100 S marca Analytikjena (**Figura 2.27**), la técnica detallada se encuentra en el **ANEXO**.



Figura 2.27 Analizador de TOC/TN_b.

2.7.3 Tasa de Carga Orgánica (OLR)

La OLR es la materia orgánica alimentada al reactor al día referida al volumen de trabajo del reactor. La OLR depende de la concentración de materia orgánica del influente (gramos de SV), y se calculó de acuerdo a la **ecuación 2.8**:

$$OLR = \frac{Q \cdot S_i}{V} \quad (2.8)$$

Dónde:

Q : Caudal alimentado al día [L/d].

S_i : Concentración del influente [gSV/L].

V : Volumen de trabajo del reactor [L].

2.7.4 Remoción de Sólidos Totales (ST) y Remoción Sólidos Volátiles (SV)

La eficiencia del proceso de digestión anaerobia se puede estimar conociendo el porcentaje de remoción de la materia orgánica en el influente y en el efluente. La concentración de la materia

orgánica en el influente y en el efluente, para esto, se hace la determinación de ST y SV en el influente y en el influente semanalmente, posteriormente se calcula la media de las concentraciones obtenidas en cada periodo. La remoción de ST y SV se calculó de acuerdo a la **ecuación 2.9**.

$$SV_{removidos} = \frac{S_i - S_e}{S_i} \times 100 \quad (2.9)$$

Dónde:

$SV_{removidos}$: Porcentaje de SV removidos [%].

S_i : Concentración del influente [gSV/L].

S_e : Concentración del efluente [gSV/L].

La remoción de ST es calculada con la misma ecuación.

2.7.5 Producción Teórica de Biogás

El volumen teórico de biogás representa el volumen máximo de biogás producido de acuerdo a la DQO alimentada, y se calculó de acuerdo a la **ecuación 2.10**.

$$V_{teórico} = \frac{(gDQO_{alimentada})(0.35L CH_4/gDQO)}{0.75} \quad (2.10)$$

Dónde:

$V_{teórico}$: Volumen teórico de biogás [L/d].

$gDQO_{alimentada}$: gramos de DQO alimentada al día [gDQO/d].

El factor 0.35 LCH₄/gDQO se refiere al volumen máximo teórico de metano que puede ser producido por cada gramo de DQO alimentada.

El 0.75 se refiere a que, en promedio y teoría el biogás tiene un 75% de contenido de CH₄.

2.7.6 Producción Diaria de Biogás ($PD_{\text{biogás}}$)

El volumen de biogás producido en el reactor continuo se medía diariamente con el medidor de gas (**Figura 2.8**), cada día a la misma hora se registraba el valor mostrado por el medidor, el volumen de biogás producido se calculó por diferencia de volumen, de acuerdo a la **ecuación 2.11**.

$$V_{\text{biogas}} = M_i - M_{i-1} \quad (2.11)$$

Dónde:

V_{biogas} : Volumen de biogás producido al día

M_i : Medida del día

M_{i-1} : Medida del día anterior

El volumen de biogás producido fue normalizado a condiciones estándares de presión y temperatura (100 kPa y 273K) de acuerdo a la **ecuación 2.12**, la cual indicaba el fabricante del gasómetro.

$$V_N = V_i * \frac{P_a}{P_N} * \frac{T_N}{T_i} \quad (2.12)$$

Donde:

V_N : Volumen de biogás normalizado [L].

V_i : Volumen de biogás indicado [L].

P_a : Presión actual [mbar- absoluta].

P_N : Presión normal [mbar-absoluta].

T_N : Temperatura normal [K].

T_i : Temperatura indicada [K].

2.7.7 Contenido de Metano

El contenido de CH₄ en el biogás fue cuantificado por cromatografía de gases de acuerdo al método descrito en la sección 2.6.2.

Cada semana se tomaba una muestra del biogás producido en la planta piloto con una jeringa de gases (**Figura 2.21**), la muestra de biogás era llevada al laboratorio de la UPC para analizar su composición. El contenido de CH₄ y CO₂ fue calculado de acuerdo a las **ecuaciones 2.7 y 2.8**.

2.7.8 Tasa de Producción de Biogás ($P_{\text{biogás}}$) y Tasa de Producción de Metano (P_{metano})

La $P_{\text{biogás}}$ es el volumen de biogás producido al día referido al volumen de trabajo del reactor. Conociendo el contenido de CH₄ del biogás se puede estimar la P_{metano} . La $P_{\text{biogás}}$ y P_{metano} se calcularon de acuerdo a la **ecuación 2.13**.

$$P_i = \frac{V_i}{V_{\text{trabajo}}} \quad (2.13)$$

Dónde:

P_i : Tasa de producción del gas [$\text{m}^3/\text{m}^3_{\text{reactor}} \text{d}$].

V_i : Volumen diario producido de gas [m^3/d].

V_{trabajo} : Volumen de trabajo del reactor [m^3].

2.7.9 Producción Específica de Biogás ($PE_{\text{biogás}}$) y Producción Específica de Metano (PE_{metano})

La $PE_{\text{biogás}}$ se refiere al volumen de biogás producido al día por kilogramo de SV alimentado al día. Conociendo el contenido de CH₄ en el biogás se puede estimar la PE_{CH_4} . La PE se calculó de acuerdo a la **ecuación 2.14**:

$$PE_i = \frac{P_i}{ORL} \quad (2.14)$$

Dónde:

PE_i: Producción específica de biogás o metano [m³/kgSV_{alimentados}]

P_i: Tasa de producción de biogás o metano [m³/ m³_{reactor} d]

ORL: Carga orgánica [kgSV/m³d]

La PE_{biogás} y la PE_{metano} son útiles para conocer la cantidad de biogás o metano producido por cada gSV alimentado.

Capítulo 3

Discusión de Resultados

A continuación, se discuten los resultados obtenidos durante la fase experimental. Primero se discutirán los resultados de los ensayos BMP y posteriormente la aplicación de las condiciones óptimas en el demo-site.

3.1 Ensayos BMP

En esta sección se discuten los resultados obtenidos de los ensayos BMP después de 40 días de incubación anaerobia bajo condiciones mesofílicas. Los resultados que se muestran a continuación representan la media aritmética de los ensayos.

3.1.1 Evaluación de Pretratamiento Térmico

El contenido de la materia orgánica soluble (DQO_s) fue determinada antes y después de la aplicación del pretratamiento térmico, los resultados obtenidos se muestran en la **Tabla 3.1**.

Tabla 3.1. DQO_s antes y después del pretratamiento térmico en la biomasa algal.

Condiciones	Antes del Pretratamiento [mg/L]	Después del Pretratamiento [mg/L]	Aumento de DQO _s [%]	S _D [%]
75°C, 20 h y 200 rpm	27.52	837.50	30 veces	97.14

Como se observa en el la **Tabla 3.1** la biomasa algal después del pretratamiento térmico tuvo un contenido de materia orgánica soluble (DQO_s) de 30 veces mayor comparado con la biomasa algal sin pretratar y un S_D de un 97%. El aumento significativo de la DQO_s y el S_D en la biomasa algal después de recibir el pretratamiento térmico se atribuye principalmente al tiempo de exposición, el cual es de 20 h, ya que a mayor tiempo de exposición se tiene un mayor aumento en la solubilidad de la materia orgánica, lo cual concuerda con lo reportado anteriormente por Passos et al., 2013.

Otro factor que pudo intervenir en el gran aumento del S_D en éste estudio es la presencia de cianobacterias en la biomasa algal, las cuales pueden llegar a excretar enzimas que degradan la pared celular de la microalga (Alzate et al., 2012) aumentando el contenido de materia orgánica soluble. También, es importante mencionar que, debido a problemas de diseño en el sedimentador, el floculante orgánico (ECOTAN) causaba la formación de una capa mucosa en la biomasa, así, el aumento significativo de la DQO_s en la biomasa después del pretratamiento térmico también puede atribuirse al desprendimiento de exopolímeros que formaban ésta mucosa en la biomasa (González-Fernández et al., 2012; Passos et al., 2013).

El aumento del S_D en éste trabajo es mayor a los resultados obtenidos por Passos et al., 2013 quien pretrató biomasa algal compuesta en su mayoría por *Scenedesmus* a 75°C por 10 h y obtuvo un S_D del 17%, y por Passos & Ferrer, 2015 quienes pretrataron hidrotérmicamente biomasa algal compuesta principalmente por *Oocystis* sp a 110 y 130°C por un periodo de 15 y 30 minutos obteniendo un S_D ente 8 y 15%. Cho et al., 2013 también pretrataron térmicamente biomasa algal que consistía en una mezcla de *Chlorella* sp y *Scenedesmus* sp. a 80°C por 30 minutos obteniendo un S_D de 16.9%. Con estos resultados se comprueba que a bajas temperaturas el tiempo de exposición al pretratamiento térmico es el factor que determinará el aumento de la solubilidad de la materia orgánica de la biomasa algal (Passos et al., 2013).

3.1.2 Efecto del Pretratamiento y Co-sustratos en la Producción de Biogás

La **Figura 3.1** muestra la producción acumulada de biogás (mL/gSV) de la co-digestión de algas pretratadas y los dos co-sustratos (lodo primario y lodo secundario) después de 40 días de incubación anaerobia bajo condiciones mesofílicas (35°C). Los valores que se muestran corresponden a la media aritmética de los ensayos.

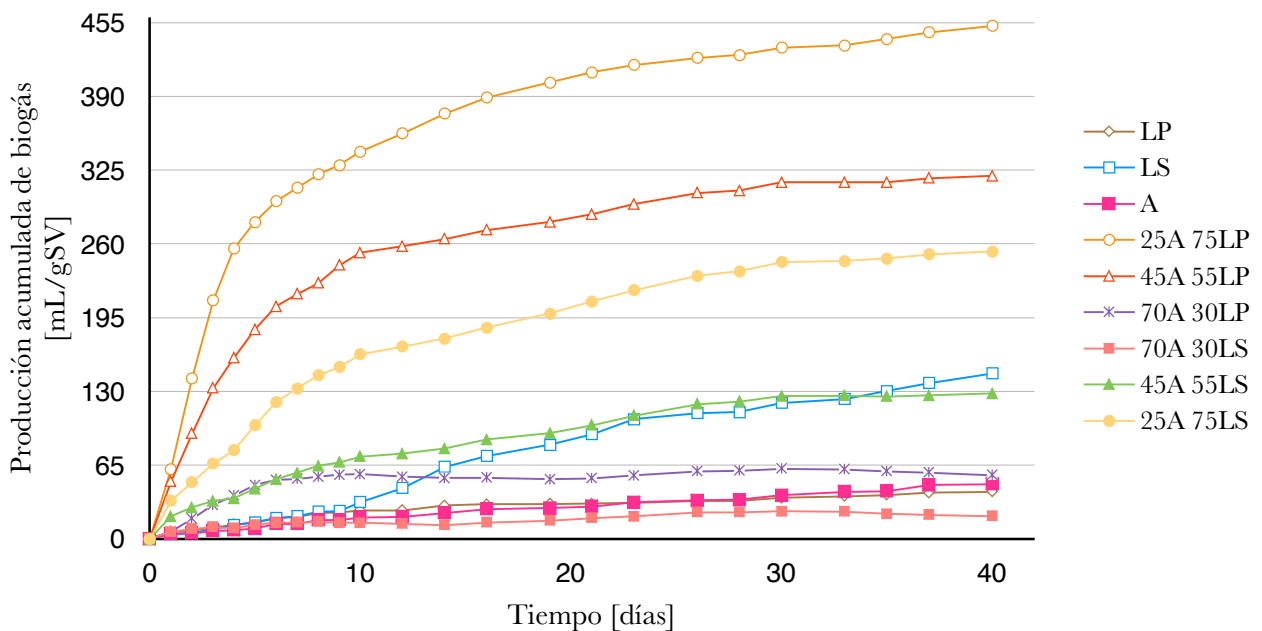


Figura 3.1 Producción acumulada de biogás [mL/gSV] después de 40 días de incubación. La máxima producción de biogás se obtuvo cuando se agregó un 25% de algas y un 75% de lodo primario. *Nota: A se refiere a biomasa algal; LP se refiere a lodo primario; LS se refiere a lodo secundario.*

El volumen mínimo de biogás producido después de 40 días de incubación anaerobia y condiciones mesofílicas (35°C) corresponde a la co-digestión anaerobia de biomasa algal y lodo secundario en una proporción de 70% biomasa algal térmicamente pretratada y 30% lodo secundario (en base de SV) (20.09 mL_{biogás}/gSV), seguido de la digestión anaerobia de lodo primario (41.60 mL_{biogás}/gSV) y digestión anaerobia de biomasa algal (48.23 mL_{biogás}/gSV).

El volumen máximo de biogás producido después de 40 días de incubación anaerobia bajo condiciones mesofílicas fue de 452.23 mL_{biogás}/gSV y se obtuvo cuando se digirió biomasa algal térmicamente pretratada y lodo primario en una proporción de 25% y 75% (en base de SV) respectivamente, la cual fue hasta 9 veces mayor al volumen producido en la digestión anaerobia de biomasa algal térmicamente pretratada. A medida que se incrementó el contenido de biomasa algal, la producción de biogás disminuyó, sin embargo, la producción de biogás de la co-digestión de biomasa algal y lodo primario, sin importar la proporción evaluada, siempre fue mayor a la digestión anaerobia de éstos dos sustratos, lo cual confirma que, la co-digestión de dos sustratos diferentes, mejora las condiciones de la digestión anaerobia (contenido de nutrientes, relación C/N) y, como resultado se aumenta la producción de biogás.

Por otro lado, con el lodo secundario se observó un volumen máximo de biogás de 253.50 mL_{biogás}/gSV cuando se agregó una proporción de 25% de biomasa algal y 75% de lodo secundario, esto es 5 veces más que la sola digestión anaerobia de biomasa algal térmicamente pretratada. Cuando se aumentó el contenido de biomasa algal (45% y 70%, en base de SV) se observó una disminución en el volumen de biogás producido comparado con el volumen de biogás producido de la digestión anaerobia de lodo secundario (145 mL_{biogás}/gSV). Con estos resultados, se puede decir que, la proporción adecuada de lodo secundaria que debe agregarse debe ser menor a 45%, en base de SV.

En cuanto a la producción de metano (**Figura 3.2**), el menor volumen observado después de 40 días de incubación anaerobia bajo condiciones mesofílicas corresponde a la digestión anaerobia de lodo primario (4.25 mL_{CH₄}/gSV), seguido de la co-digestión de 70% biomasa algal y 30% lodo secundario (16.53 mL_{CH₄}/gSV). A pesar de que se registraron mayores volúmenes de CH₄ en la co-digestión de biomasa algal y lodo primario, la co-digestión de biomasa algal y lodo secundario registró mayores contenidos de metano (%), hasta de un 82.28%, lo cual es un parámetro importante a considerar en el escalamiento del proceso de producción de biogás, ya que a mayor contenido de CH₄ en el biogás mayor será su poder calorífico.

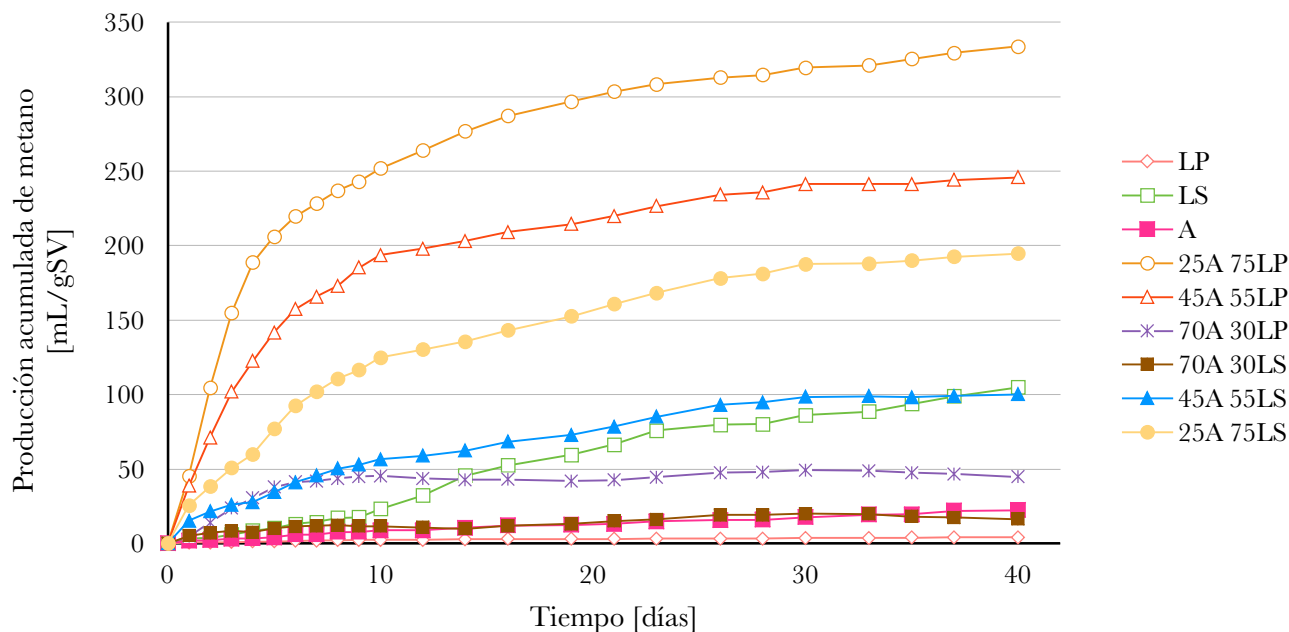


Figura 3.2 Producción acumulada de metano [mL_{CH₄}/gSV] después de 40 días de incubación. *Nota: A se refiere a biomasa algal; LP se refiere a lodo primario; LS se refiere a lodo secundario.*

Los resultados de todos los ensayos BMP se muestran en la **Tabla 3.2**. Como se observa en la **Tabla 3.2**, la co-digestión anaerobia aumentó el porcentaje de contenido de CH₄ en el biogás para todos los casos estudiados comparado con la digestión anaerobia solamente de los sustratos. En la **Tabla 3.2** también puede observarse que los porcentajes de contenido de CH₄ más altos se obtuvieron cuando se usó lodo secundario como co-sustrato (76.80 - 82.28%).

En la **Figura 3.3** se muestra la comparación de la producción acumulada de metano después de 40 días de incubación anaerobia bajo condiciones mesofílicas (línea punteada), y los resultados obtenidos con el modelo cinético de primer orden. Para todos los ensayos, el volumen experimental fue mayor al volumen obtenido mediante el modelo cinético de primer orden, esto se puede atribuir a que el modelo cinético de primer orden sólo depende de una constante (temperatura), sin embargo, el modelo cinético de primer orden nos da una aproximación del volumen máximo que puede producirse, además, el tiempo de degradación de la materia orgánica durante el proceso de digestión anaerobia.

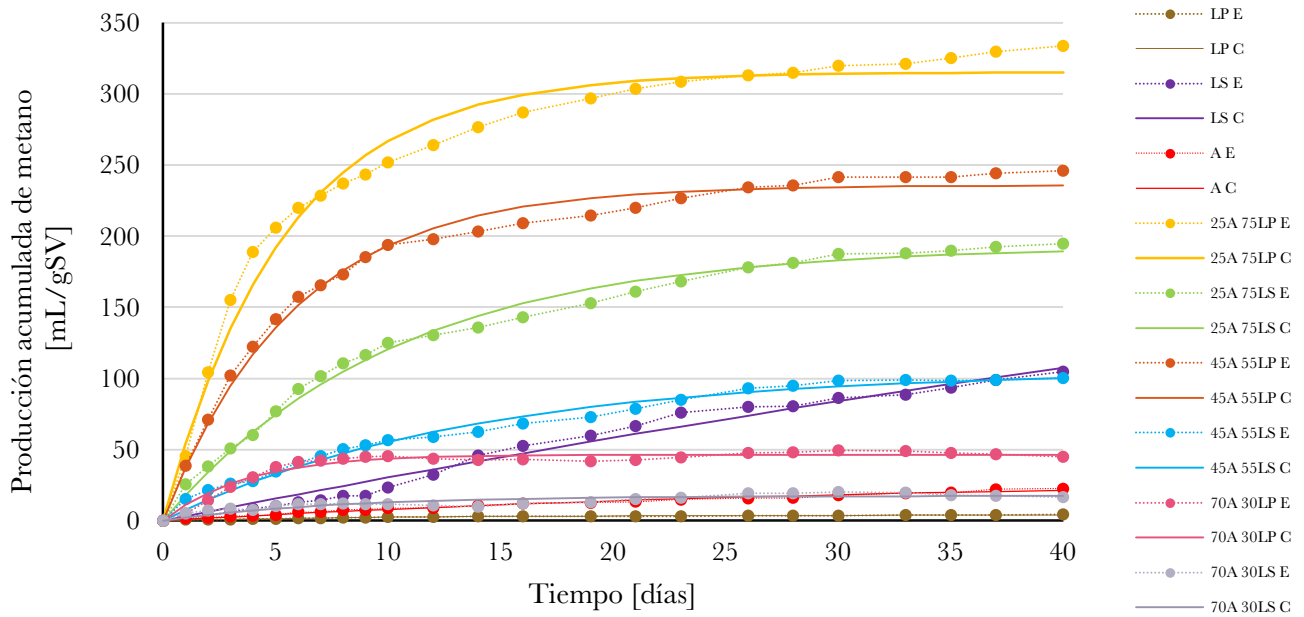


Figura 3.3 Comparación de la producción acumulada de metano experimental con el modelo cinético de primer orden. Nota: La E: se refiere a resultados experimentales; C: se refiere a los datos obtenidos del modelo cinético de primer orden; LP: Lodo primario; LS; Lodo secundario; A: Biomasa algal.

