



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

**TRATAMIENTO INTEGRAL DE BIOGÁS Y NUTRIENTES RESIDUALES DE LA
DIGESTIÓN ANAEROBIA EN UN FOTOBIORREACTOR ALCALINO**

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

PRESENTA:

M. EN C. MARIANA FRANCO MORGADO

TUTOR PRINCIPAL

DR. ADALBERTO NOYOLA ROBLES
[INSTITUTO DE INGENIERÍA UNAM](#)

COMITÉ TUTOR

DR. ARMANDO GONZÁLEZ SÁNCHEZ
[INSTITUTO DE INGENIERÍA UNAM](#)

DR. RAÚL MUÑOZ TORRE
[UNIVERSIDAD DE VALLADOLID](#)

CIUDAD UNIVERSITARIA, CIUDAD DE MÉXICO, FEBRERO 2018

JURADO ASIGNADO:

Presidente: Dr. Sergio Revah Moiseev
Secretario: Dr. Germán Buitrón Méndez
1 er. Vocal: Dr. Raúl Muñoz Torre
2 do. Vocal: Dr. Armando González Sánchez
3 er. Vocal: Dr. Adalberto Noyola Robles

El trabajo experimental fue realizado en el Laboratorio de Ingeniería Ambiental del Instituto de Ingeniería de la UNAM que cuenta con certificado de conformidad otorgado por el organismo acreditado Certificación Mexicana, S.C., por haber implementado y mantener un Sistema de Gestión de la Calidad de conformidad con los requisitos de la norma internacional ISO 9001:2015 No. de Certificado CMX C SGC 155 2017, válido en el período del 09 de noviembre de 2017 al 09 de noviembre de 2020.

TUTOR DE TESIS:

ADALBERTO NOYOLA ROBLES

FIRMA

“Hay una fuerza motriz más poderosa que el vapor, la electricidad y la energía atómica: la voluntad”

“El hombre encuentra a Dios detrás de cada puerta que la ciencia logra abrir”

Albert Einstein

“Tal vez parece que me pierdo en el camino, pero me guía la intuición”

Gustavo Cerati

AGRADECIMIENTOS

Gracias a Dios por la infinita voluntad

Gracias a mis papás Ana María y Nestor Alejandro por todo el apoyo y el amor, ustedes son mi gran motor.

A mi hermano Alejandro porque siempre has creído en mi.

A la Universidad Nacional Autónoma de México y el Instituto de Ingeniería-UNAM.

A el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada CVU 330786.

Al proyecto CEMIEBIO 247006 del fondo SENER-CONACyT.

Al proyecto PAPIIT IT-100317 por el financiamiento parcial.

Al Dr. Armando González Sánchez por brindarme su confianza y conocimientos para llevar a cabo la tesis, gracias por todo.

Al Dr. Raúl Muñoz Torre por la oportunidad de trabajar dentro de su grupo de investigación, fue una maravillosa experiencia llena de conocimiento y aprendizaje.

Al Dr. Adalberto Noyola Robles por los valiosos comentarios para el desarrollo de esta tesis.

Al Dr. Sergio Revah Moiseev y al Dr. German Buitrón Méndez por enriquecer el desarrollo de esta tesis.

Al Ing. Roberto Briones, mil gracias por el apoyo técnico y los buenos momentos.

A Denisse, Tonantzin y Diana por el apoyo técnico durante la experimentación y las risas.

A la Dra. Susana Saval gracias por tanto.

A la Maestra Margarita Cisneros Ortiz por el apoyo técnico.

A mis amigos de toda la vida, los momentos con ustedes siempre son los mejores.

A los nuevos amigos (felices los 4), gracias por tanta felicidad y tranquilidad.

A mis amigos del cubículo 314 son lo mejor de lo mejor.

A toda la gente que he conocido a lo largo de este camino, su apoyo y cariño son una bendición

A ti, gracias por contribuir tanto en mi vida.

A ti, por mover mi mundo y ser mi gran apoyo.

¡GRACIAS TOTALES!

RESUMEN

Esta tesis reporta el uso de consorcios de microalgas-bacterias en fotobiorreactores tipo High Rate Algal Pond (HRAP) conectados respectivamente a una columna de burbujeo (ABC) para el tratamiento de residuos provenientes de la digestión anaerobia (DA) como son el biogás y el digestato. Los fotobiorreactores HRAP fueron operados bajo condiciones alcalinas-básicas, que favorecen la solubilización del CO₂ y el H₂S presentes en el biogás, promueven el desarrollo de poblaciones microalgales especializadas (capaces de crecer a pH > 9) y evitan la contaminación por otros microorganismos.

El desarrollo de la tesis se dividió en tres etapas: 1. La evaluación de la actividad fotosintética del consorcio alcalófilo microalgal (CAM) en un fotobiorreactor de tubos cerrado, expuesto a diferentes condiciones ambientales predominantes durante el tratamiento de biogás y digestato. 2. El tratamiento integral de los efluentes de la DA empleando medios sintéticos y reales en un fotobiorreactor HRAP y una columna de burbujeo ABC. 3. El diseño conceptual de un HRAP de escala piloto donde se consideraron los principales mecanismos físicos, químicos y biológicos que se verifican durante el tratamiento de los efluentes de la DA.

Durante la evaluación de la actividad fotosintética del CAM en presencia de dos especies de azufre y una de nitrógeno implicadas durante el tratamiento del biogás: el sulfuro (S²⁻) presentó inhibición sobre la actividad a concentraciones mayores a 1.0 mM, para el caso del tiosulfato (S₂O₃²⁻) éste no inhibió la actividad microalgal bajo las concentraciones evaluadas (1 y 9 g L⁻¹). El amoníaco (NH₃), indujo inhibición a concentraciones mayores a 300 mg NH₃ L⁻¹, donde el empleo de un modelo de equilibrio NH₃/NH₄⁺ y cinético permitió correlacionar el amoníaco, el pH y la actividad microalgal. La intensidad PAR (radiación fotosintéticamente activa) demostró ser limitante de la actividad fotosintética en el rango de 50 a 100 μmol m⁻²s⁻¹ para el caso del S₂O₃²⁻.

En el tratamiento integral de los efluentes de la DA en un HRAP-ABC con efluentes sintéticos, se determinó que la fotosíntesis fue capaz de regenerar la alcalinidad del medio de cultivo perdida durante la absorción continua de CO₂ y H₂S en ABC, incluso en los ciclos de luz/oscuridad. Así mismo, se confirmó que la remoción de nitrógeno y fósforo dependen directamente de la productividad de la biomasa microalgal, donde ésta última está influenciada por el régimen de iluminación. Durante la exposición del sistema a ciclos de luz/oscuridad controlados, se identificó que la respiración endógena durante el periodo oscuro fue la responsable del descenso en la concentración de la biomasa microalgal (hasta un 15%) comparada con la obtenida durante la operación en luz continua. Por otro lado, en la exposición del sistema HRAP-ABC a la intemperie, el parámetro operacional que más afectó el desempeño del sistema de tratamiento fue el pH, evaluando una correlación inversa entre el pH y la tasa de desorción de CO₂ en el HRAP, esta última permitió mantener las eficiencias de remoción de CO₂ en el ABC durante la noche comparables con las obtenidas en los días.

Con respecto al tratamiento integral de los efluentes de la DA con efluentes reales, se demostró que la operación del ABC a relaciones bajas de líquido de recirculación /biogás (L/G de 0.5) en los ciclos oscuros promovió la obtención de biometano con la calidad que le permitiría ser inyectado a la red de gas natural de acuerdo a la NOM-001-SECRE-2010 así como a legislaciones internacionales europeas. Los gases traza contenidos en el biogás sintético (metil mercaptano, hexano y tolueno) fueron removidos en función de su respectiva constante de Henry. Los gases traza no afectaron la actividad fotosintética de las microalgas así como la actividad fotosintética de las microalgas. La estrategia del desacoplamiento del tiempo de residencia hidráulico del tiempo de retención celular promovió una mayor capacidad de asimilación de los nutrientes (nitrógeno y fósforo). La

alimentación de nutrientes durante los ciclos oscuros provocó cambios en las poblaciones microalgales y en su composición bioquímica.

Para la tercera etapa, se presenta el diseño conceptual de un fotobiorreactor HRAP de escala mayor para el tratamiento del biogás y digestato que se generan en un digestor anaerobio de escala real (10 m³ con un TRH de 25 d). Fueron planteados dos posibles escenarios de limitación del proceso de tratamiento: a) por suministro de nitrógeno (NH₄⁺) en un medio alcalino-básico y b) por suministro de carbono inorgánico (CO₂) considerando un pH básico; encontrándose que en el escenario b), los sistemas son más pequeños que el escenario a). En esta tesis se demostró que los sistemas biotecnológicos basados en microalgas operados en condiciones alcalinas-básicas fueron capaces de purificar biogás con la obtención de biometano con contenidos mayores al 85% v de CH₄. Lo anterior se logró debido al mantenimiento del pH > 9 dada la autoregeneración de éste por la actividad fotosintética del consorcio alcalófilo microalgal.

ABSTRACT

This thesis reports the use of a microalgae-bacteria consortium in High Rate Algal Pond (HRAP) interconnected to an absorption bubble column (ABC) for the treatment of biogas and digestate. The HRAP-ABC systems were operated under alkaline-basic conditions for improving the CO₂ and H₂S mass transfer and getting microalgal specialized populations able to grow at pH > 9 and thereby avoiding contamination by other microorganisms.

This thesis was divided by three stages: 1. the evaluation of the photosynthetic activity of an alkalophilic microalgal consortium (CAM) exposed to different environmental conditions, by using a closed tubular photobioreactor. 2. The treatment of biogas and digestate in a HRAP interconnected to an ABC, where synthetic and real effluents were assayed. 3. The conceptual design of a full scale HRAP by considering the physical, chemical and biological mechanisms verified during treatment of AD effluents.

The CAM photosynthetic activity evaluation in a closed tubular photobioreactor under the presence of sulfured species and ammonia: sulfide (S²⁻) showed inhibition above 1.0 mM while thiosulfate (S₂O₃²⁻) did not inhibit under assayed concentrations (1 y 9g L⁻¹). For the case of ammonia (NH₃) an inhibition was reached above 300 mgNH₃ L⁻¹, here the equilibrium NH₃/NH₄⁺ together with a kinetic model allowed to correlate ammonium concentration, pH and microalgal activity. The PAR (photosynthetically active radiation) limited the photosynthetic activity under 50 to 100 μmol m⁻²s⁻¹ for the case of S₂O₃²⁻.

In the second stage for the treatment of synthetic effluents, it was determined that the microalgal photosynthesis was able to regenerate the culture alkalinity during the continuous CO₂ and H₂S absorption in the ABC even under light / dark cycles. Likewise, it was confirmed that nitrogen and phosphorus removal efficiency depended directly on the light exposure regime. During controlled light/dark cycles the endogenous respiration during the dark period was responsible of the microalgal biomass concentration decreasing (up to 15%) compared to the obtained during the operation under continuous light period. For the HRAP-ABC operation under outdoor conditions, the pH was the main operational parameter affecting the biogas upgrading performance, resulting an inverse correlation between pH and CO₂ stripping rate in HRAP, the later allowed to keep comparable CO₂ removal efficiencies during night and days.

For the treatment of real effluents, it was demonstrated that the operation of the ABC under a low liquid recirculation / gas ratio (L/G of 0.5) a high quality biomethane was achieved for a possible injection into natural gas grid according to Mexican legislation NOM-001-SECRE-2010 and EU legislation. Trace gases contained in sour biogas (methyl mercaptan, hexane and toluene) were removed according to their Henry constant. Trace gases did not affect photosynthetic activity. The uncoupling the hydraulic residence time from the microalgal cell retention time improved the nutrients assimilation capacity (nitrogen and phosphorus) in HRAP. On the other hand, the non-continuous supply of nutrients restricted to dark period caused changes in microalgal populations as well as content of byproducts in microalgal biomass.

For the third stage, a conceptual design of a full scale HRAP for obtaining biomethane from biogas and treating digestate both coming from a real scale anaerobic digester (10 m³ with HRT of 25 d) was developed. Two possible scenarios were considered: a) limitation by nitrogen (NH₄⁺) supply in an alkaline-basic medium and b) limitation by inorganic carbon (CO₂) bubbled in a high pH medium, finding that the scenario b) computed a smaller size than scenario a). This thesis showed that microalgal based biotechnology systems operated under alkaline-basic conditions were able to purify biogas up to natural gas grid quality (biomethane), this was mainly due to the ability of the system to keep a pH > 9 facilitated by the auto-regenerative capacity performed by the microalgae alkaliphilic consortium.

ÍNDICE

RESUMEN	5
ABSTRACT	7
ÍNDICE	8
ÍNDICE DE FIGURAS	12
ÍNDICE DE TABLAS	14
Capítulo 1. INTRODUCCIÓN	16
1.1 Problemática de los efluentes de la digestión anaerobia	17
Capítulo 2. ANTECEDENTES	21
2.1 Tecnologías para el tratamiento de biogás y nutrientes residuales de la digestión anaerobia	21
2.1.1 Eliminación de nitrógeno	21
2.1.1.1 Normatividad.....	21
2.1.1.2 Procesos fisicoquímicos	21
2.1.1.3 Procesos biológicos	22
2.1.2 Eliminación de fósforo	26
2.1.2.1 Normatividad.....	26
2.1.2.2 Procesos Fisicoquímicos	26
2.1.2.3 Procesos Biológicos	26
2.1.3 Eliminación de H ₂ S	27
2.1.3.1 Normatividad.....	27
2.1.3.2 Procesos Fisicoquímicos	27
2.1.3.3 Procesos Biológicos	31
2.1.4 Eliminación de dióxido de carbono (CO ₂)	34
2.1.4.1 Normatividad.....	34
2.1.4.2 Procesos Fisicoquímicos	34
2.1.4.3 Procesos biológicos	37
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	44
HIPÓTESIS	45
OBJETIVOS	45
Objetivo General	45
Objetivos Particulares	45
Capítulo 3. MATERIALES Y MÉTODOS	46

3.1 Microorganismos de estudio	46
3.1.1 Consorcio de microalgas alcalófilas.....	46
3.1.2 Bacterias alcalófilas sulfurooxidantes	46
3.2 Sistemas experimentales	47
3.2.1 Fotobiorreactor de tubos cerrado.....	47
3.2.1.1 Configuración experimental y condiciones de operación. Efecto de las especies del azufre sobre la actividad fotosintética del CAM en un fotobiorreactor de tubos cerrado	48
3.2.1.2 Configuración experimental y condiciones de operación. Efecto del amoniaco sobre la actividad fotosintética del CAM en un fotobiorreactor de tubos cerrado.....	49
3.2.2 Fotobiorreactor High Rate Algae Ponds (HRAP)	50
3.2.3 Columna de absorción de gases	51
3.2.4 Sistema integral para el tratamiento de los efluentes de la digestión anaerobia. Medios sintéticos.....	54
3.2.4.1 Configuración experimental y condiciones de operación. Desempeño del sistema HRAP-ABC en el enriquecimiento de biogás libre de metano operado a pH básico en condiciones alcalinas.....	55
3.2.4.2 Configuración experimental y condiciones de operación. Efecto de las condiciones ambientales en el desempeño de un fotobiorreactor HRAP operado a la intemperie para el enriquecimiento de biogás y remoción de nutrientes	56
3.2.5 Sistema integral para el tratamiento de los efluentes de la digestión anaerobia. Medios reales	57
3.2.5.1 Configuración experimental y condiciones de operación. Efecto del modo de suministro de nutrientes en el digestato sobre la calidad del biogás y la dinámica de la población de microalgas.....	58
3.3 Sistema integral de los efluentes de la digestión anaerobia. Medios sintéticos	59
3.3.1 Determinaciones instrumentales y analíticas	59
3.4 Sistema integral de los efluentes de la digestión anaerobia. Medios reales	60
3.4.1 Determinaciones instrumentales y analíticas	60
RESULTADOS.....	62
Capítulo 4. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD FOTOSINTÉTICA DEL CONSORCIO ALCALÓFILO MICROALGAL (CAM) A DIFERENTES CONDICIONES AMBIENTALES Y DE OPERACIÓN.....	62
4.1 Efecto de las especies del azufre sobre la actividad fotosintética del CAM en un fotobiorreactor de tubos cerrado.	62
4.1.1 Efecto del H ₂ S sobre la actividad fotosintética	62
4.1.1.1 Desempeño del fotobiorreactor de tubos en presencia del H ₂ S.....	62
4.1.2 Efecto del tiosulfato sobre la actividad fotosintética del CAM.....	63

4.1.2.1	Desempeño del fotobiorreactor en presencia del tiosulfato.....	64
4.2	Efecto del amoniaco sobre la actividad fotosintética del CAM en un fotobiorreactor de tubos cerrado a diferentes intensidades luminosas	65
4.2.1	Desempeño del fotobiorreactor de tubos cerrado en presencia de amoniaco.....	65
4.2.2	Modelo cinético de inhibición por amoniaco en el CAM	66
Capítulo 5. TRATAMIENTO INTEGRAL DE LOS EFLUENTES DE LA DIGESTIÓN ANAEROBIA EN UN FOTOBIORREACTOR ABIERTO: MEDIOS SINTÉTICOS ALCALINOS-BÁSICOS		68
5.1	Desempeño del sistema HRAP-ABC en el enriquecimiento de biogás sintético operado a pH básico en condiciones alcalinas.....	68
5.1.1	Desempeño del sistema HRAP-ABC en el enriquecimiento y desulfuración de biogás sintético	68
5.1.2	Destino del carbono, nitrógeno, fósforo y azufre en el proceso alcalino-básico.....	71
5.1.3	Balances de masa de carbono, nitrógeno y fósforo	73
5.1.4	Efecto de los ciclos de ciclos de 12/12h de luz/oscuridad en la productividad de la biomasa (etapa IV)	75
5.2	Desempeño del sistema HRAP-ABC en el enriquecimiento de biogás sintético con metano operado a pH básico en condiciones alcalinas expuesto a la intemperie.....	77
5.2.1	Desempeño del HRAP en la remoción de nutrientes	77
5.2.2	Efecto de los ciclos de luz/oscuridad sobre la calidad del biometano.....	80
Capítulo 6. TRATAMIENTO INTEGRAL DE LOS EFLUENTES DE LA DIGESTIÓN ANAEROBIA EN UN FOTOBIORREACTOR ABIERTO: MEDIOS REALES		82
6.1	Efecto del modo de suministro de nutrientes sobre la calidad del biometano y la dinámica de la población de microalgas	82
6.1.1	Composición del biometano producido.....	82
6.1.2	Efecto de los gases traza en la composición del biometano	84
6.1.3	Remoción de nutrientes y desempeño del fotobiorreactor	86
6.1.4	Influencia del modo del suministro de nutrientes sobre la acumulación de bioproductos en la biomasa microalgal.....	88
Capítulo 7. DISEÑO Y DIMENSIONAMIENTO CONCEPTUAL DE UN FOTOBIORREACTOR HRAP PARA EL TRATAMIENTO DE EFLUENTES PROVENIENTES DE LA DIGESTIÓN ANAEROBIA DE RESIDUOS DE ESTIÉRCOL DE GANADO		90
7.1	Selección de la materia orgánica y condiciones de operación de la digestión anaerobia.....	90
7.2	Diseño conceptual del fotobiorreactor HRAP para el tratamiento de los efluentes de la digestión anaerobia de estiércol de ganado	91
7.2.1	Diseño un fotobiorreactor HRAP. Caso I Limitación por nitrógeno en medio básico-alcalino	91

7.2.2 Diseño un fotobiorreactor HRAP. Caso II: Medio limitado por el suministro de carbono	94
CONCLUSIONES GENERALES	97
REFERENCIAS	99
ANEXO I. PROPUESTA DE LOS MECANISMOS FÍSICOS, QUÍMICOS Y BIOLÓGICOS QUE SE LLEVAN A CABO EN UN FOTOBIORREACTOR HRAP EN MEDIO ALCALINO-BÁSICO (pH > 9)	110

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1 Pasos consecutivos en el proceso de la digestión anaerobia (Appels et al., 2008)	16
Figura 2.2 Predominio del amonio (NH_4^+) y el amoniaco (NH_3) en función de cambio de pH (Markou et al., 2014).....	25
Figura 2.3 Esquema global de la remoción simultánea de CO_2 y H_2S del biogás en un fotobiorreactor (adaptado de Bahr et al., 2014).....	40
Figura 3.4 Fotobiorreactor de tubos 0.6L.....	47
Figura 3.5 Fotobiorreactor HRAP 28.8L	50
Figura 3.6 Columna de absorción de gases, 0.35 L.....	53
Figura 3.7 Esquema global del proceso de eliminación de efluentes provenientes de digestión anaerobia HRAP-ABC Medios sintéticos	54
Figura 3.8 Esquema global del proceso de eliminación de residuos provenientes de la digestión anaerobia. Medios reales	57
Figura 4.9 Efecto de 0.4, 0.8, 1.0, 1.5 mM de sulfuro sobre la actividad fotosintética expresada en la concentración de oxígeno disuelto (a). Velocidad volumétrica de producción de oxígeno para el CAM, arriba se muestra la concentración del $\text{H}_2\text{S}(\text{g})$ en el equilibrio (b).....	62
Figura 4.10 Efecto de 1 y 9 gL^{-1} de $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ sobre la actividad fotosintética del CAM a 100 (a) y 50 (b) $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$	64
Figura 4.11 Velocidad volumétrica de producción de oxígeno (■) y pH (Δ) en función del incremento en la concentración de NH_3 en el líquido	66
Figura 4.12 Velocidad volumétrica de producción de oxígeno experimental (■) y simulación matemática (línea roja) del efecto del NH_3 sobre la actividad fotosintética del CAM a pH básico.....	67
Figura 5.13 pH (*) y oxígeno disuelto (•) en la experimentación durante las etapas III, IV y V...	70
Figura 5.14 Oxígeno disuelto registrado en el estado estacionario durante la etapa IV (ciclos de luz/oscuridad).....	71
Figura 5.15 Desempeño de la concentración de biomasa (Δ) y la concentración de carbono inorgánico (●) durante la operación del sistema HRAP-ABC en las cinco etapas experimentales descritas en la Tabla 3-3.....	72
Figura 5.16 Balances de masa para las etapas III, IV y V en el estado estacionario en el sistema experimental HRAP-columna de absorción de gases para el carbono (a), nitrógeno (b), fósforo (c) y azufre (d). Los números por encima de las barras representan las cargas másicas de entrada y salida para cada especie ($\text{g L}^{-1} \text{d}^{-1}$).....	74

Figura 5.17 Velocidades de producción y de consumo de oxígeno para los ciclos de luz/oscuridad (a) bajo diferentes fluctuaciones de temperatura (b) en la etapa IV. Las barras translucidas representan los ciclos oscuros	76
Figura 5.18 Concentración de biomasa en el estado estacionario al final del ciclo de luz (■) y al final del ciclo oscuro (□)	78
Figura 5.19 Registro de N-NO ₃ ⁻ (■) y NT (*) durante la experimentación. Línea punteada representa el inicio del estado estacionario	79
Figura 5.20 Eficiencia de remoción para el CO ₂ en los ciclos de luz (■) y en los ciclos de oscuridad (●) Contenido de O ₂ %v día (□) y noche (○) en el biogás enriquecido a lo largo de la experimentación	80
Figura 5.21 Correlación entre el pH y la tasa de desorción de CO ₂ para el día (□) y la noche (■)..	81
Figura 6.22 Concentración de O ₂ (○), CH ₄ (■) y N ₂ (*) en el biometano producido para las etapas IV, IIV y IIIV. Concentración de biogás sintético a la entrada: CH ₄ (70%v), CO ₂ (29.5%v), H ₂ S (0.5%v).....	84
Figura 6.23 Eficiencias de remoción durante el desarrollo de las etapas IIV y IIIV, para el metil mercaptano (□), hexano (●) y tolueno (▲).....	85
Figura AI.24 Mecanismos físicos, químicos y biológicos que se verifican en un fotobiorreactor HRAP en un medio alcalino-básico (pH=9.3).....	110

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1 Fracciones líquidas de diferentes digestatos de materia orgánica.....	18
Tabla 1-2 Especificaciones técnicas del biogás para ser inyectado en la red de gas natural.....	19
Tabla 2-3 Sistemas biotecnológicos para la eliminación del H ₂ S	33
Tabla 2-4 Ventajas y desventajas de procesos fisicoquímicos y biológicos para el tratamiento de biogás y digestato generados en la digestión anaerobia	43
Tabla 3-5 Características y diseño de operación del fotobiorreactor HRAP, 28.8 L	51
Tabla 3-6 Dimensiones y componentes de la columna de absorción de gases	53
Tabla 3-7 Condiciones de operación experimentales evaluados en el sistema HRAP-ABC (Figura 3.7).....	56
Tabla 3-8 Dimensiones y componentes del sistema integral de los efluentes de la digestión anaerobia con medios reales.....	58
Tabla 4-9 Velocidad volumétrica de oxígeno en el cultivo CAM a 50 y 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de intensidad luminosa, con 1 y 9 g L^{-1} de $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$	65
Tabla 4-10 Mejores valores de ajuste de parámetros incluidos en el modelo matemático cinético..	67
Tabla 5-11 Resumen de los parámetros ambientales y operacionales en el sistema HRAP-ABC durante el estado estacionario en las etapas III, IV y V	73
Tabla 5-12 Influencia de la temperatura del líquido en el HRAP sobre los parámetros cinéticos y la productividad durante ciclos de luz/oscuridad, basados en la suposición de que un 15% de w/w de biomasa se pierde debido a la respiración durante el transcurso de 12 h de oscuridad (Grobelaar and Soeder, 1985)	77
Tabla 5-13 Promedio de los parámetros determinados en estado estacionario para el sistema HRAP-ABC.....	78
Tabla 6-14 Promedio de los parámetros determinados en la fase líquida en estado estacionario durante las etapas de experimentación	87
Tabla 6-15 Promedio de eficiencias de remoción para N-NH ₄ ⁺ , NT, CI and PT en el estado estacionario	88
Tabla 6-16 Composición elemental de la biomasa microalgal en estado estacionario para las etapas IV, IIV y IIIV	88
Tabla 6-17 Contenido de proteínas, carbohidratos y lípidos en la biomasa en estado estacionario para los ciclos de luz y oscuridad en las etapas IIV y IIIV	89
Tabla 7-18 Características del digestor anaerobio y condiciones de operación	91
Tabla 7-19 Parámetros de entrada y salida de la digestión anaerobia de estiércol de ganado y características del biogás producido	91

Tabla 7-20 Dimensiones de un fotobiorreactor tipo HRAP para el tratamiento de $0.4 \text{ m}^3 \text{ d}^{-1}$ de digestato proveniente de la digestión anaerobia de residuos de estiércol de ganado con limitación por nitrógeno en un medio alcalino-básico	93
Tabla 7-21 Dimensiones de un fotobiorreactor tipo HRAP para el tratamiento de $0.4 \text{ m}^3 \text{ d}^{-1}$ de digestato proveniente de un digestor de 10 m^3 alimentado con estiércol de ganado. Diseño basado en la limitación de carbono (sin adición de alcalinidad)	95

Capítulo 1. INTRODUCCIÓN

La digestión anaerobia consiste en una serie de reacciones complejas que ocurren en ausencia de oxígeno molecular. Dichas reacciones dependen de la actividad biológica de grupos de microorganismos que promueven su estabilidad y su autorregulación durante la fermentación de la materia orgánica. El resultado de este proceso biológico es una disminución de la carga orgánica traducida en el descenso de la concentración de la demanda química de oxígeno (DQO), la producción de biogás, el cual contiene metano (CH_4) y un efluente líquido que contiene nutrientes como el nitrógeno y el fósforo, los cuales debido a la naturaleza del proceso no fueron eliminados durante el proceso.

El proceso global de la digestión anaerobia comprende múltiples etapas con varios productos intermediarios. Generalmente el proceso puede ser simplificado en cuatro pasos consecutivos (Appels et al., 2008; Bohutskyi and Bouwer, 2013): 1. Hidrólisis, 2. Fermentación o acidogénesis, 3. Acetogénesis y 4. Metanogénesis (Figura 1.1)

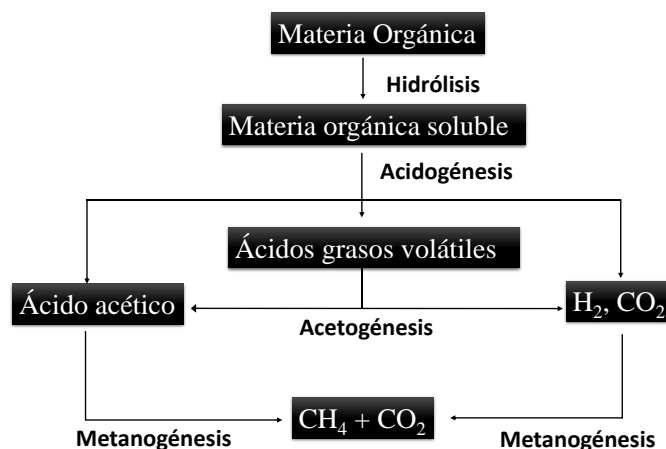


Figura 1.1 Pasos consecutivos en el proceso de la digestión anaerobia (Appels et al., 2008)

Diversos parámetros están involucrados en el buen funcionamiento y mantenimiento del proceso de la digestión anaerobia. La acumulación de algunos intermediarios o bioproductos tales como ácidos grasos volátiles (AGV), amonio (NH_4^+) y sulfuro de hidrógeno (H_2S), generados durante las reacciones biológicas pueden generar inhibición de los microorganismos que producen el CH_4 (Chen et al., 2008).

Las ventajas que presentan este tipo de biotecnologías anaerobias frente a los tratamientos aerobios, están relacionadas con sus relativos bajos requerimientos de energía durante su operación, limitada

producción de lodos y generación de biogás (Andriani et al., 2014; Elmitwalli et al., 2006; Noyola et al., 2006)

1.1 Problemática de los efluentes de la digestión anaerobia

Los efluentes generados por la digestión anaerobia pueden ser clasificados por la fase en que se emiten en dos: una fase gaseosa (biogás) y una corriente líquida (digestato). En el digestato se pueden identificar tres fracciones de acuerdo al tratamiento después de su producción en el digestor anaerobio, las cuales pueden ser nombradas como: 1) digestato completo, el cual se refiere al residuo que se obtiene sin tratamiento posterior al proceso anaerobio, 2) fracción sólida, se refiere a la torta de sólidos que se obtiene después de una separación sólido/líquido y 3) fracción líquida, la corriente de agua con materia soluble y en suspensión resultante de la operación de separación anterior (Fuchs and Drosig, 2013). La fracción líquida contiene la mayor cantidad de nitrógeno en forma de N-NH_4^+ con aproximadamente 70-80%, fósforo con aproximadamente 35-45%, carbono del 30-40% y materia orgánica 35-45% (Bauer et al., 2009; Fuchs and Drosig, 2013). El contenido y la proporción de los mencionados nutrientes dependen fuertemente del origen de la materia orgánica procesada en la digestión anaerobia (Tabla 1-1).

Tabla 1-1 Fracciones líquidas de diferentes digestatos de materia orgánica

Componente	Estiércol porcino y maíz	Estiércol de ganado y desechos industriales de peces	Desechos de comida	Estiércol de ganado	Destilería de melaza	Vinazas	Aguas residuales lácteas	Aguas residuales municipales	Ensilado de maíz y estiércol porcino
pH	8.0	7.2	ND	7	7.4	8	6.96	6.98	7.0
DQO (mg L⁻¹)	17600	4380	ND	1094.8	436	7944	1270.8	312.7	1089.4
Conductividad (mS cm⁻¹)	26.7	ND	ND	ND	4.65	ND	ND	ND	ND
N-NH₄⁺ (mg L⁻¹)	2050	2300	ND	160.1	ND	473.3	160.7	160.5	160.3
N-NH₃ (mg L⁻¹)	ND	ND	7170	ND	ND	ND	ND	ND	ND
NT (mg L⁻¹)	3355	3150	8954 (NTK)	207.8	430	579.6	180.2	203.9	198.5
P-PO₄³⁻ (mg L⁻¹)	318.5	56	ND	10.8	ND	98.6	14	12.6	10.4
PT (mg L⁻¹)	ND	ND	ND	14.3	ND	ND	15.7	13.5	13.9

ND: no determinado (Arimi et al., 2015; De la Rubia et al., 2010; Dębowski et al., 2016; Estevez et al., 2014; Tigini et al., 2016)

La descarga directa de estos nutrientes a los cuerpos de agua provocan cambios en los ciclos biogeoquímicos (carbono, nitrógeno y fósforo) que se dan de forma natural en el ambiente dando paso a procesos como la eutrofización alterando los ecosistemas (Smith et al., 1999).

Por lo anterior, los nutrientes requieren ser removidos en un tratamiento posterior para disminuir su concentración. Su descarga en los cuerpos de agua está regida bajo la NOM-001-SEMARNAT-1996 que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales.