Como se observa en la **Tabla 3.2**, las constantes cinéticas aumentaron para todos los casos evaluados de co-digestión anaerobia, esto indica que la co-digestión anaerobia de biomasa algal térmicamente pretratada y lodo primario y lodo secundario aumenta la velocidad de degradación de la materia orgánica. Esto concuerda con los resultados obtenidos por Arias et al., (2018), quienes realizaron la co-digestión anaerobia de biomasa algal pretratada térmicamente (55°C, 7.50 h) y residuos de lodos activados, obteniendo rendimientos de CH_4 de $187 \pm 9 \text{ mL}_{\text{CH}_4}/\text{gSV}$ y $162 \pm 6 \text{ mL}_{\text{CH}_4}/\text{gSV}$ usando una proporción de 20% biomasa algal 80% residuos de lodos activados y 50% biomasa algal 50% residuos de lodos activados respectivamente, concluyendo que la co-digestión de ambos sustratos aumentó las constantes cinéticas y el rendimiento de producción de CH_4 para todos los casos evaluados.

Tabla 3.2 Resultados de los ensayos BMP después de 40 días de incubación

Ensayo	Rendimiento de Biogás [mL _{biogás} /gSV]	Rendimiento de Metano [mL _{CH₄} /gSV]	Contenido de Metano [%]	k [d ⁻¹]
Biomasa Algal	48.23	22.47	46.59	0.03
Lodo Primario	41.60	4.25	10.22	0.10
Lodo Secundario	145.79	104.86	71.93	0.01
25A 75LP	452.23	333.60	73.77	0.19
45A 55 LP	329.05	245.74	76.78	0.17
70A 30LP	56.16	44.85	79.85	0.27
25A 75LS	253.50	194.70	76.80	0.10
45A 55 LS	127.95	100.22	78.33	0.07
70A 30LS	20.09	16.53	82.28	0.13

Nota:

A: Biomasa algal

LP: Lodo primario

LS: Lodo secundario

Alzate et al., 2012, pretrataron biomasa algal que consistía en una mezcla de *Acutodesmus obliquus* y *Oocystis* sp a 110°C por 15 minutos obteniendo un rendimiento de producción de CH₄ de 219±1 mL_{CH₄}/gSV, en éste estudio el rendimiento de producción de CH₄ fue mucho menor de lo esperado (22.47 mL_{CH₄}/gSV) a pesar de que se obtuvo un S_D del 97.14% después del pretratamiento térmico. Con esto, se puede decir que el aumento en el S_D no necesariamente aumentará el rendimiento de producción de CH₄. A pesar de que los volúmenes de CH₄ producidos no fueron los esperados, la co-digestión anaerobia aumentó de manera significativa el rendimiento de producción de CH₄ para todos los casos evaluados.

Los resultados obtenidos para el lodo primario son similares a los resultados obtenidos por Sicart Mensa, 2014, quien obtuvo un rendimiento de producción de metano de 317.90±9.90 mL_{CH₄}/gSV y 235.80±1.00 mL_{CH₄}/gSV cuando agregó 25% y 50% de microalga, en términos de SV, respectivamente, en éste estudio los rendimientos de producción de metano fueron superiores, de 333.60 mL_{CH₄}/gSV y 245.74 mL_{CH₄}/gSV cuando se agregó 25% y 45% de biomasa algal pretratada térmicamente, respectivamente. El aumento en el rendimiento de producción de

metano en éste estudio se atribuye al efecto del pretratamiento térmico, el cual aumenta de manera significativa la solubilidad de la materia orgánica. Sin embargo, cuando se agregó biomasa algal en un 70%, en términos de sólidos volátiles, el rendimiento de metano en éste estudio fue menor al rendimiento obtenido por Sicart Mensa, 2014, él obtuvo un rendimiento de 147 ± 6.30 mL_{CH₄}/gSV y en éste estudio el rendimiento de producción de metano fue de 44.85 mL_{CH₄}/gSV. Un comportamiento similar se observó cuando se digirió únicamente biomasa algal, en éste estudio el rendimiento de producción de metano de biomasa algal térmicamente pretratada fue menor al rendimiento reportado por el mismo autor, esto puede deberse a que el aumento del S_D de la biomasa algal es atribuido a la degradación de proteínas, las cuales conllevan a la formación de amonio, ocasionando una alta concentración de amonio que pudiese llegar a afectar el proceso de digestión anaerobia.

Finalmente, los resultados obtenidos en éste estudio son similares a los obtenidos por Mahdy et al., 2015, quienes realizaron ensayos BMP para evaluar la co-digestión de *Chlorella vulgaris* con lodo primario y lodo secundario, ambos sustratos fueron pretratados térmicamente a 120°C por 40 minutos. Ellos obtuvieron rendimientos de producción de biogás de 384.40 mL_{biogás}/gCOD cuando añadieron un 25% de *C. vulgaris* 75% de lodo primario y 375.90 mL_{biogás}/gCOD cuando agregaron un 50% *C. vulgaris* 50% lodo primario. En éste estudio, el rendimiento de producción de biogás usando una proporción de 25% de biomasa algal 75% de lodo primario fue mayor (452.23 mL_{biogás}/gSV), el cual es atribuido al aumento del S_D después de aplicar el pretratamiento térmico, comprobando que el tiempo de exposición en el pretratamiento es un factor importante que debe considerarse para aumentar los rendimientos de producción de biogás.

Un comportamiento similar se observó con los resultados de la co-digestión anaerobia de biomasa algal térmicamente pretratada y lodo secundario. Mahdy et al., 2015 obtuvieron un rendimiento de producción de biogás de 157.80 mL_{biogás}/gCOD cuando agregaron 25% *C. vulgaris* y 75% lodo secundario; en éste estudio se obtuvo un rendimiento de 253.50 mL_{biogás}/gSV cuando se agregó 25% biomasa algal térmicamente pretratada y 75% lodo secundario; lo cual es principalmente atribuido al aumento del S_D después del pretratamiento térmico y a la naturaleza de la biomasa. En cuanto al contenido de CH₄ en el biogás, para la co-digestión con lodo primario no se observaron diferencias entre ambos estudios, por otro lado, para el lodo secundario, en éste estudio se obtuvieron mayores porcentajes de contenido de CH₄ en el biogás (76.80-82.28%).

En la **Tabla 3.3** se muestran los aumentos en porcentaje de la producción de biogás en los ensayos de co-digestión anaerobia comparados con la sola digestión anaerobia de la biomasa algal térmicamente pretratada.

Tabla 3.3 Aumento en la producción de biogás en los ensayos de co-digestión

Ensayo	Aumento [%]
Biomasa Algal	-
Lodo Primario	-13.75
Lodo Secundario	202.28
25A 75LP	837.65
45A 55LP	582.25
70A 30LP	16.44
25A 75LS	425.61
45A 55LS	165.29
70A 30LS	-58.35

Nota:

A: Biomasa algal

LP: Lodo primario

LS: Lodo secundario

Como puede observarse en la **Tabla 3.3**, la co-digestión anaerobia de biomasa algal pretratada y lodo primario mejoró la producción de biogás hasta en un 837% comparada con la producción de biogás de la digestión anaerobia de biomasa algal térmicamente pretratada, lo cual comprueba que la co-digestión anaerobia de microalgas y un co-sustrato diferente mejora y logra un equilibrio en las condiciones del proceso de digestión anaerobia, aumentando la producción de biogás. El mayor aumento en la producción de biogás cuando se utilizó lodo primario se atribuye a que el lodo primario presenta un alto contenido de lípidos (**Tabla 2.1**), los cuales, teóricamente, tienen un mayor rendimiento de producción de metano (Heaven et al., 2011). La co-digestión de biomasa algal y lodo primario aumentó la producción de biogás para todos los ensayos estudiados, por otro lado, cuando se usó lodo secundario, se observó un efecto negativo cuando se agregó un 70% de biomasa algal pretratada y 30% de lodo secundario. La disminución en la producción de biogás

cuando se agregó un 70% de lodo secundario se atribuye al alto contenido de proteínas en el lodo secundario (**Tabla 2.1**), que pudo llevar a una acumulación de amonio, afectando el crecimiento de las bacterias metanogénicas y por consecuencia, la producción de biogás.

En cuanto a la eliminación de la materia orgánica alimentada a cada ensayo, se observó una mayor eliminación de SV cuando se utilizó lodo secundario como co-sustrato (**Tabla 3.4**); esto puede atribuirse a que el lodo primario posee un alto contenido de lípidos, los cuales requieren de mayor tiempo para ser digeridos por los microorganismos anaerobios; en cambio, el lodo secundario posee materia orgánica que es de fácil acceso para los microorganismos anaerobios, lo que facilita su degradación.

Tabla 3.4 Biodegradación de la materia orgánica en cada ensayo

Ensayo	SV iniciales [g/L]	SV finales [g/L]	SV eliminados [%]
25A 75LP	7.65	7.00	8.43
45A 55LP	8.30	6.61	20.36
70A 30LP	6.82	6.40	6.30
25A 75LS	7.83	6.64	15.20
45A 55LS	8.48	6.30	25.81
70A 30LS	6.40	5.90	7.96

Nota:

- A: Biomasa algal
- LP: Lodo primario
- LS: Lodo secundario

Analizando los resultados de los BMP, el co-sustrato elegido como el óptimo para ser co-digerido con biomasa algal térmicamente pretratada en el demo-site es el lodo secundario, debido a que los mejores porcentajes de remoción de SV y los mayores contenidos de CH₄ fueron registrados cuando éste fue utilizado. El porcentaje de contenido de CH₄ es un factor importante que debe tomarse en cuenta, debido a que el poder calorífico del biogás dependerá de su contenido de CH₄. Además, uno de los objetivos principales del proceso de digestión anaerobia es la remoción de materia orgánica en el efluente, y en éste estudio, las mayores eficiencias de remoción de SV se registraron cuando se utilizó lodo secundario como co-sustrato.

En cuanto a la proporción óptima para la co-digestión anaerobia de biomasa algal térmicamente pretratada y lodo secundario, de acuerdo a los resultados obtenidos de los ensayos BMP, es recomendable alimentar una mezcla que contenga biomasa algal térmicamente pretratada en un rango de 25-45%, en base de SV, para evitar una acumulación de amonio y, en consecuencia, un proceso de digestión anaerobia fallido.

3.2 Reactor Continuo

En éste apartado se discutirán los resultados obtenidos en el demo-site después de aplicar las condiciones óptimas obtenidas en el laboratorio. Primero, se discute el efecto del pretratamiento en la biomasa algal en términos de DQO_T , DQO_S , ST, SV, contenido de amonio y contenido de fósforo total. Después, se discute el efecto del pretratamiento en la producción de biogás.

3.2.1 Evaluación del Pretratamiento Térmico

A continuación, se discute el efecto del pretratamiento térmico en el contenido de ST, ST, DQO y nutrientes como el fósforo y nitrógeno amoniacal en la biomasa algal.

3.2.1.1 Análisis del Contenido de ST y SV

Durante los meses de octubre 2017 a febrero 2018 se realizaron análisis fisicoquímicos semanales a la biomasa algal antes y después del pretratamiento térmico. El contenido de ST y SV se muestran en las siguientes figuras:

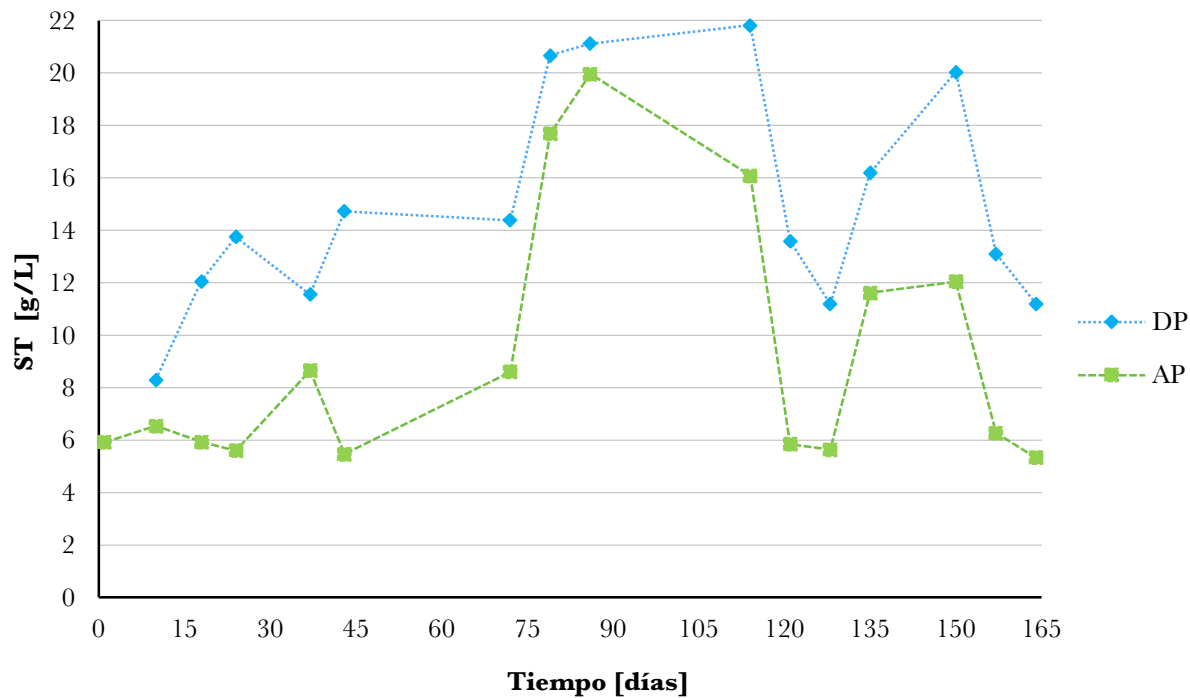


Figura 3.4 Contenido de Sólidos Totales [g/L] en la biomasa algal antes y después del pretratamiento térmico. *Nota: AP: antes del pretratamiento; DP: después del pretratamiento.*

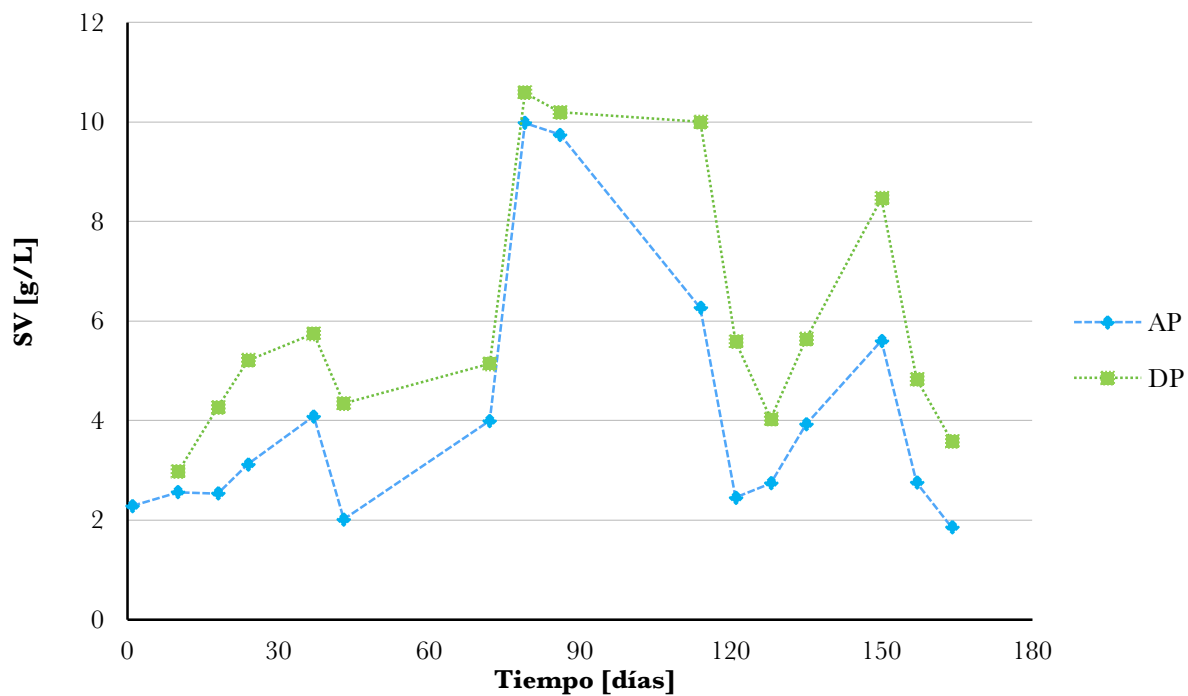


Figura 3.5 Contenido de Sólidos Volátiles (g/L) en la biomasa algal antes y después del pretratamiento térmico. *Nota: AP: antes del pretratamiento; DP: después del pretratamiento.*

En las **Figuras 3.4** y **3.5** se puede apreciar cómo el contenido de ST y SV en la biomasa algal aumenta después de recibir el pretratamiento térmico en todos los análisis realizados. Es importante mencionar que a partir del día 79 (5 diciembre del 2017), se utilizó PAX-18 como floculante para recuperar la biomasa algal. El uso de PAX-18 no intervino en el contenido de ST y SV de la biomasa algal ya que la relación SV/ST mantuvo la misma tendencia y se mantuvo en un rango de 0.34 - 0.56 (**Tabla 3.5**).

Las fluctuaciones en el contenido de ST y SV que se muestran en las **Figuras 3.4** y **3.5** son atribuidas principalmente a que el cultivo de la biomasa algal se lleva a cabo al aire libre y depende de condiciones ambientales, como son la presencia de nubes, los rayos solares, la composición de las aguas residuales, entre otros y cambios en el clima, como es la lluvia o nevadas, afectan directamente la producción de biomasa algal. A pesar de que en las últimas semanas de estudio se tuvo una baja producción de biomasa, atribuida a las condiciones climáticas en Barcelona durante el mes de febrero, el aumento de SV (%) después del pretratamiento se mantuvo por arriba del 40% (**Tabla 3.5**).

Tabla 3.5 Contenido de SV y relación SV/ST en la biomasa algal antes y después del pretratamiento térmico.

Día	SV AP (g/L)	Relación SV/ST AP	SV DP (g/L)	Relación SV/ST DP	Aumento de SV (%)
1	2.28	0.38			
10	2.56	0.45	2.97	0.31	16.02
18	2.53	0.43	4.26	0.35	68.18
24	3.12	0.56	5.21	0.38	67.26
37	4.08	0.35	5.74	0.66	40.56
43	2.01	0.37	4.34	0.29	115.92
72	3.99	0.46	5.14	0.36	28.98
79	9.98	0.56	10.58	0.51	6.01
86	9.74	0.51	10.19	0.46	4.51
114	6.26	0.39	10.00	0.46	59.79
121	2.45	0.42	5.59	0.41	128.63
128	2.74	0.48	4.03	0.36	47.05
135	3.92	0.34	5.63	0.35	43.62
150	5.60	0.46	8.46	0.41	51.21
157	2.75	0.44	4.83	0.37	75.63
1.85	1.85	0.35	3.58	0.32	93.51

Nota:

AP: Antes del pretratamiento

DP: Después del pretratamiento

3.2.1.2 Análisis de DQO_T, DQO_s, Amonio y Fósforo Total

De acuerdo a los métodos estandarizados APHA, se realizó la determinación de la demanda química de oxígeno de la biomasa algal total y soluble con el objetivo de determinar el aumento del grado de solubilidad (S_D) en la biomasa algal después de recibir el pretratamiento térmico. En las siguientes figuras se muestran los resultados obtenidos durante el estudio:

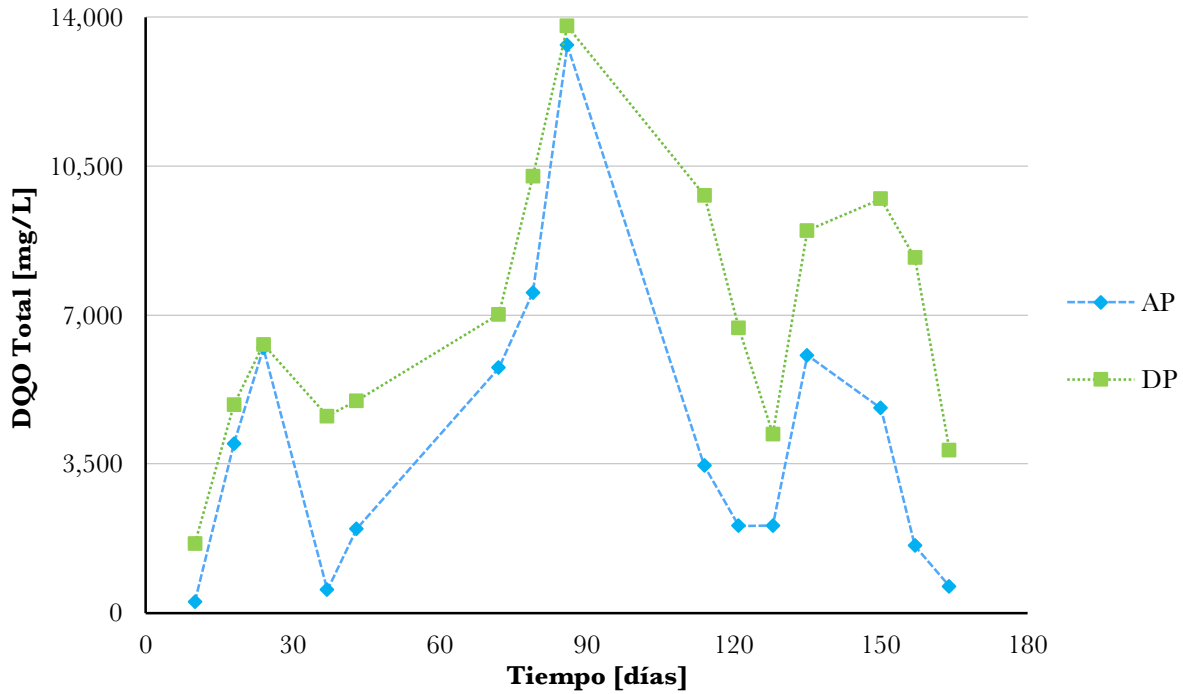


Figura 3.6 DQO_T en la biomasa algal antes y después del pretratamiento térmico. *Nota: AP: antes del pretratamiento; DP: después del pretratamiento.*

En la **Figura 3.6** se observa la concentración de DQO_T en la biomasa algal antes y después del pretratamiento térmico durante todo el periodo de estudio (octubre 2017-febrero 2018), los datos representan la media aritmética de los análisis semanales. Al igual que el contenido de ST y SV, el contenido de la DQO_T en la biomasa algal tuvo un incremento después del pretratamiento térmico, esto puede interpretarse como un incremento en la materia orgánica que puede ser degradada, así, el pretratamiento térmico tiene un efecto positivo en la biomasa algal, porque facilita el acceso a la materia orgánica a los microorganismos anaerobios.

En la **Figura 3.6** también puede observarse que la DQO_T sufrió constantes fluctuaciones durante todo el periodo de estudio, atribuidas principalmente a la cantidad de biomasa algal producida. La cantidad de biomasa algal producida es variable durante todo el año debido a que depende de factores externos que no pueden ser controlados como la concentración de nutrientes (fósforo y nitrógeno) en el medio de cultivo (agua residual), temperatura ambiental, fenómenos naturales (lluvia, días soleados, nevadas), etc. Sin embargo, durante todo el periodo de estudio se observó un incremento en la DQO_T después del pretratamiento, que incluso llegó a ser de hasta 7 veces mayor comparado con la biomasa algal sin pretratar.

La **Figura 3.7** muestra el efecto del pretratamiento térmico en el contenido de DQO_S de la biomasa algal, como se observa, el incremento de la DQO_S estuvo en un rango de 5-22 veces mayor comparado con la biomasa algal sin pretratar. Al igual que con la DQO_T, la variación en el aumento de la DQO_S se atribuye al volumen producido de biomasa algal. El aumento significativo en la DQO_S representa la cantidad de materia orgánica que está inmediatamente disponible para ser degradada, así, a mayor contenido de DQO_S se espera un mayor volumen producido de biogás.

El aumento en la DQO_S pueda atribuirse a dos razones principales:

- El efecto del pretratamiento térmico, el cual destruyó la pared celular de las microalgas.
- La presencia de bacterias en la biomasa algal, las cuales excretan enzimas que degradan la pared celular de la microalga (Alzate et al., 2012).

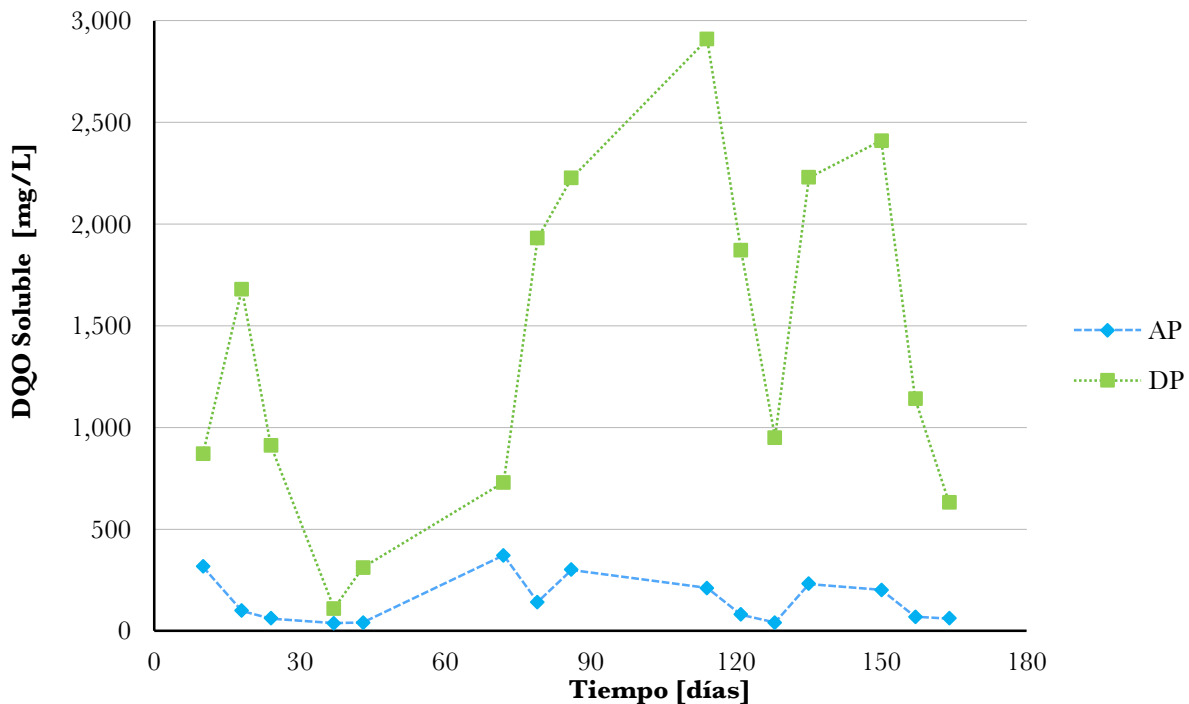


Figura 3.7 DQO_S en la biomasa algal antes y después del pretratamiento térmico. *Nota: AP: antes del pretratamiento; DP: después del pretratamiento.*

Aunque se observó un incremento significativo en la DQO_S de la biomasa algal después de recibir el pretratamiento térmico, la degradación de las principales moléculas que componen la pared

celular de la microalga como son celulosa y hemicelulosa no son degradadas a bajas temperaturas porque requieren de temperaturas entre 150 y 180°C (Hendriks & Zeeman, 2009) para poder degradarse. Por esto, puede atribuirse el aumento de la DQOs a la degradación de las proteínas contenidas en la biomasa algal, por lo que es de suma importancia monitorear las concentraciones de amonio en la biomasa algal.

Para evaluar el efecto del pretratamiento térmico en la biomasa algal, se calculó el S_D de acuerdo a la **ecuación 2.1**, los resultados obtenidos se muestran en la **Tabla 3.6**. El S_D es un parámetro que ayuda a identificar que tan efectivo es un pretratamiento. El S_D indica qué tanto aumenta la solubilidad de la materia orgánica de la biomasa algal pretratada, y para identificar si el pretratamiento que se está aplicando es efectivo, el S_D debe ser mayor al 10%.

Tabla 3.6 Grado de Solubilidad en la biomasa algal después del pretratamiento térmico durante el periodo de estudio.

Día	S_D (%)
10	1016.95
18	40.71
24	13.82
37	63.33
43	13.89
72	10.99
79	24.29
86	16.08
114	83.13
121	91.14
128	44.93
135	34.26
150	47.94
157	70.86
164	101.79

Como se observa en la **Tabla 3.6**, en éste estudio, el S_D registró valores entre 10-102%. Al principio del estudio se observa un S_D del 1016.95% el cual es atribuido al aumento significativo de la DQOs de la bioamsa algal después de recibir el pretratamiento térmico, éste aumento pudo deberse a la presencia de bacterias presentes en la biomasa que, como se mencionó anteriormente, pudieron excretar enzimas que ayudaron a degradar la pared celular de las microalgas. Posteriormente el S_D oscilo entre el 10 y 102%, lo cual es atribuido principalmente a la cantidad y a la composición de la biomasa algal producida, la cual es variable durante todo el año. Con los resultados obtenidos, se puede decir que el pretratamiento térmico aplicado (75°C, 20 h) es efectivo porque aumenta significativamente la solubilidad dela materia orgánica de la biomasa algal, y, por consecuencia se espera una alta producción de biogás en el demo-site.

Los resultados obtenidos en éste estudio del S_D están de acuerdo a los reportados por Passos et al., 2013, quien obtuvo valores de S_D de 17.5% después de aplicar una temperatura de 75°C por 10 horas a biomasa algal constituida principalmente de *Scenedesmus* sp y cianobacterias. González-Fernández et al., 2012 también evaluó el efecto del pretratamiento térmico con *Scenedesmus* en un rango de temperaturas de 70 y 80°C por 25 minutos obteniendo incrementos de 1.9 y 2.3 veces mayor respecto a la biomasa sin pretratar. En otro estudio realizado por los mismos autores, se evaluó el efecto del pretratamiento térmico, pero a mayores tiempos de exposición y el S_D que registró fue de 7 y 11 veces mayor comparado con la biomasa sin pretratar, lo cual concuerda con el S_D registrado en éste trabajo en la primera semana de estudio. Así, se confirma que, a bajas temperaturas, el tiempo de exposición al pretratamiento térmico tiene gran influencia en el S_D (Passos et al., 2013).

Como se mencionó anteriormente, el aumento significativo del S_D pudo deberse a la degradación de las proteínas contenidas en la biomasa algal y, para confirmar esto, se monitoreó el contenido de amonio en la biomasa algal antes y después de recibir el pretratamiento térmico. Los resultados obtenidos de los análisis se muestran en la **Figura 3.8**.

Como se muestra en la **Figura 3.8**, el contenido de amonio en la biomasa algal aumentó significativamente después de recibir el pretratamiento térmico durante todo el periodo de estudio. El incremento máximo observado fue de hasta 13 veces mayor comparado con la biomasa algal sin pretratar. Éste incremento significativo es atribuido al contenido de proteínas en la biomasa algal, el cual es del 30% (**Tabla 2.1**) y, al momento de recibir el pretratamiento térmico, estas

proteínas son degradadas lo cual lleva a un aumento en la concentración de amonio en la biomasa algal después de recibir el pretratamiento térmico. González-Fernández et al., 2012 observó un comportamiento similar en biomasa algal pretratada térmicamente y atribuyó el aumento de la concentración de amonio a la degradación de proteínas y urea presentes en la biomasa algal después de recibir un pretratamiento.

A pesar de que el contenido de amonio aumentó significativamente después del pretratamiento térmico, las concentraciones de amonio se mantuvieron por debajo de 200 mg/L (**Figura 3.8**), lo cual está dentro del límite de tolerancia del proceso de digestión anaerobia, concentraciones mayores a 200 mg/L podrían llegar a inhibir el proceso de digestión anaerobia (Fang, 2010).

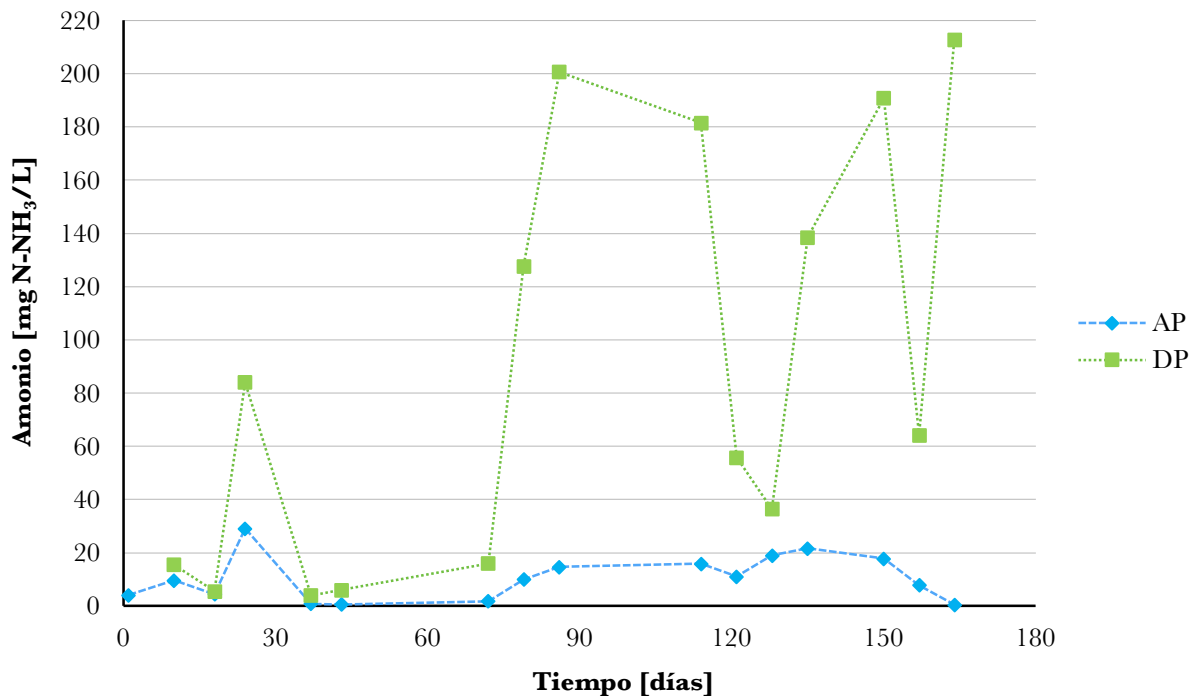


Figura 3.8 Concentración de amonio en la biomasa algal antes y después del pretratamiento.

En cuanto al contenido del fósforo total en la biomasa algal, no se observaron cambios significativos después del pretratamiento térmico (**Figura 3.9**). Sin embargo, después del cambio de floculante se observa un aumento en la concentración de fósforo total, el cual es atribuido a las propiedades fisicoquímicas del PAX-18, el cual tiene una alta remoción de fósforo. Es importante mencionar que el contenido de fósforo en la biomasa algal se encontró por arriba del rango óptimo (25 mg/L) para lograr una digestión anaerobia exitosa (Fang, 2010). El alto contenido de fósforo en la biomasa

algal se atribuye, también, a la capacidad que tiene ésta para remover los nutrientes presentes en el agua residual donde es cultivada.

El alto contenido de fósforo total en la biomasa algal puede nivelarse si se utiliza un co-sustrato que presente un bajo contenido de fósforo total, así se lograría un equilibrio en las condiciones de digestión anaerobia.

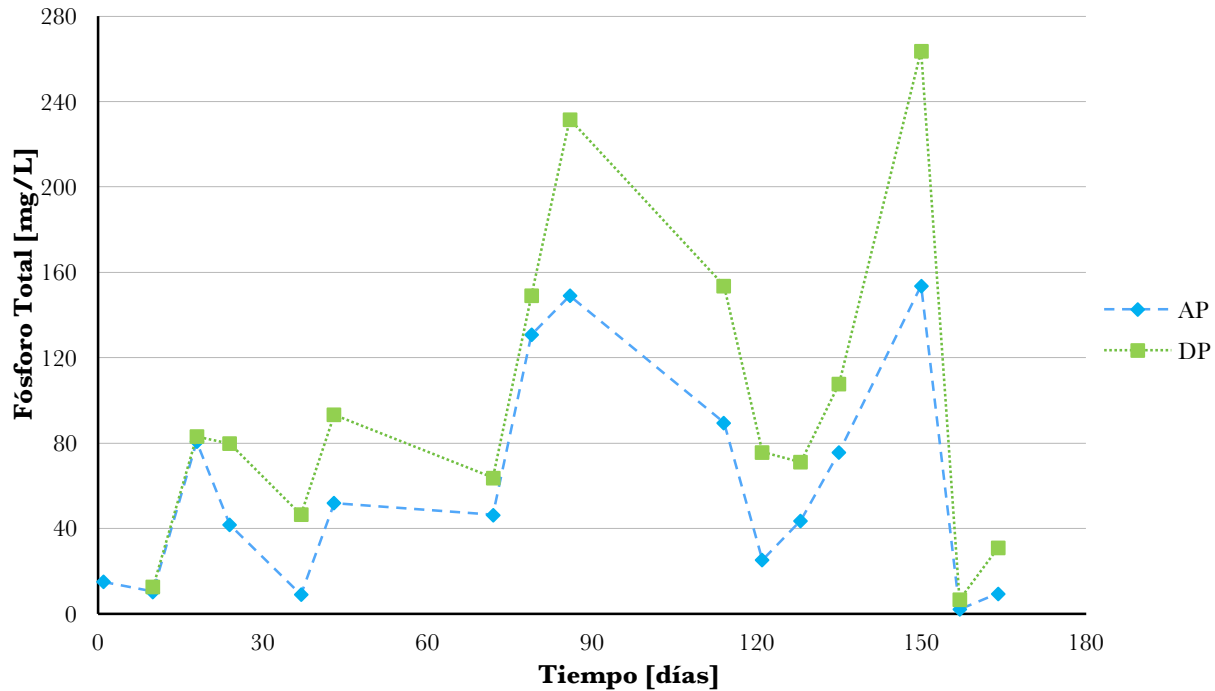


Figura 3.9 Contenido de fósforo total en la biomasa algal antes y después del pretratamiento

3.2.2 Co-digestión Anaerobia de la Biomasa Algal y Lodo Secundario

El desempeño de la co-digestión anaerobia, en el demo-site, de biomasa algal pretratada térmicamente y lodo secundario se evaluó en tres periodos diferentes. Los resultados obtenidos en los periodos de estudio se muestran a continuación.

3.2.2.1 Evaluación del Desempeño del Reactor Anaerobio en el Primer Periodo de Estudio

En el primer periodo de estudio se puso en marcha el digester anaerobio. De acuerdo a los resultados obtenidos en los ensayos BMP, se agregó menos del 70% de biomasa algal (en base de SV). Las condiciones operacionales que se evaluaron durante este periodo fueron las siguientes:

- La temperatura del digester se mantuvo en un rango mesofílico (35°C).
- El caudal de alimentación fue de 15 L/d.
- La carga orgánica (OLR) fue de 0.25 ± 0.09 gSV/Ld, de los cuales en promedio el 46.09% correspondían a lodo secundario y el 53.91% correspondían a biomasa algal térmicamente pretratada (en base de SV).
- El volumen de operación del reactor fue de 300 L.
- El TRH fue de 20 días.

Durante este periodo se observó una remoción de ST y SV del 73.28% y del 75.09% respectivamente. En la **Figura 3.10** y en la **Figura 3.11** se compara el contenido de ST y SV del influente y del efluente, también se muestra el porcentaje de remoción de ST y SV. El porcentaje de remoción de ST y SV es un parámetro que sirve para evaluar la eficiencia del proceso de digestión anaerobia, entre mayor sea el porcentaje de remoción de ST y SV más eficiente es el proceso. Las **Figuras 3.10** y **3.11** muestran el contenido de ST y SV de los tres periodos de estudio.