Por otro lado, el biogás generado durante la digestión anaerobia depende en su composición, del tipo de materia orgánica digerida durante el proceso de digestión y el estado de óxido/reducción del residuo tratado. Típicamente está compuesto por metano (CH₄) 40-75%v, dióxido de carbono (CO₂) 15-60%v y trazas de otros compuestos como agua (H₂O) 5-10%, sulfuro de hidrógeno (H₂S) 0.005-2%v. También siloxanos 0-0.02 %v, hidrocarburos halogenados (VOC) < 0.6%v y nitrógeno (N₂) 0-2%v son encontrados (Andriani et al., 2014).

El biogás puede tener diferentes aplicaciones dependiendo de su grado de pureza y composición. Por mencionar algunos ejemplos; para la generación de calor (calentadores y calderas) el contenido de H₂S debe ser <1000 ppm_v; para ser utilizado en motores de combustión interna deben ser eliminados el H₂O, NH₃ y siloxanos; para su aplicación en celdas de combustible la remoción de H₂S debe ser <1-50 ppm_v; la calidad puede ser mejorada hasta usarse como combustible de vehículos con

contenidos de CH₄ > 99% v, H₂S < 5 ppm_v, CO₂ < 2 % v o para ser inyectado a la red de gas natural con CH₄ > 80-90%, CO₂ < 2-3%, O₂ < 0.2-0.5%, H₂S < 5-10 mg m⁻³ (Bailón Allegue and Hinge, 2012; Muñoz et al., 2015; Papacz, 2011). La composición del biogás para ser inyectado en la red de gas natural difiere para cada país como lo muestra la Tabla 1-2

Tabla 1-2 Especificaciones técnicas del biogás para ser inyectado en la red de gas natural

Ciudad	México	España	Chile	California US
CH ₄ (%v)	>84	>95	>88	-
O ₂ (%v)	0.20	0.01	<1	<0.2
CO ₂ (%v)	3.0	2.5	-	3
CO ₂ +O ₂ +N ₂ (%v)	4-6	-	1.5-4.5 (CO ₂ +N ₂)	-
Índice Wobbie (MJ m ⁻³)	53.20 Máx	48.25-57.81	47.28-52.72	47.6-51.6
H ₂ S (mg m ⁻³)	± 5	15 (H ₂ S +COS)	-	88
Total de zufre (mg m ⁻³)	150	50	<35	265
Mercaptanos (mg m ⁻³)	-	17	-	106

(INN, 2010; Bailón Allegue and Hinge, 2012; NOM-001-SECRE-2010, 2010; Muñoz et al., 2015)

Para aumentar el contenido de CH₄ (enriquecimiento) en el biogás, es necesario remover el H₂S (desulfuración) y el CO₂, hasta lograr la calidad deseada para su aplicación. El H₂S es un gas que debido a su naturaleza ácida, siempre que esté en contacto con el agua, puede producir problemas de corrosión por las tuberías por donde es transportado y para su almacenamiento. Sin embargo, el efecto corrosivo más común del H₂S se presenta cuando entra en contacto con el oxígeno del aire, ya que se oxida a sulfatos que en medio húmedo se presentan como ácido sulfúrico. Además, es un gas tóxico y con mal olor característico, el cual puede ser detectado en concentraciones <1ppb_v en el aire. Por todo ello, sus emisiones deben de ser controladas (González-Sánchez et al., 2008). Por otro lado el CO₂ contenido en biogás, disminuye el potencial energético del CH₄ afectando la eficiente combustión del mismo. Con un contenido mayor a 75% v de este gas, diluye el potencial energético del CH₄ (Metcalf & Eddy, 2003; Noyola et al., 2006). Por lo anterior, induce la necesidad de utilizar mayores flujos de biogás para producir mayor cantidad de energía que si solo se utilizara CH₄, además de requerir una cámara de combustión de mayores dimensiones lo que provoca incrementos en los costos de operación.

Así mismo, debido al alto contenido de CH₄ presente en el biogás es de suma importancia evitar su emisión hacia la atmósfera pues su potencial de calentamiento global es 34 veces mayor que el del CO₂. (Panel Intergubernamental en cambio climático, IPCC 2013).

El uso de sistemas biológicos como los que combinan microalgas-bacterias crecidos en fotobiorreactores han ganado aceptación en la remoción de H₂S y CO₂ del biogás (producción de biometano) asociado a la remoción vía biológica de nutrientes como el nitrógeno y el fósforo debido a que este proceso se lleva a cabo en un mismo sistema de manera simultánea, además de las grandes ventajas que presentan frente a sistemas fisicoquímicos, como los bajos costos de operación, que son procesos amigables con el ambiente además de darle un valor agregado al CO₂ removido en la producción microalgal.

Capítulo 2. ANTECEDENTES

2.1 Tecnologías para el tratamiento de biogás y nutrientes residuales de la digestión anaerobia

2.1.1 Eliminación de nitrógeno

2.1.1.1 Normatividad

De acuerdo a la NOM-001-SEMARNAT-1996 que *establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales (provenientes de descargas de usos municipales, industriales, comerciales, de servicios, agrícolas, pecuarios, domésticos, incluyendo fraccionamientos y en general cualquier otro uso, así como la mezcla de ellas) en aguas y bienes nacionales* indica que el promedio mensual de descargas de nitrógeno a ríos para uso público y urbano debe ser de 15-40 ppm y 25-60 ppm respectivamente, en un promedio diario.

Los compuestos de nitrógeno presentes en las aguas residuales pueden ser removidos satisfactoriamente por una variedad de procesos fisicoquímicos y biológicos.

2.1.1.2 Procesos fisicoquímicos

2.1.1.2.1 Intercambio iónico

El intercambio iónico es un proceso en el cual los iones de una especie dada (e.g. Na^+) son desplazados de un material de intercambio insoluble (e.g. zeolita) por iones de diferentes especies en solución (por ejemplo Ca^{2+}). Este tipo de procesos es utilizado en ablandamiento del agua doméstica, así mismo su aplicación ha sido extendida a la eliminación metales pesados y sólidos totales disueltos (Metcalf & Eddy, 2003). La zeolita por ejemplo, pertenece al grupo de los minerales de aluminio de silicatos comúnmente encontrados en la naturaleza. Su estructura en forma de tetraedro de SiO_4 y AlO_4 puede ser removida o reemplazada por aluminio con carga triple lo que resulta en una carga neta negativa de la estructura la cual es compensada por cationes dentro de las cavidades del tetraedro. Los cationes intersticiales se pueden intercambiar por cationes en la solución donde se encuentren por lo anterior el NH_4^+ puede ser adsorbido fácilmente (Liu et al., 2017).

2.1.1.2.2 Oxidación química del amonio

El proceso químico en el cual el cloro es utilizado para oxidar el nitrógeno del amonio en solución a nitrógeno gas y otros compuestos estables es conocido como cloración. Una de las ventajas más

importante de este proceso es que con el apropiado control, todo el nitrógeno de amonio en el agua puede ser oxidado. Sin embargo una de las desventajas de este proceso es la acumulación de ácido (HCl) el cual reacciona con la alcalinidad, la concentración de sólidos disueltos y la formación de compuestos indeseables como organoclorados, tal como las cloroaminas (Metcalf & Eddy, 2003).

2.1.1.2.3 Desorción de amonio

En este método cuando es adicionado álcali al agua residual a partir de los iones de amonio no volátiles (NH_4^+) se producen moléculas volátiles de amoniaco (NH_3), las cuales se desorben de la fase líquida hacia la fase gaseosa cuando el sistema se encuentra en aireación. El NH_3 puede ser recuperado en solución pasando esta corriente de NH_3 hacia una solución ácida. Los equilibrios químicos relacionados con este método son los descritos en las Ec. 2.1 y 2.2 (Guo et al., 2010; Zhu et al., 2017)



Las eficiencias de remoción logradas de NH_4^+ con este método van en un rango de 85-99% (Quan et al., 2009).

2.1.1.3 Procesos biológicos

2.1.1.3.1 Nitrificación-Desnitrificación

En la nitrificación el (amonio) NH_4^+ es oxidado a (nitrito) NO_2^- y finalmente a (nitrato) NO_3^- . Posteriormente en la segunda etapa, la desnitrificación, en donde los compuestos oxidados del nitrógeno (NO_3^- y NO_2^-) son reducidos a nitrógeno gas (N_2). La nitrificación involucra una oxidación quimiolitautotrófica del NH_4^+ a NO_3^- sobre condiciones estrictas de oxígeno ($>2.5 \text{ mg L}^{-1}$ de oxígeno disuelto) contrario para el caso de la desnitrificación donde las condiciones son anóxicas ($<0.3 \text{ mg L}^{-1}$ de oxígeno disuelto) (Wang et al., 2008).

Los géneros más reconocidos de bacterias que realizan esta oxidación del amonio son las *Nitrosomonas*; sin embargo *Nitrococcus*, *Nitrosopira*, *Nitrosovibrio* y *Nitrosolobus*, son también capaces de oxidar amonio a nitrato (Ahn, 2006). Para la oxidación de NO_2^- a NO_3^- (nitratación) los microorganismos que han sido ampliamente estudiados son *Nitrospira*, *Nitrospina*, *Nitrococcus* y *Nitrocystis*, sin embargo el más conocido es *Nitrobacter* (Ahn, 2006).

La desnitrificación autotrófica es otro proceso en la cual los compuestos de carbono orgánico se combinan con aceptores de electrones (NO_3^-) para producir carbono oxidado (CO_2) un producto

reducido (N_2) y energía, el cual ha sido utilizada ampliamente para la eliminación de NO_3^- (Zhi and Ji, 2014)

La combinación de la desnitrificación autotrófica (carbono inorgánico como fuente de carbono) y desnitrificación heterotrófica (uso de compuestos orgánicos como fuente de carbono) para mejorar la eliminación de nitratos en humedales artificiales en presencia de una corriente de materia orgánica ha sido utilizada debido a gran ventaja que presenta llevar a cabo la eliminación en un mismo sistema con bajos costos de energía, en donde participan bacterias del género de *Thibacillus ssp.* y *Pseudomonas ssp.* (Xu et al., 2017)

La actividad nitrificante se encuentra regida por los cambios de temperatura así como la concentración del amonio libre; reportándose que a temperaturas alrededor de los $28^\circ C$ la actividad de las bacterias nitrificantes aumenta considerablemente (Kim et al., 2006).

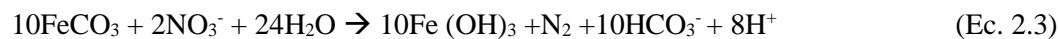
De igual forma que la temperatura, el pH presenta un alto impacto en la actividad nitrificante. A medida que el pH disminuye por debajo de 7, durante las reacciones de nitrificación (producción de H^+), disminuye la velocidad de reacción (Ahn, 2006).

2.1.1.3.2 Desnitrificación aerobia

Muchos estudios han sido desarrollados alrededor de bacterias capaces de realizar la desnitrificación aerobia como: *Thisphaera pantotropha*, *Pseudomonas stutzeri*, *Paracoccus denitrificans*, *Alcaligenes faecalis*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumonia*, *Paracoccus pantotrophus* (Medhi et al., 2017). Se ha observado que *Pseudomonas stutzeri* y *Paracoccus denitrificans* pueden realizar rápidamente la reducción de NO_3^- a N_2 sin la acumulación de nitrito sobre condiciones aerobias, (Medhi et al., 2017; Su et al., 2001). La desnitrificación aerobia ofrece potenciales ventajas debido a que ocurre directamente en reactores aireados sobre la presencia de materia orgánica fácilmente biodegradable. (Su et al., 2001).

2.1.1.3.3 Desnitrificación Litoautotrófica

Los microorganismos capaces de llevar a cabo la desnitrificación son varios: quimiorganótrofos, litoautótrofos, así como bacterias fototróficas y algunos hongos. Se ha reportado también que la oxidación del Fe(II) puede ser llevada a cabo junto con una proceso de desnitrificación por un grupo de bacterias aisladas Gram negativas (Straub et al., 1996) de acuerdo a la Ec. 2.3:



De igual modo, en la desnitrificación autotrófica las fuentes de energía pueden ser derivadas de las reacciones de oxidación-reducción con elementos tales como el hidrógeno o varios compuestos reducidos del azufre (HS^- , H_2S , S° , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, $\text{S}_4\text{O}_6^{2-}$ o SO_3^{2-} , etc), efectuado por *Thiobacillus pantotropha* y *Thiobacillus denitrificans*, los cuales pueden realizar la desnitrificación así como la oxidación de compuestos inorgánicos del azufre (Ahn, 2006).

2.1.1.3.4 Oxidación anaerobia del amonio (Anammox)

La oxidación anaerobia del NH_4^+ (Anammox) es un proceso de conversión biológica litoautotrófica realizado por un grupo de bacteria del genero *Planctomycete*. Este tipo de bacterias son capaces de consumir el NH_4^+ en ausencia de oxígeno, siendo este proceso altamente exergónico y está ligado al metabolismo energético de los organismos que lo realizan. El proceso se lleva a cabo principalmente mediante la oxidación del NH_4^+ con NO_2^- como aceptor final de electrones hasta nitrógeno molecular (Ec. 2.4) (Kuypers et al., 2003; Madigan et al., 2003)



Este tipo de microorganismos crecen con CO_2 como única fuente de carbono y utilizan el NO_2^- como donador de electrones para producir biomasa (Ec.2.5) (Madigan et al., 2003)

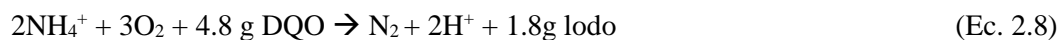
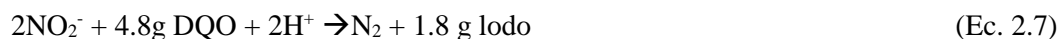


2.1.1.3.5 Combinación de sistemas de eliminación autotrófica

Proceso Sharon

El proceso Sharon (Single reactor High Activity ammonium Removal Over Nitrite) lleva a cabo la nitrificación autotrófica y desnitrificación heterotrófica con aireación intermitente (Ahn, 2006)

La estequiometría del proceso Sharon se representa en las Ec. 2.6 a 2.8.



El efluente del proceso Sharon puede ser el influente para el proceso Anammox, ya que el proceso Sharon es una nitrificación parcial (producción de NO_2^-) en donde el producto puede ser utilizado para ser alimentado al Anammox. Este tipo de tecnologías combinadas son aplicadas para aguas que contienen alta concentración de nitrógeno amoniacal ($>0.5\text{g L}^{-1}\text{L}$) (Ahn, 2006)

Proceso Canon

El proceso Canon es también una combinación de nitrificación parcial y Anammox. Sin embargo, este proceso se lleva a cabo en un solo biorreactor que se encuentra aireado. Los nitrificantes oxidan el amonio a nitrito, consumen oxígeno y por lo tanto crean condiciones anóxicas que el proceso Anammox necesita (Ahn, 2006; Singh et al., 2011; Strous and Jetten, 1997; Vázquez-Padín et al., 2009)

2.1.1.3.6 Eliminación de nitrógeno vía asimilación microalgal

El contenido de nitrógeno en las microalgas se encuentra alrededor de 5-10% en peso seco (Grobelaar, 2004). Las microalgas y cianobacterias presentan la capacidad de consumir de manera natural nitrato (NO_3^-), nitrito (NO_2^-), óxido nítrico (NO), amonio (NH_4^+), y en algunos casos nitrógeno molecular N_2 , pero también en forma orgánica como urea o aminoácidos (Flores and Herrero, 2005; Perez-Garcia et al., 2011). En los cultivos de microalgas y cianobacterias lo ideal es el consumo de moléculas cuyo gasto de energía sea el mínimo. En este sentido, la fuente de nitrógeno preferida para las microalgas es la forma amoniac/amonio ya que su asimilación consume menos energía comparada a otras fuentes de nitrógeno (Perez-Garcia et al., 2011).

El predominio del amonio (NH_4^+) o amoniac (NH_3) depende fuertemente del pH como lo muestra la Figura 2.2, donde está reportado que la relación entre $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ incrementa 10 veces por cada unidad de incremento en el pH y solo 2 veces por cada 10°C de incremento en temperatura en un rango de $0\text{-}30^\circ\text{C}$ (Erickson, 1985).

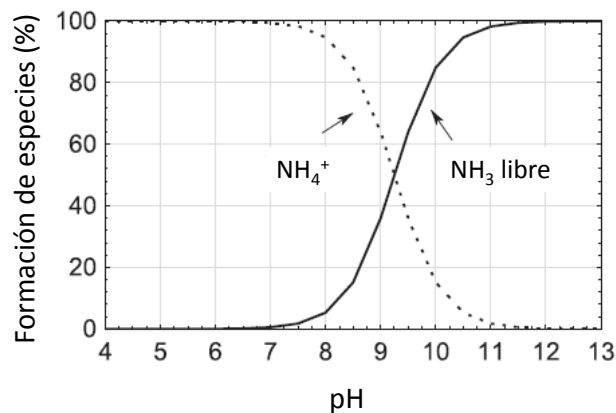


Figura 2.2 Predominio del amonio (NH_4^+) y el amoniac (NH_3) en función de cambio de pH (Markou et al., 2014)

La toxicidad de los iones NH_4^+ es considerablemente menor que el NH_3 , ya que este difunde de manera pasiva hacia las células, por lo que debe ser tomado en cuenta como el principal tóxico que afecta la viabilidad de las células (Markou et al., 2014) afectando el fotosistema II (complejo proteínico captador de luz e involucrado en el transporte de electrones durante el proceso de fotosíntesis) (Drath et al., 2008). Cuando el $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ está presente, la captación celular de NO_2^- o NO_3^- está reprimida, por lo que las microalgas primero remueven completamente el $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ y solo después utilizan las otras formas. (Fernandez and Galvan, 2007; Vílchez and Vega, 1994).

2.1.2 Eliminación de fósforo

2.1.2.1 Normatividad

La descarga de fósforo a los cuerpos de agua se rige bajo la NOM-001-SEMARNAT-1996. La concentración de descarga permitida en esta norma para ríos, embalses naturales y artificiales así como aguas costeras es de 5-20 ppm dependiendo del cuerpo de agua donde será descargado, así como el reúso que se le dará: agrícola o urbano.

Para su remoción existen procesos fisicoquímicos y biológicos.

2.1.2.2 Procesos Fisicoquímicos

2.1.2.2.1 Precipitación química de fósforo

La precipitación química del fósforo es provocada por la adición de sales de metales que forma precipitados de fosfatos poco solubles. Los iones de metales multivalentes comúnmente utilizadas son el calcio (Ca(II)), aluminio (Al(III)) y hierro (Fe(III)) (Quan et al., 2010). Algunos polímeros han sido efectivamente utilizados en conjunción con alumbre o cal como ácidos floculantes (Metcalf & Eddy, 2003).

2.1.2.3 Procesos Biológicos

El fósforo presente en el agua residual es incorporado en la biomasa la cual es removida con lodo residual resultante. Los organismos acumuladores de fósforo (OAF) son fomentados a crecer y a consumir fósforo en el sistema, el cual dependiendo de la configuración de este le provee ventajas sobre los otros microorganismos. La configuración de los reactores utilizado para la remoción de fósforo están comprendidos por un tanque anaerobio el cual se coloca delante del tanque de aireación

del lodo activado. (Metcalf & Eddy, 2003). En condiciones anaerobias los OAF pueden asimilar productos de la fermentación (e.g. ácidos grasos volátiles) en productos de almacenamiento como el polihidroxibutirato (PHB). En condiciones aerobias/anóxicas el PHB almacenado es oxidado para proveer energía y carbono para el crecimiento celular. La energía liberada de la oxidación de los PHB es posteriormente utilizada para formar enlaces dentro de las células con polifosfatos, por lo que es necesario para las células remover ortofosfatos del medio e incorporarlos para la nueva formación de polifosfatos en su interior (Metcalf & Eddy, 2003).

2.1.3 Eliminación de H₂S

Existen diferentes metodologías para el tratamiento del H₂S gaseoso clasificadas según la naturaleza de su eliminación. Los métodos fisicoquímicos en los que se involucran los procesos de absorción y la adsorción y los métodos biológicos que emplean bacterias sulfurooxidantes que transforman el H₂S en especies no volátiles en un rango amplio de pH (González-Sánchez et al., 2008; Sorokin and Kuenen, 2005)

2.1.3.1 Normatividad

De acuerdo con la NOM-001-SECRE-2010, que establece las especificaciones que debe cumplir el gas natural para su manejo en los sistemas de transporte, almacenamiento y distribución de gas natural, para preservar la seguridad de las personas, medio ambiente e instalaciones de los permisionarios y de los usuarios, el gas natural no debe contener más de 5.64×10^{-4} % v H₂S.

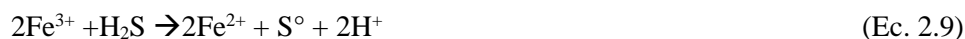
2.1.3.2 Procesos Fisicoquímicos

2.1.3.2.1 Conversión del H₂S a S⁰

La afinidad química del H₂S por cationes metálicos es la base de este tipo de procesos para su eliminación empleando reacción química. Estos procesos involucran la oxidación selectiva del H₂S a S⁰.

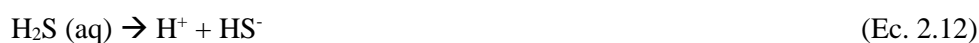
La eliminación de H₂S vía soluciones de hierro quelado ha sido ampliamente estudiada. Los primeros reportes de la reacción de H₂S con Fe³⁺ quelado fueron presentados por Philip & Brooks (1974), seguido de Neuman and Lynn, (1984) y posteriormente Wubs and Beenackers, (1994) donde publicaron la absorción de H₂S y O₂ por Fe quelado en solución.

Las reacciones óxido-reducción involucradas son las que se presentan en las Ec, 2.9 y 2.10.



En este sistema el catalizador (Fe^{3+}) es regenerado continuamente por la acción del oxígeno presente en el aire.

En los procesos basados en hierro quelado, el H_2S es inicialmente absorbido físicamente en agua. La disociación se lleva a cabo de acuerdo a las Ec. 2.11, 2.12 y 2.13.



La formación de azufre se produce por la oxidación del hierro quelado de acuerdo con la reacción descrita por la Ec. 2.14



La regeneración del hierro quelado en solución acuosa se produce por medio de una oxigenación seguida por la conversión del catalizador en su forma activa Fe^{3+} (Ec. 2.15 y Ec. 2.16)



La reacción general es la descrita en la Ec.2.17



El proceso permite obtener altas eficiencias en recuperación de azufre elemental de hasta 99.9%. (Limtrakul et al., 2005)

Las reacciones globales que se verifican en el proceso son las descritas en las Ec. 2.18 y 2.19.



2.1.3.2.2 Adsorción de H₂S por adsorbentes sólidos

Esta metodología está basada en la adsorción selectiva que tiene el H₂S hacia los adsorbentes sólidos. Estos procesos utilizan una cama fija de adsorbente donde el gas que contiene H₂S fluye hacia arriba o hacia abajo para tener un contacto gas-sólido (Abatzoglou and Steve, 2009)

La adsorción puede ser física o química según la superficie utilizada. Las superficies pueden ser de óxido de zinc o de hierro donde la adsorción es química e irreversible, pues el empaque de adsorción al estar en contacto con el flujo del gas reacciona y este debe ser cambiado por uno nuevo, provocando un incremento en los costos de operación.

Para superficies de zeolita y carbón activado la adsorción es física y reversible pues estos materiales pueden ser regenerados regularmente sometidos a altas temperaturas. El carbón activado ha sido ampliamente utilizado para la remoción de H₂S del biogás dando mejores resultados que el carbón convencional. Las capacidades máximas de adsorción del carbón activado se encuentran alrededor de los 0.2 g H₂S g carbón⁻¹ (Muñoz et al., 2015)

Recientemente medios comerciales tales como: SulfaTreat®, Sulfur-Rite®, y Media G2® han sido utilizados como alternativas mejoradas para hierro y esponjas de hierro. Estos procesos son utilizados para la eliminación de concentraciones bajas de H₂S (1000 ppm_v) porque el adsorbente no puede ser regenerado y su vida útil es relativamente corta (80 días aproximadamente) pues la capacidad de adsorción presenta un factor de 0.15-0.20 kg de H₂S kg⁻¹ de adsorbente (Abatzoglou and Steve, 2009).

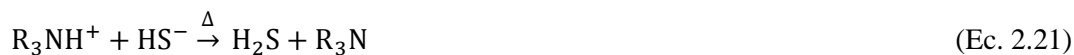
2.1.3.2.3 Eliminación de H₂S con aminas

La eliminación de H₂S por reacciones con aminas es un proceso altamente utilizado para la eliminación de H₂S del gas natural. Las aminas más frecuentemente utilizadas son alcaolaminas tales como: monoetanolamina (MEA), dietanolamina (DEA), trietanolamina (TEA), metildietanolamina (MDEA) y diglicolamina (DGA) (Olajire, 2010). MDEA en soluciones acuosas es normalmente utilizada para la eliminación selectiva de H₂S de corrientes gaseosas que contienen ambos gases CO₂ y H₂S (Kumar et al., 2014)

La reacción general que se efectúa durante el proceso en condiciones alcalinas es la presentada en la Ec. 2.20:



Para después ser liberado (desorción) al calentar la solución de 90 a 150°C para regenerar el solvente de acuerdo a la Ec. 2.21



El H₂S desorbido es convertido posteriormente a azufre elemental por el proceso de Claus, donde el H₂S combustiona a altas temperaturas (>850° C) y al pasar a un sistema de enfriado el azufre elemental precipita.

El uso de MDEA presenta varias ventajas con respecto a las aminas primarias y secundarias tales como:

1. Selectividad por el H₂S
2. Bajas requerimientos de energía debido a la baja entalpía de reacción con los gases ácidos
3. Baja presión de vapor de la solución
4. Menor corrosividad
5. Mejor estabilización térmica y química

Las desventajas que conllevan el utilizar este proceso son los altos costos de operación para la desorción térmica y la combustión.

2.1.3.2.4 Eliminación de H₂S con sistemas de membranas

Este método de eliminación de H₂S de corrientes gaseosas está regido en la utilización de membranas poliméricas; fundamentado en la permeabilidad selectiva de ciertas membranas al H₂S. La separación está basada en el principio de permeabilidad de moléculas de gas que pueden fluir a través de una membrana a diferentes velocidades siendo la presión diferencial la fuerza motriz. Está reportado que las membranas hidrófobas con microporos soportan eficiencias de remoción del 98% durante la desulfuración de biogás con un contenido de H₂S del 2%v (Muñoz et al., 2015; Ryckebosch et al., 2011).

2.1.3.2.5 Absorción con soluciones alcalinas

Esta tecnología de eliminación está basada en la absorción de H₂S en una fase líquida. Principalmente es utilizada para concentraciones de H₂S >18ppm_v (González-Sánchez et al. 2008). Se puede llevar a cabo utilizando agua o disolventes orgánicos. La reacción puede realizarse de manera química o física. En la física el H₂S se disuelve en el solvente mientras que en la química surge una reacción entre el H₂S y el solvente.

En la absorción física el agua ha sido utilizada ampliamente, sin embargo el consumo de agua puede ser muy alto para una concentración pequeña de H₂S. La adición de agentes químicos al agua han resultado ser de gran ventaja en la eliminación en la remoción de H₂S. En este sentido, la adición de soluciones de NaOH ha presentado grandes ventajas. El NaOH reacciona con el H₂S para formar Na₂S (sulfuro de sodio) o NaSH (sulfhidrato de sodio), dichas sales no pueden regenerarse por algún otro proceso por lo que es necesaria su disposición final (Ryckebosch et al., 2011).

2.1.3.3 Procesos Biológicos

Los tratamientos biológicos han sido altamente utilizados para la eliminación de H₂S en una corriente de gas. Estos procesos son más baratos comparados con los procesos físicos y químicos y son amigables con el ambiente (Abatzoglou and Steve, 2009)

Muchos tipos de bacterias han sido utilizadas por las ventajas que estas presentan tales como:

- ✓ Capacidad para transformar H₂S en S⁰ (bajo limitación de O₂)
- ✓ CO₂ como fuente de carbono
- ✓ Fácil separación del S⁰ de la biomasa
- ✓ Alta robustez hacia la fluctuación en las condiciones (temperatura, pH, humedad y relación O₂/H₂S)

2.1.3.3.1 Bacterias sulfuro-oxidantes

Las bacterias sulfurooxidantes pueden obtener energía a partir de la oxidación de compuestos reducidos del azufre. Dependiendo de su metabolismo energético, pueden clasificarse como bacterias fotótrofas o quimiolitótrofas.

Las bacterias fotótrofas usan la luz como fuente de energía para reducir el CO₂ a carbohidratos y realizar fotosíntesis anoxigénica (sin producción de oxígeno); mientras que las bacterias sulfurooxidantes obtienen su energía de la oxidación aerobia de compuestos reducidos del azufre (Madigan et al., 2003)

Uno de los géneros más representativos de bacterias sulfurooxidantes que actúan en un rango amplio de pH son: *Thioalkalivibrio*, *Thioalkalimicrobium* y *Thiobacillus* y algunas de las especies son: *T. thiparus*, *T. denitrificans*, *T. neopolitanus*, *T. thiooxidans* y *T. ferrooxidans*. (Sorokin et al., 2001; Sorokin and Kuenen, 2005)

2.1.3.3.2 Sistemas biotecnológicos para eliminación de H₂S

La gran ventaja de los sistemas biológicos sobre los tratamientos químicos o físicos es que los procesos biológicos pueden ser llevados a cabo a moderadas temperaturas (10-40°C) y a presión atmosférica (González-Sánchez and Revah, 2007; Revah and Morgan-Sagastume, 2005). Los procesos biológicos generalmente son procesos oxidativos y producen compuestos como el CO₂, agua, SO₄²⁻ y nitrato, además que son tecnologías amigables con el ambiente (Revah & Morgan-Sagastume, 2005; Bindra et al., 2015; Estrada et al., 2011).

Algunos de los sistemas (reactores) en los que se involucran procesos biotecnológicos para la eliminación del H₂S se muestran en la Tabla 2-3.

Tabla 2-3 Sistemas biotecnológicos para la eliminación del H₂S

Sistema biológico	Descripción del proceso	Ventajas	Desventajas
Biofiltro	La biomasa activa se encuentra inmovilizada, el gas contaminante fluye a través de los poros del material del lecho donde crece la biopelícula en el cual se da la oxidación biológica	Bajos costos de inversión y operación, bajas presiones, ausencia de corrientes residuales secundarias, flexibilidad para grandes volúmenes de gases olorosos	Dificultades para mantener la humedad del lecho Limitado control del pH Bajas eficiencias de remoción para concentraciones altas de contaminantes Deterioro del material de soporte, Atasco del soporte debido a la materia acumulada y a la compactación
Biofiltro de lecho escurrido	La fase acuosa escurre a través del lecho fijo la cual habitualmente está hecha de algún material inerte natural o sintético. Operación en co-corriente y contracorriente	Tecnología simple y de bajo costo, bajos costos de operación, remoción efectiva del contaminante, incluso en casos en que la reacción biológica produce ácidos; bajas caídas de presión	Cuando se están tratando las concentraciones de contaminantes, se requieren altas dosis de nutrientes. Puede presentarse obstrucción del lecho por el crecimiento de la biomasa
Biolavador	Consiste en la separación física de olores en una fase líquida dentro de una unidad absorbidora seguida de un tratamiento biológico adyacente.	Estabilidad en la operación ya que se controla de manera efectiva el pH a través de la dosis de los nutrientes. Presenta bajas caídas de presión. Se requiere poco espacio para su instalación. Menos taponamiento del material de empaque por reducido crecimiento de biomasa fija. Mayores velocidades de flujo de gas. Los productos de la reacción son removidos dados los procesos de lavado. Disminución de la concentración de bioproductos tóxicos durante las biorreacciones. Tiempos de residencia de gas cortos	Generación de desechos líquidos. Riesgo de generación de lodos en exceso, así como para los microorganismos (posible lavado del reactor). Debido a que los tiempos de residencia del gas son cortos, estos sistemas son menos eficientes para compuestos menos solubles en agua.
Biorreactores giratorios de contacto	Las biopelículas formadas por los microorganismos se encuentran adheridos a una superficie giratoria. La eficiencia de remoción es dependiente de las revoluciones por minuto, el TRH, las características del fluido, la formación de la biopelícula y la concentración de oxígeno disuelto	La velocidad de transferencia de oxígeno es alta debida a la velocidad del disco en movimiento. La amplia superficie del disco donde se adhiere la biopelícula facilita su contacto con el aire. La continua rotación permite un eficiente mezclado de la fase líquida. Son biorreactores compactos y pueden sellar herméticamente y evita la liberación de malos olores al ambiente. La baja velocidad de rotación resulta en un bajo consumo de energía.	El inicio del proceso es lento

(Barbusinski et al., 2017; Delhoménie et al., 2001; Estrada et al., 2011; Mudliar et al., 2010; Revah and Morgan-Sagastume, 2005)

2.1.4 Eliminación de dióxido de carbono (CO₂)

2.1.4.1 Normatividad

Para que la calidad del biogás sea adecuada para ser inyectado a la red de gas natural, es importante cumplir con un contenido máximo de CO₂. En este sentido y de acuerdo a la NOM-001-SECRE-2010, que establece *las especificaciones que debe cumplir el gas natural para su manejo en los sistemas de transporte, almacenamiento y distribución de gas natural, para preservar la seguridad de las personas, medio ambiente e instalaciones de los permisionarios y de los usuarios*, el gas natural no debe de contener una concentración mayor a 3%v de CO₂. Además de tener un índice Wobbe mínimo de 48.20 MJ m⁻³ y un máximo de 53.20 MJ m⁻³.