Como se aprecia en las **Figuras 3.10** y **3.11**, el contenido de ST y SV en el influente durante el primer periodo de estudio sufrió fluctuaciones, lo cual es atribuido a la cantidad y composición de la biomasa producida, y esto influyó en el contenido de ST y SV del efluente (digestato). A pesar de que el contenido de ST y SV del influente fue variable durante el primer periodo, la eficiencia de remoción de ST y SV fue alta y se mantuvo por arriba del 70%.

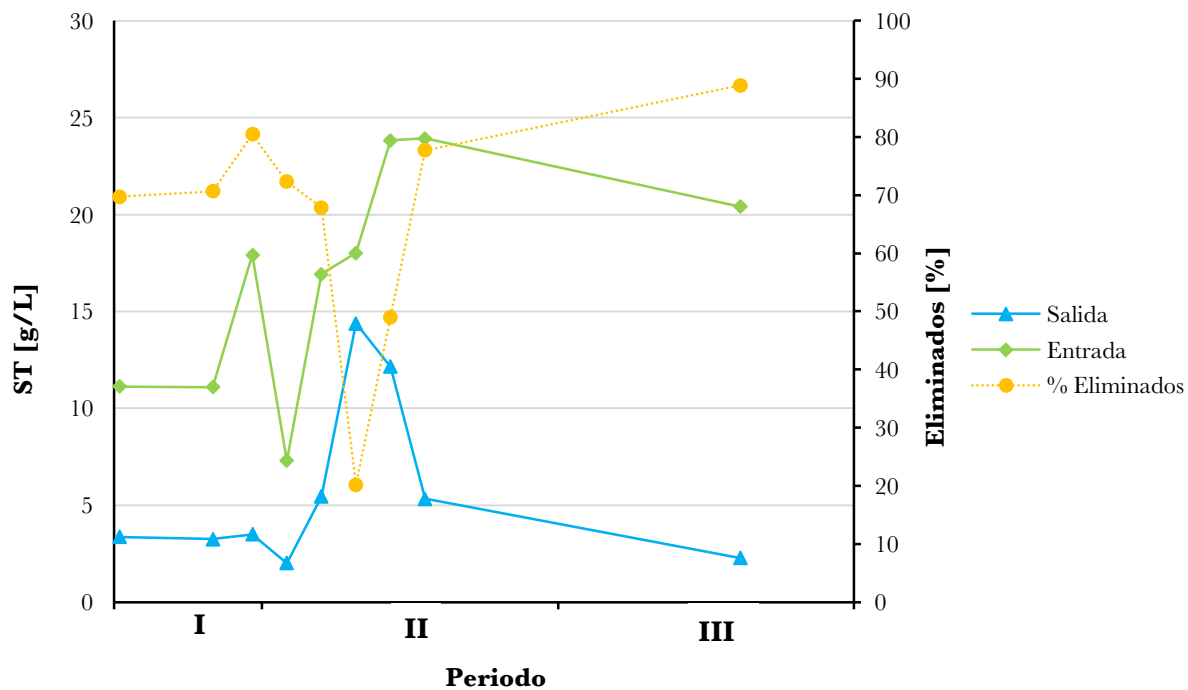


Figura 3.10 Contenido de Sólidos Totales (ST) en el influente y en el efluente, y porcentaje de ST removidos durante los tres periodos de estudio

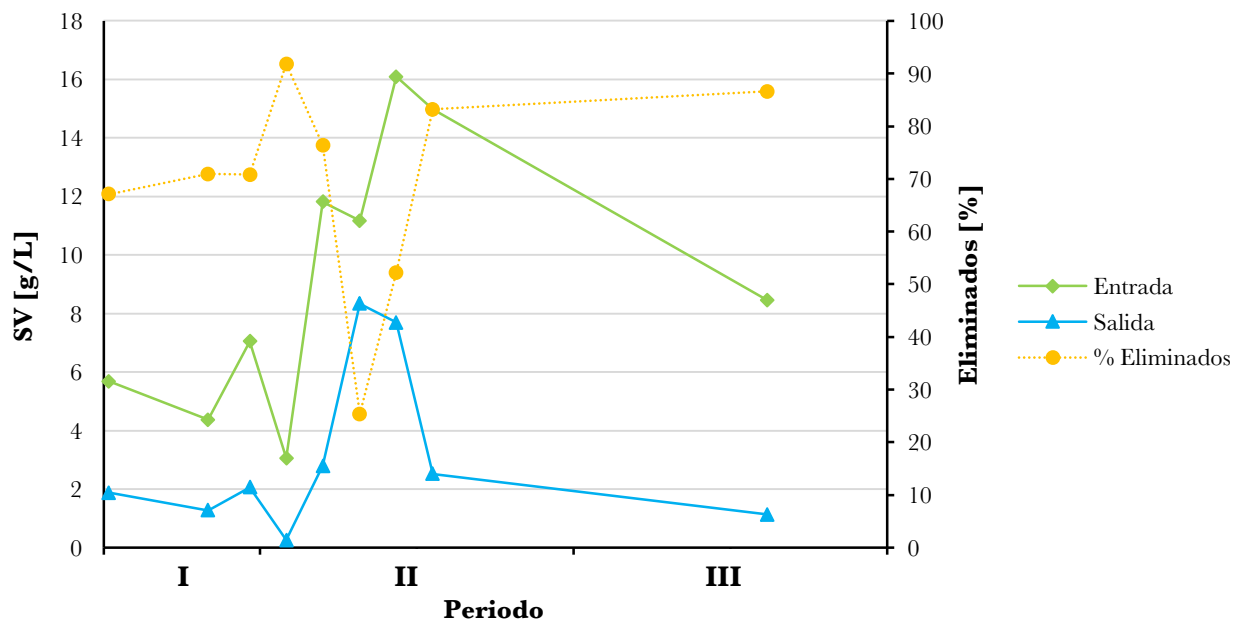


Figura 3.11 Contenido de Sólidos Volátiles (SV) en el influente y en el efluente, y porcentaje de SV removidos durante los tres periodos de estudio

Como se observa en las **Figuras 3.12** y **3.13**, el pH y la temperatura durante este periodo, no registraron fluctuaciones que pudieran haber afectado el crecimiento de las bacterias anaerobias. El pH se mantuvo en un rango entre 7.00 y 7.10, mientras que la temperatura osciló entre los 35 y 36 °C, los cuales se encuentran dentro del rango óptimo de condiciones mesofílicas, para asegurar el adecuado crecimiento de las bacterias anaerobias. Con esto, se puede decir que la nula producción de biogás se debió a la adaptación y al lento crecimiento de las bacterias anaerobias.

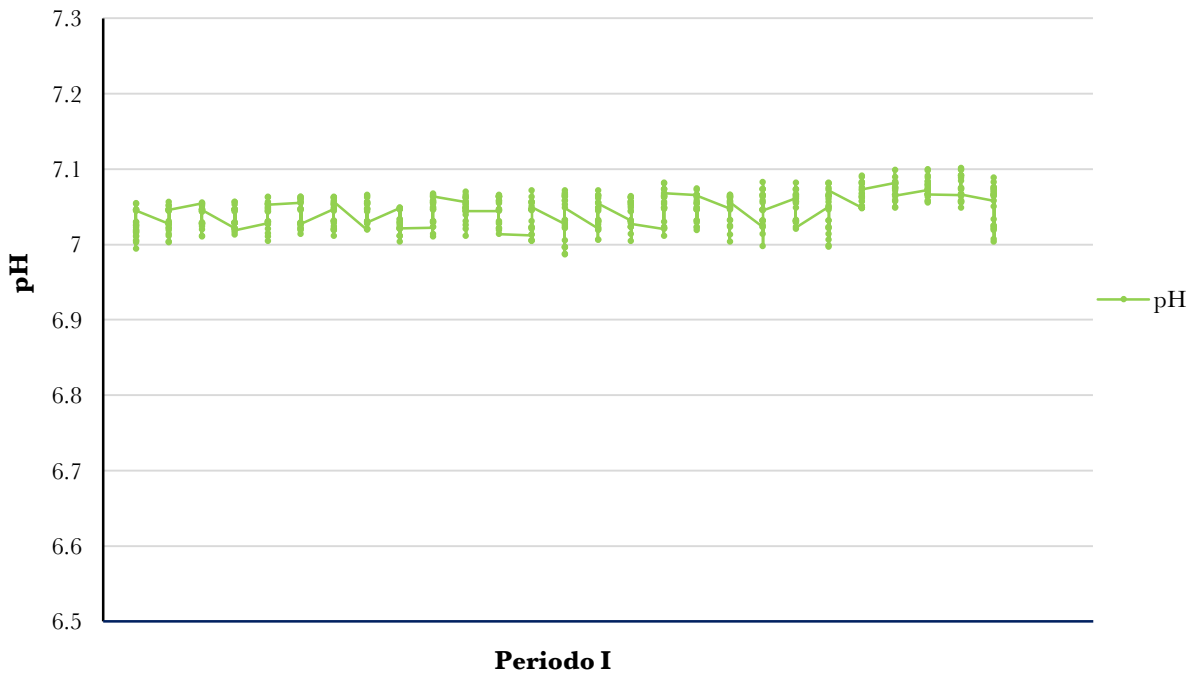


Figura 3.12 Registro del pH del digestor durante el primer periodo de estudio. La OLR fue de 0.25 ± 0.09 gSV/Ld, el caudal de entrada de 15 L/d y el volumen de trabajo de 300 L.

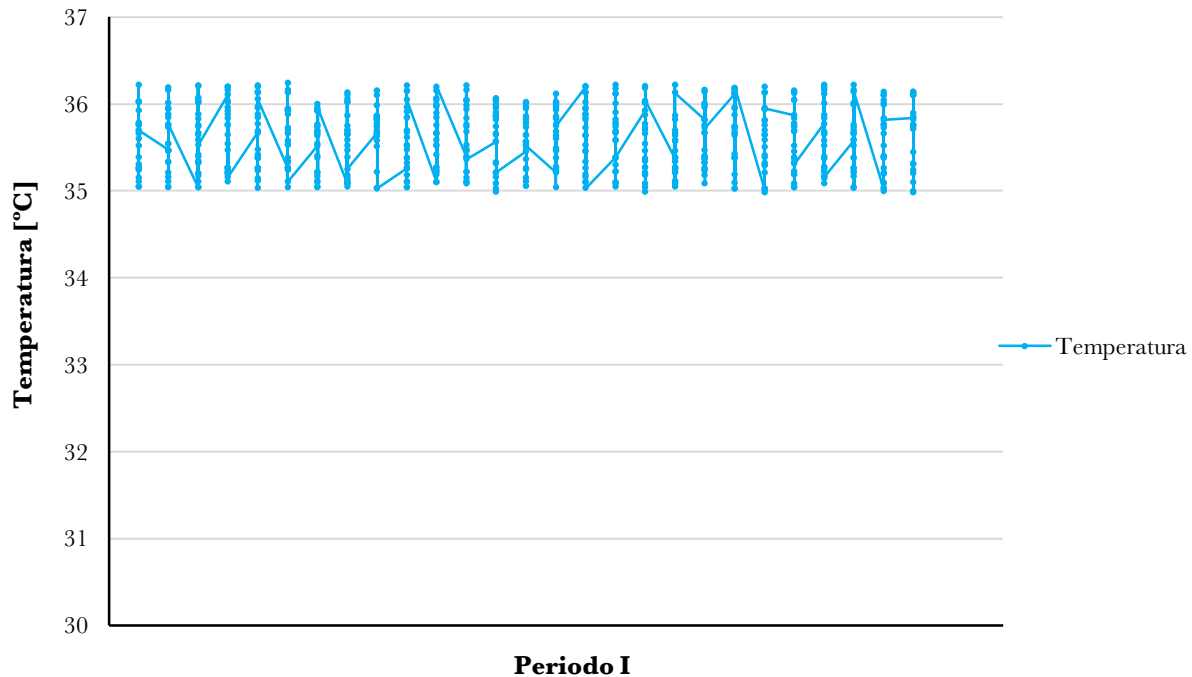


Figura 3.13 Registro de temperatura del digester durante el primer periodo de estudio. La OLR fue de 0.25 ± 0.09 gSV/Ld, el caudal de entrada de 15 L/d y el volumen de trabajo de 300 L.

Por otro lado, la concentración de amonio en el efluente aumentó drásticamente durante el periodo de puesta en marcha superando los 200 mg/L de amonio (**Figura 3.14**), lo cual podría inhibir el crecimiento de los microorganismos anaerobios, principalmente de los metanogénicos. Con el transcurso de los días, la concentración de amonio en el efluente disminuyó, lo cual indica la adaptación de las bacterias anaerobias al medio.

La constante variación en el contenido de amonio en el influente se atribuye a la variación de la composición de la biomasa algal, que, como se ha venido mencionando, es variable durante todo el año. En cuanto al contenido de amonio del efluente, en la **Figura 3.14** se puede observar que sufrió grandes fluctuaciones durante todo el periodo de estudio. Durante el primer periodo se puede observar que el contenido de amonio alcanzó una concentración máxima (1115.32 mg/L), atribuida principalmente al lento crecimiento de los microorganismos anaerobios, pero, en los días siguientes, se observa que la concentración de amonio disminuye gradualmente, lo cual indica el crecimiento de los microorganismos anaerobios.

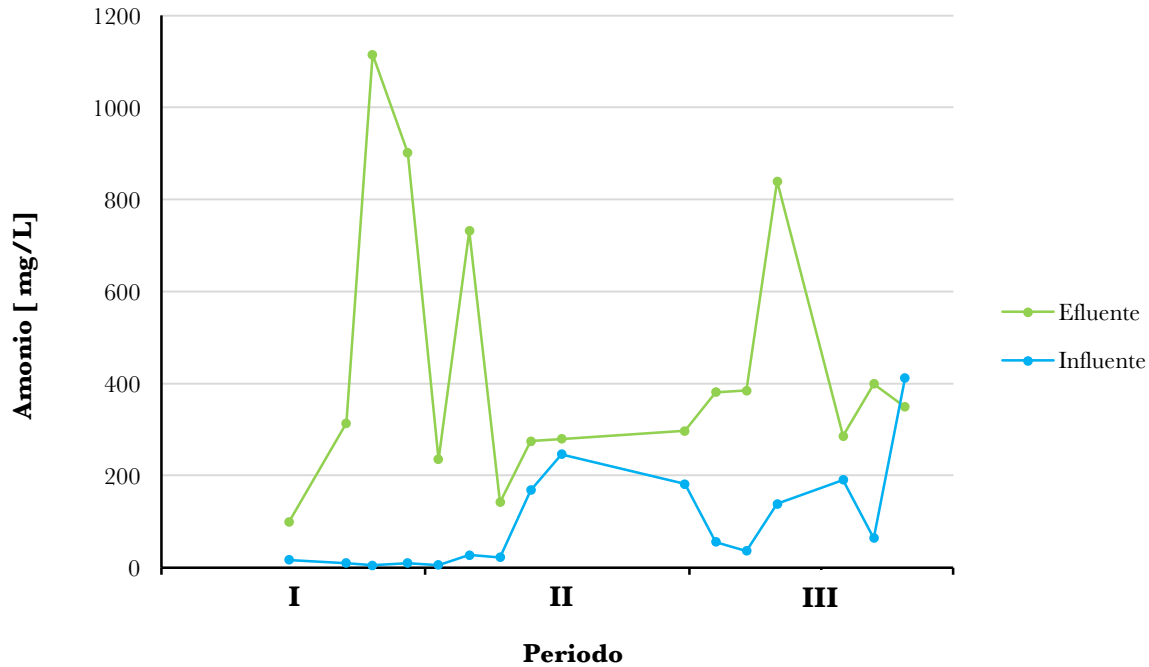


Figura 3.14 Concentración de amonio[mg/L] en el influente y en el efluente durante los diferentes periodos de estudio. Las cargas orgánicas durante los diferentes periodos fueron de: I: OLR 0.25 gSV/Ld. II: OLR 0.60 gSV/Ld. III: OLR 0.77 gSV/Ld. IV: OLR 0.32 gSV/Ld

Observando los resultados obtenidos durante este periodo, se concluyó que los microorganismos necesitaban un aumento de materia orgánica. El aumento de la carga orgánica podría lograr un equilibrio en el interior del digestor, y así, disminuir la concentración de amonio en el reactor. Con esto, se espera que los microorganismos anaerobios terminen de adaptarse al medio y comience la producción de biogás.

3.2.2.2 Evaluación del Desempeño del Reactor Anaerobio en el Segundo Periodo de Estudio

Después de analizar las condiciones y resultados obtenidos del primer periodo de estudio, se decidió aumentar la carga orgánica alimentada al día (OLR), para lograr esto, se utilizó lodo secundario espesado, el cual fue obtenido de la misma planta de aguas residuales donde se obtenía el lodo secundario utilizado anteriormente.

Las condiciones operacionales que se evaluaron durante el segundo periodo fueron las siguientes:

- La temperatura del digestor se mantuvo bajo condiciones mesofilicas (35 °C).
- El caudal de alimentación fue de 15 L/d, de los cuales 7.50 L/d eran de lodo secundario espesado y 7.50 L/d eran de biomasa algal.
- La OLR fue de 0.60 ± 0.08 gSV/Ld, de los cuales el 30% de los SV alimentados al digestor correspondían a la biomasa algal y el 70% de los SV alimentados al digestor correspondían al lodo secundario espesado, de acuerdo a los resultados obtenidos de los ensayos BMP llevados a cabo a nivel laboratorio.
- El volumen de trabajo fue de 300 L.
- El TRH fue de 20 días.

En este periodo de estudio se comenzó a registrar producción de biogás, la cual fue, en promedio, de 26 L_{biogás}/d con un contenido de CH₄ del 55%. La producción de biogás indica que el aumento de carga orgánica logró el equilibrio esperado en el interior del digestor y, la adaptación de los microorganismos al medio.

A pesar de que en este periodo de estudio se registró una producción de biogás, se observó una disminución en la remoción de ST y SV las cuales fueron de 45.69 ± 24.00 % y 51.30 ± 25.50 %, respectivamente. En las **Figuras 3.10** y **3.11** puede observarse cómo, al inicio del segundo periodo de estudio, la remoción de ST y SV sufrió un decaimiento, lo cual es atribuido al aumento de la OLR. La baja remoción de ST y SV indica una baja concentración de microorganismos anaerobios, y los que están presentes en el medio no son capaces de degradar toda la materia orgánica que se alimenta al reactor; con el transcurso del tiempo la remoción de ST y SV fue en aumento, indicando un crecimiento de microorganismos anaerobios. Observando esta tendencia, se espera que en los días posteriores al segundo periodo de estudio la producción de biogás aumente siempre y cuando las condiciones mesofilicas sigan manteniéndose dentro de los rangos óptimos.

En cuanto a las condiciones de pH y temperatura del reactor anaerobio, durante el segundo periodo de estudio fueron, en promedio, de 6.90 ± 0.18 y 35.40 ± 1.16 °C, respectivamente. En la **Figura 3.15** y en la **Figura 3.16** se observan los valores de temperatura y pH registrados durante el segundo periodo de estudio. Como puede apreciarse en la **Figura 3.15**, la temperatura se mantuvo constante, oscilando entre los 35 y 36 °C, sin sufrir fluctuaciones que pudieran afectar el crecimiento de los microorganismos anaerobios.

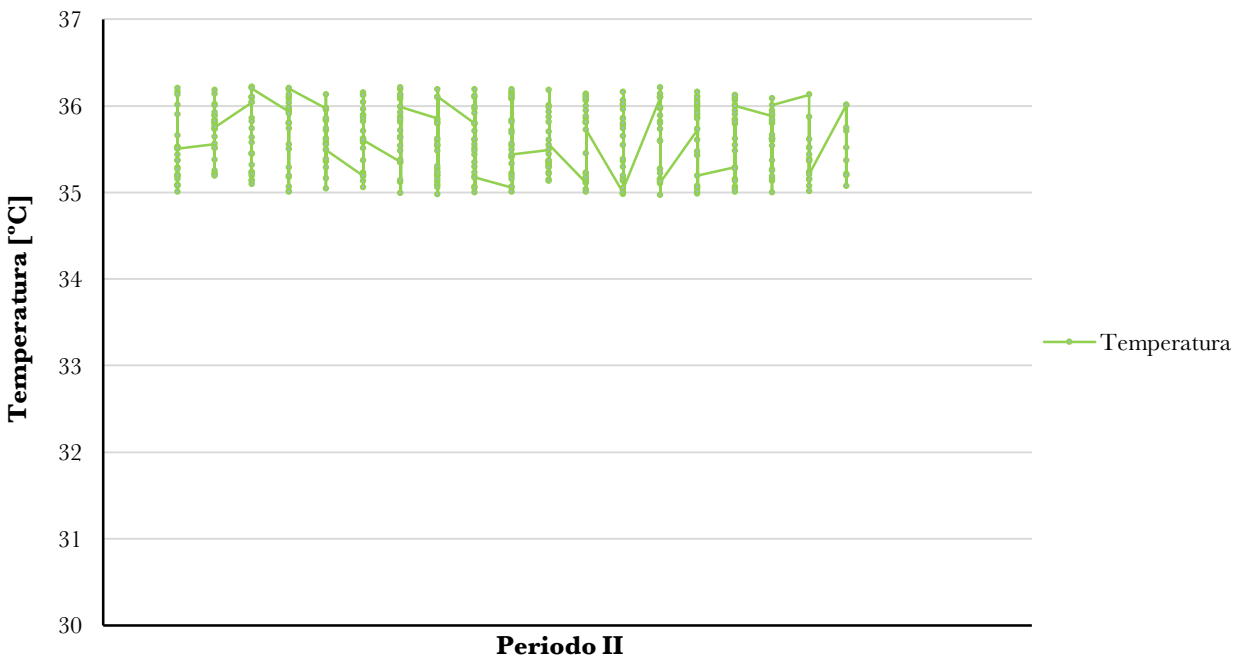


Figura 3.15 Valores de Temperatura registrados durante el segundo periodo de estudio. La OLR fue de 0.60 ± 2.01 gSV/Ld, el caudal de entrada de 15 L/d y el volumen de trabajo de 300 L.

En la **Figura 3.16**, se muestran los valores de pH registrados durante el segundo periodo de estudio. Aunque el pH registró valores por debajo de 7, se mantuvo dentro del rango óptimo (>6.50). La baja en el pH indica una considerable concentración de ácidos grasos en el interior del reactor, pero, como se observa en la misma figura, en los días posteriores el pH fue aumentando gradualmente, este comportamiento en el pH puede atribuirse a dos razones: el crecimiento de microorganismos anaerobios, los cuales consumieron los ácidos grasos presentes en el medio, logrando una estabilización en el pH del proceso; o a un aumento en la concentración de amonio en el medio.

Como se mostró en la **Figura 3.14**, la concentración de amonio en el efluente tuvo un aumento significativo durante los primeros días del segundo periodo de estudio. El aumento significativo en la concentración de amonio en el efluente se atribuye, principalmente, al aumento de carga orgánica. Es importante recordar que el S_D de la biomasa algal registró valores arriba del 80% (**Tabla 3.6**), atribuido a la degradación de proteínas presentes en la biomasa, ocasionando que la relación C/N se mantuviera en un rango de 10.05 ± 3.03 , a pesar de que el 70% de los SV alimentados al reactor provenían del lodo secundario espesado. Con esto, puede decirse que, el

aumento de la concentración de amonio en el efluente y el ligero aumento de pH en el reactor se deben al alto contenido de amonio en el influente, lo que ocasionó una acumulación de amonio en el interior del reactor.

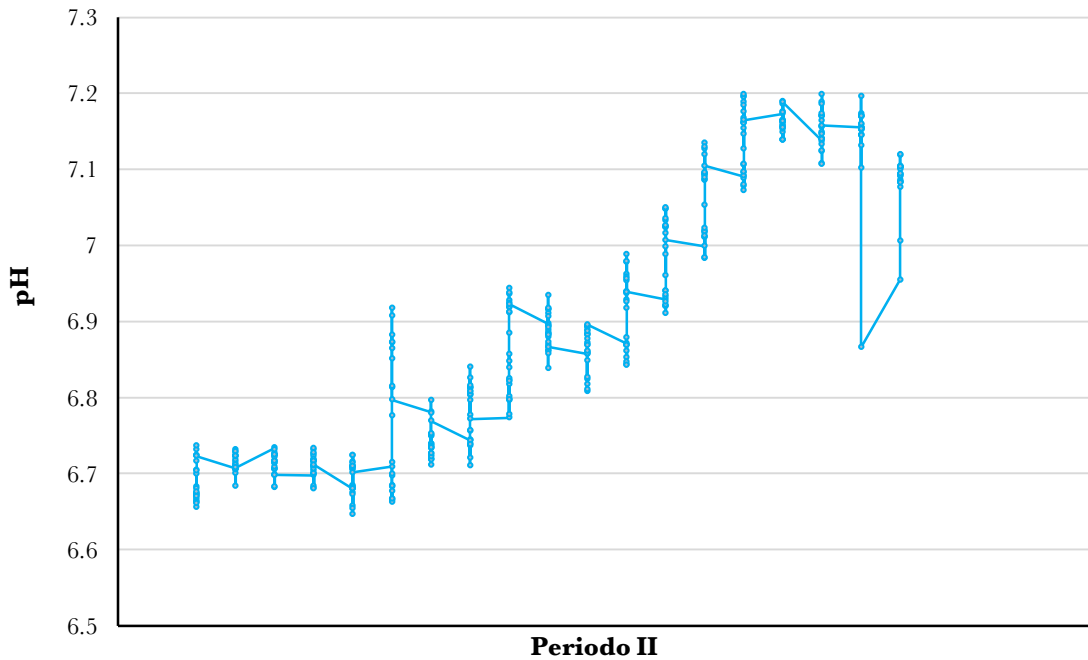


Figura 3.16 Valores de pH registrados durante el segundo periodo de estudio. La OLR fue de 0.60 ± 2.01 gSV/Ld, el caudal de entrada de 15 L/d y el volumen de trabajo de 300 L.

La acumulación de amonio en el reactor pudo inhibir el crecimiento de los microorganismos anaerobios, lo cual explica la baja producción de biogás. Este comportamiento está de acuerdo con resultados reportados previamente (González-Fernández et al., 2012; Schamphelaire & Verstraete, 2009), donde la producción de biogás no tuvo aumentos significativos después de recibir un pretratamiento térmico. Entonces, la baja producción de biogás durante el segundo periodo de estudio se atribuye, principalmente, a la alta concentración de amonio en el influente. A pesar de que en los primeros días del segundo periodo se registraron concentraciones altas de amonio, con el paso de los días, se observa que la concentración de amonio en el efluente disminuyó gradualmente, lo cual puede atribuirse a una adaptación de los microorganismos al medio. Aunque el contenido de amonio en el influente fue alto, se mantuvo por debajo de 1500 mg/L, lo cual no es tóxico para los microorganismos anaerobios (Cabbai et al., 2016).

Todos los datos obtenidos durante el segundo periodo de estudio se resumen en la **Tabla 3.7**.

Entonces, la baja producción de biogás en el demo-site se atribuyen a una acumulación de amonio en el reactor. Observando los resultados obtenidos durante el segundo periodo, se decidió aumentar el volumen de trabajo del reactor conservando el TRH. Con el aumento del volumen de trabajo del reactor se espera disminuir la concentración de amonio en el reactor y, por consecuencia, que la producción de biogás aumente.

3.2.2.3 Evaluación del Desempeño del Reactor Anaerobio en el Tercer Periodo de Estudio

En el tercer periodo de estudio se aumentó el volumen de trabajo en el reactor y el caudal de alimentación con el propósito de conservar el mismo tiempo de retención hidráulica. Se continuó utilizando lodo secundario espesado como co-sustrato.

Las condiciones operacionales que se evaluaron fueron las siguientes:

- La temperatura del digestor se mantuvo en un rango mesofílico (35 °C).
- El caudal de alimentación fue de 22.50 L/d, el cual consistía en 11.25 L/d de lodo secundario y 11.25 L/d de biomasa algal.
- La carga orgánica se mantuvo en 0.75 ± 0.15 gSV/Ld.
- El volumen de trabajo fue de 450 L.
- El TRH fue de 20 día.

Durante el tercer periodo, la producción de biogás tuvo un aumento de más del doble de la producción del periodo anterior; la producción diaria de biogás fue, en promedio, de 50.45 ± 29.93 L/d, éste aumento en la producción de biogás es atribuido al crecimiento de microorganismos anaerobios. También, la eficiencia de remoción de SV aumentó gradualmente durante el tercer periodo de estudio (**Figura 3.11**), lo cual está íntimamente relacionado al crecimiento de microorganismos anaerobios ya que éstos son los encargados de degradar la materia orgánica y producir el biogás.

Por otro lado, el pH y la temperatura se mantuvieron estables y fueron, en promedio, de 7.24 ± 0.10 y 35.62 ± 0.38 °C respectivamente. En la **Figura 3.17** se puede observar que la temperatura se mantuvo oscilando entre 35 y 36 °C, sin sufrir fluctuaciones que pudiesen llegar a afectar o incluso a inhibir el crecimiento de los microorganismos anaerobios.

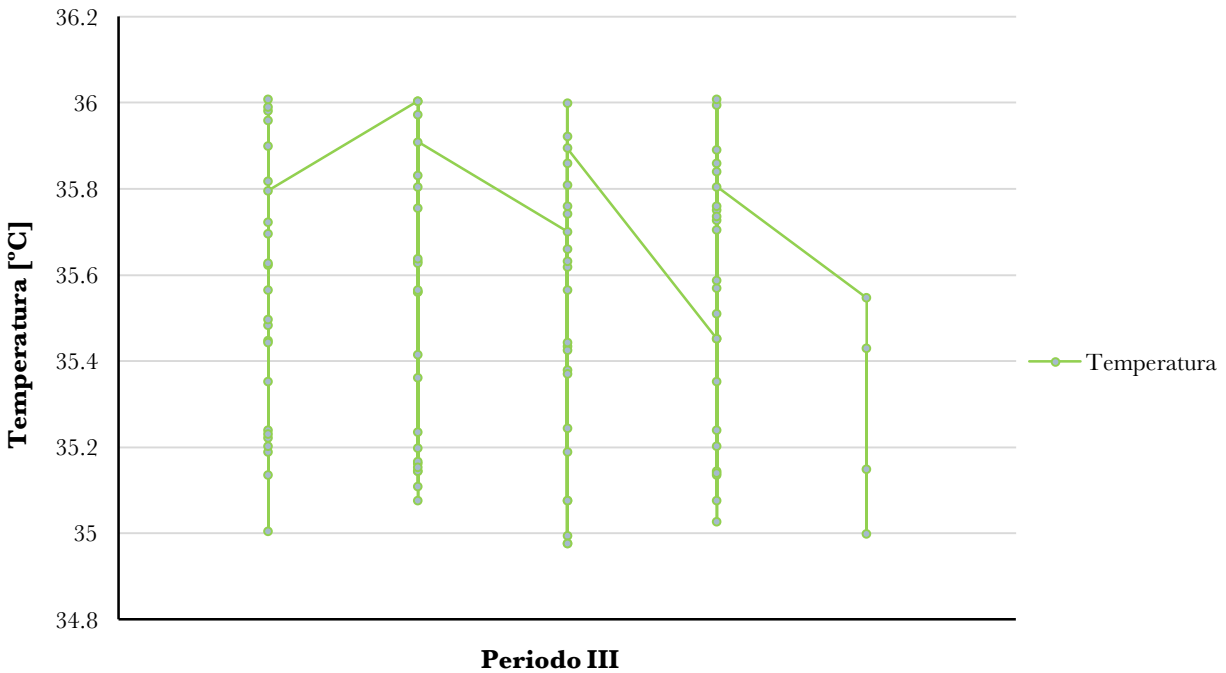


Figura 3.17 Valores de Temperatura registrados durante el tercer periodo de estudio. La OLR fue de 0.75 ± 0.15 gSV/Ld, el caudal de entrada de 22.50 L/d y el volumen de trabajo de 450 L.

En la **Figura 3.18** se muestran los valores de pH registrados durante el tercer periodo de estudio, como se puede observar, el pH osciló entre 7.02 y 7.13. El ligero aumento en el pH se atribuye al alto contenido de amonio en el influente. Durante el tercer periodo de estudio, el influente registró una relación C/N, promedio, de 5.94. La baja relación C/N del influente provocó que el contenido de amonio en el reactor fuera superior a 200 mg/L (**Figura 3.14**). A pesar de que el influente presentó una baja relación C/N, el contenido de amonio en el efluente disminuyó con el transcurso de los días, lo cual indica una adaptación de los microorganismos anaerobios a las altas concentraciones de amonio. Esta adaptación de los microorganismos anaerobios aumentó la producción de biogás y la remoción de materia orgánica.

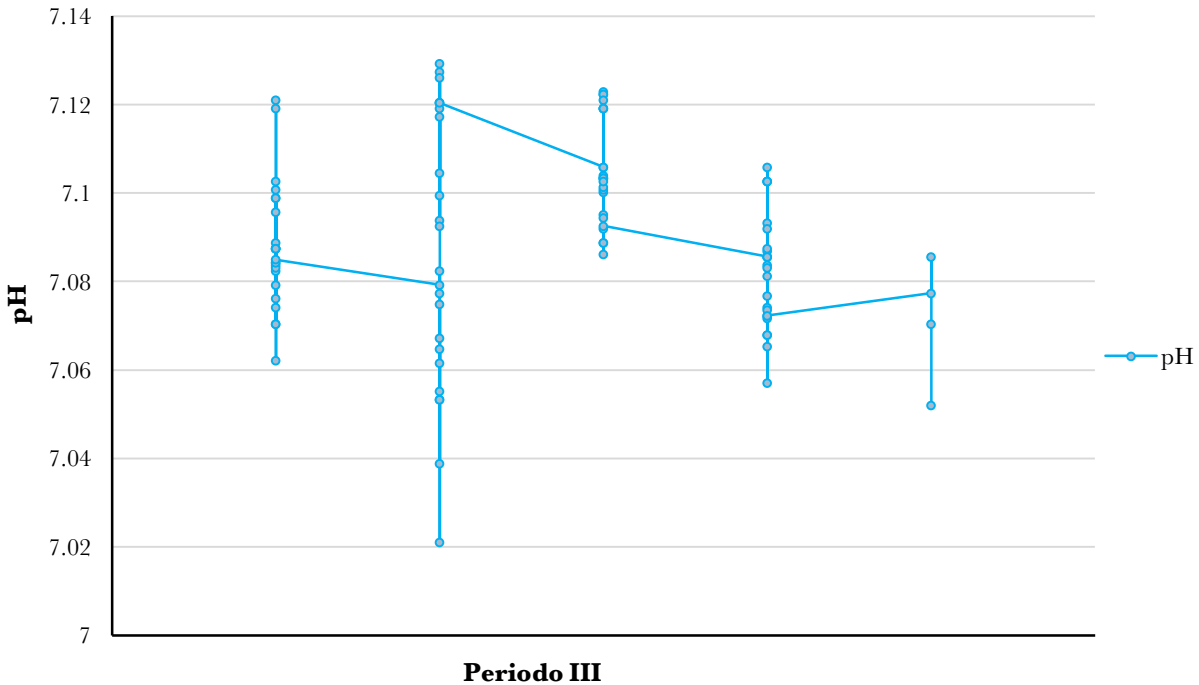


Figura 3.18 Valores de pH registrados durante el tercer periodo de estudio. La OLR fue de 0.75 ± 0.15 gSV/Ld, el caudal de entrada de 22.50 L/d y el volumen de trabajo de 450 L.

A pesar de que la producción de biogás y la eficiencia de remoción de materia orgánica aumentó durante el tercer periodo, el volumen de biogás producido no fue el esperado, ya que sólo se produjo el 20% del volumen teórico (**Tabla 3.8**). Todos los datos obtenidos del periodo III se resumen en la **Tabla 3.7**.

Aun cuando se registraron altas eficiencias de remoción de SV tanto a nivel laboratorio como en el demo-site, la co-digestión de lodo secundario y biomasa algal no logró el equilibrio esperado en la relación C/N del influente, al contrario, la relación C/N fue disminuyendo en cada periodo de estudio. La baja relación C/N en el influente llevó a una acumulación de amonio en el reactor que afectó directamente el crecimiento de los microorganismos anaerobios, y, en consecuencia, a la producción de biogás. La baja relación C/N en el influente se atribuye a la composición de ambos co-sustratos, por un lado, el lodo secundario presentó un alto contenido de proteínas (54%, **Tabla 2.1**); y, por otro lado, el contenido de proteínas de la biomasa algal (30%, **Tabla 2.1**), las cuales, al momento de recibir el pretratamiento térmico, fueron degradadas a amonio.

Con los resultados obtenidos del tercer periodo de estudio, se puede decir que, el aumento en la producción de biogás se debió a una adaptación de los microorganismos anaerobias a altas concentraciones de amonio.

Tabla 3.7 Resultados de la evaluación de la digestión anaerobia de los diferentes periodos de estudio.

	Periodo II	Periodo III
<i>Condiciones de Trabajo</i>		
Temperatura	35.40±1.16	35.51±0.31
TRH (d)	20	20
OLR (Gsv/L d)	0.60±0.08	0.77±0.03
Ph	6.90±0.18	7.09±0.02
Volumen de trabajo (L)	300	450
Caudal (L/d)	15	22.50
<i>Composición del Influyente</i>		
TS (g/L)	19.59±3.71	23.92±0.18
VS (g/L)	13.02±2.68	14.98±0.19
VS/TS	0.66±0.04	0.63±0.01
C/N	10.05±3.03	5.94
<i>Composición del Efluente</i>		
TS (g/L)	10.65±4.65	5.33±0.18
VS (g/L)	6.27±3.03	2.52±0.19
VS/TS	0.58±0.06	0.47±0.01
C/N	4.90±1.40	5.07
<i>Eficiencia de Remoción</i>		
TS removidos (%)	45.69±24	83.18±0.22
VS removidos (%)	51.30±25.50	77.69±0.09
<i>Características del Biogás</i>		
PD _{biogás} (L _{biogás} /día)	25.59±17.94	50.45±29.93
P _{biogás} (m ³ _{biogás} / m ³ _{reactor} d)	0.09±0.06	0.11±0.07
PE _{biogás} (m ³ _{biogás} /kgSV)	0.15±0.08	0.16±0.09
Contenido de CH ₄ (%)	55.00	64.81
P _{CH4} (m ³ _{CH4} / m ³ _{reactor} d)	0.05±0.03	0.07±0.05
PE _{CH4} (m ³ _{CH4} /kgSV)	0.08±0.04	0.10±0.07

Tabla 3.8 Comparación de la producción teórica y producción experimental de biogás durante los diferentes periodos de estudio.

	Periodo II	Periodo III
<i>DQO_{entrada} (g/L)</i>	14.94±9.05	25.39±1.93
<i>DQO_{salida} (g/L)</i>	8.55±5.72	4.14±0.12
<i>DQO_{eliminada} (%)</i>	39.96±17.46	83.47±0.82
<i>Volumen teórico de biogás (L/d)</i>	104.59	266.56
<i>Volumen experimental de biogás (L/d)</i>	25.59±17.94	50.45±29.93
<i>Error (%)</i>	75.53	81.07

Analizando los resultados obtenidos durante los tres periodos de estudio, se puede decir que el lodo secundario no causó el equilibrio esperado en la relación C/N del influente. La alta concentración de amonio en el influente se atribuye principalmente a la composición de la biomasa algal y al largo periodo de exposición de la misma al pretratamiento, lo cual hace que las proteínas contenidas en la biomasa algal sean degradadas a amonio. La baja relación C/N en el influente ocasionó una acumulación de amonio en el reactor y afectó el crecimiento de las bacterias anaerobias. Observando los resultados obtenidos durante los tres periodos de estudio, es recomendable reducir el tiempo de exposición de la biomasa algal, o, en su defecto estudiar la co-digestión anaerobia de biomasa algal térmicamente pretratada y un co-sustrato con un mayor contenido de carbono.

Debido a que la co-digestión anaerobia de biomasa algal y lodo secundario no ha sido estudiada a nivel planta piloto, los resultados obtenidos en éste estudio no tienen comparación directa con otros trabajos. Sin embargo, estudios reportados por otros autores (Bolzonella et al., 2006; Cabbai et al., 2016; Gómez et al., 2006) acerca de la co-digestión anaerobia de residuos orgánicos urbanos, principalmente de fruta y vegetales con lodos residuales de plantas de tratamiento de aguas llevados a cabo a un nivel planta piloto o incluso a un nivel de gran escala, sirven como referencia para comparar la eficiencia del proceso de digestión anaerobia de la biomasa algal y lodo secundario de este estudio.