2.1.4.2 Procesos Fisicoquímicos

2.1.4.2.1 Absorción con agua, aminas, soluciones químicas y orgánicas

El principio de este proceso es que el CO₂ es mucho más soluble en sistemas líquidos que el CH₄ (26 veces más que el CH₄ (Sander, 2015)). Durante el tratamiento, el flujo de biogás entra en contacto con un flujo de líquido (agua, solución química o alcalina) en una columna específica. El líquido incrementa la concentración de CO₂ y deja la columna, mientras que en el biogás aumenta la concentración de CH₄. La transferencia de masa depende de la concentración y el coeficiente de partición gas/agua de acuerdo a la Ley de Henry.

La absorción en agua ha sido utilizada ampliamente para la remoción de H₂S y CO₂ del biogás (Noyola et al., 2006), representando la tecnología más utilizada con un 41% para la remoción de CO₂ (Muñoz et al., 2015). El desempeño del proceso depende de factores tales como la configuración y el volumen de la columna, composición del flujo de gas, flujo del líquido y la calidad del agua utilizada (Tippayawong and Thanompongchart, 2010)

Una de las desventajas que presenta este tipo de tecnología es que durante el proceso se debe de utilizar siempre agua fresca nueva y las altas presiones de operación 1000-2000 kPa (Ryckebosch et al., 2011). El CO₂ tiene un valor de difusividad en agua de 0.138 cm² s⁻¹ (Green, D W and Perry, 1997) mostrando un bajo proceso de transferencia de masa de la fase gas a la fase líquida. Esta baja solubilidad provoca una baja absorción del gas en el agua, dando como resultado tiempos de retención

de lecho vacío (TRLV) altos y por lo tanto es necesario utilizar mayores volúmenes de columna para los mismos flujos del gas a tratar (Andriani et al., 2014).

Una de las alternativas para evitar el uso excesivo de agua en este tratamiento es la recirculación del líquido, sin embargo, antes de la recirculación es necesario eliminar del agua el CO₂ disuelto, despresurizando el sistema para que se desorba el CO₂ en una columna similar (Beggel et al., 2010; Zhao et al., 2010). Así mismo, otra alternativa es el uso de agua tratada, pero en tal caso esta agua no puede ser recirculada al sistema (Zhao et al., 2010).

Por otro lado, existen metodologías de absorción en las que se utilizan soluciones de aminas como, monoetanolamina (MEA) N-dimetiletanolamina (DMEA), dietanolamina (DEA), piperazina (PZ) y 2-amino-2-metil-1-propanol (AMP) o sus mezclas (Galindo et al., 2012; Gaspar and Cormos, 2012; Jinzhao Liu et al., 2012; Tay et al., 2017). En las reacciones con aminas, la solución química forma enlaces reversibles con el CO₂ cuando están en contacto; después de efectuarse la reacción de remoción, la solución química es regenerada con humedad o con calor y el CO₂ puede ser recuperado, lo que es de gran ventaja en esta tecnología. En el caso de MEA, 5 min de calentamiento son los necesarios al menos para recuperar la amina (Andriani et al., 2014); sin embargo, se requieren grandes cantidades de solución para obtener altas purzas de CH₄ en el biogás (Tippayawong and Thanompongchart, 2010). De igual forma soluciones alcalinas como el hidróxido de sodio (NaOH), el hidróxido de potasio (KOH), hidróxido de calcio (Ca(OH)₂), carbonato de potasio (K₂CO₃), hidróxido de hierro (Fe(OH)₃) y cloruro de hierro (FeCl₂) han resultado ser eficientes en la remoción de CO₂ del biogás (Awe et al., 2017; Muñoz et al., 2015). Por otro lado, absorbentes químicos a base de polietilenglicol comercializados bajo los nombre comerciales de Selexol® o Genosorb® presentan mayor afinidad por el CO₂ y el H₂S. La mezcla de polietilenglicol y dimetileter presenta 5 veces mayor afinidad por el CO₂ que agua (Tock et al., 2010; Muñoz et al., 2015). Sin embargo el uso de solventes orgánicos presenta la desventaja de requerir una subsecuente etapa de operación en la cual se remueve agua y la desorción del CO₂ a 40°C, lo que provoca un aumento en los costos de operación.

2.1.4.2.2 Adsorción por oscilación de presión

Esta tecnología está fundamentada en la afinidad que tiene el CO₂ por un material adsorbente, el cual funciona como un tamiz molecular permitiendo el paso del compuesto a través de zeolita, carbón activo o sílica gel, permitiendo la salida del biogás y aumentando su contenido en CH₄ (Zhao et al., 2010). La tecnología se lleva a cabo en columnas verticales las cuales están empacadas con los materiales adsorbentes anteriormente mencionados. Este proceso está basado en el hecho de que a mayor presión, los gases tienden a ser atraídos hacia un material adsorbente y una mayor masa del gas es adsorbido. Esta tecnología se lleva a cabo en diferentes contenedores en donde se aplican diferentes operaciones unitarias: adsorción, despresurización, desorción y presurización. Es recomendable secar el gas y también eliminar de la corriente de gas el H₂S antes de la adsorción del CO₂ porque el H₂S puede reaccionar con el tamiz molecular y adsorberse de manera irreversible. Las ventajas de este procedimiento es que el contenido de CH₄ en el de biogás tratado puede ser > 97% v, se tiene una baja demanda de energía y menor pérdida de CH₄ por emisión (2-4%v) (Andriani et al., 2014; Ryckebosch et al., 2011). La desventaja que presenta esta tecnología está relacionada con el mayor pretratamiento que se necesita del biogás.

2.1.4.2.3 Tecnología de membrana

El principio de la separación por membrana se basa en que algunos componentes del biogás crudo son transportados a través de una membrana mientras otros son retenidos (separación selectiva). La presión utilizada en este tipo de tecnologías van de 25 a 40 bar. La membrana puede construirse como módulos de fibra hueca, módulos enrollados en espiral y módulos de tipo envolvente (Andriani et al., 2014).

Existen dos técnicas de separación.

1.- Gas-gas. Con fase gaseosa por ambos lados de la membrana, el gas entra presurizado al sistema, las membranas separan moléculas pequeñas tales como el CO₂, humedad y el resto de H₂S pero no son eficaces para la separación de N₂ y CH₄. (Ryckebosch et al., 2011). La configuración puede ser de una sola unidad de membrana o múltiples unidades de membrana con recirculación del permeado (Muñoz et al., 2015)

2.- Gas-líquido. Las moléculas de la corriente de gas fluyen en una dirección, las moléculas que son capaces de difundir a través de la membrana, son absorbidas por el lado opuesto en el líquido que

fluye en contracorriente. Alcano aminas y soluciones acuosas alcalinas son utilizadas para la remoción de CO₂ (Andriani et al., 2014).

Los contenidos de CH₄ en el biogás alcanzados después de la tecnología de membrana para procesos con múltiples unidades de gas-gas o gas-liquido son de 96-98%v, mientras que para una sola unidad gas-gas el contenido de CH₄ está alrededor de 92-94%v.

La tecnología de membrana tiene muchas ventajas como, altas eficiencias en la separación y facilidad de operación. Sin embargo el potencial de aplicación depende enormemente de la habilidad del material de la membrana para realizar una separación exitosa con bajos requerimientos energéticos (Andriani et al., 2014).

2.1.4.2.4 Separación criogénica

Esta tecnología está basada en la naturaleza y comportamiento de cada gas; ya que los gases licuan a diferentes presiones y temperaturas; por lo tanto es posible aumentar la concentración del CH₄ proveniente del biogás enfriando y comprimiendo el biogás (Andriani et al., 2014)

En esta separación es necesaria la eliminación de todos los componentes traza del biogás previamente excepto el N₂ y el CO₂ antes del enfriamiento. Una vez que todos los componentes del biogás han sido completamente removidos, el gas remanente es mandado a una cámara criogénica donde la temperatura y la presión son manipuladas para causar una licuefacción del CO₂. (Aaron and Tsouris, 2005). Sobre las condiciones correctas (punto triple de CO₂ es -56.6°C y aproximadamente 7.4 atm) el CO₂ puede condensar mientras que el N₂ se mantiene en forma de gas.

La separación criogénica puede alcanzar contenidos de CH₄ alrededor de 97%v después de su aplicación con pérdidas de CH₄ abajo del 2%v (Andriani et al., 2014).

2.1.4.3 Procesos biológicos

Los sistemas biológicos han recibido una alta aceptación debido a las ventajas que presentan frente a los procesos fisicoquímicos tales como operación más sencilla, económica y son amigables con el ambiente. El uso de microorganismos quimiótrofos, heterótrofos, fotótrofos y autótrofos para el enriquecimiento del biogás, ha sido estudiado y sus aplicaciones están bien establecidas (Melanie Bahr et al., 2014; Heubeck et al., 2007; Kao et al., 2012; Mann et al., 2009; Rusten and Sahu, 2011; Yan and Zheng, 2013).

2.1.4.3.1 Enriquecimiento in situ de biogás

La comunidad biológica que interactúa en el proceso de la digestión anaerobia es muy diversa y de estas interacciones biológicas depende el éxito o el fracaso de dicho proceso. Por lo anterior, diversas metodologías se han llevado a cabo para optimizar la producción de biogás, en las que se incluyen la inyección de H₂ al proceso de digestión.

En este sentido, la adición de microorganismos al sistema de digestión capaces de producir hidrógeno ha sido utilizada; introduciendo un nuevo miembro microbiológico que promueve la eliminación de CO₂ dentro del sistema, permitiendo que la concentración de este gas a la salida contenga menor proporción.

La conversión de CO₂ a CH₄ se lleva a cabo a través de bacterias metanogénicas hidrogenotróficas capaces de usar CO₂ como fuente de carbono y aceptor de electrones y utilizando la energía proveniente del H₂ como el donador de energía Ec. 2.22 (Muñoz et al., 2015; Strevett et al., 1995)



Microorganismos mesofílicos o termofílicos productores de hidrógeno como *Enterobacter cloacae* y *Caldicellulosyruptor saccharolyticus* han sido utilizados en la aplicación de estas tecnologías, como lo reportado por Bagi et al., (2007) en donde al utilizar las cepas antes mencionadas en un digestor anaerobio de estiércol de cerdo observó un aumento en la producción de biogás en un rango de 160 a 170% .

Por otro lado la baja solubilidad que tiene el H₂ en soluciones acuosas (constante de Henry 52 adimensional) provoca inconvenientes en su aplicación, ya que las reacciones biológicas se llevan a cabo en la fase acuosa del digestor. Lo anterior ha provocado aumentar el tiempo de residencia de gas en rangos de 1 a 208 h (Muñoz et al., 2015). El contenido de CH₄ en el biogás final ha sido alrededor del 90%v sin embargo las productividades de CH₄ han se han reportado bajas 0.65-5.3 LCH₄ L reactor⁻¹ (Muñoz et al., 2015). Debido a lo mencionado anteriormente, técnicas como la implementación de bioreactores multifásicos y de flujo segmentado en capilares o conocido como flujo de Taylor han sido utilizados a fin de aumentar las productividades de CH₄ (Kreutzer et al., 2005).

2.1.4.3.2 Remoción biológica de CO₂

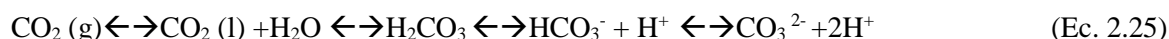
Las microalgas eucarióticas y las cianobacterias procarióticas presentan la capacidad de bioconvertir el CO₂ presente en el biogás y la luz del sol en materia orgánica vía fotosíntesis (Ec. 2.23, 2.24) (Moroney and Somanchi, 1999).



Debido a lo anterior es importante mantener de forma continua el suministro de CO₂ en el sistema biológico para que se lleve a cabo la fotosíntesis. El CO₂ presenta una baja solubilidad en agua (1.5 g L⁻¹ a 25°C y 1 atm de presión) y una baja afinidad por la enzima Rubisco (ribulosa -1,5 bifosfato carboxilasa oxigenasa), enzima necesaria para la fotosíntesis K_s de 1-8 mg CO₂ L⁻¹. La solubilidad depende altamente de la presión, temperatura y el pH (Muñoz et al., 2015) por lo que es de suma importancia mejorar su transporte desde gas hacia la fase líquida.

El pH óptimo de crecimiento de las microalgas se encuentra en un rango entre 7-8, sin embargo las cianobacterias como la *Spirulina platensis* son capaces de crecer en rangos 9-10 de pH, el cual maximiza el transporte de CO₂ del biogás a la fase líquida dada la naturaleza ácida del gas (Muñoz et al., 2015)

En soluciones alcalinas el exceso de iones OH⁻ reaccionan con el CO₂ formando HCO₃⁻. Cuando el CO₂ se disuelve en agua, este reacciona con las moléculas de agua y forma un sistema ácido-base que funciona como buffer teniendo el equilibrio que se presenta en la Ec. 2.25



En altos valores de pH la transferencia de CO₂ es más rápida que a bajos valores debido a que la reacción química del CO₂ y el OH⁻ es más rápida que la hidratación del CO₂ hacia H₂CO₃ (Markou et al., 2014).

Diversas especies de microalgas y cianobacterias son capaces de consumir CO₂ y HCO₃⁻, algunas solo CO₂ o HCO₃⁻ (Camiro-Vargas et al., 2005); en algunos casos esta reportado que cianobacterias alcalófilas extremas pueden crecer con CO₃⁻ como fuente de carbono inorgánico (Mikhodiuk et al., 2008).

Así mismo, además de la correcta alimentación de CO₂, la intensidad luminosa juega un papel muy importante. La fijación de CO₂ por vía fotosintética incrementa de forma lineal cuando incrementa la

intensidad luminosa hasta una radiación crítica de cada especie ($200\text{--}400 \mu\text{Em}^{-2} \text{ s}^{-1}$) (Muñoz et al., 2015; Torzillo and Vonshak, 2013).

Los procesos para el tratamiento de aguas residuales basadas en microalgas han ganado mucha importancia debido a sus bajos costos de operación y su sustentabilidad en comparación con los tratamientos convencionales (lodos activados o sistemas anaerobios). Las tecnologías basadas en microalgas producen oxígeno y lo pueden aprovechar para la eliminación del DQO y una potencial recuperación de nutrientes (Evans et al. 1986; Wilkie & Mulbry 2002; Muñoz and Guieysse, 2006). Además, ofrecen una buena solución para tratamientos terciarios y cuaternarios debido a la habilidad de las microalgas para usar el nitrógeno y fósforo inorgánico para su crecimiento (Ruiz-Marin et al. 2010; Renuka et al. 2013).

2.1.4.3.3 Tecnologías que emplean microalgas y bacterias en un mismo sistema

Actualmente existen metodologías en las cuales pueden ser removidos el CO_2 y el H_2S simultáneamente en un mismo sistema con el uso de microalgas y bacterias sulfurooxidantes. Las microalgas a través de la fotosíntesis son capaces de remover el CO_2 presente en el biogás produciendo el O_2 necesario para que las bacterias sulfurooxidantes oxiden el H_2S a SO_4 ; de esta manera el contenido de CH_4 aumenta en el biogás a la salida del sistema (biometano) (Figura 2.3).

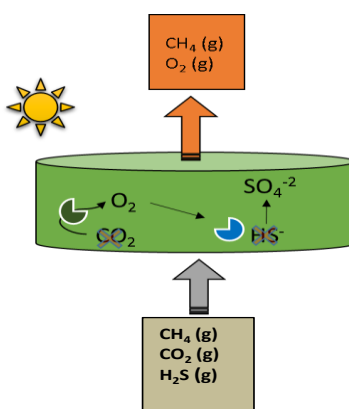


Figura 2.3 Esquema global de la remoción simultánea de CO_2 y H_2S del biogás en un fotobiorreactor (adaptado de Bahr et al., 2014)

La remoción de CO_2 , en comparación con los procesos fisicoquímicos antes mencionados, se da por la vía de la producción de biomasa microalgal, la cual puede ser utilizada como materia prima para la obtención de biocombustibles (biogás, bioetanol o biodiesel), así como productos de valor agregado como lípidos, proteínas y carbohidratos según las condiciones de operación (Suganya et al., 2016).

En tales sistemas, el CH₄ no provoca ningún tipo de inhibición para el cultivo de microalgas debida a la baja solubilidad de este en soluciones acuosas (Henry 34 adimensional) (Kao et al., 2012; Sander, 2015).

El uso de efluentes provenientes de la digestión anaerobia como fuente de nutrientes como el nitrógeno y fósforo le da un valor agregado al sistema tanto económico como medio ambiental: por un lado, se evita la preparación de medios de cultivo para proveer al cultivo biológico de nutrientes, lo que disminuye los costos de operación del sistema; y por otro, al remover los nutrientes de esta forma, se evita su descRGA a los drenajes previniendo problemas relacionados con la eutrofización.

Los fotobiorreactores raceway o High Rate Algal Pond (HRAP) es la configuración más común para fotobiorreactores abiertos. El principio de este tipo de fotobiorreactores va de acuerdo a lo reportado por Oswald, (1988). Principalmente consiste en un estanque con dos canales comunicados entre sí, en el que se pueden utilizar diversos tipos de paletas, las cuales presentan un bajo esfuerzo de cizallamiento (Fernández et al., 2013). Los sistemas HRAP presentan varias ventajas en cuanto a la baja cantidad de energía necesaria para su operación y sus bajos costos de construcción (42.27 pesos m⁻² y 2-10 W m⁻³) comparado con los fotobiorreactores cerrados (Muñoz et al., 2015; Tredici, 2010). Estos sistemas utilizan la luz del sol como la mayor fuente de energía para la reacción fotosintética y así producir biomasa y otros compuestos de interés agregado.

Además de la intensidad de la luz, las características hidrodinámicas son críticas para obtener altas productividades de microalgas. El mezclado hidrodinámico es requerido para mejorar la exposición de las células hacia la luz, evitar la sedimentación de las algas, homogenizar la distribución de los nutrientes y mejorar la utilización del CO₂ en el sistema. (Hadiyanto et al., 2013).

Uno de los objetivos primordiales en el uso de sistemas HRAP es aumentar la productividad de la biomasa microalgal. En este sentido, diversos factores afectan la productividad de la biomasa como condiciones ambientales (localización del cultivo, temporadas de lluvias, radiación solar), diseño del HRAP (profundidad, velocidades de mezclado, consumo de energía) y finalmente las condiciones del cultivo (luz, acumulación del OD, pH, salinidad, alcalinidad) (Kumar et al., 2015). Dado lo anterior, monocultivos de microalgas pueden ser alcanzados manteniendo condiciones ambientales extremas como lo son: alta salinidad, alta alcalinidad y un alto estado nutricional (Acta et al., 1986), en donde un sistema efectivo podrá permitir el consumo adecuado de nutrientes (C, N, P, S) y aprovechamiento integral del luz a bajos costos de energía (Lee, 2001).

Hasta el momento, existen reportes de trabajos en los que se estudia la eliminación de ambos residuos (biogás y digestato) donde bacterias y microalgas actúan simultáneamente en un mismo sistema

(Alcantara et al., 2015; M. Bahr et al., 2014; de Godos et al., 2009; Posadas et al., 2013; Serejo et al., 2015).

La revisión en la literatura indica que a condiciones extremas como alta alcalinidad y $\text{pH} > 10$ beneficia el proceso de absorción de CO_2 y H_2S además de favorecer cultivos adaptados alcalófilos de microalgas y bacterias que difícilmente se contaminará con otros microorganismos.

Los sistemas que han sido estudiados a la fecha no consideran medios alcalinos que resulten en pH básicos como una condición de operación, por lo tanto se limita su rango de aplicación y posiblemente sus capacidades y eficiencias de eliminación por la menor solubilidad de los gases de interés (CO_2 y H_2S) a $\text{pH} < 7$.

Lo anterior sugiere encontrar los límites de operación de un sistema integrado de tratamiento de efluentes de la digestión anaerobia bajo condiciones de pH básicos con aceptables eficiencias de eliminación. Esto significa definir los rangos de capacidades de tratamiento de biogás (capacidad de absorción de los gases por remover, velocidades de fijación de carbono, velocidades de oxidación de H_2S) así como de la eliminación simultánea de nitrógeno y fósforo. En ese sentido, evaluar el efecto de las condiciones reales de luz y oscuridad (día y noche) sobre el desempeño del proceso integrado, permitirá definir si esta nueva tecnología puede ser aplicable en sistemas a escala real de tratamiento para efluentes de la digestión anaerobia.

En resumen, la Tabla 2-4 muestra algunas de las ventajas y desventajas de las diferentes tecnologías tanto fisicoquímicas y biológicas descritas anteriormente para el tratamiento del biogás (eliminación de CO_2 y H_2S) y los nutrientes (eliminación de nitrógeno y fósforo), ambos residuos generados en el proceso de la digestión anaerobia.

Tabla 2-4 Ventajas y desventajas de procesos fisicoquímicos y biológicos para el tratamiento de biogás y digestato generados en la digestión anaerobia

Proceso	Tecnología	Descripción general de la tecnología	Ventaja	Desventaja
Remoción de nitrógeno	Biológico	Microorganismos especializados capaces de realizar la eliminación del nitrógeno presente. Incluyen: nitrificación-desnitrificación, nitrificación parcial, oxidación aerobia del amonio (e.g Anammox), y sistemas combinados	Convenientes eficiencias de remoción Tecnologías amigables con el ambiente sin la producción de residuos	Microorganismos sensibles a cambios de pH, OD y temperatura
	Fisicoquímico	Uso de materiales especializados (zeolitas) para el intercambio de iones. Oxidación del amonio con la adición de cloro	Con apropiado control todo el nitrógeno de amonio puede ser oxidado	Acumulación de ácido clorhídrico el cual reacciona con la alcalinidad y solidos disueltos, además de la formación de compuestos organoclorados
Remoción de fósforo	Biológico	Provocar estrés en los microorganismos debido al cambio en las condiciones de operación para su mayor acumulación biológica	Menor producción de lodos comparada con la precipitación química	A bajo de 6.5 de pH la eficiencia de remoción disminuye
	Fisicoquímico	Precipitación química del fósforo con metales multivalentes de Calcio, Aluminio y Hierro	Convenientes eficiencias de remoción	Incremento en los costos de operación debido a los reactivos utilizados en el proceso
Remoción de H ₂ S	Biológico	Microorganismos especializados sulfurooxidantes realizan la oxidación biológica del H ₂ S en presencia de oxígeno	Costos baratos de inversión y operación: bajos requerimientos de electricidad, no se necesitan reactivos extras Procesos amigables con el ambiente	Inhibición de bacterias sulfurooxidantes a altas concentraciones
	Fisicoquímico	Reacción del H ₂ S con soluciones de hierro quelado, adsorción con adsorbentes sólidos, reacción de H ₂ S con aminas, permeabilidad selectiva con membranas de hidrofóbicas, absorción en soluciones alcalinas	Costos baratos de inversión (e.g soluciones de Fe), menores demandas de electricidad menor volumen y menor bombeo (e.g Absorción química)	Altos costos de operación, sensible al agua (e.g sales de hierro), presiones altas y bajas temperaturas posible obstrucción de la columna de absorción (e.g absorción con agua)
Remoción de CO ₂	Biológico	Microorganismos especializados (fotosintéticos) capaces de consumir de manera natural el CO ₂ y producir O ₂ .	Bioconversión de CO ₂ a biomasa microalgal.	Hay que proveer al sistema de suficiente transporte de CO ₂ . La velocidad de fijación depende de la máxima carga de CO ₂ aplicada al sistema. Sistemas regidos por la cantidad de luz, pH temperatura, entre otros factores.
	Fisicoquímico	Reacciones de absorción con agua, aminas, soluciones químicas y orgánicas uso de zeolita (tamiz molecular), membranas selectivas al CO ₂ .	Altos contenidos de metano (>97% CH ₄) eliminación simultánea de H ₂ S (e.g. absorción con agua) posibilidad de regeneración (e.g absorción química con aminas), técnica compacta (e.g tamiz molecular), se puede obtener CO ₂ puro (e.g. tecnología de membrana)	Costos de operación altos, formación de espuma (e.g. absorción con agua) calor necesario para la regeneración, corrosión (e.g. absorción con aminas), membranas de baja selectividad, múltiples pasos necesarios (e.g. tamiz molecular)

(Arellano et al., 2017)

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En los digestores anaerobios se producen efluentes líquidos (digestato) y gaseosos (biogás) que contienen nutrientes disueltos contaminantes, así como gases con alto potencial de efecto invernadero (CO_2 , CH_4). Su liberación al ambiente en forma no controlada genera problemas ambientales tales como eutrofización y contribución al calentamiento global, además de impactos sociales (malos olores) y económicos (incumplimiento de normas, desperdicio de la energía contenida en el metano).

Se propone un novedoso proceso fotobiotecnológico para el enriquecimiento y desulfuración de biogás operado en condiciones de alta alcalinidad y altos valores de pH inoculado con microalgas y bacterias sulfurooxidantes.

La absorción de CO_2 y H_2S en solución alcalina y $\text{pH} > 9$ es rápida y eficiente, por lo tanto es una condición deseable de mantener en el proceso propuesto. Mediante la evaluación particularizada e integral de los fenómenos que ocurren en el proceso antes mencionado, se plantea definir los límites y rangos convenientes de operación del proceso fotobiotecnológico propuesto para el enriquecimiento de biogás con eliminación de nutrientes. Éste consiste en un sistema de fijación de CO_2 y de oxidación biológica de sulfuro, asociado a la asimilación de nutrientes, operado bajo condiciones alcalinas, pH básicos y escenarios ambientales reales de luz/oscuridad, así como diferentes temperaturas.

HIPÓTESIS

Un fotobiorreactor operado a condiciones de extrema alcalinidad a pH básico propiciará el cultivo de microorganismos fotosintéticos adaptados, los cuales mantendrán el pH del medio mayor a 9, lo que permitirá enriquecer y desulfurar biogás en forma continua con eficiencias de eliminación superiores a las obtenidas a pH neutros.

OBJETIVOS

Objetivo General

Definir un modelo conceptual de los mecanismos físicos, químicos y biológicos que se verifican en un fotobiorreactor operado a pH básico, que permita caracterizar cinéticamente el enriquecimiento y desulfuración de biogás acoplado a la eliminación de nitrógeno y fósforo provenientes de un digestor anaerobio.

Objetivos Particulares

- Evaluar el efecto de diferentes condiciones ambientales predominantes durante el enriquecimiento y desulfuración del biogás ante diferentes especies del azufre, de intensidad luminosa y de amoníaco sobre la actividad fotosintética de un consorcio alcalófilo-microalgal, en un fotobiorreactor cerrado.
- Definir las capacidades de eliminación y el destino de CO₂, H₂S, N y P bajo diferentes condiciones operativas y ambientales durante el enriquecimiento y desulfuración del biogás en un fotobiorreactor abierto inoculado con un consorcio alcalófilo bacteriano-microalgal.
- Diseñar y dimensionar conceptualmente un proceso fotobiotecnológico de escala real operado a pH básico para el tratamiento de los efluentes de la digestión anaerobia.

Capítulo 3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Microorganismos de estudio

3.1.1 Consorcio de microalgas alcalófilas

El consorcio alcalófilo microalgal (CAM) fue recolectado del lago Nabor Carrillo del ex Lago de Texcoco el cual es un sitio sódico alcalino con una conductividad 12 mS cm^{-1} y un pH entre 9 y 11 localizado al este de la Cd. de México a $19^\circ 30' 41.1'' \text{ N}$, latitud; $98^\circ 59' 31.6'' \text{ W}$, longitud; y una elevación por encima del nivel del mar de 2254 m (Granada-Moreno et al., 2017)

El CAM, después de ser aislado fue adaptado y crecido en un medio de cultivo mineral alcalino (MSM) modificado de Zarrouk de acuerdo con de los Cobos-Vasconcelos et al., (2015) con la siguiente composición en (g/L): Na_2CO_3 (4.03), NaHCO_3 (13.61), NaCl (1), K_2HPO_4 (1), K_2SO_4 (1), CaCl_2 (0.04), 25 mL KNO_3 , 1 mL $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ y 2 mL de solución de elementos traza, alcanzando un pH final de 9.67.

El CAM fue colocado en matraces Erlenmeyer de 250 mL con una iluminación continua en PAR (radiación fotosintéticamente activa que se define como la cantidad de radiación integrada en el rango de las longitudes de onda capaces de producir actividad fotosintética) de $22.2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, en una incubadora a temperatura controlada y constante de 25°C y 122 rpm.

Observaciones al microscopio del cultivo CAM fueron realizadas con el fin de caracterizar las especies de microalgas predominantes a las condiciones antes mencionadas.

3.1.2 Bacterias alcalófilas sulfurooxidantes

El cultivo de bacterias alcalófilas sulfurooxidantes (BAS) (donado por el grupo de investigación a cargo del Dr. Sergio Revah del Departamento de Procesos y Tecnología, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Cuajimalpa) fue crecido en una columna de burbujeo con un volumen de 5L con 28.3 cm de alto y 14.5 cm de diámetro interno con un flujo de aire constante de 1 L min^{-1} . Se utilizó el MSM antes mencionado, con adición 5 mL cada 20 días de tiosulfato de sodio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) a una concentración de 20 g L^{-1} como fuente de energía, manteniendo el cultivo a un pH alrededor de 11. Periódicamente muestras líquidas fueron analizadas y fue determinada la concentración de SO_4^{2-} con el fin de evaluar la actividad metabólica del cultivo sulfurooxidante.

3.2 Sistemas experimentales

3.2.1 Fotobiorreactor de tubos cerrado

El fotobiorreactor de tubos cerrado (FBRC) consistió en un sistema de cuatro tubos en forma de “U” conectados entre sí formando un bucle (Figura 3.4) de vidrio de borosilicato con un diámetro interno de 2 cm, con una longitud total de 154 cm y un espacio de cabeza de 30 mL, alcanzando una relación superficie/volumen de $200 \text{ m}^2/\text{m}^3$ y un volumen de operación de 0.6 L, iluminado continuamente con lámparas LED. El diseño del FBRC permitió que la luz fuera homogéneamente distribuida en todo el sistema, así como controlar la desorción del oxígeno producto de la actividad fotosintética del CAM

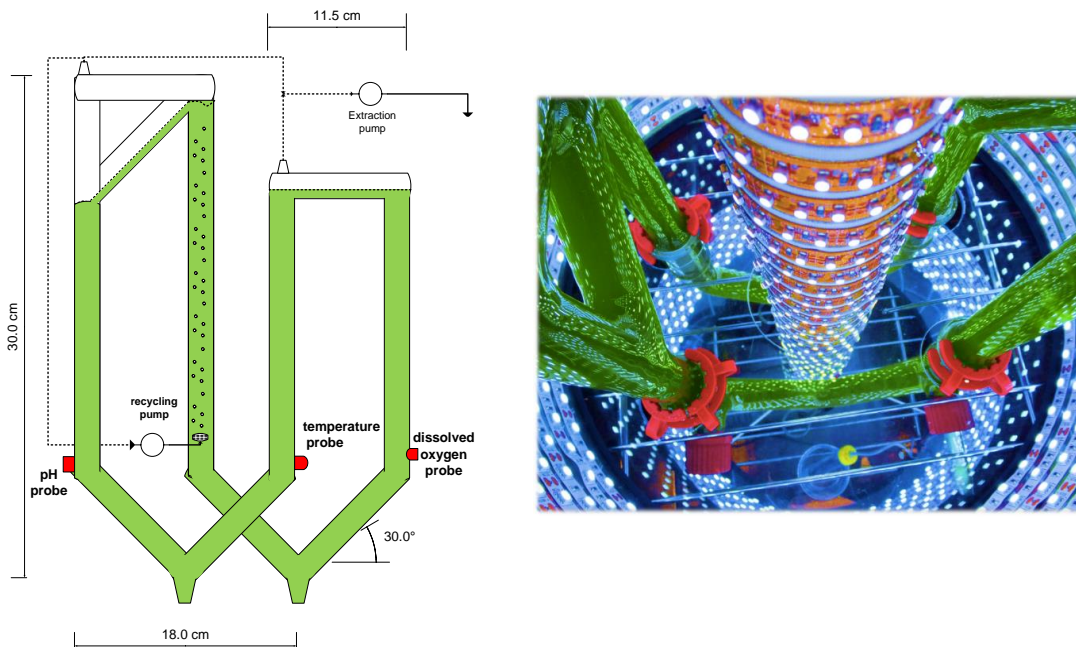


Figura 3.4 Fotobiorreactor de tubos 0.6L

3.2.1.1 Configuración experimental y condiciones de operación. Efecto de las especies del azufre sobre la actividad fotosintética del CAM en un fotobiorreactor de tubos cerrado

Efecto de H₂S sobre la actividad fotosintética del CAM

El cultivo CAM, fue crecido en MSM en el HRAP (Capítulo 3 Sección 3.1.1), del cual fue evaluada su respuesta en producción de oxígeno disuelto (OD) en el fotobiorreactor de tubos cerrado (Figura 3.4) con una concentración de SST de 0.16 g L⁻¹. El sistema fue iluminado con lámparas LED a una intensidad constante de 155 μmol m⁻² s⁻¹. Fueron alimentados pulsos de Na₂S 9H₂O para lograr en el líquido concentraciones de 0.4, 0.8, 1.0 y 1.5 mM a partir de una solución concentrada de 250 g L⁻¹ pues está reportado que la concentración inhibitoria en condiciones de pH básico (pH>9) para los cultivos de bacterias alcalófilas sulfurooxidantes es de 1.19mM (González-Sánchez and Revah, 2007). El fotobiorreactor fue mezclado continuamente a 0.72 L min⁻¹.

Después de la adición de la biomasa suspendida en el FBRC fueron obstruidas las salidas para mantenerlo sin intercambio de gases con el aire circundante, posteriormente fueron encendidas las luces y el sistema se mantuvo en iluminación y mezclado continuo hasta lograr concentraciones arriba de 15 mg L⁻¹ de OD debido al proceso de fotosíntesis. A continuación se abrió el sistema para desorber todo el OD producido hasta lograr el equilibrio con el aire (aproximadamente a 6.5 mg L⁻¹); lo anterior fue realizado por duplicado con el fin de obtener las velocidades de producción de oxígeno control (sin sulfuro). Los pulsos de sulfuro fueron adicionados al final del periodo de desorción, donde después de ser añadido, el sistema se cerró inmediatamente para verificar su efecto sobre la producción de oxígeno. .

Efecto del tiosulfato sobre la actividad fotosintética del CAM

El cultivo CAM, crecido en MSM (Capítulo 3 Sección 3.1.1), fue utilizado para inocular el FBRC (Figura 3.4) con una concentración de SST de 0.16 g L⁻¹. El sistema fue iluminado con lámparas LED a dos intensidades luminosas en PAR de 50 y 110 μmol m⁻² s⁻¹. Al cultivo fueron adicionados pulsos de volumen conocido a partir de una solución concentrada de 500 gL⁻¹ de Na₂S₂O₃.5H₂O para obtener en el líquido concentraciones de 1 y 9 g L⁻¹ de S₂O₃²⁻. El fotobiorreactor fue mezclado continuamente a 0.72 L min⁻¹. La experimentación fue desarrollada en el FBRC siguiendo el mismo procedimiento para el efecto del H₂S sobre la actividad fotosintética del CAM, descrito anteriormente.

3.2.1.2 Configuración experimental y condiciones de operación. Efecto del amoniac sobre la actividad fotosintética del CAM en un fotobiorreactor de tubos cerrado.

El cultivo CAM, proveniente del HRAP (Capítulo 3 Sección 3.1.1), fue utilizado para realizar los experimentos el fotobiorreactor de tubos cerrado (Figura 3.4) con una concentración de SST de 0.56 g L^{-1} . Dicha biomasa fue centrifugada a 2000 rpm durante 10 minutos (Beckman Coulter Avanti J-26S XPI) para eliminar el MSM, ya que este contenía NO_3^- como fuente de nitrógeno; el pellet de biomasa obtenido fue resuspendido en MSM sin fuente de nitrógeno durante 2h para adaptación de la biomasa. La biomasa adaptada fue adicionada al FBRC y el sistema fue mezclado continuamente a 0.72 L min^{-1} . Las salidas fueron obstruidas con el fin de mantener el sistema cerrado sin iluminación LED; a continuación fueron encendidas las luces a una intensidad PAR de $102.90 \pm 3.11 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ dejando alcanzar al sistema concentraciones aproximadamente a 14 mg L^{-1} de OD (fotosíntesis). Posteriormente se apagaron las luces para propiciar el consumo del OD (respiración). Lo anterior fue realizado por duplicado como experimentos control antes de la adición de los pulsos de NH_4^+ .

Fueron adicionados pulsos de una solución concentrada de NH_4Cl de 250 g L^{-1} en el FBRC al final del proceso de respiración cuando la concentración de OD en el líquido se encontraba alrededor de 6.5 mg L^{-1} alcanzaron concentraciones de NH_4^+ en el líquido de: 10, 20, 30, 50, 100, 200, 400, 500 y 600 mg L^{-1} . Los cambios en la concentración de OD y el pH debidos a la presencia e incremento de la concentración de NH_4^+ en el medio de cultivo líquido fueron registrados cada segundo para cada uno de las concentraciones evaluadas. La concentración de NH_3 fue determinada de acuerdo a la Ec. 3.26, la cual consideró el cambio de pH, el volumen de espacio de cabeza libre del fotobiorreactor de tubos (3.62 mL) y la constante de Henry H_{NH_3} 5.61×10^{-4} sin unidades (Metcalf & Eddy, 2003).

$$C_{\text{NH}_3^L} = \frac{C_N^T}{1 + \frac{H_{\text{NH}_3} V_G}{V_L}} \quad \text{Ec. 3.26}$$

Donde:

$C_{\text{NH}_3^L}$: Concentración de NH_3 en el líquido (mg L^{-1})

C_N^T : Concentración de nitrógeno presente en el sistema correspondiente al NH_4^+ como única fuente de nitrógeno (mg L^{-1})

H_{NH_3} : Constante de Henry para el NH_3 a 20°C y 1 atm , sin unidades

V_G : volumen del espacio de cabeza en el fotobiorreactor de tubos (mL)

V_L : volumen total del líquido en el fotobiorreactor de tubos (mL)

3.2.2 Fotobiorreactor High Rate Algae Ponds (HRAP)

Los High Rate Algae Ponds (HRAP) son fotobiorreactores con canales y mezcladores de paletas, que aumentan el tiempo de exposición de las microalgas a la luz, evitan la sedimentación de la biomasa y homogenizan la distribución de nutrientes debido a la baja altura del líquido, además de promover una disminución en la fuerza de cizalla (Fernández et al., 2013)

Se diseñó y construyó un reactor HRAP (Figura 3.5, Tabla 3-5). El diseño inicial fue basado en acoplar la DBO del agua residual con la capacidad de oxigenación del HRAP dada la actividad fotosintética del cultivo CAM de acuerdo a los protocolos reportados por Oswald, (1988). El diseño evaluado en esta tesis consideró la parametrización mostrada en la Tabla 3-5, lo cual aseguró que el cultivo de microalgas no se encontró limitado por nutrientes (fósforo y nitrógeno) ni por luz basado en el mezclado homogéneo y que la altura del HRAP permitió la penetración de la luz adecuada hasta el fondo. En este arreglo, las microalgas y bacterias pueden trabajar simultáneamente cuando el HRAP se conecta con una columna de absorción de gases alimentada con biogás (Figura 3.6)

El HRAP fue operado en lote, en continuo y en continuo conectado a la columna de absorción de gases (Figura 3.7).

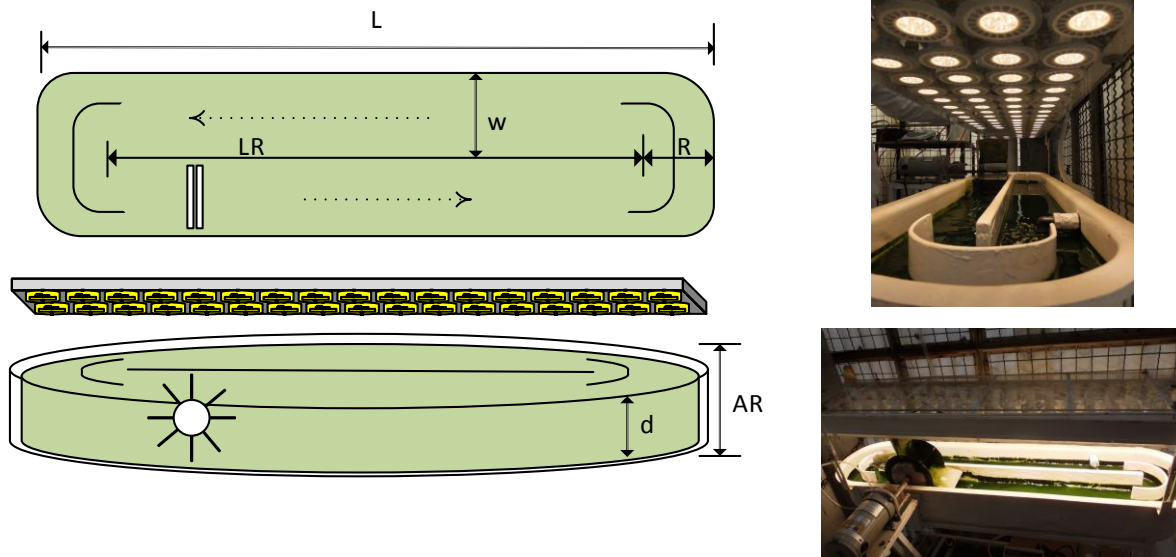


Figura 3. 5 Fotobiorreactor HRAP 28.8L

Las dimensiones y características del HRAP se muestran en la Tabla 3-5.

Tabla 3-5 Características y diseño de operación del fotobiorreactor HRAP, 28.8 L

Largo (L)	1.20 m
Largo (LR)	0.96m
Ancho (W)	0.12 m
Altura del líquido (d)	0.10 m
Altura nominal (AR)	0.24 m
Distancia (R)	0.12 m
AR/(2R+LR)	0.2
Área	0.28 m ²
Volumen total	28.8 L
Volumen de operación	25 L
Intensidad PAR	500 μmol m ⁻² s ⁻¹
Velocidad de agitación	15 cm s ⁻¹

3.2.3 Columna de absorción de gases

La columna de absorción de gases (ABC) fue construida de policloruro de vinilo cristal (Figura 3.6) y sus dimensiones se muestran en la Tabla 3-6. Ésta fue alimentada con una corriente de biogás sintético y libre de metano (biogás (-)) (Praxair, México) con una composición de 30%v de CO₂ y 0.5%v de H₂S balanceado al 100%v con N₂. El diseño de ABC se realizó de acuerdo al siguiente procedimiento:

Considerando la eficiencia fotosintética del 4%, con un calor específico de las microalgas de 21 000J (Nagarkar et al., 2004) y una iluminación de 500 μmol m⁻² s⁻¹, la productividad de biomasa microalgal obtenida fue de

$$\text{Conversión de iluminación PAR a unidades radiométricas} = \frac{500 \frac{\mu\text{mol}}{\text{m}^2\text{s}}}{4.6 \frac{\text{W}}{\text{m}^2} * 0.04} = 4.34 \frac{\text{W}}{\text{m}^2}$$

$$\left(4.34 \frac{\text{W}}{\text{m}^2}\right) \left(\frac{1\text{J}}{\text{W}\cdot\text{s}}\right) \left(\frac{3600\text{s}}{1\text{h}}\right) \left(\frac{24\text{h}}{1\text{d}}\right) \left(\frac{\text{g}}{21000\text{J}}\right) = 17.85 \frac{\text{g}}{\text{m}^2\text{d}}$$

Dado que el contenido de carbono dentro de la biomasa microalgal de acuerdo a Grobbelaar (2004) es de 45%, se calculó que la asimilación de carbono por parte de la biomasa microalgal, que fue de

$$\left(17.85 \frac{g}{m^2 d}\right)(0.45) = \mathbf{8.03 \frac{gC}{m^2 d}}$$

$$\left(8.03 \frac{g}{m^2 d}\right) \left(\frac{1 \text{ mol } CO_2}{12 \text{ gC}}\right) \left(\frac{44 \text{ g } CO_2}{1 \text{ mol } CO_2}\right) = \mathbf{29.44 \frac{gC}{m^2 d}}$$

Por lo que el CO₂ total en el HRAP, absorbido en el ABC fue de:

$$\left(29.44 \frac{gCO_2}{m^2 d}\right) (0.228 \text{ m}^2) \left(\frac{1 \text{ día}}{24 \text{ h}}\right) \left(\frac{1 \text{ h}}{60 \text{ min}}\right) = \mathbf{5.88 \times 10^{-3} \frac{gCO_2 \text{ absorbidos}}{\text{min}}}$$

Tomando en cuenta una eficiencia de absorción de CO₂ del 95% en ABC, se calculó el flujo molar de CO₂ de alimentación:

$$\begin{aligned} \text{Flujo molar de } CO_2 &= \left(5.88 \times 10^{-3} \frac{gCO_2 \text{ absorbidos}}{\text{min}}\right) \left(\frac{1 \text{ mol } CO_2}{44 \text{ g } CO_2}\right) \left(\frac{100\%}{95\%}\right) \\ &= \mathbf{1.406 \times 10^{-4} \frac{\text{mol } CO_2}{\text{min}}} \end{aligned}$$

Por lo tanto, el flujo volumétrico de CO₂ alimentado a una temperatura de 25°C y 0.75 atmósferas de presión fue de:

$$\begin{aligned} \frac{\left(1.406 \times 10^{-4} \frac{\text{mol } CO_2}{\text{min}}\right) \left(\frac{0.082 \text{ L atm}}{\text{mol K}}\right) (298 \text{ K})}{0.75 \text{ atm}} &= 4.580 \times 10^{-3} \frac{\text{L } CO_2}{\text{min}} \left(\frac{1000 \text{ ml}}{1 \text{ L}}\right) \\ &= \mathbf{4.580 \frac{\text{ml } CO_2}{\text{min}}} \end{aligned}$$

Si el contenido de CO₂ en el biogás es del 30%, el flujo volumétrico de biogás:

$$\left(\frac{4.580 \text{ ml } CO_2}{\text{min}}\right) \left(\frac{100 \% v \text{ Biogás}}{30 \% v \text{ } CO_2}\right) = \mathbf{15.266 \frac{\text{ml Biogás}}{\text{min}}}$$

Con el flujo de biogás y un tiempo de retención de lecho vacío promedio de 23 min, se calculó el volumen del ABC,

Volumen de columna= (Flujo de biogás) (TRLV)

$$\left(15.266 \frac{\text{ml Biogás}}{\text{min}}\right) \left(\frac{1 \text{ L}}{1000 \text{ mL}}\right) (23 \text{ min}) = \mathbf{0.35 \text{ L}}$$

Por lo tanto el volumen de ABC fue de **0.35 L**, con una L/D de 16.

El biogás sintético fue alimentado por el fondo de ABC, con un tiempo de retención promedio de gas de 23 min. El biogás fue alimentado por la parte inferior de la columna en co-corriente con el líquido de recirculación proveniente del HRAP.

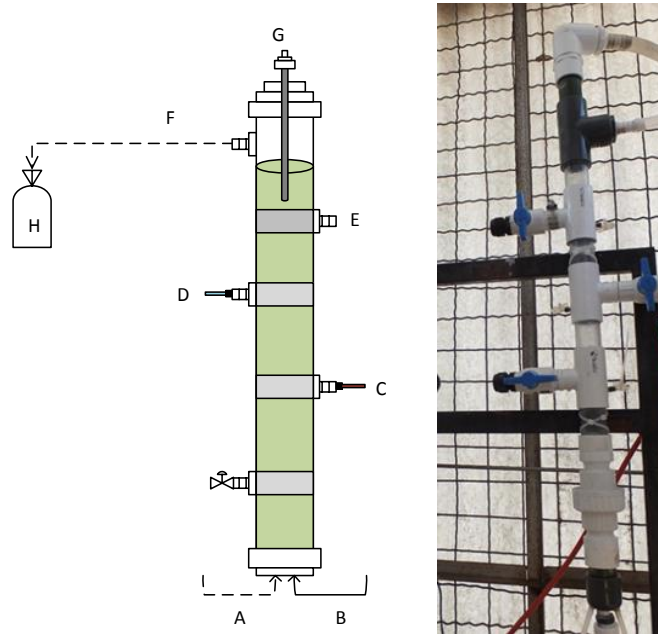


Figura 3.6 Columna de absorción de gases, 0.35 L

Tabla 3-6 Dimensiones y componentes de la columna de absorción de gases

Largo	0.80 m
Diámetro interno	0.019 m
Volumen de la columna	0.35 L
A	Alimentación biogás sintético
B	Recirculación líquido proveniente del HRAP
C	Electrodo ORP
D	Electrodo pH
E	Salida del líquido
F	Salida biogás limpio
G	Electrodo OD
H	Bolsa Tedlar

3.2.4 Sistema integral para el tratamiento de los efluentes de la digestión anaerobia. Medios sintéticos

El sistema ABC (Figura 3.6) se conectó directamente con el HRAP (Figura 3.5), para constituir el sistema HRAP-ABC (Figura 3.7).

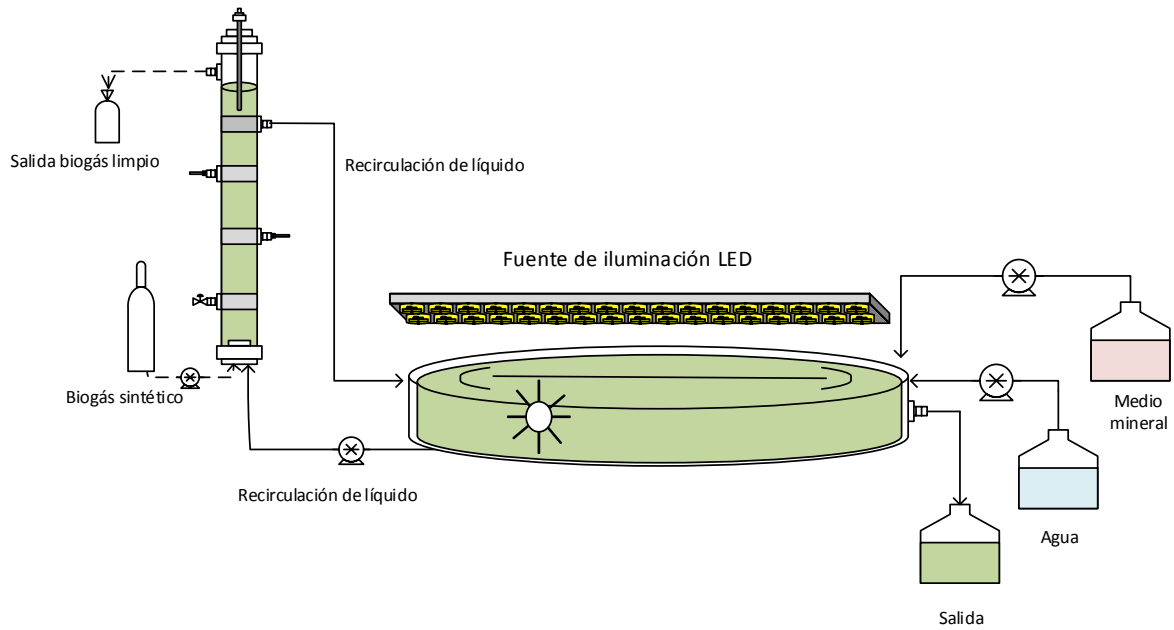


Figura 3.7 Esquema global del proceso de eliminación de efluentes provenientes de digestión anaerobia HRAP-ABC Medios sintéticos

3.2.4.1 Configuración experimental y condiciones de operación. Desempeño del sistema HRAP-ABC en el enriquecimiento de biogás libre de metano operado a pH básico en condiciones alcalinas

El sistema experimental mostrado en la Figura 3.7 fue inicialmente llenado con 21 L de MSM inoculado con el cultivo CAM. El sistema fue operado en lote alimentado, bajo condiciones de iluminación controlada continua dentro de una cabina por 39 d. Posteriormente 4L del cultivo CAM fueron reemplazados en el día 20, con el consorcio BAS con una concentración de 0.2g SST L⁻¹ crecidas en MSM las cuales contenían 10 g L⁻¹ de tiosulfato de sodio (Na₂S₂O₃) como fuente de energía. La mezcla resultante fue cultivada en lote por 19 d (etapa I) (Tabla 3-7). A partir del día 40 al 166 (etapa II) el HRAP fue continuamente alimentado a un tiempo de retención hidráulico (TRH) de 9.5 d con MSM como medio de cultivo, el cual simuló la composición típica de digestato, diluido 1.8 veces, suplementado con 0.35 g Na₂S₂O₃ L⁻¹ y como fuente de nitrógeno NO₃⁻. A partir del día 167 al 269 (etapa III) (Tabla 3-7) el sistema fue mezclado con biogás sintético libre de metano (biogás (-)) compuesto por CO₂ (30% v), H₂S (0.5% v) y balanceado con N₂ alimentado a un flujo de 22 L d⁻¹ por la parte inferior del ABC. El ABC fue operado en co-corriente con el líquido proveniente del HRAP y el biogás sintético a una relación Líquido de recirculación/Gas (L/G) de 5. Del día 270 al 399 (etapa IV) (Tabla 3-7), el régimen de iluminación fue cambiado a ciclos de luz/oscuridad de 12/12 h controlados. La última etapa (etapa V) (Tabla 3-7) fue operada por 117 días bajo condiciones similares a las impuestas en la etapa II. Los cambios de pH, OD y temperatura fueron medidos cada 3 minutos durante el periodo de experimentación en el sistema HRAP-ABC.

Muestras líquidas y gaseosas fueron analizadas con el fin de verificar los cambios ocurridos en el sistema HRAP-ABC 2 veces por semana al final del ciclo de oscuro. Para las muestras líquidas se determinó la concentración de SST, carbono inorgánico (CI), nitrógeno total (NT), amonio (N-NH₄⁺), nitrito (N-NO₂⁻), nitrato (N-NO₃⁻), sulfato (S-SO₄²⁻) y fosfato (P-PO₄³⁻). Para las muestras gaseosas el contenido de CH₄%v, CO₂ %v, H₂S%v y O₂%v fueron determinados a la entrada y a la salida del sistema ABC. La pérdida de agua por evaporación fue compensada con agua destilada antes de la toma de las muestras líquidas.

Tabla 3-7 Condiciones de operación experimentales evaluados en el sistema HRAP-ABC (Figura 3.7)

Etapa	Periodo (d)	Condición MSM	Modo de operación	Iluminación	Suministro de biogás sintético	
I	0-39	(a)	Lote alimentado	24 h	No	
II	40-166	(b)	Continuo TRH = 9.5 d	24 h	No	
III	167-269	(b)	Continuo TRH = 9.5 d	24 h	Si	TRG= 23 min
IV	270-399	(b)	Continuo TRH = 9.5 d	12 h/12 h luz/oscuridad	Si	
V	400-517	(b)	Continuo HRT = 9.5 d	24 h	No	

(a) Cultivo en MSM

(b) Cultivo en 1.8 veces diluido de MSM el cual contenía $0.35 \text{ g Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \text{ L}^{-1}$
TRG-Tiempo de residencia del gas; TRH-Tiempo de residencia hidráulico

3.2.4.2 Configuración experimental y condiciones de operación. Efecto de las condiciones ambientales en el desempeño de un fotobiorreactor HRAP operado a la intemperie para el enriquecimiento de biogás y remoción de nutrientes

El sistema experimental utilizado en la sección 3.2.4.1, fue operado a la intemperie expuesto a condiciones ambientales reales de ciclos de luz/oscuridad y fluctuaciones de temperatura en un periodo de 74 días (enero-abril 2017). El sistema fue alimentado con medio MSM utilizado en la sección 3.2.4.1 sin dilución y como fuente de nitrógeno NH_4^+ a un TRH de 20.83 d. La columna ABC fue alimentada biogás sintético con metano (biogás (MX)) con una composición de CH_4 69.5% v, CO_2 30% v y H_2S 0.5% v a un flujo de 22 L d^{-1} . La relación Líquido de recirculación/Flujo de gas (L/G) evaluada fue de 5.

Datos de concentración de OD, pH, temperatura e intensidad luminosa en unidades PAR fueron medidos y registrados para el sistema HRAP-ABC durante el tiempo de experimentación cada 3 minutos.

Muestras líquidas y gaseosas fueron analizadas llevando a cabo la misma metodología descrita en la sección 3.2.4.1 además de cuantificarse la concentración de NH_4^+ .

3.2.5 Sistema integral para el tratamiento de los efluentes de la digestión anaerobia. Medios reales

El fotobiorreactor HRAP mostrado en la Figura 3.8 fue iluminado con lámparas LED y agitado vía mecánica con un impulsor de 6 paletas conectado a un sedimentador en el cual, el líquido clarificado fue alimentado a una columna de burbujeo (ABC) (1.70 m de altura y 0.044 m de diámetro interno). El sistema ABC fue alimentado con biogás sintético (biogás (ES)) (Abello, Linde, España) compuesto por CO_2 29.5% v, H_2S 0.5% v, CH_4 70% v, Metil mercaptano (MeSH) 21.1 mg m^{-3} , tolueno 12.22 mg m^{-3} y hexano 47.4 mg m^{-3} . Las dimensiones y características del sistema se muestran en la Tabla 3-8.

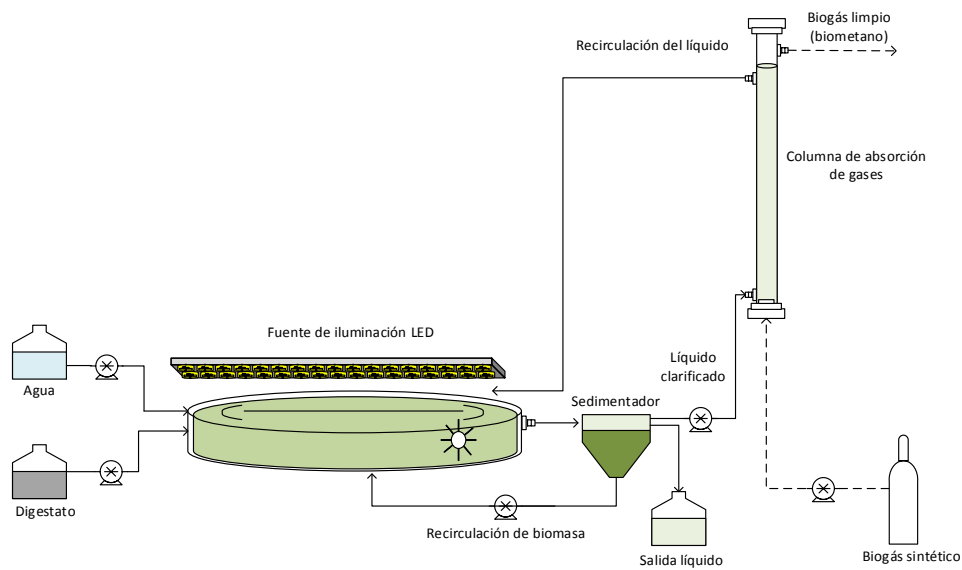


Figura 3.8 Esquema global del proceso de eliminación de residuos provenientes de la digestión anaerobia. Medios reales

Tabla 3-8 Dimensiones y componentes del sistema integral de los efluentes de la digestión anaerobia con medios reales

Largo (L)	2.02 m
Ancho (W)	0.63 m
Altura (D)	0.15 m
Volumen HRAP	180 L
Volumen columna de absorción de gases	2.2 L
Velocidad de agitación	20 cm s ⁻¹
Volumen del sedimentador	10 L
Área iluminada	1.2 m ²
Iluminación	1838 μmol m ⁻² s ⁻¹

3.2.5.1 Configuración experimental y condiciones de operación. Efecto del modo de suministro de nutrientes en el digestato sobre la calidad del biogás y la dinámica de la población de microalgas

El sistema HRAP mostrado en la Figura 3.8 se ubicó en la Universidad de Valladolid (España) y fue utilizado para el tratamiento de un digestato real (francción sobrenadante del digestato generado del proceso de digestión anaerobia de lodos de la planta de tratamiento de Valladolid) y biogás sintético (Abello Linde; España). El HRAP fue continuamente agitado a 20 cm s⁻¹ e iluminado a 1838 ± 451 μmol m⁻² s⁻¹ por lámparas LED (Phillips SA, España) con ciclos de 12:12 h de luz/oscuridad el cual fue conectado a un sedimentador de 10L, la biomasa sedimentada fue recirculada hacia el HRAP 5 veces al día durante los 171 días de experimentación; el líquido clarificado por otro lado, fue alimentado por la parte inferior de ABC. El líquido clarificado y el biogás con la composición mostrada en la sección 3.2.5 entraron en cocorriente a través de una difusor de acero inoxidable (2μm de poro) a un flujo de 60.48 L d⁻¹ alcanzando una relación recirculación de líquido y biogás (L/G) de 0.5.

El biogás sintético fue alimentado al sistema ABC durante los ciclos oscuros a un flujo de 123 L d⁻¹ durante toda la experimentación. Durante la etapa **IV**, el biogás fue alimentado con CH₄ (70% v), CO₂ (29.5% v) y H₂S (0.5% v), para las etapas **IV** y **IIIV** fueron añadidos gases traza (mg m⁻³) metil mercaptano (MeSH) 21.2, tolueno 12.22 y hexano 47.4. Con la finalidad de evaluar el efecto que presentaron estos gases traza sobre la calidad del biometano obtenido, así como su efecto sobre las poblaciones microalgales y la actividad fotosintética durante su posible eliminación.

En las etapas IV y IIV, el HRAP fue alimentado en los ciclos de luz con digestato, el cual fue preparado a partir de una base de digestato real al cual fueron adicionados NH_4 y CI, el cual presentó la siguiente composición (mg L^{-1}): NT 1348 ± 126 , N- NH_4^+ 1159 ± 466 , DQO 934 ± 272 , PT 36 ± 6 y carbono inorgánico 1430 ± 85 a un flujo de 1 L d^{-1} el cual mantuvo la productividad de $15 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$. La productividad de la biomasa fue fijada a $15 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ vía sedimentación de la biomasa bacteriana-microalgal como estrategia para reducir los efluentes líquidos generados al ambiente; además de mejorar la remoción de los nutrientes de acuerdo a lo reportando por Toledo-Cervantes et al., (2016). Por lo anterior, una fracción del líquido del medio de cultivo fue removida del sedimentador por el método de coagulación-floculación con una solución floculante hecha a base de poliácridamidas Chemifloc CV-300 (de Godos et al., 2011) de acuerdo a Toledo-Cervantes et al., (2017). Para la etapa IIV, el digestato fue alimentado únicamente durante los ciclos oscuros a fin de promover la acumulación de bioproductos dentro de la biomasa microalgal. Previa alimentación del digestato durante los ciclos oscuros fue alimentado al sistema digestato sin fuente de nitrógeno durante 17 días con el objetivo de impulsar el consumo del nitrógeno remanente en el sistema. Para ésta etapa la productividad se mantuvo en $8.3 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, lo cual indujo una disminución en el flujo másico de nitrógeno para mantener la productividad de biomasa a 0.6 L d^{-1} de digestato. Sin embargo, el flujo másico de CI alimentado en solución se mantuvo constante (pH básico) a fin de mantener altas las eficiencias de remoción de CO_2 y H_2S .

3.3 Sistema integral de los efluentes de la digestión anaerobia. Medios sintéticos

3.3.1 Determinaciones instrumentales y analíticas

La concentración del oxígeno disuelto (OD) fue medida con una sonda de OD polarográfica (Applikon, Holanda) y un medidor multiparamétrico (HI9828-0, Hanna Instruments, USA). El potencial óxido-reducción (ORP) cuantificado en unidades de voltaje, fue medido con un electrodo de platino (Van London, Houston USA) conectado a un medidor de Thermo Scientific Orion, USA. El pH fue determinado con una sonda Van London Phoenix Co., USA. La intensidad lumínica en unidades PAR al HRAP fue medida con un medidor de luz LI-250 (LI-COR Bioscience, USA), así como la temperatura.

El OD, temperatura y pH fueron registrados en línea cada 5 segundos con una tarjeta de adquisición de datos (DAC) Labjack U3-LV ® durante el desarrollo de la experimentación en el fotobiorreactor de tubos cerrado y en el sistema integral del tratamiento de los efluentes de la digestión anaerobia con medios sintéticos cada 3 minutos.

Muestras líquidas fueron acondicionadas por filtros de fibra de vidrio Waltham® de 0.45µm de tamaño previa la determinación de CI (carbono inorgánico), NT (nitrógeno total) y COT (carbono orgánico total) con un medidor de TOC-LCSH acoplado a un módulo de quimioluminiscencia TNM-L (Shimadzu, Japón).

La concentración de P-PO₄³⁻, N-NO₃⁻, N-NO₂⁻ y S-SO₄²⁻ fue determinada con un cromatógrafo de iones Dionex ICS 2000 (USA) equipado con una columna Ion Pac AS23 (250×4mm) con fases móviles de CO₃²⁻ y HCO₃⁻ en concentraciones de 4.5 y 0.8mM, respectivamente a un flujo de 1 mL min⁻¹ y 30mM de NaOH a un flujo de 1.5 mL min⁻¹.

La composición elemental de la biomasa (contenido de C, N y S) se realizó en un analizador elemental Flash 2000 CHNS-O (Thermo Scientific, USA).