La producción específica de biogás obtenida en el demo-site fue menor a los datos reportados por Cabbai et al., 2016, quienes llevaron a cabo la co-digestión anaerobia de desechos de frutas y vegetales y lodos de aguas residuales en condiciones mesofílicas (37-38 °C) con una OLR de 0.80 kgSV/m³d y un TRH de 24 días, obteniendo una producción específica de biogás de 0.39

$\text{m}^3_{\text{biogás}}/\text{kgSV}_{\text{alimentado}}$. En éste estudio, durante el periodo III se alimentó una OLR comparable ($0.77 \text{ kgSV}/\text{m}^3\text{d}$) con un TRH de 20 días y se obtuvo una producción específica de biogás del 50% reportada por éstos autores ($0.16\pm 0.09 \text{ m}^3_{\text{biogás}}/\text{kgSV}_{\text{alimentado}}$), lo cual es esperado por dos razones principales: primero, el TRH reportado por Cabbai et al., 2016 fue mayor al TRH de este estudio, a mayor TRH mayor tiempo de contacto tienen los microorganismos anaerobios con la materia orgánica, y, por consiguiente, se tiene una mayor producción de biogás; y, por otro lado, los residuos de frutas y verduras presentan un alto contenido de carbohidratos, logrando un equilibrio en la relación C/N del influente y evitando una acumulación de amonio.

Bolzonella et al., 2006, también reportaron la co-digestión anaerobia, a gran escala, de residuos de lodos activados y la fracción orgánica de desechos urbanos con una OLR de $0.78 \text{ kgSV}/\text{m}^3\text{d}$ y un TRH de 22 días, obteniendo una producción específica de biogás de $0.43 \text{ m}^3/\text{kgSV}$. Durante el tercer periodo de éste estudio, la OLR fue muy similar a la reportada por Bolzonella et al., 2006, ($0.77 \text{ kgSV}/\text{m}^3\text{d}$) sin embargo, la baja relación C/N en el influente provocó una acumulación de amonio en el reactor ocasionando una baja producción específica de biogás ($0.16\pm 0.09 \text{ m}^3_{\text{biogás}}/\text{kgSV}_{\text{alimentado}}$).

En cuanto a la digestión anaerobia de biomasa algal en reactores continuos, Passos & Ferrer, 2014 estudiaron la digestión anaerobia de biomasa algal, cultivada en agua residual térmicamente pretratada ($75 \text{ }^\circ\text{C}$, 10h), en un reactor continuo a nivel laboratorio con un TRH de 20 días y una OLR de $0.68 \text{ kgSV}/\text{m}^3\text{d}$, reportando una producción de metano de $0.20 \text{ m}^3_{\text{CH}_4}/\text{m}^3\text{d}$. La producción de CH_4 en éste trabajo de maestría estuvo por debajo de los datos reportados por Passos & Ferrer, 2014, siendo de 0.05 ± 0.03 y $0.07\pm 0.05 \text{ m}^3_{\text{CH}_4}/\text{m}^3\text{d}$ para el periodo II y III respectivamente. La baja producción de CH_4 en éste estudio de maestría es atribuida principalmente a la baja relación C/N que presentó el influente durante todo el tiempo de estudio, además, las altas concentraciones de amonio en el reactor pudieron llevar a una acumulación de ácidos grasos volátiles (AGV), lo cual es un factor que puede llegar a inhibir la producción de biogás, aunque es posible que los microorganismos anaerobios se adapten a un medio con altas concentraciones de amonio, como parece ser el caso de éste estudio, la producción de biogás se verá afectada.

Finalmente, Oswald & Received, 1998 estudiaron el efecto del pretratamiento térmico en la digestión anaerobia de biomasa algal en modo continuo a diferentes tiempos de exposición y temperaturas, observando que la mayor producción de biogás se obtuvo a temperaturas entre 60

y 80° C por un tiempo de exposición de 1 a 2 horas, el pretratamiento térmico aplicado en este estudio tiene un tiempo de exposición de 20 horas, el cual puede llegar a tener un efecto antagonista en la producción de biogás porque aumenta drásticamente el contenido de amonio en el influente, lo cual puede llevar a una acumulación de AGV y, en consecuencia, a una baja producción de biogás o incluso, se puede llegar a inhibir el proceso de digestión anaerobia.

Observando los resultados obtenidos en este estudio, se puede decir que la co-digestión anaerobia de biomasa algal y lodo secundario aumentó la producción de biogás comparada con la sola digestión anaerobia de la biomasa algal térmicamente pretratada, pero, el largo tiempo de exposición al pretratamiento térmico aumentó drásticamente los niveles de amonio y afectó la producción de biogás en el demo-site. Comparando la producción obtenida en este estudio con trabajos previamente reportados, se puede decir que la co-digestión de biomasa algal térmicamente pretratada y lodo secundario no logró la producción de biogás esperada, sin embargo, es posible mejorar el rendimiento de producción de biogás en el demo-site si: se reduce el tiempo de exposición del pretratamiento térmico, se utiliza algún tipo de neutralizador que reduzca el contenido de amonio en el reactor o si, en su defecto, se utiliza algún otro co-sustrato con un mayor contenido de carbono.

Capítulo 4

Conclusiones y Recomendaciones

El pretratamiento térmico aumentó en un 97.14% el S_D de la biomasa algal utilizada en los ensayos BMP. A pesar de que se obtuvo un gran aumento en el S_D , la digestión anaerobia de la biomasa algal presentó rendimientos de producción menores a los esperados, 22.47 mL_{biogás}/gSV con un contenido promedio de metano de 46.59%.

La co-digestión anaerobia de biomasa algal térmicamente pretratada y lodo primario aumentó hasta en 8 veces más el rendimiento de producción de biogás, 452.23 mL_{biogás}/gSV, comparado con la digestión anaerobia de la biomasa algal térmicamente pretratada, 48.23 mL_{biogás}/gSV, cuando se agregó una relación 25% de biomasa algal térmicamente pretratada y 75% de lodo primario (en base de sólidos volátiles). Por otro lado, cuando se agregó lodo secundario en una relación 25% de biomasa algal térmicamente pretratada y 75% de lodo secundario (en base de sólidos volátiles) se obtuvo un aumento de hasta 4 veces mayor, 253.50 mL_{biogás}/gSV, comparado con la digestión anaerobia de biomasa algal térmicamente pretratada. La co-digestión anaerobia de la biomasa algal térmicamente pretratada y lodos residuales mejoró las constantes cinéticas para todos los casos evaluados sin importar el tipo o la relación de co-sustrato evaluado.

La co-digestión de biomasa algal térmicamente pretratada y lodo primario mejoró la producción de biogás para todos los casos evaluados, en cambio la co-digestión de biomasa algal térmicamente

pretratada y lodo secundario solo mejoró la producción de biogás para los casos en los que se agregó un 25% y un 45% de sólidos volátiles de biomasa algal pretratada térmicamente.

El co-sustrato óptimo para la co-digestión anaerobia de biomasa algal en el demo-site es el lodo secundario, debido a que con éste co-sustrato se obtuvieron los mayores porcentajes de contenido de metano y una mayor eliminación de materia orgánica en términos de sólidos volátiles.

Para recuperar la máxima energía posible de la biomasa algal es necesario aplicar un pretratamiento, además añadir un co-sustrato rico en carbono para lograr un equilibrio en el proceso de digestión anaerobia.

Se sugiere y recomienda llevar a escala piloto la co-digestión de biomasa algal pretratada y lodo secundario cuidando que la carga orgánica alimentada de biomasa algal pretratada térmicamente no sea mayor a 70%, en términos de sólidos volátiles, debido a que, de acuerdo a los resultados obtenidos de los ensayos BMP, cuando se agrega biomasa algal en mayor proporción la producción de biogás es menor comparada con la digestión anaerobia de la biomasa algal pretratada.

El pretratamiento térmico utilizado en el demo-site aumenta el grado de solubilidad de la materia orgánica contenida en la biomasa algal hasta en un 158%, a pesar de que la biomasa algal es cultivada a escala planta piloto, donde existen factores externos que no pueden ser controlados ocasionando una constantemente variación en su composición.

La co-digestión anaerobia de lodo secundario y biomasa algal térmicamente pretratada no alcanzó la producción de biogás esperada en el demo-site. La relación C/N durante la co-digestión anaerobia de lodo secundario y biomasa algal en el demo-site se mantuvo por debajo del rango óptimo durante todo el estudio, ocasionando una alta concentración de amonio en el digestato y, por consiguiente, una baja producción de biogás.

Para aumentar la producción de biogás en el demo-site, se recomienda reducir el tiempo de exposición al pretratamiento térmico, ya que podría ser un factor antagonista, ya que aumenta significativamente el contenido de amonio de la biomasa algal y la producción de biogás se ve afectada. Por otro lado, el utilizar algún tipo de neutralizador al reactor podría equilibrar el contenido de amonio del reactor, y, finalmente se recomienda agregar un co-sustrato con un mayor contenido de carbono y observar su comportamiento.

Bibliografía

- Adinurani, P. G., Hendroko, S. R., Wahono, S. K., Nindita, A., Mairziwan, M., Sasmito, A., ... Liwang, T. (2015). The Performance of *Jatropha Curcas* Linn. Capsule Husk as Feedstocks Biogas in One Phase Anaerobic Digestion. Adinurani, P. G., Hendroko, S. R., Wahono, S. K., Nindita, A., Mairziwan, M., Sasmito, A., ... Liwang, T. (2015). The Performance of *Jatropha Curcas* L. *Procedia Chemistry*, *14*, 316–325.
<https://doi.org/10.1016/j.proche.2015.03.044>
- Ajeej, A., Thanikal, J. V, Narayanan, C. M., & Senthil Kumar, R. (2015). An overview of bio augmentation of methane by anaerobic co-digestion of municipal sludge along with microalgae and waste paper. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, *50*, 270–276.
<https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.04.121>
- Alzate, M. E., Muñoz, R., Rogalla, F., Fdz-Polanco, F., & Pérez-Elvira, S. I. (2012). Biochemical methane potential of microalgae: Influence of substrate to inoculum ratio, biomass concentration and pretreatment. *Bioresource Technology*, *123*, 488–494.
<https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2012.06.113>
- Arenas, E. G., Rodriguez Palacio, M. C., Juantorena, A. U., Fernando, S. E. L., & Sebastian, P. J. (2017). Microalgae as a potential source for biodiesel production: techniques, methods, and other challenges. *International Journal of Energy Research*, *41*(6), 761–789.
<https://doi.org/10.1002/er.3663>
- Arias, D. M., Solé-Bundó, M., Garfi, M., Ferrer, I., García, J., & Uggetti, E. (2018a). Integrating microalgae tertiary treatment into activated sludge systems for energy and nutrients recovery from wastewater. *Bioresource Technology*, *247*, 513–519.
<https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2017.09.123>
- Arias, D. M., Solé-Bundó, M., Garfi, M., Ferrer, I., García, J., & Uggetti, E. (2018b). Integrating microalgae tertiary treatment into activated sludge systems for energy and nutrients recovery from wastewater. *Bioresource Technology*, *247*(July), 513–519.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.123>
- Bahadar, A., & Bilal Khan, M. (2013). Progress in energy from microalgae: A review. *Renewable*

- and Sustainable Energy Reviews*, 27, 128–148. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2013.06.029>
- Bai, X., Lant, P. A., Jensen, P. D., Astals, S., & Pratt, S. (2016). Enhanced methane production from algal digestion using free nitrous acid pre-treatment. *Renewable Energy*, 88, 383–390. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2015.11.054>
- Bolzonella, D., Battistoni, P., Susini, C., & Cecchi, F. (2006). Anaerobic codigestion of waste activated sludge and OFMSW: The experiences of Viareggio and Treviso plants (Italy). *Water Science and Technology*, 53(8), 203–211. <https://doi.org/10.2166/wst.2006.251>
- Brennan, L., & Owende, P. (2010). Biofuels from microalgae—A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14(2), 557–577. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2009.10.009>
- Cabbai, V., De Bortoli, N., & Goi, D. (2016). Pilot plant experience on anaerobic codigestion of source selected OFMSW and sewage sludge. *Waste Management*, 49, 47–54. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2015.12.014>
- Cardaña, R., Moreno, G., Bakonyi, P., & Buitrón, G. (2017). Enhancement of methane production from various microalgae cultures via novel ozonation pretreatment. *Chemical Engineering Journal*, 307, 948–954. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.09.016>
- Chen, C.-Y., Zhao, X.-Q., Yen, H.-W., Ho, S.-H., Cheng, C.-L., Lee, D.-J., ... Chang, J.-S. (2013). Microalgae-based carbohydrates for biofuel production. *Biochemical Engineering Journal*, 78, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2013.03.006>
- Cho, S., Park, S., Seon, J., Yu, J., & Lee, T. (2013). Evaluation of thermal, ultrasonic and alkali pretreatments on mixed-microalgal biomass to enhance anaerobic methane production. *Bioresource Technology*, 143, 330–336. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.06.017>
- Choong, Y. Y., Chou, K. W., & Norli, I. (2018). Strategies for improving biogas production of palm oil mill effluent (POME) anaerobic digestion: A critical review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 82(August), 2993–3006. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.10.036>
- Dalkılıç, K., & Ugurlu, A. (2015). Biogas production from chicken manure at different organic loading rates in a mesophilic-thermophilic two stage anaerobic system. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 120(3), 315–322. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2015.01.021>
- Elias Castells, X. (2005). *Tratamiento y valorización energética de residuos*. (Ediciones Díaz de Santos, Ed.) (1st ed.). Madrid. Retrieved from <http://www.diazdesantosexico.com.mx/libros/elias-castells-xavier-tratamiento-y-valorizacion-energetica-de-residuos-C03006940103.html#contenido>
- Erkelens, M., Ward, A. J., Ball, A. S., & Lewis, D. M. (2014). Microalgae digestate effluent as a growth medium for *Tetraselmis* sp. in the production of biofuels. *Bioresource Technology*, 167, 81–86. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.05.126>

- Fang, C. (2010). *Biogas production from food-processing industrial wastes by anaerobic digestion*. *Water Research* (Vol. 19). [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(85\)90343-4](https://doi.org/10.1016/0043-1354(85)90343-4)
- Golueke, C. G., Oswald, W. J., & Gotaas, H. B. (1957). Anaerobic digestion of Algae. *Applied Microbiology*, *5*, 47–55.
- Gómez, X., Cuetos, M. J., Cara, J., Morán, A., & García, A. I. (2006). Anaerobic co-digestion of primary sludge and the fruit and vegetable fraction of the municipal solid wastes. Conditions for mixing and evaluation of the organic loading rate. *Renewable Energy*, *31*(12), 2017–2024. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2005.09.029>
- González-Fernández, C., Sialve, B., Bernet, N., & Steyer, J. P. (2012). Thermal pretreatment to improve methane production of *Scenedesmus* biomass. *Biomass and Bioenergy*, *40*, 105–111. <https://doi.org/10.1016/J.BIOMBIOE.2012.02.008>
- Gruber-Brunhumer, M. R., Jerney, J., Zohar, E., Nussbaumer, M., Hieger, C., Bochmann, G., ... Drosig, B. (2015). *Acutodesmus obliquus* as a benchmark strain for evaluating methane production from microalgae: Influence of different storage and pretreatment methods on biogas yield. *Algal Research*, *12*, 230–238. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.08.022>
- Gutiérrez, R., Passos, F., Ferrer, I., Uggetti, E., & García, J. (2015). Harvesting microalgae from wastewater treatment systems with natural flocculants: Effect on biomass settling and biogas production. *Algal Research*, *9*, 204–211. <https://doi.org/10.1016/J.ALGAL.2015.03.010>
- He, S., Fan, X., Katukuri, N. R., Yuan, X., Wang, F., & Guo, R.-B. (2016). Enhanced methane production from microalgal biomass by anaerobic bio-pretreatment. *Bioresour Technol*, *204*, 145–151. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.12.073>
- Heaven, S., Milledge, J., & Zhang, Y. (2011). Comments on “Anaerobic digestion of microalgae as a necessary step to make microalgal biodiesel sustainable.” *Biotechnology Advances*, *29*(1), 164–167. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2010.10.005>
- Hendriks, A. T. W. M., & Zeeman, G. (2009). Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. *Bioresour Technol*, *100*(1), 10–18. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.05.027>
- Hom-Díaz, A., Passos, F., Ferrer, I., Vicent, T., & Blázquez, P. (2016). Enzymatic pretreatment of microalgae using fungal broth from *Trametes versicolor* and commercial laccase for improved biogas production. *Algal Research*, *19*, 184–188. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.08.006>
- Jain, S., Jain, S., Wolf, I. T., Lee, J., & Tong, Y. W. (2015). A comprehensive review on operating parameters and different pretreatment methodologies for anaerobic digestion of municipal solid waste. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, *52*, 142–154. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.07.091>
- Khalid, A. A. H., Yaakob, Z., Abdullah, S. R. S., & Takriff, M. S. (2016). Enhanced growth and

- nutrients removal efficiency of *Characium* sp. cultured in agricultural wastewater via acclimatized inoculum and effluent recycling. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 4(3), 3426–3432. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2016.07.020>
- Khalid, A., Arshad, M., Anjum, M., Mahmood, T., & Dawson, L. (2011). The anaerobic digestion of solid organic waste. *Waste Management*, 31(8), 1737–1744. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2011.03.021>
- Klassen, V., Blifernez-Klassen, O., Wobbe, L., Schlüter, A., Kruse, O., & Mussnug, J. H. (2016). Efficiency and biotechnological aspects of biogas production from microalgal substrates. *Journal of Biotechnology*, 234, 7–26. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2016.07.015>
- Kumar, P., Prajapati, S. K., Malik, A., & Vijay, V. K. (2017). Cultivation of native algal consortium in semi-continuous pilot scale raceway pond for greywater treatment coupled with potential methane production. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 5(6), 5581–5587. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2017.10.044>
- Lam, M. K., & Lee, K. T. (2012). Microalgae biofuels: A critical review of issues, problems and the way forward. *Biotechnology Advances*, 30(3), 673–690. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.11.008>
- Mahdy, A., Mendez, L., Ballesteros, M., & González-Fernández, C. (2014). Algaculture integration in conventional wastewater treatment plants: Anaerobic digestion comparison of primary and secondary sludge with microalgae biomass. *Bioresource Technology*, 184, 236–244. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.09.145>
- Mahdy, A., Mendez, L., Ballesteros, M., & González-Fernández, C. (2015). Protease pretreated *Chlorella vulgaris* biomass bioconversion to methane via semi-continuous anaerobic digestion. *Fuel*, 158, 35–41. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2015.04.052>
- Maurya, R., Paliwal, C., Ghosh, T., Pancha, I., Chokshi, K., Mitra, M., ... Mishra, S. (2016). Applications of de-oiled microalgal biomass towards development of sustainable biorefinery. *Bioresource Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.04.115>
- Milano, J., Ong, H. C., Masjuki, H. H., Chong, W. T., Lam, M. K., Loh, P. K., & Vellayan, V. (2016). Microalgae biofuels as an alternative to fossil fuel for power generation. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 58, 180–197. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.12.150>
- Mussnug, J. H., Klassen, V., Schlüter, A., & Kruse, O. (2010a). Microalgae as substrates for fermentative biogas production in a combined biorefinery concept. *Journal of Biotechnology*, 150(1), 51–56. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2010.07.030>
- Mussnug, J. H., Klassen, V., Schlüter, A., & Kruse, O. (2010b). Microalgae as substrates for fermentative biogas production in a combined biorefinery concept. *Journal of Biotechnology*, 150(1), 51–56. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2010.07.030>
- Oswald, W. J., & Received, E. M. (1998). FERMENTATION TREATMENT, 24(8), 889–897.