La concentración de CH₄, CO₂, H₂S y O₂ a la entrada y a la salida del sistema ABC fue determinada con un analizador de gases con sensor infrarrojo continuo no dispersivo (Ultramat 23, Siemens, Alemania).

La concentración de NO₃⁻ y NO₂⁻ fueron cuantificadas colorimétricamente con ayuda del KIT Nitriver® y Nitriver® (HACH). La determinación de la concentración de sulfato (S-SO₄²⁻) así como la de sólidos suspendidos totales (SST) se realizó de acuerdo al Standard Methods (APHA 2012). La concentración de tiosulfato (S-S₂O₃²⁻) fue determinada a través de una valoración por titulación de acuerdo a Rodier (1988). La determinación de N-NH₄⁺ se llevó a cabo por destilación y titulación de acuerdo a (APHA 2012).

3.4 Sistema integral de los efluentes de la digestión anaerobia. Medios reales

3.4.1 Determinaciones instrumentales y analíticas

La determinación del pH fue realizada con una sonda Eutech Cyberscan pH 510 (Eutech instruments, Holanda). La concentración del OD fue determinada con un oxímetro, OXI 330i (WTW, Alemania). La iluminación en unidades PAR fue medida con un medidor de luz LI-250A (Lincoln, Nebraska, USA).

El contenido de CH₄, CO₂, H₂S, O₂ y N₂ fueron analizados a la entrada y salida del sistema ABC con cromatógrafo de gases Varian CP-3800 con detector de conductividad térmica (CG-TCD) equipado con una columna CP-Molsieve 5A (15m x 0.53mm x 15µm) and CP-Pora BOND Q (25m x 0.53 mm x 15 µm).

La concentración MeSH, hexano y tolueno fue cuantificada a la entrada y a la salida del sistema ABC haciendo pasar la corriente de gas a través de bulbos de vidrio de 500 mL (Altech USA). La muestra fue preconcentrada por 1 min por microextracción en fase sólida (SPME, por sus siglas en inglés) utilizando una fibrilla de 75 μm PDMS-Carboxen (Supelco, USA); las muestras fueron inyectadas a un cromatógrafo de gases con detector de ionización de flama (CG-FID) (Agilent 4890, USA), con He como gas acarreador a 5.2 mL min^{-1} equipado con una columna HP-1 (30 m x 0.53 mm x 5 μm), con temperatura del inyector, detector y horno de 300, 300 y 70°C , respectivamente.

Las muestras líquidas fueron filtradas con $0.45\mu\text{m}$ de tamaño de poro para la determinación de la concentración de CI y NT con el equipo TOC-VCSH acoplado a un módulo de quimioluminiscencia TNM-1 (Shimadzu, Japón).

La concentración de N-NH_4^+ fue medida con electrodo Orion Dual Star (Thermo Scientific, Holanda). La identificación morfológica fue realizada vía observaciones microscópicas después de fijar las muestras con 5% de solución ácida de lugol (OLYMPUS IX70, USA).

El contenido de carbono y nitrógeno en la biomasa seca fue determinado con un analizador CHNS (LECO, CHNS-932); las concentraciones de fósforo y azufre fueron determinadas por espectroscopia de emisión de plasma de acoplamiento inductivo, después de una digestión ácida con horno de microondas (ICP-OES, Varian 725-ES) de acuerdo a (Toledo-Cervantes et al., 2017).

La concentración de N-NO_2^- , N-NO_3^- , S-SO_4^{2-} y P-PO_4^{3-} fueron cuantificadas vía HPLC-IC de acuerdo a lo reportado por Serejo et al., (2015).

La concentración de SST fue determinada de acuerdo al Standard Methods (APHA 2012). El contenido de proteína dentro la biomasa fue determinado con el reactivo Folin-Fenol (Espectrofotómetro, U-2000, Hitachi, Japón) de acuerdo a Randall and Lewis, (1951). El contenido de carbohidratos fue determinado vía colorimétrica (Espectrofotómetro, U-2000, Hitachi, Japón) de acuerdo a lo reportado por Dubois et al., (1956). Los lípidos totales fueron extraídos con éter etílico con un extractor automático de solventes (VELP, SER 148, series-solvent extract)

El fósforo total (PT) fue determinado vía colorimétrica con el método amonio molibdato (Espectrofotómetro, U-2000, Hitachi, Japón).

RESULTADOS

Capítulo 4. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD FOTOSINTÉTICA DEL CONSORCIO ALCALÓFILO MICROALGAL (CAM) A DIFERENTES CONDICIONES AMBIENTALES Y DE OPERACIÓN

El objetivo de este capítulo fue la evaluación de la respuesta del CAM expresada en la producción de oxígeno y consumo de OD durante la exposición del consorcio a las condiciones ambientales y de operación que predominan en un sistema HRAP-ABC durante el tratamiento integral de los efluentes de la digestión anaerobia con medios sintéticos (líquido y gaseoso).

4.1 Efecto de las especies del azufre sobre la actividad fotosintética del CAM en un fotobiorreactor de tubos cerrado.

4.1.1 Efecto del H₂S sobre la actividad fotosintética

4.1.1.1 Desempeño del fotobiorreactor de tubos en presencia del H₂S

La Figura 4.9 muestra el efecto del H₂S añadido como sulfuro disuelto sobre la actividad fotosintética del CAM. A medida que la concentración de sulfuro incrementó, la producción de oxígeno disminuyó (Figura 4.9 a).

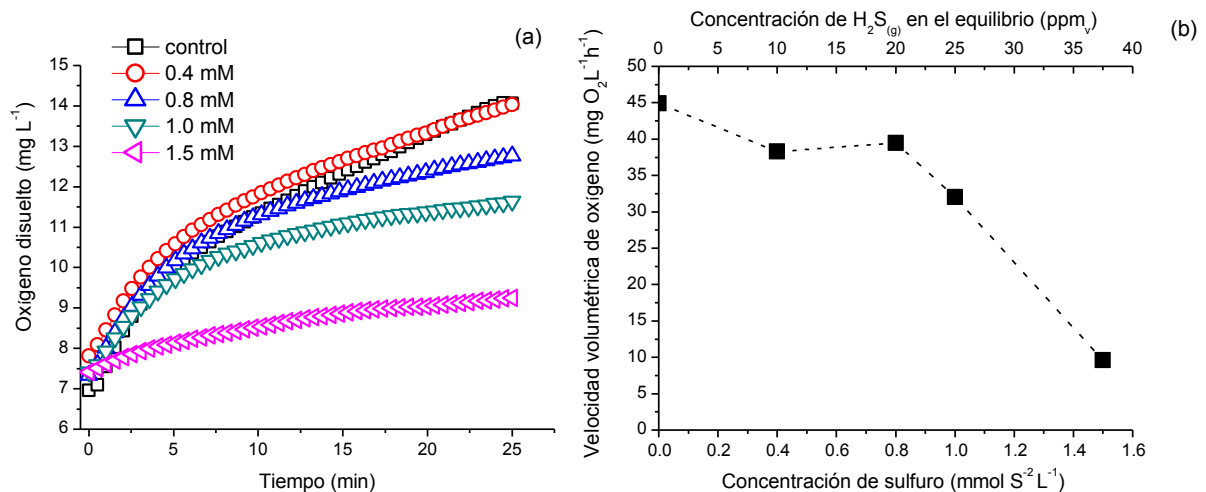


Figura 4.9 Efecto de 0.4, 0.8, 1.0, 1.5 mM de sulfuro sobre la actividad fotosintética expresada en la concentración de oxígeno disuelto (a). Velocidad volumétrica de producción de oxígeno para el CAM, arriba se muestra la concentración del H₂S(g) en el equilibrio (b)

A 1.5 mM de sulfuro (Figura 4.9a), redujo la actividad fotosintética del CAM provocando la disminución en la de producción de oxígeno $281 \text{ mgO}_2 \text{ gSST}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (experimento control) a $60 \text{ mg O}_2 \text{ gSST}^{-1} \text{ h}^{-1}$. Está reportado que el oxígeno disuelto produce inhibición en fotobiorreactores cerrados, ya que puede acumularse reduciendo la velocidad de fotosíntesis y favoreciendo la fotorrespiración en los cultivos debido a la actividad oxigenasa de la enzima Rubisco (Camacho Rubio et al., 1999; Posten, 2009). Una inhibición sustancial en la actividad fotosintética está reportada que se alcanza a concentraciones por encima de 20 mg L^{-1} en fotobiorreactores cerrados (Costache et al., 2013)

A medida que el sulfuro difunde dentro de la célula microalgal, la actividad en la fijación de CO_2 disminuye hasta un punto tal que la detiene completamente (Cohen et al., 1986), sin embargo, está reportado que algunas cepas de microalgas son capaces de utilizar el sulfuro disuelto como fuente de energía, la cual puede depender del grado de exposición y el ambiente nativo (ausencia o presencia de oxígeno) (Cohen et al., 1986). La presencia de sulfuro disuelto en concentraciones no inhibitorias puede promover el incremento en la velocidad de crecimiento de las microalgas. El sulfuro al estar en contacto con altas concentraciones de OD puede ser oxidado por mecanismos químicos hasta sulfato el cual, esta reportado que puede ser asimilado rápidamente por las microalgas (González-Sánchez and Posten, 2017).

4.1.2 Efecto del tiosulfato sobre la actividad fotosintética del CAM

En esta sección se abordó el efecto del tiosulfato ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$) sobre la actividad fotosintética del CAM expresada en velocidad de producción de oxígeno. Durante la oxidación química del sulfuro diferentes productos e intermediarios pueden presentarse como lo son azufre elemental (S^0), tiosulfato ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$), sulfito (SO_3^{2-}) y el sulfato (SO_4^{2-}) (Cline and Richards, 1969). La presencia de estos intermediarios varía en función de la concentración del oxígeno (Cline and Richards, 1969). En condiciones aerobias y alcalinas (condiciones evaluadas en esta tesis) el $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ predomina en tiempos medios alrededor de 2d (González-Sánchez and Revah, 2007) por lo que su efecto sobre la actividad fotosintética fue evaluado.

4.1.2.1 Desempeño del fotobiorreactor en presencia del tiosulfato

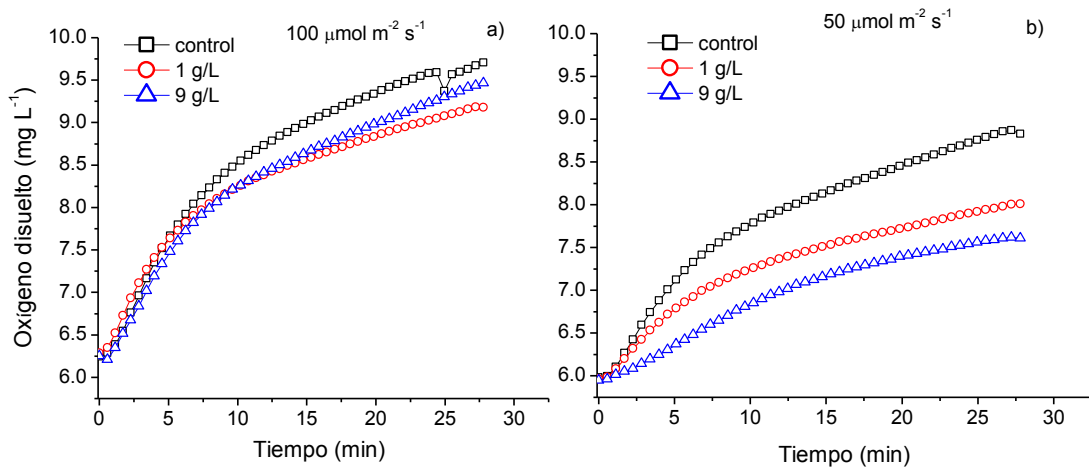


Figura 4.10 Efecto de 1 y 9 gL⁻¹ de S₂O₃²⁻ sobre la actividad fotosintética del CAM a 100 (a) y 50 (b) μmol m⁻²s⁻¹

A 50 μmol m⁻²s⁻¹ de intensidad (Figura 4.10 b) el efecto de la adición de 1gL⁻¹ de S₂O₃²⁻ fue observado inmediatamente disminuyendo la velocidad volumétrica de 14.04 mgO₂ L⁻¹h⁻¹ (control sin S₂O₃²⁻) a 9.78 mg O₂ L⁻¹ h⁻¹, de igual forma para la adición de 9 gL⁻¹ disminuyendo hasta 5.45 mgO₂ L⁻¹h⁻¹.

En los experimentos realizados para la iluminación 100 μmol m⁻²s⁻¹ (Figura 4.10 a) el efecto de la adición de 1 y 9 g L⁻¹ de S₂O₃²⁻ no fue observado inmediatamente. Después de transcurridos 5 minutos de la exposición del CAM al medio se observó un retraso con la adición del S₂O₃²⁻. La velocidad volumétrica de producción de oxígeno observada disminuyó del control con 17.64 mgO₂ L⁻¹h⁻¹ (sin adición de S₂O₃²⁻) a 15.30 y 15.79 mg O₂ L⁻¹ h⁻¹ para la adición de 1 y 9 gL⁻¹ de S₂O₃²⁻, respectivamente (Tabla 4-9). Durante la experimentación a 50 μmol m⁻²s⁻¹ se observó que existió un doble efecto dado por la baja intensidad luminosa y el S₂O₃²⁻. No así, para el caso de la intensidad a 100 μmol m⁻²s⁻¹. Por lo que se asumió que el efecto inhibitorio observado fue debido a la baja intensidad luminosa y no por la presencia del S₂O₃²⁻.

Tabla 4-9 Velocidad volumétrica de oxígeno en el cultivo CAM a 50 y 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de intensidad luminosa, con 1 y 9 g L^{-1} de $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$

Intensidad luminosa ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	Control (sin $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$)	1 $\text{g L}^{-1} \text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ ($\text{mg O}_2 \text{L}^{-1} \text{h}^{-1}$)	9 $\text{g L}^{-1} \text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ ($\text{mg O}_2 \text{L}^{-1} \text{h}^{-1}$)
50	14.04	9.78	5.45
100	17.64	15.30	15.79

4.2 Efecto del amoniaco sobre la actividad fotosintética del CAM en un fotobiorreactor de tubos cerrado a diferentes intensidades luminosas

En esta sección se abordó el efecto tóxico que presentó la relación amonio/amoniaco sobre la actividad fotosintética. Es importante resaltar que durante el tratamiento integral de los efluentes de la digestión anaerobia el uso de altos valores de pH ($\text{pH} > 9$) resultó benéfico (abordada la explicación más adelante) para la obtención de adecuadas eficiencias de remoción de CO_2 y H_2S , así como el lograr cultivos altamente adaptados y evitar contaminación de los mismos (Capítulo 5).

4.2.1 Desempeño del fotobiorreactor de tubos cerrado en presencia de amoniaco

Durante la exposición del CAM a las condiciones descritas en el Capítulo 3, Sección 3.2.1.2 en el rango de concentraciones de 30 a 600 mg L^{-1} de NH_4^+ la velocidad de producción de OD disminuyó a medida que dentro del FBRC incrementó la concentración de NH_3 (favorecida su presencia por el $\text{pH} > 9$) (Figura 4.11). Está reportado que el NH_3 presenta efectos de inhibición a concentraciones entre 0.85 y 34 mg L^{-1} (Azov and Goldman, 1982). Debido a la falta de carga del NH_3 éste difunde a través de la membrana afectando directamente a los tilacoides en las microalgas desacoplando los gradientes de protones (Belkin and Boussiba, 1991; Oyala et al., 2015; Perez Navarro et al., 2013) de igual forma, la presencia del NH_3 afecta directamente el desempeño del fotosistema II (PSII) (responsable de la captación de luz y transporte de electrones en el proceso de la fotosíntesis) (Markou and Muylaert, 2016).

La proteína D1, presente dentro del PSII, está involucrada en la estabilización del complejo que genera el oxígeno dentro de las cianobacterias durante la fotosíntesis, ésta proteína se ve afectada durante la exposición del cultivo al NH_3 , inactivando la función del PSII (Drath et al., 2008).

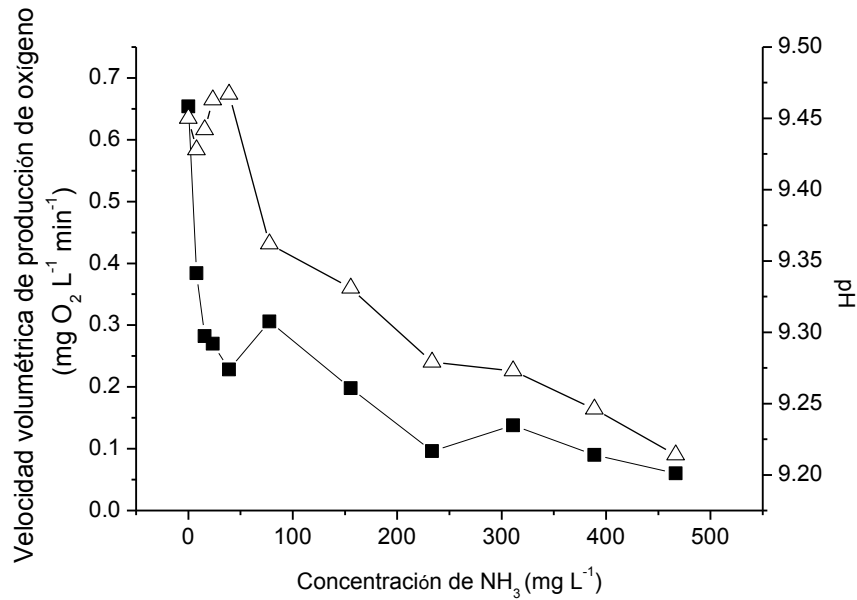


Figura 4.11 Velocidad volumétrica de producción de oxígeno (■) y pH (Δ) en función del incremento en la concentración de NH₃ en el líquido

4.2.2 Modelo cinético de inhibición por amoníaco en el CAM

Con el fin de describir el efecto inhibitorio que presentó el NH₃ sobre la actividad fotosintética del CAM se utilizaron relaciones matemáticas establecidas que ayudaron a la comprensión del proceso. Como modelo cinético fue utilizada la ecuación de Levenspiel (Ec.4.25) la cual considera la inhibición por sustrato y producto; en este caso la concentración de amonio/amoniaco (NH₄⁺/NH₃), respectivamente.

$$r_{O_2} = \mu_{m\acute{a}x} \left(1 - \frac{[I]}{[I^*]}\right)^n \left(\frac{[S]}{K_s + [S]}\right) [X] Y_{O_2/x} \quad \text{Ec. (4.25)}$$

Donde:

r_{O_2} : velocidad de producción de oxígeno (mg L⁻¹ min⁻¹)

$\mu_{m\acute{a}x}$: velocidad específica de crecimiento (min⁻¹)

[I]: concentración de NH₃ (mg L⁻¹)

[I*]: concentración crítica de NH₃ (mg L⁻¹)

n: orden de inhibición por NH₃

[S]: concentración de NH₄⁺ (mg L⁻¹)

K_s: constante de afinidad (mg L⁻¹)

[X]: concentración de biomasa (mg L^{-1})

$Y_{\text{O}_2/\text{X}}$: rendimiento oxígeno biomasa ($\text{mg O}_2 \text{ mg}^{-1} \text{ SST}$)

Se realizaron simulaciones matemáticas con ayuda del Software Madonna Berkeley® versión 8.318.

La Tabla 4-10 muestra los mejores valores de ajuste para los parámetros incluidos en el modelo matemático. El modelo cinético fue calibrado con los datos experimentales obtenidos.

Tabla 4-10 Mejores valores de ajuste de parámetros incluidos en el modelo matemático cinético

$\mu_{\text{máx}}$	5.202×10^{-4}	min^{-1}
Ks	0.01	mg L^{-1}
n	2	NA
[I*]	300	mg L^{-1}

NA: No aplica

El modelo matemático fue validado con los datos experimentales obtenidos (Figura 4.12)

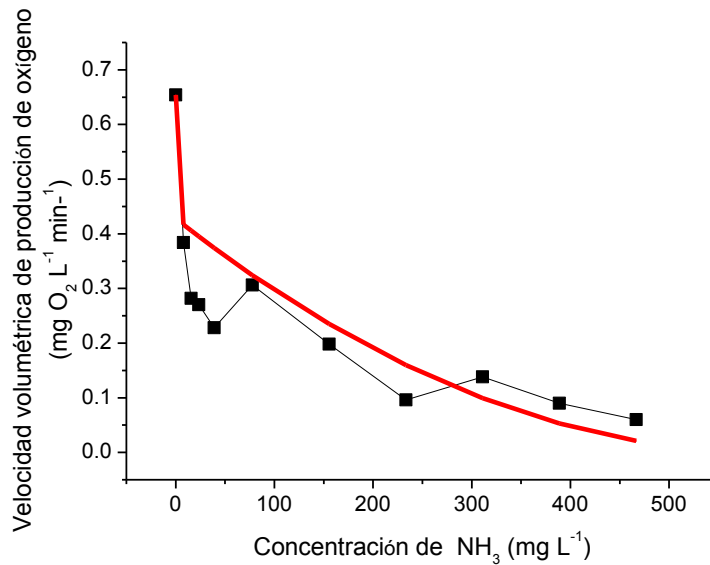


Figura 4.12 Velocidad volumétrica de producción de oxígeno experimental (■) y simulación matemática (línea roja) del efecto del NH_3 sobre la actividad fotosintética del CAM a pH básico

Como se puede observar en la Tabla 4-10 la concentración crítica del inhibidor (I^*) fue 300 mg L^{-1} de NH_3 en donde se suprimió la actividad metabólica del consorcio CAM debido al daño provocado hacia el fotosistema II.

Como se ha demostrado el NH_3 presentó un efecto inhibitor a las concentraciones evaluadas, sin embargo, la presencia de concentraciones menores a las críticas de NH_3 , puede ser benéfico para prevenir la presencia de rotíferos que pueden afectar el cultivo. Esta reportado que el rotífero perteneciente al género *Brachionus* a concentraciones de 2.4 mg L^{-1} de NH_3 reduce su reproducción y causa su completa mortalidad a concentraciones por arriba de 5 mg L^{-1} (de Araujo et al., 2000; Schlüter and Groeneweg, 1985). De igual forma, esta reportado que algunas especies de microalgas son más resientes en comparación con los rotíferos. En este sentido, *Scenedesmus obliquus* y *Chlorella pyrenoidosa* son capaces de tolerar arriba de 34 y 24 mg L^{-1} de NH_3 , respectivamente (Abeliovich and Azov, 1976; Tan et al., 2016). Así mismo, *Nannochloropsis oculata* y *Chlorella sorokiniana* no presentan inhibición a concentraciones alrededor de 16 mg L^{-1} de N-NH_3 (Gutierrez et al., 2016). Equivalentemente el incremento en la intensidad luminosa es capaz de amplificar la toxicidad del NH_3 sobre el fotosistema II en concentraciones alrededor de 100 mg L^{-1} de N-NH_3 y de 0 a $150 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (Markou and Muylaert, 2016).

Capítulo 5. TRATAMIENTO INTEGRAL DE LOS EFLUENTES DE LA DIGESTIÓN ANAEROBIA EN UN FOTOBIORREACTOR ABIERTO: MEDIOS SINTÉTICOS ALCALINOS-BÁSICOS

5.1 Desempeño del sistema HRAP-ABC en el enriquecimiento de biogás sintético operado a pH básico en condiciones alcalinas

El objetivo de este capítulo fue evaluar el desempeño del sistema HRAP-ABC en el enriquecimiento y desulfuración de biogás sintético libre de metano (biogás (-)) aunado a la remoción de nutrientes bajo diferentes regímenes de iluminación (en condiciones controladas de luz), evaluando el destino del carbono, nitrógeno, fósforo y azufre; además de la productividad de biomasa mediante balances de masa en el estado estacionario, a través del cálculo de parámetros cinéticos. Así mismo se evaluó el efecto de condiciones reales de luz/oscuridad y cambios de temperatura en el sistema HRAP-ABC expuesto a la intemperie sobre la el enriquecimiento y desulfuración de biogás sintético con metano (biogás (MX), sección 5.2).

5.1.1 Desempeño del sistema HRAP-ABC en el enriquecimiento y desulfuración de biogás sintético

A cargas de H_2S y CO_2 de entrada al sistema ABC de $0.32 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ y $26 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$, respectivamente las eficiencias de remoción de CO_2 y H_2S durante la etapa III (condiciones de operación mostradas en la

Tabla 3-7) fueron de $89 \pm 4 \%$ y $99.5 \pm 0.5\%$, respectivamente y, para la etapa IV, de $94 \pm 1\%$ y $99.5 \pm 0.5\%$, respectivamente. Los valores de pH obtenidos durante las dos etapas explican el desempeño similar en cuanto a la eliminación de CO_2 y H_2S alcanzada a pesar del régimen de iluminación. No obstante, al haberse alimentado continuamente el biogás durante la etapa III, el pH del sistema se mantuvo alrededor de 9.5 debido a la alta capacidad buffer (alcalinidad) que presentó el medio mineral y la capacidad fotosintética del cultivo CAM durante la iluminación continua. Sin embargo, durante la etapa IV fueron observadas fluctuaciones en el pH entre 9.3 y 9.7 (Figura 5.13) dados los ciclos oscuros y la absorción de biogás sintético libre de metano (biogás (-)), así como la regeneración de la alcalinidad durante los ciclos de luz. En este sentido, el incremento del pH necesario para mejorar la transferencia del H_2S y del CO_2 mediado por el crecimiento de las microalgas durante los ciclos de luz resultó ser una gran ventaja para el funcionamiento y aplicación de estos sistemas en condiciones ambientales reales de operación. Las eficiencias de remoción (E.R) estuvieron de igual forma favorecidas por la relación líquido de recirculación/gas ($L/G = 5$) evaluada, la cual evitó un deterioro en la transferencia de masa de CO_2 y H_2S inducida por la disminución del pH en el medio de cultivo en el sistema ABC. Está reportado que altas relaciones L/G promueven la desorción de O_2 del medio de recirculación, lo que resulta en una contaminación de la corriente del biogás enriquecido y desulfurado producido (CH_4 obtenido al final de la columna ABC después del proceso de eliminación de CO_2 y H_2S). No obstante, las E.R se ven mejoradas debido al aumento en los coeficientes globales de transferencia de masa para el CO_2 y O_2 ($k_{La\text{O}_2}$ y $k_{La\text{CO}_2}$) como resultado de un incremento en la turbulencia dentro de la columna ABC (Serejo et al., 2015).

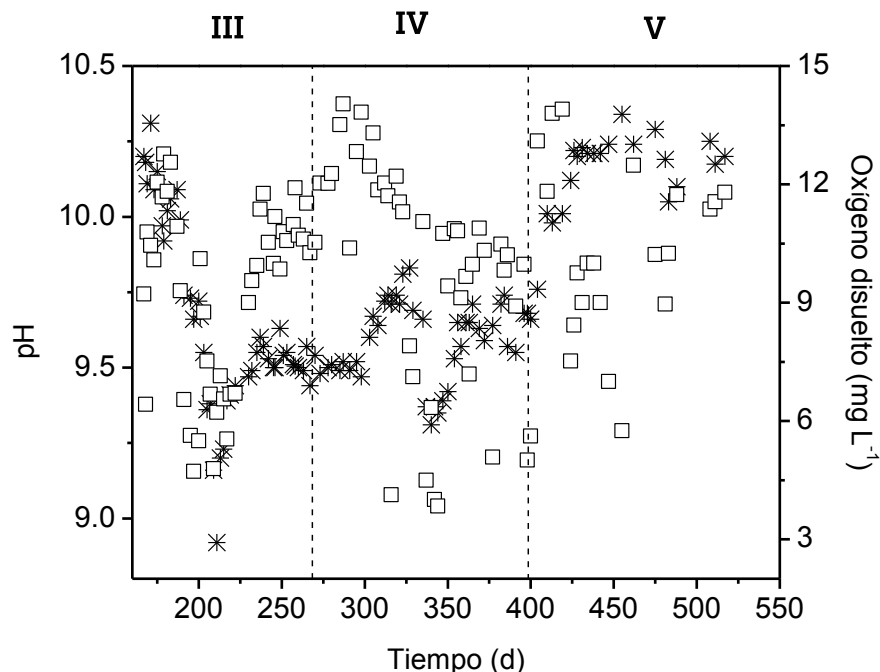


Figura 5.13 pH (*) y oxígeno disuelto (•) en la experimentación durante las etapas III, IV y V

La concentración de oxígeno obtenida en el biogás desulfurado y enriquecido producido en las condiciones mencionadas se encontró en promedio de 2.6% v durante el desarrollo de las etapas III y IV. De acuerdo a la NOM-001-SECRE 2010 que establece las especificaciones del gas natural, la concentración de oxígeno en éste debe ser menor que 0.20% v. Para disminuir el contenido de O₂ y N₂ en el biogás desulfurado y enriquecido, diferentes estrategias de operación han sido exploradas. En este sentido Posadas et al., (2015) reportó que en la alimentación de digestato de vinaza diluida y vinaza cruda en el HRAP así como en el líquido externo de recirculación hacia la columna de absorción de gases fueron observados contenidos de O₂ y N₂ en un rango de 0.7-1.2% y 5.9-7.2% respectivamente a una L/G de 10.7 ± 0.4. Por otro lado Toledo-Cervantes et al., (2016) encontró que en la alimentación de aguas domésticas concentradas con adición de nutrientes a un HRAP operado con una relación L/G de 1, el contenido de O₂ y N₂ en el biogás desulfurado y enriquecido fue de 0.03 y 0.2% v, respectivamente.

En este sistema de estudio (HRAP-ABC), el H₂S fue removido completamente en las etapas III y IV, lo que resultó en la acumulación de SO₄²⁻ en el caldo de cultivo. Las altas concentraciones de OD durante toda experimentación (incluso en los ciclos oscuros > 2 mg O₂L⁻¹) (Figura 5.14) promovieron la completa oxidación del H₂S a SO₄²⁻ (González-Sánchez and Revah, 2007) (Tabla 5-11). Las

concentraciones de $S-SO_4^{-2}$ alcanzadas durante el estado estacionario en las etapas III y IV fueron $0.32 \pm 0.02 \text{ g L}^{-1}$ y $0.34 \pm 0.05 \text{ g L}^{-1}$ respectivamente.

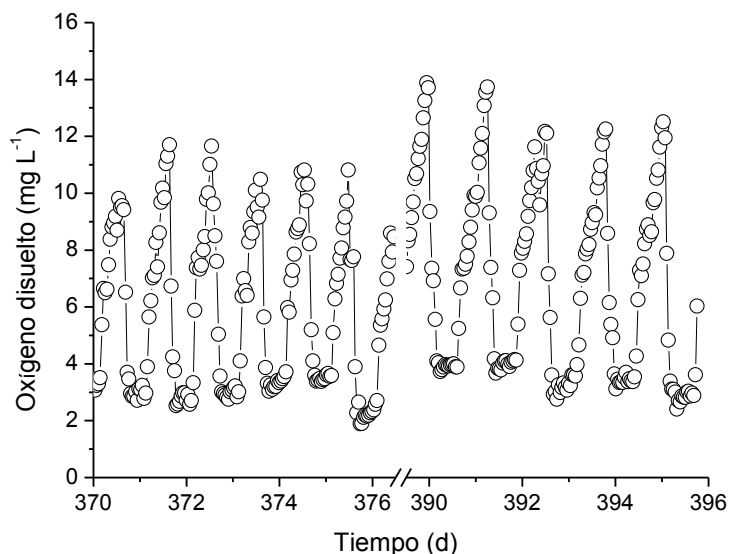


Figura 5.14 Oxígeno disuelto registrado en el estado estacionario durante la etapa IV (ciclos de luz/oscuridad)

5.1.2 Destino del carbono, nitrógeno, fósforo y azufre en el proceso alcalino-básico

Durante la etapa I, la concentración de la biomasa se incrementó de $0.12 \text{ g TSS L}^{-1}$ a $0.77 \text{ g TSS L}^{-1}$ para el día 39 relacionado con la disminución en la concentración de carbono inorgánico (CI) de 1.25 g C L^{-1} a 0.21 g C L^{-1} (Figura 5.15). La operación del sistema en condiciones de iluminación continua a un TRH de 9.5 d provocó un mantenimiento de la concentración de biomasa en $0.72 \pm 0.04 \text{ g SST L}^{-1}$ durante el desarrollo de la etapa II. La continua alimentación del medio MSM provocó que la concentración de CI permaneciera constante en $1.13 \pm 0.09 \text{ g C L}^{-1}$ del día 120 hasta el 166. Durante la etapa III en condiciones de iluminación continua y pH de 10.03 ± 0.16 , con alimentación de biogás sintético, provocó un aumento en la concentración de la biomasa arriba de $1.23 \pm 0.05 \text{ g SST L}^{-1}$, lo que sugirió que el crecimiento de la biomasa microalgal estuvo limitado por CO_2 durante la etapa II debido al alto valor de pH que permaneció en el caldo de cultivo ($pH = 10.03 \pm 0.16$).

Durante los ciclos de luz/oscuridad (etapa IV), el suministro de energía se redujo un 50% en la operación de 12/12h luz/oscuridad, lo que provocó una disminución de la concentración de biomasa de 1.23 ± 0.05 g SST L⁻¹ en el estado estacionario a concentraciones de 0.23 ± 0.05 g SST L⁻¹ para el final de la etapa IV. La disminución en la concentración de la biomasa implicó una reducción en la productividad de biomasa volumétrica de 0.129 a 0.023 g SST L⁻¹ d⁻¹, sin embargo, la concentración del CI permaneció constante 1.02 ± 0.06 g C L⁻¹ (Figura 5.15) probablemente debido a la desorción del CO₂ que será explicado posteriormente (sección 5.2.3). En la etapa V en iluminación continua, se observó un aumento en la concentración de biomasa en el estado estacionario de 0.94 ± 0.09 g SST L⁻¹ con una productividad de 0.098 g SST L⁻¹ d⁻¹ (Tabla 5-11). La ausencia de suministro de biogás sintético durante la etapa V resultó en un incremento en el pH arriba de 10.23 ± 0.05 (Figura 5.13) y en el esperado descenso en la concentración de CI en estado estacionario con valores de 0.86 ± 0.12 gC L⁻¹ vía asimilación por la biomasa (Figura 5.15).

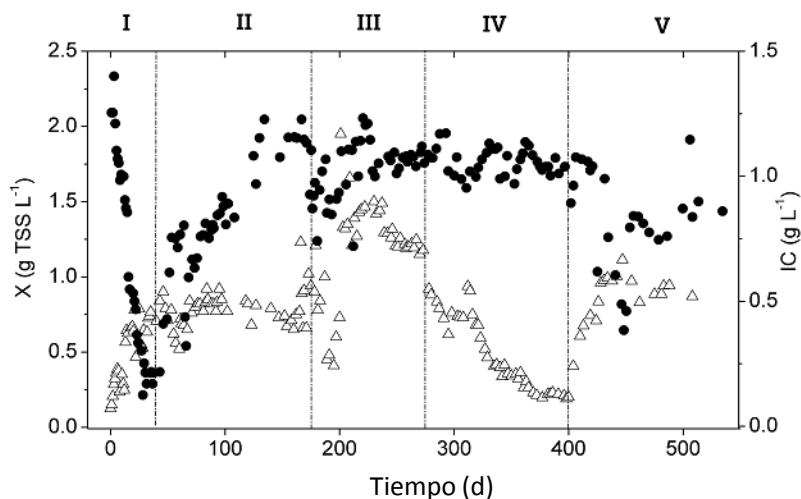


Figura 5.15 Desempeño de la concentración de biomasa (Δ) y la concentración de carbono inorgánico (\bullet) durante la operación del sistema HRAP-ABC en las cinco etapas experimentales descritas en la Tabla 3-3

El promedio de las E.R de nitrógeno y fósforo durante las etapas III, IV y V se muestran en la Tabla 5-11. Durante las etapas III y V fueron observadas similares E.R, sin embargo en la etapa IV, debido a la disminución en la productividad, se observó una reducción en la E.R del fósforo. La potencial producción de N₂O fue descartada debido a que las concentraciones, incluso en los ciclos de oscuridad, permanecieron alrededor 2 mg O₂ L⁻¹ durante la etapa IV, previniendo la desnitrificación de NO₃⁻ (presencia de NO₂⁻) (Alcántara et al., 2015; Wang et al., 2008).

Tabla 5-11 Resumen de los parámetros ambientales y operacionales en el sistema HRAP-ABC durante el estado estacionario en las etapas III, IV y V

Parámetro	Etapa III	Etapa IV	Etapa V
Px (g L ⁻¹ d ⁻¹)	0.129 ± 0.005	0.023 ± 0.001	0.100 ± 0.012
X (g TSS L ⁻¹)	1.23 ± 0	0.23 ± 0.05	0.94 ± 0.05
OD (mg L ⁻¹)	10.8 ± 0.6	Luz/Oscuridad 11.4 ± 0.5 / 2.8 ± 0.1	10.8 ± 1.3
pH	9.53 ± 0.05	Luz/Oscuridad 9.71 ± 0.00 / 9.39 ± 0.00	10.23 ± 0.05
T (°C)	19.2 ± 2.6	22.8 ± 4.0	23.9 ± 1.7
N-NO ₃ ⁻ (Remoción %)	52 ± 9	ND	55 ± 21
P-PO ₄ ³⁻ (Remoción %)	24 ± 8	12 ± 7	29 ± 11
C-biomasa (%w)	44.7	44.5	50.0
N-biomasa (%w)	8.7	7.7	8.0
S-biomasa (%w)	0.8	0.6	0.1
P-biomasa (%w)*	1.0	1.0	1.0

* (Grobbelaar, 2004), ND: no determinado

5.1.3 Balances de masa de carbono, nitrógeno y fósforo

Se realizaron balances de masa de los principales componentes elementales del sistema experimental en el estado estacionario para las etapas III, IV y V.

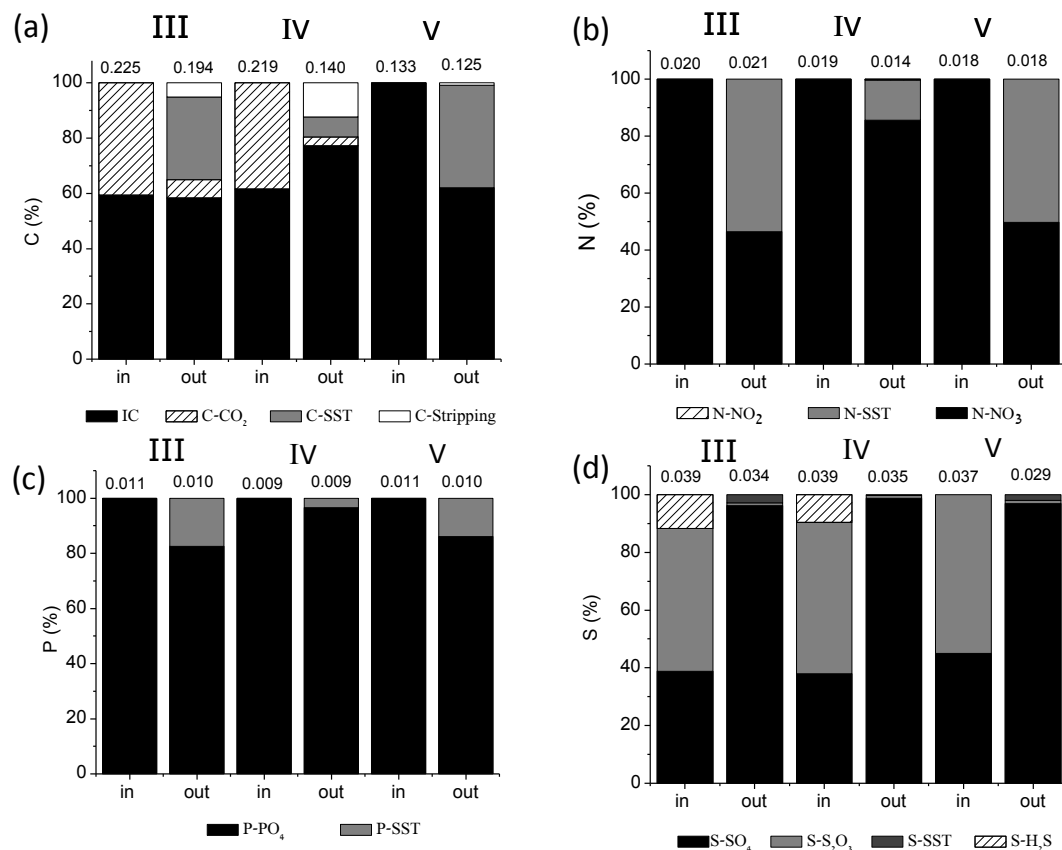


Figura 5.16 Balances de masa para las etapas III, IV y V en el estado estacionario en el sistema experimental HRAP-columna de absorción de gases para el carbono (a), nitrógeno (b), fósforo (c) y azufre (d). Los números por encima de las barras representan las cargas másicas de entrada y salida para cada especie ($\text{g L}^{-1} \text{d}^{-1}$)

Del carbono total suministrado al sistema HRAP-ABC el 40% aproximadamente representó el carbono proveniente del biogás sintético y el resto fue alimentado a través del MSM en la etapa III y IV (Figura 5.16a). En la etapa III el 30% del carbono de salida fue asimilado por la biomasa y el 58% permaneció de forma disuelta en condiciones de iluminación continua; mientras que este porcentaje de asimilación disminuyó al 7% en los ciclos de luz/oscuridad (etapa IV) como resultado de la limitada productividad de biomasa microalgal. Por otro lado el carbono presente como biomasa en el efluente líquido representó el 30% del carbono de salida durante la operación en condiciones de iluminación continua, mientras que este porcentaje disminuyó al 7% en los ciclos de luz/oscuridad (etapa IV) como resultado de la baja productividad de biomasa microalgal. Este limitado crecimiento de biomasa microalgal durante la etapa IV resultó en el aumento de la tasa de desorción de CO_2 de 5 a 12% (valores referidos al total del carbono a la salida). Durante la etapa V en la condición de iluminación continua y con la ausencia de la alimentación del biogás sintético incrementó la concentración de la

biomasa lo que representó el 37% para la etapa V. El nitrógeno asimilado en la biomasa fue del 54, 14 y 50% del nitrógeno total de salida en las etapas III, IV y V respectivamente (Figura 5.16b). Así mismo, con respecto al fósforo fijado por la biomasa representó el 17, 3 y 14% del fósforo de salida en las etapas III, IV y V respectivamente. Finalmente, el H₂S en el biogás sintético representó el 12 y 10% de la entrada del azufre para las etapas III y IV respectivamente, esta proporción fue significativamente menor a la del azufre presente como tiosulfato en la alimentación. Ambas formas reducidas del azufre fueron completamente oxidadas a sulfato, el cual representa el 99.5% del azufre de salida en las etapas III, IV y IV.

5.1.4 Efecto de los ciclos de ciclos de 12/12h de luz/oscuridad en la productividad de la biomasa (etapa IV)

En el periodo iluminado durante la etapa IV, la actividad fotosintética fue la responsable de la producción neta de oxígeno en el HRAP. Sin embargo, en el periodo de oscuridad, las microalgas y bacterias sulfurooxidantes consumieron el oxígeno disponible dando como resultado CO₂ en el sistema (Bahr et al., 2014; Masojídek J, and Koblížek M, 2004). Por lo anterior, el equilibrio dinámico entre el crecimiento de microalgas y el consumo de biomasa endógena implicó una concentración de biomasa en estado estacionario de 0.2 g TSS L⁻¹ lo que fue significativamente más bajo que lo esperado derivado de la reducción del 50% en el suministro de luz. En ausencia de suministro de luz, las microalgas consumen las reservas intracelulares como fuente de carbono y energía (i.e. carbohidratos) (Grobbelaar and Soeder, 1985) para el mantenimiento celular; fenómeno que contribuye a la disminución de la concentración de biomasa en esta etapa IV. A partir de la Ec. 5.26 fueron calculadas las tasas de producción y consumo de oxígeno (rO₂). En Figura 5.17 se puede apreciar que la actividad de la respiración endógena fue similar a la actividad fotosintética responsable del crecimiento de las microalgas.

$$\frac{dOD}{dt} = \frac{F}{V_T}(OD_{in}-OD) + \frac{V_C}{V_T} k_L a_C \left(\frac{O_{2g}}{H_{O_2}} - OD \right) + \frac{V_H}{V_T} k_L a_H \left(\frac{O_{2aire}}{H_{O_2}} - OD \right) + \frac{V_H}{V_T} r_{O_2} - R_{O_2-S} \quad \text{Ec. (5.26)}$$

Donde:

V_C: es el volumen de la fase acuosa en el ABC (0.3L)

V_T: volumen de la fase líquida considerando HRAP+ABC (25.3 L)

r_{O₂}: velocidad volumétrica consumo/producción de oxígeno microalgal (mol L⁻¹d⁻¹)

H_{O₂}: constante de Henry (32, adimensional a 20°C)

k_{LaC} : coeficiente volumétrico global gas líquido de transferencia de masa en ABC (141 d^{-1})

k_{LaH} : coeficiente volumétrico global gas líquido de transferencia de masa en HRAP (20 d^{-1})

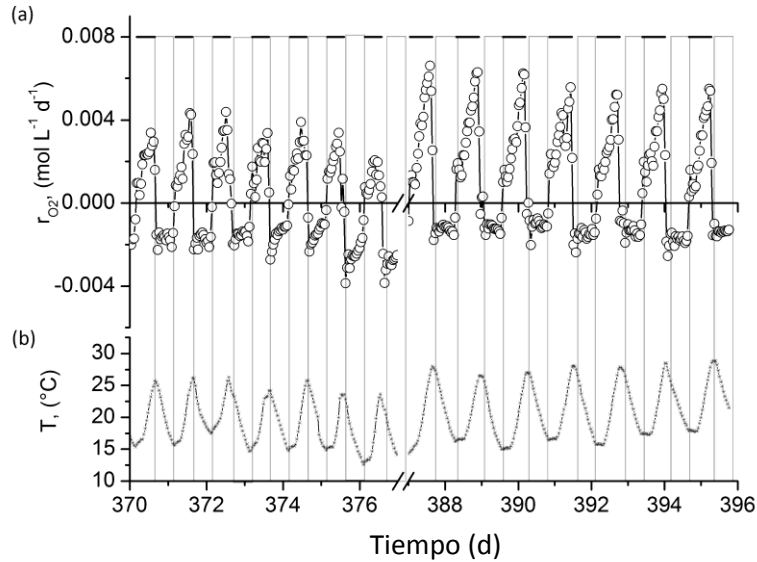


Figura 5.17 Velocidades de producción y de consumo de oxígeno para los ciclos de luz/oscuridad (a) bajo diferentes fluctuaciones de temperatura (b) en la etapa IV. Las barras translucidas representan los ciclos oscuros

Durante la etapa IV en estado estacionario, fueron observadas fluctuaciones en la temperatura debido a la exposición al aire libre del sistema (Figura 5.17). Estas variaciones de temperatura en el caldo de cultivo influenciaron la velocidad de producción de oxígeno y la velocidad de respiración endógena (Figura 5.17). Del día 370 al 377, la temperatura fluctuó de 13 a 24°C , mientras que los días 387 al 396 el rango de fluctuación fue de 16 a 28°C . Estas diferencias de hasta 4°C en la temperatura indujeron un 60% de incremento en la velocidad específica de crecimiento en exposición a la luz (μ_{luz}), en la velocidad específica de respiración en los periodos oscuros ($\mu_{\text{oscuridad}}$) y en la productividad de la biomasa (Tabla 5-12).

Las productividades estimadas fueron altamente afectadas por las temperaturas más bajas lo que se correlacionó con la disminución de las velocidades de crecimiento fotosintético. Lo anterior puede ser explicado a través del rendimiento de respiración endógeno $y_{O_2/X}^r$, el cual fue tres veces superior que el rendimiento de producción de oxígeno durante la fotosíntesis, $y_{O_2/X}^p$, mostrando una correlación inversa con la temperatura. El $y_{O_2/X}^r$ aquí estimado se encontró dentro los valores típicamente reportados para cultivos de microalgas ($0.0034\text{-}0.124 \text{ mol O}_2 \text{ g SST}^{-1}$) en un rango de temperaturas

entre 16 y 28 °C (Le Borgne and Pruvost, 2013; Ruiz-Martinez et al., 2016). La metodología aquí mostrada para el cálculo de la productividad de la biomasa microalgal desarrollada con base en la medición continua del OD, fue validada mediante el cálculo independiente de base empírica de la productividad de biomasa, estimada a partir de las mediciones experimentales de la tasa de dilución y la concentración de biomasa en suspensión ($D \cdot X$) (Tabla 5-12).

Tabla 5-12 Influencia de la temperatura del líquido en el HRAP sobre los parámetros cinéticos y la productividad durante ciclos de luz/oscuridad, basados en la suposición de que un 15% de w/w de biomasa se pierde debido a la respiración durante el transcurso de 12 h de oscuridad (Grobbelaar and Soeder, 1985)

Rango temperatura (°C)	Parámetros Cinéticos					Productividad de biomasa (P_x)		
	$r_{O_2^p}$	$r_{O_2^r}$	$y_{O_2/X}^r$	$y_{O_2/X}^p$	μ_{luz}	$\mu_{oscuridad}$	$\frac{r_{O_2^p}}{y_{O_2/X}^p} - \frac{r_{O_2^r}}{y_{O_2/X}^r}$	$D \cdot X$
	(mol L ⁻¹ d ⁻¹)		(mol g ⁻¹)	(mol g ⁻¹)	d ⁻¹		g L ⁻¹ d ⁻¹	
13 to 24	0.0010	0.0009	0.2441	0.0635	0.0786	-0.0184	0.0120	0.0208
16 to 28	0.0016	0.0006	0.1017	0.0635	0.1258	-0.0295	0.0193	0.0208

5.2 Desempeño del sistema HRAP-ABC en el enriquecimiento de biogás sintético con metano operado a pH básico en condiciones alcalinas expuesto a la intemperie

5.2.1 Desempeño del HRAP en la remoción de nutrientes

La concentración de SST para los días y las noches en el estado estacionario fue de 1.06 ± 0.42 g L⁻¹ y 0.66 ± 0.22 g L⁻¹, respectivamente (Tabla 5-13, Figura 5.18). Esta disminución representó el 57% de pérdida de biomasa, mayor comparada con el 15% supuesto por Grobbelaar and Soeder, (1985) y utilizado para un sistema operado en condiciones de luz controlada (Franco-Morgado et al., 2017).

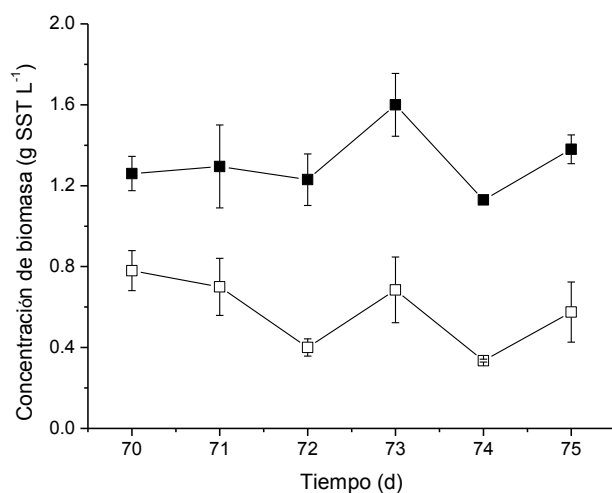


Figura 5.18 Concentración de biomasa en el estado estacionario al final del ciclo de luz (■) y al final del ciclo oscuro (□)

Tabla 5-13 Promedio de los parámetros determinados en estado estacionario para el sistema HRAP-ABC

Parámetro	Día	Noche
SST (g L ⁻¹)	1.06 ± 0.42	0.66 ± 0.22
Px (g m ⁻² d ⁻¹)	4.95	3.08
pH HRAP	9.74 ± 0.32	9.50 ± 0.27
OD (mg L ⁻¹) HRAP	20.2 ± 5.8	1.7 ± 1.0
T (°C) HRAP	30.1 ± 5.4	12.1 ± 5.0
ER CO ₂ (%)	85 ± 9	90 ± 4
ER H ₂ S (%)	100% ± 0	100% ± 0
Contenido de O ₂ biometano (%v)	6 ± 1	3 ± 1
Contenido de CH ₄ biometano (%v)	71 ± 4	81 ± 5

Durante la experimentación, el pH se mantuvo en los días en el estado estacionario con un valor de 9.74 ± 0.32 , disminuyendo a 9.50 ± 0.27 por las noches. Por otro lado, el pH registrado en el sistema ABC para los días y las noches fueron de 9.4 ± 0.1 y 9.5 ± 0.2 , respectivamente. La disminución de pH observada en el sistema ABC fue debida a la absorción continua de biogás sintético (biogás MX). La concentración de OD promedio registrada durante los días en el estado estacionario para el HRAP fue mayor que en las noches debido a la actividad fotosintética (Tabla 5-13). La concentración de OD $> 2.5 \text{ mg L}^{-1}$ durante el día y la noche medidas en el HRAP en estado estacionario promovieron la

oxidación del NH_4^+ a N-NO_3^- (Wang et al., 2008) determinado como NT dentro del HRAP (Figura 5.19)(Kim et al., 2006). La nitrificación parcial (presencia de NO_2^-) no fue observada, incluso en las noches. Esta reportado que esta ruta metabólica se lleva a cabo a concentraciones de $\text{OD} < 0.3 \text{ mg L}^{-1}$ (Wang et al., 2008). Dado lo anterior la presencia de N_2O fue descartada, pues el intermediario necesario para su producción es la presencia del NO_2^- (Alcántara et al., 2015; Fagerstone et al., 2011).

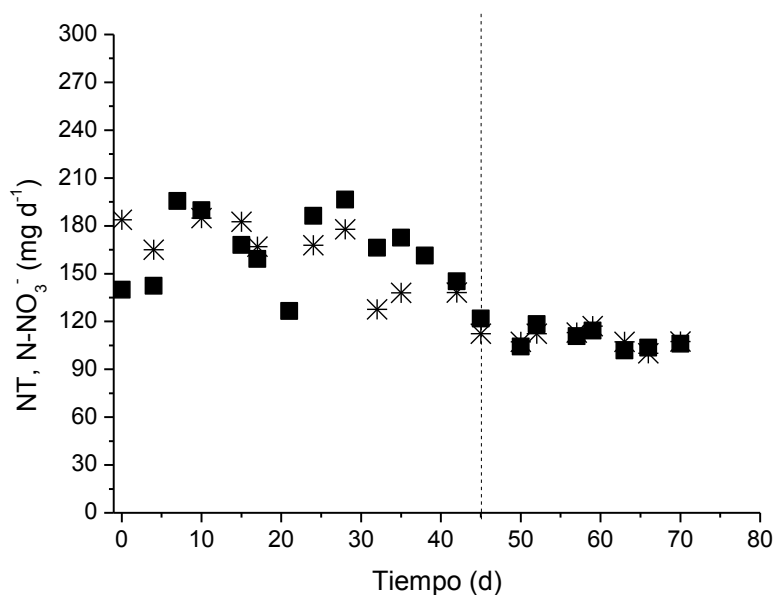


Figura 5.19 Registro de N-NO_3^- (■) y NT (*) durante la experimentación. Línea punteada representa el inicio del estado estacionario

La ER de N-NH_4^+ durante el estado estacionario fue de 100%, lo cual se esperaba dado el pH básico de operación ($\text{pH} > 9$). De acuerdo con el balance de masa para el nitrógeno, del total alimentado al sistema, el $63 \pm 5\%$ fue removido vía desorción del líquido en forma de NH_3 , el $21 \pm 3\%$ permaneció en el líquido como NO_3^- y finalmente el $17 \pm 2\%$ fue asimilado por la biomasa.

La ER de CI del sistema HRAP-ABC fue de $38 \pm 9\%$. De acuerdo al balance de masa para el carbono en el estado estacionario, el $12 \pm 1\%$ de carbono fue asimilado por la biomasa, el $62 \pm 9\%$ no fue consumido y finalmente el $26 \pm 10\%$ fue eliminado vía desorción del medio de cultivo como CO_2 dados los cambios de pH debidos a los días y las noches, aunado al cambio en las temperaturas registradas. Finalmente, la ER para el P-PO_4^{3-} durante el estado estacionario fue de $29 \pm 6\%$ similar a lo alcanzado para un sistema iluminado y controlado artificialmente con ER entre 29 y 24% reportado

por Franco-Morgado et al., (2017) y menor a lo reportado por Posadas et al., (2017) (84 y 92%) para un sistema operado a la intemperie. La tasa de evaporación fue cuantificada a 2.5 L d⁻¹.

5.2.2 Efecto de los ciclos de luz/oscuridad sobre la calidad del biometano

Durante los meses de experimentación la eficiencia de remoción (ER) para el CO₂ durante los días fueron mayores que durante las noches (Figura 5.20) obteniendo valores en promedio en el estado estacionario de 88 ± 7% y 90 ± 3%, respectivamente. El contenido de O₂ en el biogás enriquecido fue mayor para los días comparado con el obtenido durante las noches con valores en el estado estacionario de 8 ± 3%v y 4 ± 2%v, respectivamente (Figura 5.20). Lo anterior fue debido al consumo de O₂ por las microalgas en el proceso de respiración. El contenido de CH₄ en el biometano para los días y para las noches fueron de 71 ± 7%v y 82 ± 6%v, respectivamente en el estado estacionario. Con respecto al H₂S en ambos casos de iluminación, fue alcanzada una ER de 100 ± 0%. De acuerdo a la NOM-001-SECRE-2010 que establece la calidad del gas natural, tanto el contenido de CH₄ así como la de O₂ no cumplen con la concentración necesaria, respectivamente, para ser inyectado o sustituido como gas natural. Sin embargo, con la calidad lograda puede ser utilizado para su aplicación por ejemplo en celdas de combustible (Bailón Allegue and Hinge, 2012; Muñoz et al., 2015).

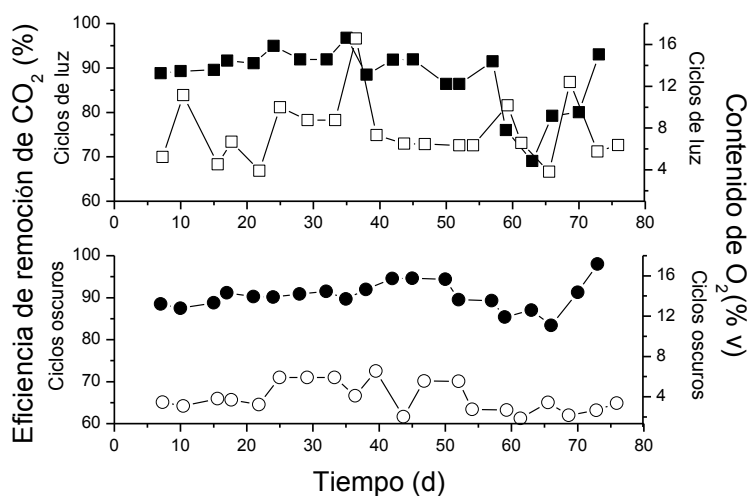


Figura 5.20 Eficiencia de remoción para el CO₂ en los ciclos de luz (■) y en los ciclos de oscuridad (●) Contenido de O₂ %v día (□) y noche (○) en el biogás enriquecido a lo largo de la experimentación

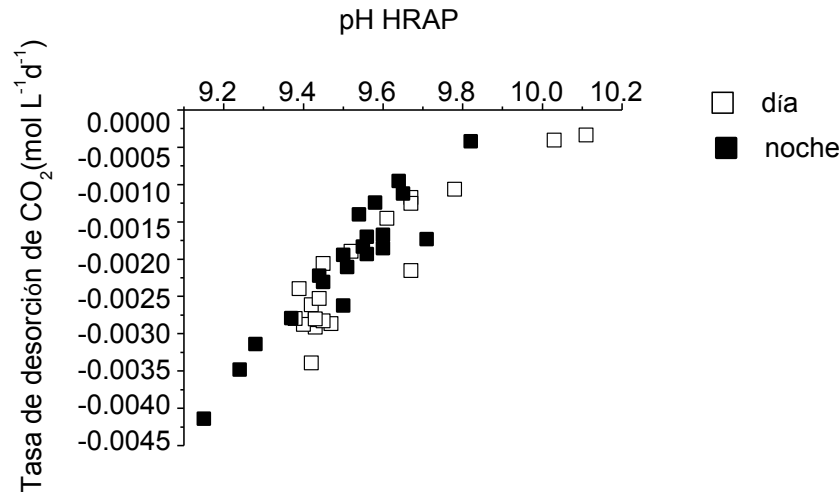


Figura 5.21 Correlación entre el pH y la tasa de desorción de CO₂ para el día (□) y la noche (■)

Para comprender el efecto del pH sobre el desempeño del sistema HRAP-ABC se calculó la tasa de desorción de CO₂ (CO₂TR) con la Ec. 5.27 (Franco-Morgado et al., 2017), la cual incluye las determinaciones de CI y el cambio de pH. Así mismo el CO₂ disuelto (DCO₂) fue calculado en función de los cambios de pH de acuerdo a la Ec. 5.28.

$$CO_2TR = \frac{V_H}{V_T} K_L a_H \left(\frac{CO_{2aire}}{H_{CO_2}(T)} - DCO_2 \right) \quad \text{Ec. 5.27}$$

$$[DCO_2] = \frac{CI}{1 + \frac{K_1}{[H^+]} + \frac{K_1 \cdot K_2}{[H^+]^2}} \quad \text{Ec. 5.28}$$

Donde:

CO₂TR: tasa de desorción de CO₂ (mol L⁻¹d⁻¹)

V_H: Volumen del líquido en el HRAP (L)

V_T: Volumen total del líquido en el sistema HRAP-ABC (L)

K_{LaH}: Coeficiente volumétrico global de transferencia de masa gas-líquido en el HRAP (d⁻¹)

CO₂: Concentración de CO₂ en aire (1.1 × 10⁻⁵ mol L⁻¹)

H_{CO₂(T)}: Constante de Henry del CO₂ modificada en función del cambio de temperatura, adimensional (Sander, 2015)

DCO₂: Concentración de CO₂ disuelto en el líquido (mol L⁻¹)

K₁, K₂: Constantes de disociación CO₂-H₂O, 4.66×10⁻⁷ mol L⁻¹ y 4.67×10⁻¹¹ mol L⁻¹, respectivamente

[H⁺]: concentración de iones H⁺ en el medio líquido (mol L⁻¹)

En la Figura 5.21 se puede apreciar que durante los días y las noches el pH influyó incrementando el CO₂TR con un comportamiento lineal. Durante los ciclos de luz el pH incrementó en el sistema debido a la actividad fotosintética lo que provocó una disminución en el CO₂TR impulsando que el gradiente de masa gas-líquido del CO₂ dentro de ABC fuera menor, disminuyendo por lo tanto las ER del CO₂ (Tabla 5-13). Por otro lado, durante las noches el fenómeno antes descrito actuó de manera inversa; al disminuir el pH, dado el proceso de la respiración, el gradiente de transferencia gas-líquido del CO₂ dentro de ABC fue mayor lo que dió como resultado ER de CO₂ mayores (Tabla 5-13).

Capítulo 6. TRATAMIENTO INTEGRAL DE LOS EFLUENTES DE LA DIGESTIÓN ANAEROBIA EN UN FOTOBIORREACTOR ABIERTO: MEDIOS REALES

6.1 Efecto del modo de suministro de nutrientes sobre la calidad del biometano y la dinámica de la población de microalgas

En este capítulo se aborda el efecto del modo de suministro de nutrientes disueltos en el digestato a un fotobiorreactor HRAP operado en condiciones controladas de luz y en presencia de gases traza (metil mercaptano (21.3 mg m⁻³), hexano (47.4 mg m⁻³), y tolueno (12.22 mg m⁻³)) presentes en la mezcla de biogás sobre la calidad del biometano producido y la posible acumulación de bioproductos en la biomasa microalgal (lípidos, carbohidratos y proteínas)

6.1.1 Composición del biometano producido

Durante las etapas IV, IIV y IIIV (descritas en la sección 3.2.5.1) el biometano obtenido en su composición cumplió satisfactoriamente con la mayoría de las regulaciones europeas para ser inyectado a la red de gas natural (Figura 6.22) (Muñoz et al., 2015). En la etapa IV el contenido de CH₄ fue de 98.33 ± 0.93% v, con eficiencias de remoción de CO₂ y H₂S (ER-CO₂, ER-H₂S) de 99.53 ± 0.17 % y 99.27 ± 0.79%, respectivamente. Para las etapas IIV y IIIV el contenido de CH₄ fue de 97.60 ± 0.70% v y 99.10 ± 1.0% v con ER de CO₂ de 97.60 ± 0.70% y 98.90 ± 0.40%, respectivamente. La ER H₂S para las etapas IIV y IIIV fueron de 99.68 ± 0.68% and 100 ± 0, respectivamente. Las ER de CO₂ y H₂S logradas fueron similares a las reportadas por Toledo-Cervantes et al., (2016) (CO₂ 99% y H₂S 98.5%) a una relación L/G de 1 y mayores a las obtenidas por Serejo et al., (2015) (CO₂ 80% y H₂S 100%) a una relación L/G de 10.

Las diferencias encontradas entre ER CO₂ fueron debidas principalmente a los cambios registrados de temperatura durante la experimentación. De acuerdo al balance de masa de carbono en el sistema (mostrado posteriormente), la pérdida de CO₂ fue básicamente debido a la desorción de CO₂ durante el desarrollo de la etapa **IIIV** (50%), en donde la temperatura incrementó hasta alrededor de 30°C (Tabla 6-14). Durante toda la experimentación el flujo total de carbono proveniente del digestato y el carbono absorbido por el CO₂ del biogás fue de 9708 ± 673 mg d⁻¹. El CI para mantener las productividades de 15 g m⁻² d⁻¹ y 8.3 g m⁻² d⁻¹ fueron de 7460 mg CI d⁻¹ y 4037 mg CI d⁻¹, respectivamente, por lo que el sistema no se encontró en limitación de carbono a pesar de la pérdida de éste por desorción durante la etapa **IIIV**.