- Park, J. B. K., Craggs, R. J., & Shilton, A. N. (2011). Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production. *Bioresource Technology*, *102*(1), 35–42. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06.158>
- Park, S., & Li, Y. (2012). Evaluation of methane production and macronutrient degradation in the anaerobic co-digestion of algae biomass residue and lipid waste. *Bioresource Technology*, *111*, 42–48. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.01.160>
- Parmar, A., Singh, N. K., Pandey, A., Gnansounou, E., & Madamwar, D. (2011). Cyanobacteria and microalgae: A positive prospect for biofuels. *Bioresource Technology*, *102*(22), 10163–10172. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.08.030>
- Passos, F. (2014). Microalgae conversion to biogas.
- Passos, F., Carretero, J., & Ferrer, I. (2015). Comparing pretreatment methods for improving microalgae anaerobic digestion: Thermal, hydrothermal, microwave and ultrasound. *Chemical Engineering Journal*, *279*, 667–672. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2015.05.065>
- Passos, F., Felix, L., Rocha, H., Pereira, J. de O., & de Aquino, S. (2016). Reuse of microalgae grown in full-scale wastewater treatment ponds: Thermochemical pretreatment and biogas production. *Bioresource Technology*, *209*, 305–312. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.03.006>
- Passos, F., & Ferrer, I. (2014). Microalgae Conversion to Biogas: Thermal Pretreatment Contribution on Net Energy Production. *Environmental Science & Technology*, *48*(12), 7171–7178. <https://doi.org/10.1021/es500982v>
- Passos, F., & Ferrer, I. (2015). Influence of hydrothermal pretreatment on microalgal biomass anaerobic digestion and bioenergy production. *Water Research*, *68*, 364–373. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.10.015>
- Passos, F., García, J., & Ferrer, I. (2013). Impact of low temperature pretreatment on the anaerobic digestion of microalgal biomass. *Bioresource Technology*, *138*, 79–86. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2013.03.114>
- Passos, F., Hom-Díaz, A., Blázquez, P., Vicent, T., & Ferrer, I. (2016). Improving biogas production from microalgae by enzymatic pretreatment. *Bioresource Technology*, *199*, 347–351. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.08.084>
- Ramos-Suárez, J. L., & Carreras, N. (2014). Use of microalgae residues for biogas production. *Chemical Engineering Journal*, *242*, 86–95. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2013.12.053>
- Ramos-Suárez, J. L., Martínez, A., & Carreras, N. (2014). Optimization of the digestion process of *Scenedesmus* sp. and *Opuntia maxima* for biogas production. *Energy Conversion and Management*, *88*, 1263–1270. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2014.02.064>
- Richmond, A. (2004). Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied

- phycology/edited by Amos Richmond. *Orton.Catie.Ac.Cr*, 472.
<https://doi.org/10.1002/9780470995280>
- Roberts, K. P., Heaven, S., & Banks, C. J. (2016). Comparative testing of energy yields from micro-algal biomass cultures processed via anaerobic digestion. *Renewable Energy*, *87*, 744–753. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2015.11.009>
- Schamphelaire, L. De, & Verstraete, W. (2009). Revival of the Biological Sunlight-to-Biogas Energy Conversion System, *103*(2), 296–304. <https://doi.org/10.1002/bit.22257>
- Sicart Mensa, A. (2014). Producció de biogàs per codigestió anaeròbia de microalgues i fangs de depuradora, l recurs electrònic. Retrieved from <http://hdl.handle.net/2099.1/21172>
- Solera del Río, R., Álvarez Gallego, C. J., & Aymerich Soler, E. (2014). Aspectos biológicos de la digestión anaerobia. In *De residuo a recurso. El camino hacia la sostenibilidad* (2015th ed., p. 319). Madrid: Mundiprensa. Retrieved from <https://www.mundiprensa.mx/catalogo/9788484767008/aspectos-biologicos-de-la-digestion-anaerobica-ii-2>
- Vasco-Correa, J., Khanal, S., Manandhar, A., & Shah, A. (2018). Anaerobic digestion for bioenergy production: Global status, environmental and techno-economic implications, and government policies. *Bioresource Technology*, *247*(August 2017), 1015–1026. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.004>
- Wang, L., Liu, J., Zhao, Q., Wei, W., & Sun, Y. (2016). Comparative study of wastewater treatment and nutrient recycle via activated sludge, microalgae and combination systems. *Bioresource Technology*, *211*, 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.03.048>
- Wang, M., Sahu, A. K., Rusten, B., & Park, C. (2013). Anaerobic co-digestion of microalgae *Chlorella* sp. and waste activated sludge. *Bioresource Technology*, *142*, 585–590. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.05.096>
- Ward, A. J., Lewis, D. M., & Green, F. B. (2014). Anaerobic digestion of algae biomass: A review. *Algal Research*, *5*, 204–214. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2014.02.001>
- Weiland, P. (2010). Biogas production: Current state and perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *85*(4), 849–860. <https://doi.org/10.1007/s00253-009-2246-7>
- Wieczorek, N., Kucuker, M. A., & Kuchta, K. (2015). Microalgae-bacteria flocs (MaB-Flocs) as a substrate for fermentative biogas production. *Bioresource Technology*, *194*, 130–136. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.06.104>
- Xia, A., & Murphy, J. D. (2016). Microalgal Cultivation in Treating Liquid Digestate from Biogas Systems. *Trends in Biotechnology*, *34*(4), 264–275. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2015.12.010>
- Yan, C., Zhu, L., & Wang, Y. (2016). Photosynthetic CO₂ uptake by microalgae for biogas upgrading and simultaneously biogas slurry decontamination by using of microalgae

- photobioreactor under various light wavelengths, light intensities, and photoperiods. *Applied Energy*, 178, 9–18. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2016.06.012>
- Yang, Z., Guo, R., Xu, X., Fan, X., & Luo, S. (2011). Hydrogen and methane production from lipid-extracted microalgal biomass residues. *International Journal of Hydrogen Energy*, 36(5), 3465–3470. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2010.12.018>
- Zhao, B., Ma, J., Zhao, Q., Laurens, L., Jarvis, E., Chen, S., & Frear, C. (2014). Efficient anaerobic digestion of whole microalgae and lipid-extracted microalgae residues for methane energy production. *Bioresource Technology*, 161, 423–430. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.03.079>
- Zhen, G., Lu, X., Kobayashi, T., Kumar, G., & Xu, K. (2016). Anaerobic co-digestion on improving methane production from mixed microalgae (*Scenedesmus* sp., *Chlorella* sp.) and food waste: Kinetic modeling and synergistic impact evaluation. *Chemical Engineering Journal*, 299, 332–341. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.04.118>
- Zhu, L., Yan, C., & Li, Z. (2016). Microalgal cultivation with biogas slurry for biofuel production. *Bioresource Technology*, 220, 629–636. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.08.111>

ANEXO

Técnicas Analíticas

Determinación Colorimétrica de Amonio



Fundamento

Está basado en el método desarrollado por Solórzano, que es conocido como el método colorimétrico del Indofenol. El ión Amonio (NH_4^+) presente en la muestra es tratado con una solución de hipoclorito sódico en un medio alcalino, amortiguador a pH 12 (con nitrato sódico e hidróxido de sodio). Como catalizador de la reacción se emplea nitroprusiato de sodio. Esta reacción da lugar a la formación de Monocloramina. Este compuesto reacciona a su vez con Fenol formándose el Azul de Indofenol, de color azul, cuya intensidad es proporcional a la concentración de Amonio presente en la muestra. Esta propiedad es la que permite cuantificar el amonio por espectrofotometría a una longitud de onda de 640 nm.

Al ser este un método colorimétrico, deben evitarse interferencias producidas por una alta turbidez en la muestra, por lo que es aconsejable filtrar la muestra previamente, utilizando filtros de membrana. A su vez se utiliza dicloroisocianato de sodio para eliminar las posibles interferencias producidas por la existencia de iones Ca^{2+} , Fe^{3+} , Cu^{2+} , SO_4^{2-} , Cl^- en la muestra.

Aunque el método de Solórzano no está incluido en el Standard Methods, es un método de gran exactitud y precisión tanto para el análisis de muestras de agua dulce como de agua salada.

El rango de validez del método está comprendido entre 0 y 1 ppm N-NH₄⁺.

El nitrógeno amoniacal se encuentra en parte bajo la forma de ión Amonio y otra parte como Amoniaco NH₃, existiendo un equilibrio químico entre ambas especies químicas. En una solución fuertemente alcalina estará presente fundamentalmente el amoniaco NH₃.

Equipamiento

- Espectrofotómetro.
- Agitador magnético.
- Estufa.
- Balanza.

Material

- Pipetas aforadas.
- Matraces aforados.
- Matraces Erlenmeyer.
- Probetas.
- Micropipetas.

Reactivos

- Nitroprusiato de sodio (**S-13**) Na₂Fe(CN)₅NO.2H₂O (0.50%). Preparación: colocar un vaso de 100 mL sobre la balanza analítica y tarar. Pesar 1 g de nitroprusiato de sodio. Retirar el vaso de la balanza y añadir aproximadamente 50 mL de agua destilada. Agitar hasta la total

disolución de la sal. Verter el contenido del vaso en un matraz aforado de 200 mL. Recuperar las gotas que puedan quedar en el interior del vaso vertiendo agua destilada en éste tantas veces como sea necesario y aforar con agua destilada hasta los 200 mL.

- Solución alcohólica de Fenol al 10% (**O-14**). Preparación: colocar un vaso de 100 mL sobre la balanza analítica y tarar. Pesar 10 g de Fenol. Retirar el vaso de la balanza y añadir 5 mL de Propanol con pipeta y aproximadamente 50 mL de Etanol. Agitar hasta la total disolución. Verter el contenido del vaso a un matraz aforado de 100 mL. Recuperar las gotas que puedan quedar en el interior del vaso vertiendo Etanol sobre este tantas veces como sea necesario y aforar con Etanol hasta los 100 mL.
- Solución Alcalina. Preparación: pesar 100 g de Nitrato de sodio (**S-3**) $C_6H_5Na_3O_7 \cdot 3H_2O$ (repartido en dos bandejas de plástico) y 5 g de NaOH (**S-10**) en otra bandeja de plástico. En un vaso de 500 mL añadir unos 300 mL de agua destilada, colocar un agitador magnético y añadir las sales, enjuagar todas las bandejas de plástico con agua destilada. Una vez que las sales estén bien disueltas en el agua destilada verter el contenido del vaso en un matraz aforado de 500 mL y añadir agua destilada hasta los 500 mL.
- Solución Oxidante: Preparación: medir con probeta 80 mL de la Solución Alcalina y 20 mL de lejía comercial (solución de Hipoclorito de sodio, NaClO) y mezclar en un vaso de precipitados de 150 mL. Esta solución se preparará en el momento que deba ser empleada.
- Solución Patrón de Amonio. Preparación: disolver 3.82 g de NH_4Cl (A-3) (secado previamente a 100°C en una estufa) en agua destilada y diluir a 1 L en un matraz aforado. (1 mL = 1000 µg de N-NH₄⁺).

Preparación de la muestra

Si la muestra de agua presenta turbidez será necesario un filtrado previo. Este se realizará con filtros de membrana de 0.45 µm de tamaño de poro. Para aumentar la velocidad de filtración puede emplearse, antes de la filtración los filtros de membrana, filtros de fibra de vidrio tipo GFO6.

Si la muestra de agua presenta coloración que pueda dar lugar a interferencias en el momento de la colorimetría deberá evaluarse la posibilidad de adicionar a la muestra dicloroisocianato de sodio, indicado cuando hay presencia en el agua de iones Ca^{2+} , Fe^{3+} , Cu^{2+} , SO_4^{2-} , Cl^- .

Procedimiento

1. Tomar 50 mL de muestra homogénea con una pipeta aforada y verter en un matraz Erlenmeyer de 100 mL.
2. Adicionar sobre la muestra los volúmenes de reactivos en el mismo orden que se mencionan a continuación:
 - 2 mL de Nitroprusiato de sodio (0.50%).
 - 2 mL de Solución alcohólica de Fenol (10%).
 - 5 mL de Solución oxidante (recién preparada).

Después de cada adición, agitar el contenido del Erlenmeyer para mezclar los reactivos.
Tomar nota de la hora y dejar transcurrir 90 minutos.
3. Hacer un blanco con 50 mL de agua desionizada y proseguir desde el punto 2.
4. Transcurrido el tiempo de reacción -90 minutos- se mide la absorbancia (640 nm) de la muestra y se anota el valor correspondiente.
5. Si el valor de la absorbancia de la muestra es superior al valor máximo obtenido en la determinación de la curva de calibrado, será necesario diluir la muestra cómo se detalla a continuación:

Dilución:

6. Tomar una alícuota de la muestra homogénea y diluirla con agua destilada en un matraz aforado. Anotar tanto el volumen de la alícuota como el del matraz aforado.
7. De la muestra diluida en el apartado anterior, pipetear como se indica en el punto 1 y continuar con el procedimiento.

Cálculos

Cálculo de la concentración de N-NH_4^+ en la muestra:

$$N - NH_4^+ (mg \cdot L^{-1}) = \left[\frac{(ABS)_{muestra}}{m} \right] (mg \cdot L^{-1}) \cdot \frac{V_M (mL)}{V_{alícuota} (mL)}$$

Donde:

ABS: Lectura de absorbancia de la muestra.

m: Pendiente de la curva de calibración.

V_M (mL): Volumen del aforo del matraz usado en la dilución de la muestra.

V_{alícuota} (mL): Volumen de muestra tomada para ser diluida y utilizada en la determinación colorimétrica..

Si no es necesaria la dilución de la muestra, entonces el cociente del volumen del aforo del matraz entre el volumen de la alícuota no se aplica en el cálculo.

Aspectos de seguridad e higiene

La manipulación de Fenol y las muestras que lo contengan deberá hacerse con guantes de látex, o bien, de nitrilo.

Es tóxico por inhalación, por ingestión y en contacto con la piel. Provoca quemaduras.

Trabajar bajo campana extractora de gases cuando se manipule Fenol y mientras transcurre el tiempo de reacción.

Nunca pipetear con la boca.

Calibración

De la Solución Patrón de Amonio (1 mL = 1000 µg de N-NH₄⁺), tomar una alícuota de 10 mL medido con pipeta aforada y aforar en un matraz de 100 mL (1000 µg de N-NH₄⁺).

De esta última disolución, tomar las alícuotas correspondientes que se indican en la tabla de abajo, empleando una micropipeta y diluir en matraces aforados de 100 mL con agua desionizada.

Una vez preparados todos los patrones, se procederá como con las muestras (ver punto 6 del PNT).

Acabadas las lecturas de absorbancia, se representa en un gráfico la absorbancia de cada patrón frente al valor de su concentración de amonio y se hace un ajuste lineal por mínimos cuadrados.

Concentración patrón [mg/L]	Alícuota (µL)
0.1	100
0.2	200
0.4	400
0.6	600
0.8	800
1.0	1000

Referencias bibliográficas

Solórzano, L. 1969. Determination of ammonia in natural waters by the phenol hypochlorite method. *Limnol. Oceanogr.*, 14: 199-801.

Koroleff, F. 1983. Determination of ammonia, pp. 150-157. In: *Methods of Seawater Analysis*, 2nd Ed.

Determinación de la DQO (Demanda Química de Oxígeno): Método de Reflujo Cerrado - Método Colorimétrico



Fundamento

La demanda química de oxígeno (DQO) es un parámetro utilizado para caracterizar la calidad del agua, ya sea potable o residual (urbana o industrial). Representa la cantidad de oxígeno equivalente a la del oxidante químico necesario para oxidar la materia orgánica presente en una muestra y convertirla en dióxido de carbono, agua y amoníaco.

El dicromato de potasio es el agente oxidante ampliamente utilizado debido a su mayor capacidad oxidante, a su aplicabilidad a distintos tipos de muestras y a su sencillez de realización. En un futuro quizá sea sustituido por permanganato de potasio, ya que el Cromo (VI) es carcinogénico y peligroso para el medio ambiente.

Para determinar valores de DQO mayores a 50 mg/L O₂ se usa el método de reflujo abierto (PNT 0105-L-40010), o bien, el de reflujo cerrado (PNT 0105-L-40020 y PNT 0105-L-40030).

El método de reflujo abierto es adecuado para una amplia gama de residuos donde sea preferible un tamaño de muestra grande.

Los métodos de reflujo cerrado son más económicos, pero requieren homogeneización de las muestras que contengan sólidos en suspensión para obtener resultados reproducibles.

Para determinar valores, con menor precisión, de DQO comprendidos entre 5 y 50 mg/L O₂, se usa el método de reflujo abierto modificado de baja DQO (PNT 0105-L-40015).

Equipamiento

- Espectrofotómetro.
- Bloque digestor Selecta o equivalente.
- Balanza.
- Agitador magnético.

Material

- Tubos con rosca para micro DQO.
- Matraces aforados.
- Agua destilada.
- Espátula.
- Tubos de digestión.
- Gradillas.
- Pipetas aforadas.
- Cuentagotas.

Reactivos

- Solución digestora. Preparación: añadir a unos 800 mL de agua destilada 10.27 g de $K_2Cr_2O_7$ (estándar primario) previamente secado a $103^\circ C$ durante 2 horas en estufa, 167 mL de H_2SO_4 concentrado y 33.30 g de $HgSO_4$. Disolver, enfriar a temperatura ambiente y diluir a 1000 mL en un matraz aforado.
- Solución de Ácido Sulfúrico. Preparación: añadir sulfato de plata, $AgSO_4$, reactivo a ácido sulfúrico H_2SO_4 concentrado en relación de 5.50 g $AgSO_4$ / kg H_2SO_4 . Dejar reposar de 1 a 2 días hasta completa disolución del $AgSO_4$. Nota: añadir 10.12 g de sulfato de plata por cada litro de ácido sulfúrico concentrado.
- Solución patrón de Hidrogenoftalato de potasio (HFP). Preparación: disolver en agua destilada 850.34 mg de HFP que previamente ha sido ligeramente triturado y secado a $120^\circ C$ hasta peso constante y diluir a 1000 mL en un matraz aforado. El HFP tiene una DQO teórica de 1.18 mg O_2 / mg HFP, por tanto, esta solución patrón tiene una DQO teórica de 1000 mg O_2/L . Esta solución es estable durante tres meses guardada en refrigeración y en ausencia de luz.

Preparar a partir de la Solución patrón de HFP, al menos 5 estándares de HFP con una DQO equivalente entre 20 y 900 mg O_2/L para obtener la curva de calibración. Lo indicado es siempre que la concentración de los estándares sea próxima al nivel de concentración de las muestras.

Preparación de la muestra

Se procederá a homogeneizar la muestra en un vaso con agitación empleando un agitador magnético con el fin de obtener resultados reproducibles.

Si se observa en la muestra restos de materia, se retirarán de ella, con usos de criterio si pudiera falsear los resultados que puedan obtenerse como efecto de esta intervención.

Procedimiento

1. Encender el digestor y ajustar las temperaturas a 150°C y el tiempo a 2 horas.
2. Se realizarán siempre tres réplicas de la DQO tanto para las muestras, el blanco y patrones.
3. Preparar los tubos de digestión (limpios y secos) en una gradilla.
Añadir los siguientes volúmenes en el siguiente orden:
 - 2.5 mL de muestra (para el blanco será 2.5 mL de agua destilada).
 - 1.5 mL de solución digestiva.
 - 3.5 mL de solución de ácido sulfúrico.
4. Tapar los tubos de digestión con tapón de rosca. Asegurarse que queden bien cerrados, pues los gases generados en la reacción ejercen una presión en el interior del tubo de modo que el tapón puede llegar a desenroscarse.
5. Agitar el tubo suavemente varias veces con el fin de homogeneizar la mezcla reaccionante.
6. Introducir los tubos en el bloque digestor con cuidado que no queden rayados con el roce del metal. Verificar que el bloque digestor ha alcanzado la temperatura de 150°C y dejar transcurrir 2 horas.
7. Retirar los tubos del bloque digestor y dejar enfriar a temperatura ambiente en la gradilla.
8. Leer la absorbancia de las tres réplicas del blanco, insertando uno a uno los tubos en el interior de la celda del espectrofotómetro. Con el valor de absorbancia leída más baja de la réplica correspondiente, ajustar a cero de manera manual en el espectrofotómetro.
9. Realizado el ajuste a cero se procede a leer la absorbancia de las muestras.
10. Anotar el valor más bajo de absorbancia de cada una de las réplicas.
11. Hallar el valor de DQO de las muestras sustituyendo en la ecuación de regresión de calibración.

NOTA: Si el valor de absorbancia de una muestra queda fuera del rango de absorbancias de la curva de calibración, necesariamente habrá que diluir la muestra con agua destilada y seguir con el procedimiento como una muestra más.

Realización de la curva de calibración

1. De la Solución patrón de Hidrogenofalato de potasio (HFP) de DQO teórica de 1000 mg O₂/L preparar los siguientes patrones con DQO equivalentes de 0 (blanco), 50, 100, 200, 300 y 5000 mg O₂/L como se indica a continuación:
2. Tomar las alícuotas correspondientes de la solución patrón que se indican en la tabla de abajo empleando pipetas aforadas y diluir con agua destilada en matrices aforados de 100 mL.
3. Una vez preparados todos los patrones se procederá como en las muestras.
4. Acabada las lecturas se representa en un gráfico la absorbancia de cada réplica frente al valor de DQO de los patrones y se hace un ajuste lineal por mínimos cuadrados.

Concentración patrón [mg O ₂ /L]	Alícuota Solución Patrón de HFP (mL)
0	0
50	5
100	10
200	20
300	30
500	50

Cálculos

Cálculo de la DQO a partir de la curva de calibración

$$DQO(mgO_2 \cdot L^{-1}) = \left[\frac{(ABS)_{600}}{m} \right] (mg \cdot L^{-1}) \cdot \frac{V_M(mL)}{V_{alícuota}(mL)}$$

Donde:

ABS₆₀₀: Lectura de absorbancia de la muestra a 600 nm de longitud de onda.

m: Pendiente de la curva de calibración.