El biometano producido puede sufrir contaminación con N₂ y O₂. En el HRAP el N₂ disuelto en el líquido (40.9 g L⁻¹) entra en equilibrio con el contenido de este en el aire (79 %v N₂); por otro lado, a partir del NH₄⁺ presente en el HRAP se produce NH₃ dadas las condiciones del medio de cultivo (pH básico) el cual se desorbe del medio de cultivo en el HRAP afectando la calidad del biometano.

El contenido de O₂ y N₂ alcanzado en el biometano producido para la etapa **IV** fue de 0.18 ± 0.17%v y 1.30 ± 0.78%v, respectivamente. Para la etapa **IIV** fue de 0.05 ± 0.05%v y 0.7 ± 0.4%v, respectivamente y finalmente para la etapa **IIIV** fue de 0.07 ± 0.08%v y 0.6 ± 0.5%v, respectivamente (Figura 6.22).

No fueron encontradas diferencias de contenido en O₂ en el biometano comparadas con las reportadas por Toledo-Cervantes et al., (2016) a una relación L/G de 1; sin embargo con respecto al contenido de N₂ fue menor a lo reportado a la mencionada relación L/G (N₂ <2.4 ± 0.2%), este resultado fue esperado debido a la disminución en la relación L/G evaluada (0.5), lo que evitó turbulencias en la columna, disminuyendo la cantidad de O₂ y N₂ desorbidos del líquido, así como el modo de operación en co-corriente (Toledo-Cervantes et al., 2017; Serejo et al., 2015).

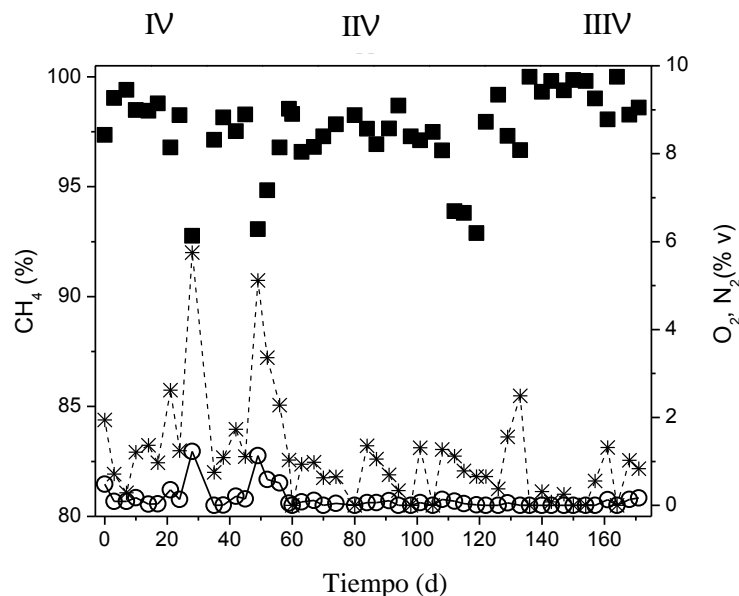


Figura 6.22 Concentración de O₂ (○), CH₄ (■) y N₂ (*) en el biometano producido para las etapas IV, IIV y IIIV. Concentración de biogás sintético a la entrada: CH₄ (70% v), CO₂ (29.5% v), H₂S (0.5% v)

6.1.2 Efecto de los gases traza en la composición del biometano

Las eficiencias de remoción para MeSH, hexano y tolueno (ER-MeSH, ER-hexano, ER-tolueno) obtenidas en el estado estacionario para la etapa IIV fueron de $59 \pm 8 \%$, $11 \pm 9 \%$ y $97 \pm 1 \%$ respectivamente, y para la etapa IIIV, $66 \pm 4 \%$, $7 \pm 7 \%$ y $98 \pm 1 \%$, respectivamente (Figura 6.23). Las diferencias encontradas para los diferentes contaminantes fueron relacionadas con las constantes de Henry reportadas para cada gas (MeSH $3.32 \times 10^{-3} \text{ mol m}^{-3} \text{ Pa}^{-1}$, hexano $6 \times 10^{-6} \text{ mol m}^{-3} \text{ Pa}^{-1}$ y tolueno $1.5 \times 10^{-3} \text{ mol m}^{-3} \text{ Pa}^{-1}$) (Sander, 2015).

Las capacidades de eliminación (CE) para el MeSH, tolueno y hexano durante el estado estacionario en las etapas IIV y IIIV fueron de $14 \pm 3 \text{ mg m}^{-3} \text{ h}^{-1}$, $15 \pm 1 \text{ mg m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ y $6 \pm 5 \text{ mg m}^{-3} \text{ h}^{-1}$, respectivamente con cargas máxicas de MeSH, tolueno y hexano de $25 \pm 5 \text{ mg m}^{-3} \text{ h}^{-1}$, $15 \pm 1 \text{ mg m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ y $53 \pm 4 \text{ mg m}^{-3} \text{ h}^{-1}$, respectivamente. Tradicionalmente, para el tratamiento de compuestos orgánicos volátiles (COV's) y gases olorosos que contienen azufre, los procesos biológicos han demostrado tener ventajas sobre los procesos fisicoquímicos (Tabla 2-3). En este sentido, Lebrero et al., (2012) reportó que en biofiltros de lecho escurrido para la remoción de tolueno y hexano se obtuvieron CE de 26 y $30 \text{ mg m}^{-3} \text{ h}^{-1}$, respectivamente a cargas máxicas de tolueno y hexano de $26 \text{ mg m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ y $34 \text{ mg m}^{-3} \text{ h}^{-1}$, respectivamente. La ER-MeSH obtenida en este estudio, fue comparable con el 99% obtenido por Lebrero et al., (2012) a una concentración de 22.2 mg m^{-3} .

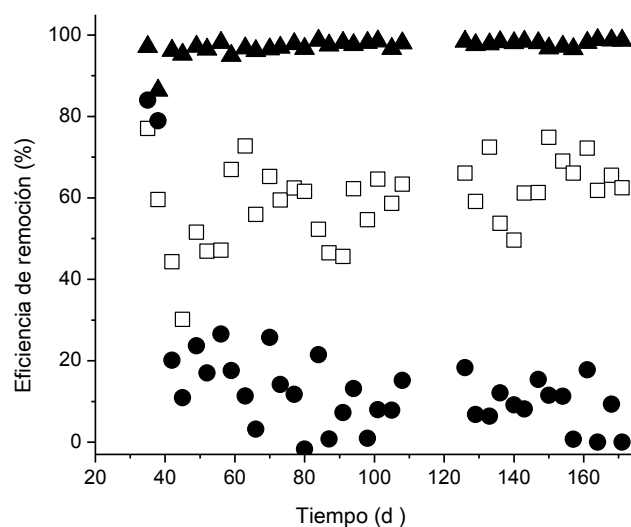


Figura 6.23 Eficiencias de remoción durante el desarrollo de las etapas IIV y IIIV, para el metil mercaptano (□), hexano (●) y tolueno (▲)

La concentración obtenida de MeSH en el biometano producido fue la permitida para ser inyectada en la red de gas natural de acuerdo a la normativa española (17 mg m^{-3}) y para algunos miembros de la Unión Europea alrededor con concentraciones en un rango de $5\text{-}10 \text{ mg m}^{-3}$ (Muñoz et al., 2015), para la normatividad mexicana no existe legislación para dicho compuesto. La concentración final después del proceso biológico de bacterias-microalgas lograda durante el estado estacionario para el MeSH fue de $13 \pm 4 \text{ mg m}^{-3}$, la cual cumplió con los requerimientos mencionados anteriormente para ser inyectado en la red de gas natural.

Para el caso del tolueno y hexano las concentraciones obtenidas a la salida de ABC, fueron de $0.6 \pm 0.2 \text{ mg m}^{-3}$ y $60 \pm 6 \text{ mg m}^{-3}$, respectivamente. De acuerdo a la legislación española el contenido de tolueno y hexano en el biometano para ser inyectado en la red de gas natural no se encuentra regulado así como en México. Sin embargo de acuerdo a Bailón Allegue and Hinge, (2012) la concentración de BTX (benceno, tolueno y xileno), así como los compuestos orgánicos volátiles (COV's) deben ser $<500 \text{ ppm}_v$ y $<0.1 \text{ ppm}_v$ respectivamente. Para el caso de Holanda y EUA las concentraciones obtenidas se encontraron dentro de los rangos normados.

El suministro de los gases traza aparentemente no afectó a la población microalgal, no así la forma de alimentación de los nutrientes (explicación abordada en la Sección 6.1.3). Así mismo no fueron observadas alteraciones en la actividad fotosintética considerando las concentraciones de OD durante

la experimentación determinadas en los ciclos de luz, las cuales permanecieron por arriba de 12 mg L⁻¹ (Tabla 6-14).

6.1.3 Remoción de nutrientes y desempeño del fotobiorreactor

Durante el desarrollo de experimentación la concentración de SST en los estados estacionarios alcanzados presentó cambios (Tabla 6-14). La productividad de biomasa obtenida durante las etapas IV y IIV a 15 g m⁻² d⁻¹ no fue lograda durante la etapa IIIV debido a los cambios presentados en la población microalgal dado el suministro de nutrientes en el digestato (NT 1348 ± 126 mg L⁻¹, N-NH₄⁺ 1159 ± 466 mg L⁻¹, DQO 934 ± 272 mg L⁻¹, PT 36 ± 6 mg L⁻¹ y CI 1430 ± 85 mg L⁻¹) durante los ciclos de oscuros. El cambio de población durante la etapa IIIV no permitió la cosecha de la biomasa vía floculación. Debido a lo anterior una nueva productividad de biomasa fue establecida de 8.3 g m⁻² d⁻¹. El análisis morfológico de la biomasa microalgal mostró que durante la etapa IV de la experimentación la especie predominante fue *Chlorella minutissima*, *Chlorodinium ellipsoideum* predominó para la etapa IIV y finalmente *Mychonastes homosphaera* para la etapa IIIV.

La concentración de OD medida durante los ciclos de luz fue superior a 12 mg L⁻¹ y para los ciclos oscuros arriba de 2.40 mg L⁻¹ (Tabla 6-14). La concentración de OD determinada en los ciclos oscuros evitó la acumulación de NO₂⁻ y por lo tanto la producción de N₂O quedó descartada (Peng and Zhu, 2006; J. Wang et al., 2008). Las concentraciones de N-NO₃⁻ durante la experimentación en estado estacionario fueron de 34.2 ± 14.2 mg L⁻¹, 64.71 ± 11.6 mg L⁻¹ y 3.67 ± 4.2 mg L⁻¹ para las etapas IV, IIV y IIIV, respectivamente. La concentración de N-NO₃⁻ para la etapa IIV fue mayor comparada con las determinadas para las etapas IV y IIIV. En la etapa IIV la temperatura incrementó de 25.79 ± 0.89°C a 27.80 ± 2.27°C, la cual promovió la actividad bacteriana nitrificante (Kim et al., 2006).

Durante la experimentación todo el H₂S fue oxidado a S-SO₄²⁻ incluso en los ciclos oscuros (OD >2 mg L⁻¹, Tabla 6-14). Dada la concentración de OD lograda en los ciclos oscuros, la producción de S⁰ fue descartada, pues la oxidación de H₂S a S⁰ se lleva a cabo a concentraciones de OD por debajo de 0.1 mg L⁻¹ (Janssen et al., 1995).

Tabla 6-14 Promedio de los parámetros determinados en la fase líquida en estado estacionario durante las etapas de experimentación

Parámetro	Etapa IV	Etapa IIV	Etapa IIIV
SST (g L ⁻¹)	1.21 ± 0.15	0.82 ± 0.18	0.67 ± 0.03
OD luz (mg L ⁻¹)	18.97 ± 1.49	11.93 ± 0.70	13.00 ± 3.40
OD oscuridad (mg L ⁻¹)	2.46 ± 0.55	2.43 ± 0.53	2.99 ± 0.73
pH luz	10.63 ± 0.17	10.08 ± 0.11	10.63 ± 0.09
pH oscuridad	10.57 ± 0.16	10.06 ± 0.13	10.63 ± 0.08
T luz (°C)	25.79 ± 0.89	27.80 ± 2.27	29.60 ± 1.70
T oscuridad (°C)	21.16 ± 1.79	24.61 ± 2.30	22.32 ± 1.57
Productividad (g m ⁻² d ⁻¹)	15	15	8.3

Los promedios de las determinaciones de eficiencia de eliminación del N-NH₄⁺, NT, CI y PT para las etapas IV, IIV y IIIV en estado estacionario son las que se muestran en la Tabla 6-15. La ER del N-NH₄⁺ para todas las etapas fue de 100% dados los altos valores de pH registrados (pH >10). La ER de NT fue similar a lo reportado por Toledo-Cervantes et al., (2017, 2016) (91-98%). De acuerdo a los balances de masa de nitrógeno, del total alimentado al sistema el 87 ± 6%, 96 ± 6% y 69 ± 3% fue asimilado por la biomasa para las etapas IV, IIV y IIIV, respectivamente. Adicionalmente, las pérdidas por desorción del nitrógeno para las etapas IV, IIV y IIIV fueron de 12 ± 6%, 2 ± 6% y 30 ± 3%, respectivamente.

La disminución de la productividad para la etapa IIIV (de 15 a 8.3 g m⁻²d⁻¹) provocó la baja tasa de asimilación de nitrógeno comparada con las etapas IV y IIV. La ER de CI fue alrededor del 93% para todas las etapas (Tabla 6-15).

El balance de carbono mostró que del total de carbono suministrado al sistema, el 78 ± 5%, 82 ± 4% y 43 ± 1% fueron fijados por la biomasa microalgal para las etapas IV, IIV y IIIV, respectivamente. La pérdida de carbono por desorción representó el 15 ± 5%, 15 ± 4% y 50 ± 1% para las etapas IV, IIV y IIIV, respectivamente.

Finalmente la ER del PT en todas las etapas de la experimentación fueron mayores a las obtenidas por Serejo et al., (2015); Toledo-Cervantes et al., (2016) (ER > 70%) (Tabla 6-15)

Tabla 6-15 Promedio de eficiencias de remoción para N-NH₄⁺, NT, CI and PT en el estado estacionario

ER (%)	Etapa IV	Etapa IIV	Etapa IIIV
N-NH ₄ ⁺	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0
NT	98.20 ± 0.33	97.07 ± 0.63	98.87 ± 0.21
CI	93.27 ± 0.79	93.81 ± 0.52	93.13 ± 0.42
PT	91.96 ± 3.53	94.77 ± 4.66	98.25 ± 1.33

6.1.4 Influencia del modo del suministro de nutrientes sobre la acumulación de bioproductos en la biomasa microalgal

La composición elemental de la biomasa para cada etapa en estado estacionario es la mostrada en la Tabla 6-16. El contenido de carbono, nitrógeno y azufre fueron muy similares para las etapas IV y IIV a pesar de los cambios en las condiciones de operación mencionadas anteriormente, sin embargo para la etapa IIIV el contenido de fósforo y nitrógeno fue menor.

Tabla 6-16 Composición elemental de la biomasa microalgal en estado estacionario para las etapas IV, IIV y IIIV

Elemento	Etapa IV	Etapa IIV	Etapa IIIV
Carbono (%)	43.35	41.06	40.18
Nitrógeno (%)	6.95	6.59	5.74
Fósforo (%)	0.600	0.669	0.404
Azufre (%)	0.71	0.67	0.73

Para la etapa IIV, en cuanto al contenido de proteínas y lípidos en el estado estacionario analizadas, no se encontraron diferencias entre el régimen de luz y oscuridad (Tabla 6-17). Con respecto al contenido de carbohidratos, durante los ciclos de luz se observó un mayor contenido con $46 \pm 1\%$ con respecto a los ciclos oscuros ($31 \pm 2\%$); éste aumento fue debido principalmente al modo de suministro de nutrientes pues éstos fueron alimentados durante los ciclos de luz. En condiciones de iluminación, las microalgas producen energía y poder reductor (ATP y NADPH⁺), además de consumir de manera natural el nitrógeno presente para la formación de proteínas, todo traducido en crecimiento. (Markou et al., 2014). Con respecto al contenido de lípidos, está reportado que *Chlorodinium sp.* (especie predominante en la etapa IIV) tiene la capacidad de acumular lípidos alrededor de 14-26% (peso seco) (Gonzalez et al., 2013), sin embargo como se muestra en la Tabla

6-17, el contenido fue menor para ambos regímenes de iluminación durante la etapa IIV. Estrategias como la limitación de nitrógeno y diferentes intensidades de iluminación pueden ser implementadas para el incremento en el contenido de lípidos en la biomasa microalgal, las cuales están ampliamente reportadas (Ho et al., 2012; Huang et al., 2012; Junhan Liu et al., 2012; Toledo-Cervantes et al., 2013).

En la etapa IIV en el estado estacionario, el contenido de proteínas no presentó cambios apreciables durante los ciclos de luz y oscuridad (Tabla 6-17). Con respecto a los carbohidratos en la etapa IIV, el contenido de éste fue mayor pues el producto de la fotosíntesis es la acumulación de carbohidratos (Grobelaar, 2004); por su parte, el descenso en los ciclos oscuros fue debido a la respiración endógena, en la cual consumen parte sus carbohidratos almacenados para su mantenimiento, en la respiración endógena (Franco-Morgado et al., 2017). Dado que la alimentación de nutrientes en el desarrollo de la etapa IIV fue durante los ciclos de luz, la acumulación de lípidos no se llevó a cabo.

Para la etapa IIIV el contenido de proteínas fue menor que en la etapa IIV (Tabla 6-17). Ésto fue debido a que el suministro de nutrientes en el digestato durante esta etapa fue durante los ciclos oscuros, y el nitrógeno presente no fue utilizado por la biomasa microalgal para la síntesis de proteínas, la cual se lleva a cabo en presencia de luz. El N-NH₄⁺ presente fue utilizado por otros mecanismos biológicos (nitrificación) limitando su concentración durante los ciclos de luz y promoviendo la acumulación de lípidos (Tabla 6-17).

Tabla 6-17 Contenido de proteínas, carbohidratos y lípidos en la biomasa en estado estacionario para los ciclos de luz y oscuridad en las etapas IIV y IIIV

Etapa	Régimen de iluminación	Proteínas (%)	Carbohidratos (%)	Lípidos (%)
IIV	luz	46 ± 4	46 ± 1	1.2 ± 0.3
	oscuridad	45 ± 3	31 ± 2	1.2 ± 0.5
IIIV	luz	28 ± 9	39 ± 2	10.6 ± 1.0
	oscuridad	25 ± 6	34 ± 2	14.9 ± 1.0

Capítulo 7. DISEÑO Y DIMENSIONAMIENTO CONCEPTUAL DE UN FOTOBIORREACTOR HRAP PARA EL TRATAMIENTO DE EFLUENTES PROVENIENTES DE LA DIGESTIÓN ANAEROBIA DE RESIDUOS DE ESTIÉRCOL DE GANADO

Con el fin de aplicar la experiencia y los conocimientos adquiridos en la operación y funcionamiento de sistemas HRAP-ABC, se diseñó y dimensionó en forma conceptual un fotobiorreactor para el tratamiento de los efluentes generados en la digestión anaerobia (digestato y biogás). Fueron considerados dos escenarios: a) limitación del crecimiento de la biomasa microalgal por el suministro de nitrógeno mediante el digestato y b) limitación del crecimiento de la biomasa microalgal al no ser suministrado carbono inorgánico por medio del digestato, solo aportado por el CO₂ proveniente del biogás. En el primer escenario, el digestato se mezcla con una solución tamponada de carbonatos para proporcionar un medio alcalino-básico, y así facilitar la transferencia de los gases a eliminar (CO₂ y H₂S); con ello se permitirá la permanencia de la biomasa microalgal más adaptada a las condiciones alcalinas logrando cultivos más puros y libres de depredadores, condición evaluada en esta tesis (Franco-Morgado et al., 2017)

En ambos escenarios se involucraron los procesos que se muestran en la figura AI.24 del Anexo I, la cual presenta globalmente los mecanismos físicos, químicos y biológicos que se llevan a cabo durante la desulfuración y el enriquecimiento de biogás aunado con la eliminación de nutrientes, todo llevado a cabo en un mismo sistema.

7.1 Selección de la materia orgánica y condiciones de operación de la digestión anaerobia

Para abordar ambos escenarios, fueron consideradas las condiciones del proceso de la digestión anaerobia (DA) de estiércol de ganado de acuerdo a la composición reportada por Dębowski et al., (2016). Las características de la DA y las condiciones de operación se muestran en la Tabla 7-18.

Tabla 7-18 Características del digestor anaerobio y condiciones de operación

Volumen de digestor mezcla completa	10 m ³
Flujo de alimentación del agua residual	0.4 m ³ d ⁻¹
TRH	25 d
Temperatura	37°C
Eficiencia de digestión	44.7 %

Las características del digestato y biogás producido así como composición, respectivamente se muestran en la Tabla 7-19.

Tabla 7-19 Parámetros de entrada y salida de la digestión anaerobia de estiércol de ganado y características del biogás producido

Parámetro	Entrada al digestor anaerobio	Salida del digestor anaerobio (digestato)	Biogás producido
pH	7	7	N.A
DQO (g L ⁻¹)	2.06	1.14	N.A
PT (g L ⁻¹)	0.061	0.014	N.A
NT (g L ⁻¹)	1.160	0.207	N.A
CI (g L ⁻¹)	N.A	0.547	N.A
Flujo volumétrico (L d ⁻¹)	400	400	985
CH ₄ % v	N.A	N.A	69.5
CO ₂ % v	N.A	N.A	30
H ₂ S % v	N.A	N.A	0.5

N.A: no aplica

7.2 Diseño conceptual del fotobiorreactor HRAP para el tratamiento de los efluentes de la digestión anaerobia de estiércol de ganado

7.2.1 Diseño un fotobiorreactor HRAP. Caso I Limitación por nitrógeno en medio básico-alcálico

A una intensidad PAR de 1750 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (promedio de radiación PAR en la Ciudad de México (datos empíricos)) con una eficiencia fotosintética del 2 % (Yarnold et al., 2015) y una capacidad calorífica de cianobacterias de 34490 Jg⁻¹ (Nagarkar et al., 2004), fue calculada la productividad de biomasa esperada (Px).

$$\text{Conversión de iluminación PAR a unidades radiométricas} = \frac{1750 \frac{\mu\text{mol}}{\text{m}^2\text{s}}}{4.6 \frac{\text{W}}{\text{m}^2} * 0.02} = 7.61 \frac{\text{W}}{\text{m}^2}$$

$(7.61 \frac{\text{W}}{\text{m}^2}) (\frac{1\text{J}}{\text{W*s}}) (\frac{3600\text{s}}{1\text{h}}) (\frac{24\text{h}}{1\text{d}}) (\frac{\text{g}}{34490\text{J}}) = 19.06 \frac{\text{g}}{\text{m}^2\text{d}}$, productividad de biomasa (Px) la cual se obtiene a partir de la eficiencia fotosintética, la capacidad calorífica de las cianobacterias y la iluminación PAR

$$\text{Carga de Nitrógeno de entrada al HRAP} = (400 \frac{\text{L digestato}}{\text{d}}) (207.8 \frac{\text{mg NT}}{\text{L}}) = 83.12 \frac{\text{g NT}}{\text{d}}$$

Considerando el contenido de nitrógeno dentro de la biomasa de 7.7 % (Franco-Morgado et al., 2017)

$(83.12 \frac{\text{g NT}}{\text{d}}) (\frac{100}{7.7}) = 1079 \frac{\text{g X}}{\text{d}}$, biomasa producida en función de la carga de nitrógeno que entra al HRAP proveniente del digestato.

Si la productividad esta definida como: $Px = \frac{[X]*\text{Flujo}}{\text{Área iluminada}}$, despejando el área iluminada (A), donde [X] : concentración de biomasa,

$$A = \frac{[X]*\text{Flujo}}{Px} = \frac{1079 \frac{\text{g X}}{\text{d}}}{19.06 \frac{\text{g X}}{\text{m}^2\text{d}}} = \mathbf{57\text{m}^2 \text{ de área del HRAP}}$$

De acuerdo a la relación A/V= 11.2 m² m⁻³ reportada por Franco-Morgado et al., (2017) y despejando V, se obtiene:

$$V = \frac{A}{11.2} = \frac{57\text{m}^2}{11.2 \frac{\text{m}^2}{\text{m}^3}} = \mathbf{5\text{m}^3 \text{ Volumen del HRAP,}}$$

Si, el Volumen= Largo (L)*ancho (W)* altura (h) y la relación L/W=10.41 (Franco-Morgado et al., (2017)

Despejando, $W = \frac{L}{10.41}$, sustituyendo en la ecuación para el cálculo del volumen, se obtiene

$V = (L) (\frac{L}{10.41}) (h)$, despejando L, y considerando que h es la necesaria para la penetración de 2/3 de luz de acuerdo a las experiencias empíricas de medición con disco Secchi, el cual da un valor de h=0.16 m

$$L = \sqrt{\frac{V*10.41}{h}} = \sqrt{\frac{5\text{m}^3*10.41}{0.16\text{m}}} = \mathbf{18\text{m Largo del HRAP}}$$

Sustituyendo L en la ecuación del cálculo del volumen y despejando W se obtiene

$$W = \frac{V}{L \cdot h} = \frac{5m^3}{18m \cdot 0.16m} = \mathbf{1.74 \text{ m de ancho de HRAP}}$$

El resumen las dimensiones del HRAP se muestra en la Tabla 7-20.

Tabla 7-20 Dimensiones de un fotobiorreactor tipo HRAP para el tratamiento de $0.4 \text{ m}^3 \text{ d}^{-1}$ de digestato proveniente de la digestión anaerobia de residuos de estiércol de ganado con limitación por nitrógeno en un medio alcalino-básico

Área HRAP	57 m ²
Volumen	5 m ³
Largo (L)	18 m
Alto (h)	0.16 m
Ancho (W)	1.74 m

La productividad que se obtendría a partir del área del HRAP calculada y la carga de alimentación de nitrógeno es

$$\text{Productividad de biomasa} = \frac{1079 \frac{gX}{d}}{57m^2} = 19 \frac{gX}{m^2d},$$

El flujo másico de carbono para satisfacer la productividad antes mencionada y considerando un 44.5% de contenido de carbono dentro de la biomasa de acuerdo Franco-Morgado et al., (2017) es de

$$\left(19 \frac{gX}{m^2d}\right) (57m^2) \left(\frac{44.5}{100}\right) = 481 \frac{gC}{d},$$

El carbono absorbido a partir del CO₂ proveniente del biogás considerando una ER del 90% a temperatura de 30°C y 0.75 atm de presión es de

$$\frac{\left(985 \frac{L \text{ biogás}}{d}\right) (0.75 \text{ atm})}{\left(0.082 \frac{L \text{ atm}}{\text{mol k}}\right) (273.15 + 30^\circ)} = \left(30 \frac{\text{mol biogás}}{d}\right) \left(\frac{30 \text{ mol}}{100 \text{ mol biogás}}\right) \left(\frac{12 \text{ gC}}{\text{mol C}}\right) = 107 \frac{gC}{d} (0.90)$$

$$= 96 \frac{gC}{d}$$

Dado que el flujo de C-CO₂ proveniente de biogás no es capaz de satisfacer la demanda de carbono necesaria para cumplir con el flujo de biomasa $1079 \frac{gX}{d}$, es necesario alimentar por el digestato carbono inorgánico disuelto.

$480 \frac{g C}{d} - 96 \frac{g C}{d} = 384 \frac{g C}{d}$ flujo másico de carbono inorgánico disuelto necesario en el medio de cultivo.

Dadas las características del digestato mostradas en la Tabla 7.19, el digestato obtenido tiene una concentración de $0.571 g L^{-1}$ de carbono inorgánico

$$\left(0.571 \frac{g C}{L}\right) * \left(400 \frac{L_{digestato}}{d}\right) = 228 \frac{g C}{d}$$

Lo que satisface el flujo de carbono inorgánico necesario para mantener la el flujo de biomasa en $1079 \frac{g X}{d}$

La adición de una solución de $NaHCO_3 / Na_2CO_3$ de 0.2 y $0.6 g L^{-1}$ al digestato mantendría un pH de 9.9 en el medio de cultivo. La solución fue calculada a partir de los pKa del CO_2 cuando se disuelve en agua con H_2CO_3 (pK 6.3) y CO_3^{2-} (pK 10.3).

7.2.2 Diseño un fotobiorreactor HRAP. Caso II: Medio limitado por el suministro de carbono

En este escenario se planteó que la única fuente de carbono suministrada al sistema es la proveniente del biogás sin adición de una solución amortiguadora capaz de aminorar los cambios de pH producidos por la absorción continua del biogás (CO_2 y H_2S). En tal caso, el sistema se encuentra limitado en crecimiento de biomasa por carbono.

Considerando la productividad de biomasa (P_x) fija a partir de la eficiencia fotosintética, la capacidad calorífica de las cianobacterias y la iluminación PAR, calculada en el Caso I ($19.06 \frac{g}{m^2 d}$)

El carbono absorbido a partir del CO_2 proveniente del biogás considerando una ER del 90% a temperatura de $30^\circ C$ y $0.75 atm$ de presión es de

$$\frac{\left(985 \frac{L_{biogas}}{d}\right) (0.75 atm)}{\left(0.082 \frac{L atm}{mol k}\right) (273.15 + 30^\circ)} = \left(30 \frac{mol biogás}{d}\right) \left(\frac{30\%}{100\%}\right) \left(\frac{12 g C}{mol C}\right) = 107 \frac{g C}{d} (0.90) = 96 \frac{g C}{d}$$

A partir del flujo másico de carbono absorbido de CO_2 y el carbono alimentado al HRAP proveniente del digestato (oxidación de la materia orgánica) ($0.571 \frac{g CO_2}{L}$), se calcula la el flujo de biomasa con un contenido de 44.5% (Franco-Morgado et al., 2017),

$$\left(96 \frac{g C}{d} + 228.57 \frac{g_{C-CO_2}}{d}\right) \left(\frac{100\%}{44.5\%}\right) = 730 \frac{g X}{d},$$

Si $Px = \frac{[X]*Flujo}{\text{Área iluminada}}$, donde [X] es la concentración de biomasa y despejando el área iluminada (A),

$$A = \frac{[X]*Flujo}{Px} = \frac{730}{19.06 \frac{gX}{m^2d}} = \mathbf{38.31m^2 \text{ de área del HRAP}}$$

De acuerdo a la relación $A/V = 11.2 \text{ m}^2\text{m}^{-3}$ reportada por Franco-Morgado et al., (2017) y despejando V, se obtiene:

$$V = \frac{A}{11.2} = \frac{38.31m^2}{11.2 \frac{m^2}{m^3}} = \mathbf{3.42m^3 \text{ de volumen del HRAP,}}$$

Si, el Volumen= Largo (L)*ancho (W)* altura (h) y la relación $L/W=10.41$ (Franco-Morgado et al., (2017)

Despejando, $W = \frac{L}{10.41}$ y sustituyendo en la ecuación para el cálculo del volumen, se obtiene

$V = (L) \left(\frac{L}{10.41} \right) (h)$, despejando L y considerando que h es la necesaria para la penetración de 2/3 de luz de acuerdo a las experiencias empíricas de medición con disco Secchi, el cual da un valor de $h=0.16 \text{ m}$

$$L = \sqrt{\frac{V*10.41}{h}} = \sqrt{\frac{3.42m^3*10.41}{0.16 \text{ m}}} = \mathbf{14.92m \text{ Largo del HRAP}}$$

Sustituyendo L en la ecuación del cálculo del volumen y despejando W se obtiene

$$W = \frac{V}{L*h} = \frac{3.42m^3}{14.92m*0.16m} = \mathbf{1.43m \text{ de ancho de HRAP}}$$

El resumen las dimensiones del HRAP se muestra en la Tabla 7-21.

Tabla 7-21 Dimensiones de un fotobiorreactor tipo HRAP para el tratamiento de $0.4 \text{ m}^3 \text{ d}^{-1}$ de digestato proveniente de un digester de 10 m^3 alimentado con estiércol de ganado. Diseño basado en la limitación de carbono (sin adición de alcalinidad)

Área HRAP	38.31 m ²
Volumen	3.42 m ³
Largo (L)	14.92 m
Alto (h)	0.16 m
Ancho (W)	1.43 m

Está reportado que la adición de una solución de $\text{HCO}_3^-/\text{CO}_3^{2-}$ es necesaria para evitar cambios drásticos en el pH durante la absorción de los gases que por sus características acidifican el medio de cultivo disminuyendo las ER de CO_2 y H_2S (Bahr et al., 2014). Por la naturaleza de la fotosíntesis, ésta promueve que durante los ciclos de luz el medio de cultivo presente un pH básico, sin embargo este fenómeno no es observado durante los ciclos oscuros (respiración) por lo que la adición de biogás continua provocaría una disminución tal, que el sistema no sería eficiente en la producción de biometano (eliminación de CO_2 y H_2S , del biogás), por lo que es necesario la adición de una solución amortiguadora que mantenga la alcalinidad y el pH básico para obtener satisfactorias eficiencias de eliminación de CO_2 y H_2S .