V_M (mL): Volumen del aforo del matraz usado en la dilución de la muestra.

$V_{\text{alícuota}}$ (mL): Volumen de muestra tomada para ser diluida y utilizada en la determinación colorimétrica.

Si no es necesaria la dilución de la muestra entonces el cociente del volumen del aforo del matraz entre el volumen de la alícuota no se aplica en el cálculo.

Aspectos de Seguridad e Higiene

El material caliente se deberá tomar con pinzas o bien con guantes de material ignífugo.

Cuando se trabaje con ácidos y bases concentrados se deberán utilizar los elementos de protección individual (guantes y gafas) y se trabajará bajo la campana de extracción de gases.

Nunca pipetear con la boca.

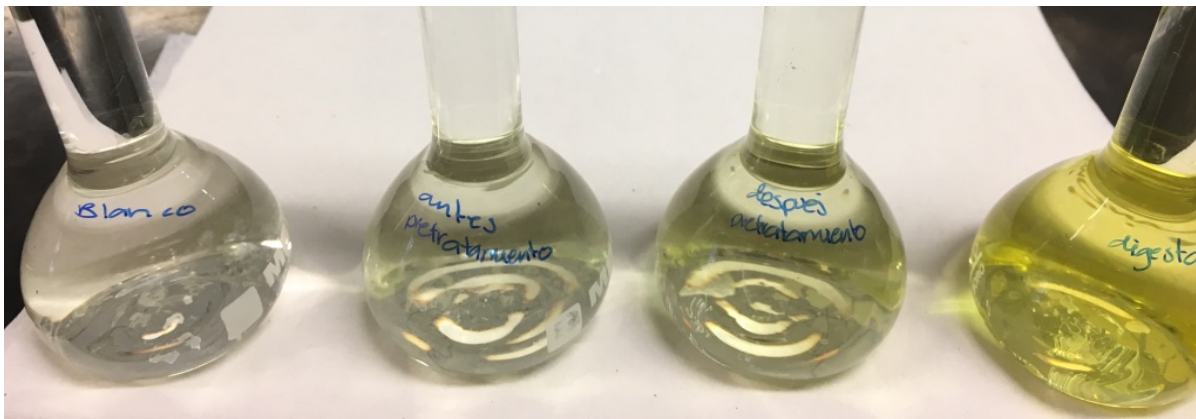
Usar mascarilla durante la manipulación del HgSO_4 .

Una vez acabado el análisis, vaciar el contenido de todas aquellas muestras que contengan cromo en el depósito de residuos destinado a tal fin.

Referencias Bibliográficas

APHA, WPCF and AWWA. 1987. *Standar Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 17^a ed. American Public Health Association. Washington, D.C. (5220 D).

Determinación de Fósforo Total



Equipamiento

- Autoclave.
- Espectrofotómetro.

Material

- Matraces Erlenmeyer.
- Pipetas aforadas.
- Micropipeta.
- Tapones de algodón.
- Filtros.
- Matraces aforados.

Reactivos

- Amonio peroxidisulfato (**A-4**).
- H_2SO_4 .
- Vanadato molibdato.

Preparación de la muestra

Se procederá a homogeneizar la muestra en un vaso con agitación empleando un agitador magnético con el fin de obtener resultados reproducibles.

Procedimiento

1. Se colocan 30 mL (con pipeta aforada) de cada muestra en un matraz Erlenmeyer. Añadimos 0.40 g de Amonio Peroxidisulfato. A continuación, se añade 1 mL de H_2SO_4 en cada muestra.
2. Tapamos los matraces Erlenmeyer con los tapones de algodón y los ponemos en la autoclave durante 20 minutos a 122°C y 1.20 kg/cm^2 de presión.
3. Una vez transcurrido el tiempo de autoclave esperar a que se enfríe la muestra.
4. Filtrar la muestra de los matraces Erlenmeyer y por cada muestra pipetear 20 mL que se pondrán en un matraz aforado de 50 mL y añadir 10 mL de Vanadato Molibdato y aforar con agua destilada. Para preparar el blanco poner en un matraz aforado de 50 mL, 10 mL de Vanadato Molibdato y aforar con agua destilada.

Si se requiere que hacer diluciones, se toma del filtrado (muestra después de la autoclave) el volumen necesario para hacer la dilución, y de ésta se toman los 20 mL.

5. En 8 minutos empezar a leer en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 470 nm. Por cada muestra se acondicionará la celda 3 veces, esto es, vaciar y llenar la celda con la nueva muestra tres veces.

Cálculos

La concentración de Fósforo Total en la muestra se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$P_{Total}(mg.L^{-1}) = (0.0109 * ABS_{470}) + 0.0015(mg.L^{-1}) \cdot \frac{V_M(mL)}{V_{alicuota}(mL)}$$

Donde:

ABS_{470} : Lectura de absorbancia de la muestra a 470 nm de longitud de onda.

V_M (mL): Volumen del aforo del matraz usado en la dilución de la muestra.

$V_{alicuota}$ (mL): Volumen de muestra tomada para ser diluida y utilizada en la determinación colorimétrica.

Aspectos de Seguridad e Higiene

El material caliente se tomará con pinzas o bien con guantes de material ignífugo.

Cuando se trabaje con ácidos y bases concentrados habrá que hacerlo con los elementos de protección individual (guantes y gafas) y bajo la campana de extracción de gases.

Nunca pipetear con la boca.

Determinación de Sólidos Totales y Sólidos Volátiles



Fundamento

Analíticamente, el contenido de Sólidos Totales (ST) de una muestra se define como toda la materia seca que resta después de someter la muestra a un proceso de secado. Los sólidos totales (materia seca) está formada tanto por materia orgánica como inorgánica. En cambio, los sólidos volátiles representan la fracción orgánica de una muestra.

Equipamiento

- Balanza analítica.

- Estufa.
- Mufla.
- Desecador.

Material

- Crisoles de cerámica.
- Pipeta.

Preparación de la muestra

Se procederá a homogeneizar la muestra en un vaso con agitación empleando un agitador magnético con el fin de obtener resultados reproducibles.

Procedimiento

1. Preparar los crisoles. Se meten a la mufla a una temperatura de 550 °C durante 20 minutos. Se dejan enfriar y se pesan. El peso se registrará como T. Los crisoles pueden prepararse un día antes y pueden guardarse en la estufa hasta su posterior uso.
2. Colocar el crisol de cerámica en la balanza analítica y tarar. Después con una pipeta aforada tomamos 10 mL de muestra y se registra el peso de la muestra líquida. Repetir éste proceso con todas las muestras.
3. Colocar los crisoles de cerámica en la estufa a 105 °C por 24 horas para asegurar que toda el agua contenida en la muestra se ha evaporado.
4. Transcurrido el tiempo de secado, pesar los crisoles y registrar el peso como PS.
5. Llevar los crisoles a la mufla a 550 °C por 20 minutos. Transcurrido el tiempo de calcinación en la mufla, dejar enfriar y pesar los crisoles registrar el peso como PC.

Cálculos

El cálculo de los sólidos totales se hará con la siguiente fórmula:

$$ST(gL^{-1}) = \frac{PS - T}{V_{muestra}} \times 1000$$

Donde:

PS: Peso seco de la muestra después de 24 horas en la estufa a 105°C (g).

T: Peso del crisol tarado después de 20 minutos en la mufla (g).

V_{muestra}: Volumen de la muestra (mL).

Los sólidos volátiles se calcularán con la siguiente fórmula:

$$SV(gL^{-1}) = \frac{PS - PC}{V_{muestra}} \times 1000$$

Donde:

PS: Peso seco de la muestra después de 24 horas en la estufa a 105°C (g).

PC: Peso de la muestra calcinada después de 20 minutos en la mufla a 550°C.

V_{muestra}: Volumen de la muestra (mL).

Aspectos de Seguridad e Higiene

El material caliente se tomará con pinzas o bien guantes de material ignífugo.

Nunca pipetear con la boca.

Determinación de TC y TN



Equipamiento

- Analizador TOC/TN_b modelo Multi N/C® 2100/2100 S marca Analytikjena.
- Polytron.

Material

- Aire sintético.
- Jeringuilla.
- Vaso de precipitados.
- Agitador magnético.
- Viales de vidrio.
- Matraz aforado .

Preparación de la muestra

Primero se procederá a homogeneizar la muestra para que sea representativa.

1. Se llena un vial de vidrio con la muestra a analizar.
2. Se lleva s la muestra al polytron a 1900 rpm durante 2 minutos.
3. Se realizan las diluciones indicadas en un matraz aforado.
4. Se transfiere la muestra a un vaso de precipitados y se agita constantemente con ayuda de un agitador magnético.
5. Se toma la muestra con la jeringuilla.

Procedimiento

1. Encender el ordenador
2. Abrir la botella de aire sintético y cerciorarse del nivel de ácido fosfórico en el equipo
3. Encender el analizador TOC/TN_b.
4. Abrir el software indicado como un ícono TOC.
5. Seguir las instrucciones.
6. ¿Iniciar analizador? Yes.
 - *Cargar método, para éste estudio se cargó el método TC + TN.*
 - *Click en iniciar la medida.*
 - *Dar nombre a la muestra.*
 - *Indicar dilución.*
 - *Cargar la tabla de análisis.*
 - *Click en comenzar medida.*
 - *Esperar al mensaje que indica dónde y cuándo introducir la muestra.*
 - *Esperar el resultado del análisis.*
7. Repetir el punto 6 con cada muestra.

Determinación de Grasas – Método Soxhlet

Fundamento

El extracto obtenido por extracción Soxhlet corresponde al contenido graso de la muestra. Se determina su masa, una vez libre de disolvente, por pesada (método gravimétrico). Muchas veces, la extracción soxhlet se usa como primer paso de una purificación o separación.

La extracción de muestras sólidas con disolventes, generalmente conocida como extracción sólido-líquido o lixiviación, es un método muy utilizado en la separación de analitos de muestras sólidas.

La extracción Soxhlet ha sido (y en muchos casos, continúa siendo) el método estándar de extracción de muestras sólidas más utilizado desde su diseño en el siglo pasado, y actualmente, es el principal método de referencia con el que se comparan otros métodos de extracción. Además de muchos métodos de la EPA (U.S. Environmental Protection Agency) y de la FDA (Food and Drugs Administration) utilizan esta técnica clásica como método oficial para la extracción de sólidos.

En este procedimiento la muestra sólida finamente pulverizada se coloca en un cartucho de material poroso que se sitúa en la cámara del extractor soxhlet. Se calienta el disolvente extractante, situado en el matraz, se condensan sus vapores que caen, gota a gota, sobre el cartucho que contiene la muestra, extrayendo los analitos solubles. Cuando el nivel del disolvente condensado en la cámara alcanza la parte superior del sifón lateral, el disolvente, con los analitos disueltos, asciende por el sifón y retorna al matraz de ebullición. Este proceso se repite hasta que se completa la extracción de los analitos de la muestra y se concentran en el disolvente.

La extracción con Soxhlet presenta las siguientes ventajas:

- La muestra está en contacto repetidas veces con porciones frescas de disolvente.
- La extracción se realiza con el disolvente caliente, así se favorece la solubilidad de los analitos.
- No es necesaria la filtración después de la extracción.
- La metodología empleada es muy simple.
- Es un método que no depende de la matriz.
- Se obtienen excelentes recuperaciones, existiendo gran variedad de métodos oficiales cuya etapa de preparación de muestra se basa en la extracción con Soxhlet.

Por otra parte, las desventajas más significativas de este método de extracción son:

- El tiempo requerido para la extracción normalmente está entre 6-24 horas.
- La cantidad de disolvente orgánico (50-300 ml).
- La descomposición térmica de los analitos termolábiles, ya que la temperatura del disolvente orgánico está próxima a su punto de ebullición.
- No es posible la agitación del sistema, la cual podría acelerar el proceso de extracción.
- Es necesaria una etapa final de evaporación del disolvente para la concentración de los analitos.
- Esta técnica no es fácilmente automatizable.
- Aunque su campo de aplicación es fundamentalmente el agroalimentario, también es de utilidad en el área medioambiental, así que es el método de análisis recomendado para la determinación del aceite y la grasa total recuperable en aguas de vertidos industriales permitiendo la determinación de hidrocarburos relativamente no volátiles, aceites vegetales, grasas animales, ceras, jabones y compuestos relacionados.

Aparatos y material

- Desecadores.
- Manta calefactora.
- Pieza Soxhlet.
- Refrigerante a reflujo.
- Matraz redondo.

- Gomas para conexión a red de agua y desagüe.
- Trozo de porcelana.
- Soporte de corcho.
- Embudo.
- Cronómetro.
- Probeta.
- Pie de bureta.
- Pinzas.
- Papel de filtro.

Reactivos y productos

- Éter dietílico.
- Sulfato sódico anhídrido.
- Muestra en polvo a analizar .
- Un poco de algodón.

Procedimiento

1. Se pesan unos 5g de muestra homogeneizada con una precisión de ± 1 mg.
2. Se pesa el matraz redondo.
3. Se monta la parte inferior del dispositivo (con el pie de bureta, la manta calefactora, el matraz y el soxhlet, pero sin el reflujo).
4. Se llena por la parte de arriba del soxhlet con una cantidad suficiente de disolvente (éter dietílico).
5. La parte superior del reflujo se tapona con desecante (sulfato sódico anhídrido) envuelto en algodón para evitar la entrada y condensación de vapor de agua.
6. Tras el montaje se pone en marcha la manta calefactora y se regula el caudal de agua del reflujo. El éter, una vez que alcanza su temperatura de ebulición, se evapora y llega al refrigerante condensándose y cayendo en el compartimento del cartucho de muestra.

7. Repetir este proceso una segunda vez hasta que la cantidad de éter en el matraz redondo sea muy poca.
8. Realizar una primera pesada del matraz. Repetir esta operación hasta que la masa pesada deje de disminuir.

Cálculos

El porcentaje de grasa G (%) se calcula según la siguiente expresión:

$$G(\%) = \frac{m_1 - m_2}{M} \times 100$$

Dónde:

m_1 : Masa del matraz de fondo redondo vacío [g].

m_2 : Masa del matraz redondo con grasa [g].

M : Peso de la muestra [g].

Determinación de Proteínas – Método Kjeldahl

Fundamento

El método se basa en la destrucción de la materia orgánica con ácido sulfúrico concentrado, formándose sulfato de amonio que en exceso de hidróxido de sodio libera amoníaco, el que se destila recibiendo en:

- a) Ácido sulfúrico donde se forma sulfato de amonio y el exceso de ácido es valorado con hidróxido de sodio en presencia de rojo de metilo.
- b) Ácido bórico formándose borato de amonio el que se valora con ácido clorhídrico.

Material y equipo

- Balanza analítica.
- Equipo Kjeldahl.
- Manto calefactor.
- pHmetro.

Reactivos

- Ácido sulfúrico concentrado.
- Sulfato de potasio o sulfato de sodio.
- Sulfato cúprico.
- Solución de hidróxido de sodio al 15 %.

- Solución de ácido sulfúrico 0.10 N.
- Solución de hidróxido de sodio al 30 %.
- Solución indicadora de rojo de metilo al 1 % en etanol.
- Solución de hidróxido de sodio 0.10 N.
- Acido bórico al 3 %.
- Indicador de Tashiro.
- Solución de ácido clorhídrico 0.10 N.

Procedimiento

1. Realizar la muestra en duplicado.
2. Efectuar un ensayo en blanco usando una sustancia orgánica sin nitrógeno (sacarosa) que sea capaz de provocar la reducción de los derivados nítricos y nitrosos eventualmente presentes en los reactivos.
3. Pesar alrededor de 1 g de muestra homogeneizada (m) en un matraz de digestión Kjeldahl.
4. Agregar 3 perlas de vidrio, 10 g de sulfato de potasio o sulfato de sodio, 0.50 g de sulfato cúprico y 20 mL de ácido sulfúrico concentrado.
5. Conectar el matraz a la trampa de absorción que contiene 250 mL de hidróxido de sodio al 15 %. El disco poroso produce la división de los humos en finas burbujas con el fin de facilitar la absorción y para que tenga una duración prolongada debe ser limpiado con regularidad antes del uso. Los depósitos de sulfito sódico se eliminan con ácido clorhídrico. Si la solución de hidróxido de sodio al 15 % adicionada de fenolftaleína contenida en la trampa de absorción permanece incolora, debe ser cambiada.
6. Calentar en manta calefactora y una vez que la solución esté transparente, dejar en ebullición 15 a 20 min. Si la muestra tiende a formar espuma agregar ácido esteárico o gotas de silicona antiespumante y comenzar el calentamiento lentamente.
7. Enfriar y agregar 200 mL de agua.
8. Conectar el matraz al aparato de destilación, agregar lentamente 100 mL de NaOH al 30 % por el embudo, y cerrar la llave.
9. Destilar no menos de 150 mL en un matraz que lleve sumergido el extremo del refrigerante o tubo colector en:

- a) 50 mL de una solución de ácido sulfúrico 0.10 N, 4 a 5 gotas de rojo de metilo y 50 mL de agua destilada. Asegurar un exceso de H_2SO_4 para que se pueda realizar la retrotitulación. Titular el exceso de ácido con NaOH 0.10 N hasta color amarillo o
- b) 50 mL de ácido bórico al 3 %. Titular con ácido clorhídrico 0.10 N hasta pH 4.60 mediante un medidor de pH calibrado con soluciones tampón pH 4 y pH 7, o en presencia del indicador de Tashiro hasta pH 4.60

Cada cierto tiempo es necesario verificar la hermeticidad del equipo de destilación usando 10 mL de una solución de sulfato de amonio 0.10 N (6.61 g/L), 100 mL de agua destilada y 1 a 2 gotas de hidróxido de sodio al 30 % para liberar el amoníaco, así como también verificar la recuperación destruyendo la materia orgánica de 0.25 g de L(-)-Tirosina. El contenido teórico de nitrógeno de este producto es de 7.73 %. Debe recuperarse un 99.70 %

Cálculos

$$\% N = \frac{14 \times N \times V \times 100}{m \times 100}$$

$$\% \text{ Proteína} = \frac{14 \times N \times V \times 100 \times \text{factor}}{m \times 100}$$

Dónde:

V : 50 mL H_2SO_4 , gasto NaOH 0.10 N o gasto HCl 0.10 N.

m : Masa de la muestra [g].

factor : 6.25.

Determinación de Carbohidratos - Método de Dubois (fenol/sulfúrico)

Fundamento

El método de Dubois determina glúcidos totales.

Reactivos

- Fenol 5% p/v en agua destilada.
- Ácido sulfúrico concentrado.

Procedimiento

1. En tubos bien limpios se sumerge en baño de agua-hielo, agregar 0.50 ml de muestra, 0.50 ml de fenol 5% p/v y 2.50 ml de SO_4H_2 concentrado en forma enérgica para producir el mezclado o agitar con vórtex cada tubo con mucho cuidado.
2. Llevar todos los tubos a baño María hirviendo durante 15 min.
3. Enfriar rápidamente en agua-hielo. Leer la DO a 490 nm (color estable 24 h).
4. Realizar una curva de calibración (límites del método: concentración de azúcares: 5-50 $\mu\text{g/ml}$) y un blanco.

Ensayo de Coagulación (Jar Test)



Fundamento

El ensayo consiste en la adición de dosis crecientes de coagulante y/o floculante a una serie de porciones del agua a ensayar con el fin de determinar después de un periodo de agitación adecuado, las características del coágulo y algunas propiedades físicas y químicas en las porciones tratadas para establecer la dosis óptima de coagulante y/o floculante que debe añadirse al agua para su tratamiento.

Reactivos

- Floculante.
- Biomasa algal.

Equipo

- Turbidímetro digital.
- Agitador mecánico múltiple.
- Vasos de precipitado.
- Jeringas.
- Cronómetro.

Procedimiento

1. Colocar en los vasos de precipitado la muestra de biomasa algal.
2. Añadir el floculante con ayuda de las jeringas a los vasos de precipitado al mismo tiempo.
3. Mezclar a 200 rpm por 1 minuto, transcurrido ese tiempo bajar la agitación a 135 rpm por 15 minutos.
4. Transcurrido el tiempo, dejar sedimentar la muestra 15 minutos.
5. Medir la turbidez de la muestra de agua, el agua que presente la menor turbidez será la dosis óptima de floculante y/o coagulante.
6. Repetir el procedimiento tantas veces sea necesario hasta encontrar la dosis óptima de floculante y/o floculante.