CONCLUSIONES GENERALES

Derivado de este trabajo, puede afirmarse que los procesos de microalgas-bacterias constituyen una tecnología eficiente en su operación y amigable con el ambiente para el tratamiento de los efluentes de la digestión anaerobia (biogás y digestato).

Los experimentos desarrollados de manera individual en el fotobiorreactor de tubos cerrado, demostraron que el S^{2-} de forma disuelta inhibe la actividad fotosintética del consorcio CAM a concentraciones de 1.5mM (35 ppm_v de H₂S en el equilibrio). El $S_2O_3^{2-}$ no presentó efecto sobre la actividad fotosintética del CAM. Así mismo, el efecto nocivo de inhibición sobre la actividad fotosintética del NH₃ cuando se suministra NH₄⁺ en condiciones de pH básico presentó una inhibición crítica a concentraciones superiores a 300 mg L⁻¹ de NH₃.

De los experimentos realizados en el fotobiorreactor HRAP en condiciones de extrema alcalinidad a pH > 9 permitieron la adaptación y crecimiento de especies de microalgas especializadas a mencionadas condiciones evitando la contaminación del HRAP, además de mostrar ser una efectiva plataforma para purificar y enriquecer el biogás en biometano. La fotosíntesis microalgal fue capaz de regenerar de manera efectiva la alcalinidad consumida durante la absorción de CO₂ y H₂S incluso en los ciclos de luz/oscuridad. El carbono y la recuperación de nutrientes dependieron directamente de la productividad de la biomasa, la cual depende, a su vez, de los regímenes de iluminación del fotobiorreactor y de la temperatura. La respiración endógena durante los ciclos oscuros fue la responsable del descenso en la concentración de la biomasa comparada con lo esperado dada la reducción del 50% en el suministro de la luz.

El desempeño del fotobiorreactor HRAP expuesto a la intemperie demostró que los días y las noches impactaron directamente la productividad de biomasa indicando que al final de la noche la concentración de biomasa disminuyó un 57% comparada con la concentración obtenida para los días. Los cambios producidos en la biomasa afectaron la recuperación de la condición básica del sistema provocando fluctuaciones del pH que impactaron la tasa de desorción de CO₂ afectando los gradientes de transferencia de masa para el día y la noche y por lo tanto en sus respectivas eficiencias de remoción.

Con respecto a la operación del sistema HRAP con medios reales, se demostró que una disminución de la relación L/G evitó la contaminación por O₂ y N₂ del biometano obtenido, con adecuadas eficiencias de remoción de CO₂ y H₂S. La estrategia basada en el control de la productividad de la biomasa bacteriana-microalgal a través de la sedimentación de biomasa, resultó ser conveniente para mejorar la remoción de nutrientes provenientes del digestato. Además cuando el digestato fue suministrado en los ciclos oscuros se promovió un cambio en las poblaciones de las microalgas lo

cual impactó negativamente la productividad de biomasa. El modo de suministro de nutrientes por los ciclos oscuros no promovió la acumulación de bioproductos como lípidos, proteínas y carbohidratos. Los gases traza adicionados al biogás, como el metil mercaptano, hexano y tolueno, no afectaron la calidad del biometano producido a pesar de la baja remoción de hexano y de metil mercaptano. En estas condiciones no se observó efecto sobre la población microalgal así como en su actividad fotosintética.

El escalamiento a nivel de diseño conceptual del HRAP señaló que el sistema limitado por nitrógeno crecido en un medio alcalino-básico fue el que presentó mayores dimensiones comparado con el sistema limitado solo por la absorción de carbono proveniente del biogás. Los flujos de biomasa respectivos fueron de 1079 g d⁻¹ y 730 g d⁻¹. La operación en condiciones alcalinas-básicas favorece el funcionamiento de éstos con provechosas eficiencias de remoción de CO₂ y H₂S, además de evitar cambios importantes en el pH igualmente promueven el crecimiento de microorganismos más especializados y evitar la contaminación así como la depredación de estos por otros microorganismos.

REFERENCIAS

- (INN), I.N. de N., 2010. NCh3213 Biometano-Especificaciones. Santiago, Chile.
- Aaron, D., Tsouris, C., 2005. Separation of CO₂ from Flue Gas: A Review. *Sep. Sci. Technol.* 40, 321–348. doi:10.1081/SS-200042244
- Abatzoglou, N., Steve, B., 2009. A review of biogas purification. *Biofuels Bioprod. Biorefining* 3, 42–71. doi:10.1002/bbb
- Abeliovich, A., Azov, Y., 1976. Toxicity of ammonia to algae in sewage oxidation ponds. *Appl. Environ. Microbiol.* 31, 801–806.
- Acta, B., Biomater, R., Lee, Y., 1986. Enclosed bioreactors for the mass cultivation of photosynthetic microorganisms : the future trend 1984–1987.
- Ahn, Y.-H., 2006. Sustainable nitrogen elimination biotechnologies: A review. *Process Biochem.* 41, 1709–1721. doi:10.1016/j.procbio.2006.03.033
- Alcantara, C., Garcia-Encina, P.A., Muñoz, R., 2015. Evaluation of the simultaneous biogas upgrading and treatment of centrates in a high-rate algal pond through C, N and P mass balances. *Water Sci. Technol.* 72, 150–157. doi:10.2166/wst.2015.198
- Alcántara C, Muñoz Raúl, Norvill Zane, Plouviez Maxence, G.B., 2015. Nitrous oxide emissions from high rate algal ponds treating domestic wastewater. *Bioresour. Technol.* 117, 110–117.
- Andriani, D., Wresta, A., Atmaja, T.D., Saepudin, A., 2014. A review on optimization production and upgrading biogas through CO₂ removal using various techniques. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 172, 1909–28. doi:10.1007/s12010-013-0652-x
- Appels, L., Baeyens, J., Degrève, J., Dewil, R., 2008. Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge. *Prog. Energy Combust. Sci.* 34, 755–781. doi:10.1016/j.peccs.2008.06.002
- Arellano, L., David Dorado, A., Fortuny, M., Gabriel, D., Gamisans, J., González-Sánchez, A., Hernández, S., Lafuente, J., Mora, M., Revah, S., Sierra, H., 2017. Purificación y usos del biogás. *Universitat Autònoma de Barcelona, Servei de Pulvicacions, España.*
- Arimi, M.M., Zhang, Y., Götz, G., Geißen, S.-U., 2015. Treatment of melanoidin wastewater by anaerobic digestion and coagulation. *Environ. Technol.* 36, 2410–2418. doi:10.1080/09593330.2015.1032366
- Awe, O.W., Zhao, Y., Nzihou, A., Minh, D.P., Lyczko, N., 2017. A Review of Biogas Utilisation, Purification and Upgrading Technologies. *Waste and Biomass Valorization* 8, 267–283. doi:10.1007/s12649-016-9826-4
- Azov, Y., Goldman, J.C., 1982. Free ammonia inhibition of algal photosynthesis in intensive cultures. *Appl. Environ. Microbiol.* 43, 735–739. doi:http://dx.doi.org/
- Bagi, Z., Ács, N., Bálint, B., Horváth, L., Dobó, K., Perei, K.R., Rákhely, G., Kovács, K.L., 2007. Biotechnological intensification of biogas production. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 76, 473–482. doi:10.1007/s00253-007-1009-6
- Bahr, M., Díaz, I., Dominguez, A., González Sánchez, A., Muñoz, R., 2014. Microalgal-biotechnology as a platform for an integral biogas upgrading and nutrient removal from

-
-
- anaerobic effluents. *Environ. Sci. Technol.* 48, 573–81.
- Bahr, M., Díaz, I., Dominguez, A., González Sánchez, A., Muñoz, R., 2014. Microalgal-biotechnology as a platform for an integral biogas upgrading and nutrient removal from anaerobic effluents. *Environ. Sci. Technol.* 48. doi:10.1021/es403596m
- Bailón Allegue, L., Hinge, J., 2012. Biogas and bio-syngas upgrading, DTI Report.
- Barbusinski, K., Kalembe, K., Kasperczyk, D., Urbaniec, K., Kozik, V., 2017. Biological methods for odor treatment – A review. *J. Clean. Prod.* 152, 223–241. doi:10.1016/j.jclepro.2017.03.093
- Bauer, A., Mayr, H., Hopfner-Sixt, K., Amon, T., 2009. Detailed monitoring of two biogas plants and mechanical solid-liquid separation of fermentation residues. *J. Biotechnol.* 142, 56–63. doi:10.1016/j.jbiotec.2009.01.016
- Beggel, F., Nowik, I.J., Modigell, M., Shalygin, M.G., Teplyakov, V. V., Zenkevitch, V.B., 2010. A novel gas purification system for biologically produced gases. *J. Clean. Prod.* 18, S43–S50. doi:10.1016/j.jclepro.2010.06.015
- Belkin, S., Boussiba, S., 1991. Resistance of *Spirulina platensis* to ammonia at high pH values. *Plant cell Physiol.* 32, 953–958.
- Bindra, N., Dubey, B., Dutta, A., 2015. Technological and life cycle assessment of organics processing odour control technologies. *Sci. Total Environ.* 527–528, 401–412. doi:10.1016/j.scitotenv.2015.05.023
- Bohutskyi, P., Bouwer, E., 2013. Biogas Production from Algae and Cyanobacteria Through Anaerobic Digestion. A Review, Analysis, and Research Needs, *Advance Biofuels and Bioproducts*. Vol 1. Springer, New York. doi:10.1007/978-1-4614-3348-4
- Camacho Rubio, F., Acien Fernandez, F.G., alii, et, 1999. Prediction of dissolved oxygen and carbon dioxide concentration profiles in tubular photobioreactors for microalgal culture. *Biotechnol. Bioeng.* 62(1), 71–86. doi:10.1002/(SICI)1097-0290(19990105)62
- Camiro-Vargas, T.K., Hernández-Ayón, J.M., Valenzuela-Espinoza, E., Delgadillo-Hinojosa, F., Cajal-Medrano, R., 2005. Dissolved inorganic carbon uptake by *Rhodomonas* sp. and *Isochrysis* aff. *galbana* determined by a potentiometric technique. *Aquac. Eng.* 33, 83–95. doi:10.1016/j.aquaeng.2004.10.001
- Chen, Y., Cheng, J.J., Creamer, K.S., 2008. Inhibition of anaerobic digestion process: a review. *Bioresour. Technol.* 99, 4044–64. doi:10.1016/j.biortech.2007.01.057
- Cline, J.D., Richards, F.A., 1969. Oxygenation of hydrogen sulfide in seawater at constant salinity, temperature, and pH. *Environ. Sci. Technol.* 3, 838–843. doi:10.1021/es60032a004
- Cohen, Y., Jørgensen, B.B., Revsbech, N.P., Jrgensen, B.O.B., Poplawskil, R., 1986. Adaptation to Hydrogen Sulfide of Oxygenic and Anoxygenic Photosynthesis among Cyanobacteria
Adaptation to Hydrogen Sulfide of Oxygenic and Anoxygenic Photosynthesis among Cyanobacteria.
- Costache, T. a, Acien Fernández, F.G., Morales, M.M., Fernández-Sevilla, J.M., Stamatini, I., Molina, E., 2013. Comprehensive model of microalgae photosynthesis rate as a function of culture conditions in photobioreactors. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 97, 7627–37. doi:10.1007/s00253-013-5035-2

-
-
- de Araujo, A.B., Snell, T.W., Hagiwara, A., 2000. Effect of unionized ammonia, viscosity and protozoan contamination on the enzyme activity of the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Aquac. Res.* 31, 359–365.
- de Godos, I., González, C., Becares, E., García-Encina, P. a, Muñoz, R., 2009. Simultaneous nutrients and carbon removal during pretreated swine slurry degradation in a tubular biofilm photobioreactor. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 82, 187–194. doi:10.1007/s00253-008-1825-3
- de Godos, I., Guzman, H.O., Soto, R., García-Encina, P.A., Becares, E., Muñoz, R., Vargas, V.A., 2011. Coagulation/flocculation-based removal of algal-bacterial biomass from piggery wastewater treatment. *Bioresour. Technol.* 102, 923–927. doi:10.1016/j.biortech.2010.09.036
- De la Rubia, M.Á., Walker, M., Heaven, S., Banks, C.J., Borja, R., 2010. Preliminary trials of in situ ammonia stripping from source segregated domestic food waste digestate using biogas: Effect of temperature and flow rate. *Bioresour. Technol.* 101, 9486–9492. doi:10.1016/j.biortech.2010.07.096
- de los Cobos-Vasconcelos, D., García-Cruz, E.L., Franco-Morgado, M., González-Sánchez, A., 2015. Short-term evaluation of the photosynthetic activity of an alkaliphilic microalgae consortium in a novel tubular closed photobioreactor. *J. Appl. Phycol.* doi:10.1007/s10811-015-0612-7
- Dębowski, M., Szwaja, S., Zieliński, M., Kisielewska, M., Stańczyk-Mazanek, E., 2016. The Influence of Anaerobic Digestion Effluents (ADEs) Used as the Nutrient Sources for *Chlorella* sp. Cultivation on Fermentative Biogas Production. *Waste and Biomass Valorization* 1–9. doi:10.1007/s12649-016-9667-1
- Delhoménie, M.C., Bibeau, L., Roy, S., Brzezinski, R., Heitz, M., 2001. Influence of nitrogen on the degradation of toluene in a compost-based biofilter. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 76, 997–1006. doi:10.1002/jctb.472
- Diario Oficial de la Federación, 2010. Norma Oficial Mexicana NOM-001-SECRE-2010, Especificaciones del gas natural. Última reforma publicada DOF 19-03-2010 18–35.
- Drath, M., Kloft, N., Batschauer, A., Marin, K., Novak, J., Forchhammer, K., 2008. Ammonia Triggers Photodamage of Photosystem II in the Cyanobacterium *Synechocystis* sp. Strain PCC 6803. *Plant Physiol.* 147, 206–215. doi:10.1104/pp.108.117218
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., Smith, F., 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28, 350–356.
- Elmitwalli, T., Feng, Y., Behrendt, J., Otterpohl, R., 2006. Anaerobic digestion potential for ecological and decentralised sanitation in urban areas. *Water Sci. Technol.* 53, 45–54. doi:10.2166/wst.2006.276
- Erickson, R.J., 1985. AN EVALUATION OF MATHEMATICAL MODELS FOR. *Water Res.* 1047–1058.
- Estevez, M.M., Linjordet, R., Horn, S.J., Morken, J., 2014. Improving nutrient fixation and dry matter content of an ammonium-rich anaerobic digestion effluent by struvite formation and clay adsorption. *Water Sci. Technol.* 70, 337–344. doi:10.2166/wst.2014.236
- Estrada, J.M., Kraakman, N.J.R.B., Muñoz, R., Lebrero, R., 2011. A comparative analysis of odour treatment technologies in wastewater treatment plants. *Environ. Sci. Technol.* 45, 1100–1106. doi:10.1021/es103478j

-
-
- Evans, M.R., Smith, M.P.W., Deans, E.A., Svoboda, I.F., Thacker, F.E., 1986. Nitrogen and Aerobic Treatment of Slurry. *Agric. Wastes* 15, 205–213.
- Fagerstone, K.D., Quinn, J.C., Bradley, T.H., De Long, S.K., Marchese, A.J., 2011. Quantitative measurement of direct nitrous oxide emissions from microalgae cultivation. *Environ. Sci. Technol.* 45, 9449–9456. doi:10.1021/es202573f
- Fernandez, E., Galvan, A., 2007. Inorganic nitrogen assimilation in *Chlamydomonas*. *J. Exp. Bot.* 58, 2279–2287. doi:10.1093/jxb/erm106
- Fernández, F.G.A., Sevilla, J.M.F., Grima, E.M., 2013. Principles of photobioreactor design, in: *Microalgal Biotechnology: Potencial and Production*. pp. 151–179.
- Flores, E., Herrero, a, 2005. Nitrogen assimilation and nitrogen control in cyanobacteria. *Biochem. Soc. Trans.* 33, 164–167. doi:10.1042/BST0330164
- Franco-Morgado, M., Alcántara, C., Noyola, A., Muñoz, R., González-Sánchez, A., 2017. A study of photosynthetic biogas upgrading based on a high rate algal pond under alkaline conditions: Influence of the illumination regime. *Sci. Total Environ.* 592, 419–425. doi:10.1016/j.scitotenv.2017.03.077
- Fuchs, W., Drogg, B., 2013. Assessment of the state of the art of technologies for the processing of digestate residue from anaerobic digesters. *Water Sci. Technol.* 67, 1984–1993. doi:10.2166/wst.2013.075
- Galindo, P., Sch??ffer, A., Brechtel, K., Unterberger, S., Scheffknecht, G., 2012. Experimental research on the performance of CO₂-loaded solutions of MEA and DEA at regeneration conditions. *Fuel* 101, 2–8. doi:10.1016/j.fuel.2011.02.005
- Gaspar, J., Cormos, A.-M., 2012. Dynamic modeling and absorption capacity assessment of CO₂ capture process. *Int. J. Greenh. Gas Control* 8, 45–55. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.ijggc.2012.01.016
- González-Sánchez, A., Meulepas, R., Revah, S., 2008. Sulfur formation and recovery in a thiosulfate-oxidizing bioreactor. *Environ. Technol.* 29, 847–853. doi:10.1080/09593330801987657
- González-Sánchez, A., Posten, C., 2017. Fate of H₂S during the cultivation of *Chlorella* sp. deployed for biogas upgrading. *J. Environ. Manage.* 191, 252–257. doi:10.1016/j.jenvman.2017.01.023
- González-Sánchez, A., Revah, S., 2007a. The effect of chemical oxidation on the biological sulfide oxidation by an alkaliphilic sulfoxidizing bacterial consortium. *Enzyme Microb. Technol.* 40, 292–298. doi:10.1016/j.enzmictec.2006.04.017
- González-Sánchez, A., Revah, S., 2007b. The effect of chemical oxidation on the biological sulfide oxidation by an alkaliphilic sulfoxidizing bacterial consortium. *Enzyme Microb. Technol.* 40, 292–298. doi:10.1016/j.enzmictec.2006.04.017
- Gonzalez, M. a., Proschold, T., Palacios, Y., Aguayo, P., Inostroza, I., Gomez, P.I., 2013. Taxonomic identification and lipid production of two Chilean *Chlorella*-like strains isolated from a marine and an estuarine coastal environment. *AoB Plants* 5, plt020-plt020. doi:10.1093/aobpla/plt020
- Granada-Moreno, C.I., Aburto-Medina, A., de los Cobos Vasconcelos, D., González-Sánchez, A., 2017. Microalgae community shifts during the biogas upgrading in an alkaline open

-
-
- photobioreactor. *J. Appl. Microbiol.* 123, 903–915. doi:10.1111/jam.13552
- Green, D W; Perry, R.H., 1997. Perry's Chemical Engineers' Handbook, 8 th editi. ed, Society. doi:10.1036/0071422943
- Grobbelaar, J.U., 2004. Algal Nutrition, in: Amos, R. (Ed.), Handbook of Microalgal culture:Biotechnology of Applied Phycology. Blackwell Publishing, UK, pp. 95--115.
- Grobbelaar, J.U., Soeder, C.J., 1985. Respiration losses in planktonic green algae cultivated in raceway ponds. *J. Plankton Res.* 7, 497–506. doi:10.1093/plankt/7.4.497
- Guo, J.S., Abbas, A.A., Chen, Y.P., Liu, Z.P., Fang, F., Chen, P., 2010. Treatment of landfill leachate using a combined stripping, Fenton, SBR, and coagulation process. *J. Hazard. Mater.* 178, 699–705. doi:10.1016/j.jhazmat.2010.01.144
- Gutierrez, J., Kwan, T.A., Zimmerman, J.B., Peccia, J., 2016. Ammonia inhibition in oleaginous microalgae. *Algal Res.* 19, 123–127. doi:10.1016/j.algal.2016.07.016
- Hadiyanto, H., Elmore, S., Van Gerven, T., Stankiewicz, A., 2013. Hydrodynamic evaluations in high rate algae pond (HRAP) design. *Chem. Eng. J.* 217, 231–239. doi:10.1016/j.cej.2012.12.015
- Heubeck, S., Craggs, R.J., Shilton, a., 2007. Influence of CO₂ scrubbing from biogas on the treatment performance of a high rate algal pond. *Water Sci. Technol.* 55, 193. doi:10.2166/wst.2007.358
- Ho, S.H., Chen, C.Y., Chang, J.S., 2012. Effect of light intensity and nitrogen starvation on CO₂ fixation and lipid/carbohydrate production of an indigenous microalga *Scenedesmus obliquus* CNW-N. *Bioresour. Technol.* 113, 244–252. doi:10.1016/j.biortech.2011.11.133
- Huang, X., Huang, Z., Wen, W., Yan, J., 2012. Effects of nitrogen supplementation of the culture medium on the growth, total lipid content and fatty acid profiles of three microalgae (*Tetraselmis subcordiformis*, *Nannochloropsis oculata* and *Pavlova viridis*). *J. Appl. Phycol.* 25, 129–137. doi:10.1007/s10811-012-9846-9
- Janssen, A.J.H., Sleyster, R., Van der Kaa, C., Jochemsen, A., Bontsema, J., Lettinga, G., 1995. Biological sulphide oxidation in a fed-batch reactor. *Biotechnol. Bioeng.* 47, 327–333. doi:10.1002/bit.260470307
- Kao, C.-Y., Chiu, S.-Y., Huang, T.-T., Dai, L., Hsu, L.-K., Lin, C.-S., 2012. Ability of a mutant strain of the microalga *Chlorella* sp. to capture carbon dioxide for biogas upgrading. *Appl. Energy* 93, 176–183. doi:10.1016/j.apenergy.2011.12.082
- Kim, D.J., Lee, D.I., Keller, J., 2006. Effect of temperature and free ammonia on nitrification and nitrite accumulation in landfill leachate and analysis of its nitrifying bacterial community by FISH. *Bioresour. Technol.* 97, 459–468. doi:10.1016/j.biortech.2005.03.032
- Kreutzer, M.T., Kapteijn, F., Moulijn, J.A., Heiszwolf, J.J., 2005. Multiphase monolith reactors: Chemical reaction engineering of segmented flow in microchannels. *Chem. Eng. Sci.* 60, 5895–5916. doi:10.1016/j.ces.2005.03.022
- Kumar, K., Mishra, S.K., Shrivastav, A., Park, M.S., Yang, J.W., 2015. Recent trends in the mass cultivation of algae in raceway ponds. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 51, 875–885. doi:10.1016/j.rser.2015.06.033
- Kumar, S., Cho, J.H., Moon, I., 2014. Ionic liquid-amine blends and CO₂BOLs: Prospective

-
-
- solvents for natural gas sweetening and CO₂ capture technology—A review. *Int. J. Greenh. Gas Control* 20, 87–116. doi:10.1016/j.ijggc.2013.10.019
- Kuypers, M., Sliemers, A., Lavik, G., 2003. Anaerobic ammonium oxidation by anammox bacteria in the Black Sea. *Nature* 422, 2–5. doi:10.1038/nature01526.1.
- Le Borgne, F., Pruvost, J., 2013. Investigation and modeling of biomass decay rate in the dark and its potential influence on net productivity of solar photobioreactors for microalga *Chlamydomonas reinhardtii* and cyanobacterium *Arthrospira platensis*. *Bioresour. Technol.* 138, 271–276. doi:10.1016/j.biortech.2013.03.056
- Lebrero, R., Rodríguez, E., Estrada, J.M., García-Encina, P.A., Muñoz, R., 2012. Odor abatement in biotrickling filters: Effect of the EBRT on methyl mercaptan and hydrophobic VOCs removal. *Bioresour. Technol.* 109, 38–45. doi:10.1016/j.biortech.2012.01.052
- Lee, Y., 2001. Microalgal mass culture systems and methods : Their limitation and potential 307–315.
- Limtrakul, S., Rojanamatin, S., Vatanatham, T., 2005. Gas-Lift Reactor for Hydrogen Sulfide Removal 6115–6122.
- Liu, J., Cheng, X., Zhang, Y., Wang, X., Zou, Q., Fu, L., 2017. Zeolite modification for adsorptive removal of nitrite from aqueous solutions. *Microporous Mesoporous Mater.* 252, 179–187. doi:10.1016/j.micromeso.2017.06.029
- Liu, J., Wang, S., Zhao, B., Qi, G., Chen, C., 2012. Study on mass transfer and kinetics of CO₂ absorption into aqueous ammonia and piperazine blended solutions. *Chem. Eng. Sci.* 75, 298–308. doi:10.1016/j.ces.2012.03.047
- Liu, J., Yuan, C., Hu, G., Li, F., 2012. Effects of light intensity on the growth and lipid accumulation of microalga *Scenedesmus* sp. 11-1 under nitrogen limitation. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 166, 2127–37. doi:10.1007/s12010-012-9639-2
- Madigan, M.T., Martinko, J.M., Parker, J., 2003. Brock: Biología de los microorganismos, 10th ed. Pearson Prentice Hall.
- Mann, G., Schlegel, M., Sakalauskas, R.S. a, 2009. Biogas-conditioning with microalgae. *Agron. Res.* 7, 33–38.
- Markou, G., Muylaert, K., 2016. Effect of light intensity on the degree of ammonia toxicity on PSII activity of *Arthrospira platensis* and *Chlorella vulgaris*. *Bioresour. Technol.* 216, 453–461. doi:10.1016/j.biortech.2016.05.094
- Markou, G., Vandamme, D., Muylaert, K., 2014. Microalgal and cyanobacterial cultivation: The supply of nutrients. *Water Res.* 65, 186–202. doi:10.1016/j.watres.2014.07.025
- Medhi, K., Singhal, A., Chauhan, D.K., Thakur, I.S., 2017. Investigating the nitrification and denitrification kinetics under aerobic and anaerobic conditions by *Paracoccus denitrificans* ISTOD1. *Bioresour. Technol.* 242, 334–343. doi:10.1016/j.biortech.2017.03.084
- Metcalf & Eddy, 2003. Wastewater engineering Treatment and Reuse, 4th editio. ed. McGraw-Hill, New York, USA.
- Mikhodiuk, O.S., Zavarzin, G. a, Ivanovskiĭ, R.N., 2008. Transport systems for carbonate in the extremely natronophilic cyanobacterium *Eubacterium* sp. *Mikrobiologiya* 77, 465–471. doi:10.1134/S002626170804005X

-
-
- Moroney, J. V, Somanchi, A., 1999. Update on Photosynthesis How Do Algae Concentrate CO₂ to Increase the Efficiency of Photosynthetic Carbon Fixation ? 119, 9–16.
- Mudliar, S., Giri, B., Padoley, K., Satpute, D., Dixit, R., Bhatt, P., Pandey, R., Juwarkar, A., Vaidya, A., 2010. Bioreactors for treatment of VOCs and odours - A review. *J. Environ. Manage.* 91, 1039–1054. doi:10.1016/j.jenvman.2010.01.006
- Muñoz, R., Guieysse, B., 2006. Algal-bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: a review. *Water Res.* 40, 2799–815. doi:10.1016/j.watres.2006.06.011
- Muñoz, R., Meier, L., Diaz, I., Jeison, D., 2015b. A review on the state-of-the-art of physical/chemical and biological technologies for biogas upgrading. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* 14, 727–759. doi:10.1007/s11157-015-9379-1
- Nagarkar, S., Williams, G.A., Subramanian, G., Saha, S.K., 2004. Cyanobacteria-dominated biofilms: A high quality food resource for intertidal grazers. *Hydrobiologia* 512, 89–95. doi:10.1023/B:HYDR.0000020313.09924.c1
- Neuman, D., Lynn, S., 1984. Oxidative Absorption of H₂S and O₂ by Iron Chelate Solutions. *AIChE J.* 30, 62–69.
- Noyola, A., Morgan-Sagastume, J.M., López-Hernández, J.E., 2006. Treatment of Biogas Produced in Anaerobic Reactors for Domestic Wastewater: Odor Control and Energy/Resource Recovery. *Rev. Environ. Sci. Bio/Technology* 5, 93–114. doi:10.1007/s11157-005-2754-6
- Olajire, A. a., 2010. CO₂ capture and separation technologies for end-of-pipe applications – A review. *Energy* 35, 2610–2628. doi:10.1016/j.energy.2010.02.030
- Oswald, W.J., 1988. Large scale algal culture systems, in: Borowitzka, M.A. and Borowitzka, L.J. (Ed.), *Micro-Algal Biotechnology*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, pp. 357–394.
- Oyala, P.H., Stich, T.A., Debus, R.J., Britt, R.D., 2015. Ammonia Binds to the Dangler Manganese of the Photosystem II Oxygen-Evolving Complex. *J. Am. Chem. Soc.* 137, 8829–8837. doi:10.1021/jacs.5b04768
- Papacz, W., 2011. BIOGAS AS VEHICLE FUEL. *J. KONES Powertrain Transp.* 18.
- Peng, Y., Zhu, G., 2006. Biological nitrogen removal with nitrification and denitrification via nitrite pathway. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 73, 15–26. doi:10.1007/s00253-006-0534-z
- Perez-Garcia, O., Escalante, F.M.E., de-Bashan, L.E., Bashan, Y., 2011. Heterotrophic cultures of microalgae: Metabolism and potential products. *Water Res.* 45, 11–36. doi:10.1016/j.watres.2010.08.037
- Perez Navarro, M., Ames, W.M., Nilsson, H., Lohmiller, T., Pantazis, D.A., Rapatskiy, L., Nowaczyk, M.M., Neese, F., Boussac, A., Messinger, J., Lubitz, W., Cox, N., 2013. Ammonia binding to the oxygen-evolving complex of photosystem II identifies the solvent-exchangeable oxygen bridge (-oxo) of the manganese tetramer. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 110, 15561–15566. doi:10.1073/pnas.1304334110
- Philip, C. V, Brooks, D.W., 1974. Iron(III) Chelate Complexes of Hydrogen Sulfide and Mercaptans in Aqueous Solution 13, 384–386.
- Posadas, E., Garcia-Encina, P.A., Soltau, A., Dominguez, A., Diaz, I., Muñoz, R., 2013. Carbon and nutrient removal from centrates and domestic wastewater using algal-bacterial biofilm

-
-
- bioreactors. *Bioresour. Technol.* 139, 50–58. doi:10.1016/j.biortech.2013.04.008
- Posadas, E., Marín, D., Blanco, S., Lebrero, R., Muñoz, R., 2017. Simultaneous biogas upgrading and centrate treatment in an outdoors pilot scale high rate algal pond. *Bioresour. Technol.* 232, 133–141. doi:10.1016/j.biortech.2017.01.071
- Posadas, E., Serejo, M.L., Blanco, S., Pérez, R., García-Encina, P. a., Muñoz, R., 2015. Minimization of biomethane oxygen concentration during biogas upgrading in algal–bacterial photobioreactors. *Algal Res.* 12, 221–229. doi:10.1016/j.algal.2015.09.002
- Posten, C., 2009. Design principles of photo-bioreactors for cultivation of microalgae. *Eng. Life Sci.* 9, 165–177. doi:10.1002/elsc.200900003
- Quan, X., Wang, F., Zhao, Q., Zhao, T., Xiang, J., 2009. Air stripping of ammonia in a water-sparged aerocyclone reactor. *J. Hazard. Mater.* 170, 983–988. doi:10.1016/j.jhazmat.2009.05.083
- Quan, X., Ye, C., Xiong, Y., Xiang, J., Wang, F., 2010. Simultaneous removal of ammonia, P and COD from anaerobically digested piggery wastewater using an integrated process of chemical precipitation and air stripping. *J. Hazard. Mater.* 178, 326–332. doi:10.1016/j.jhazmat.2010.01.083
- Randall, R.J., Lewis, A., n.d. Protein measurement with the Folin phenol reagent.
- Renuka, N., Sood, a., Ratha, S.K., Prasanna, R., Ahluwalia, a. S., 2013. Nutrient Sequestration, Biomass Production By Microalgae and Phytoremediation of Sewage Water. *Int. J. Phytoremediation* 15, 789–800. doi:10.1080/15226514.2012.736436
- Revah, S., Morgan-Sagastume, J.M., 2005. Methods of Odor and VOC Control, in: Shareefdeen, Z., Singh, A. (Eds.), *Biotechnology for Odor and Air Pollution Control*. Springer, Germany.
- Rodier J, 1988. Analisis de las aguas. Omega S.A., Barcelona, Spain.
- Ruiz-Marin, A., Mendoza-Espinosa, L.G., Stephenson, T., 2010. Growth and nutrient removal in free and immobilized green algae in batch and semi-continuous cultures treating real wastewater. *Bioresour. Technol.* 101, 58–64. doi:10.1016/j.biortech.2009.02.076
- Ruiz-Martinez, A., Serralta, J., Seco, A., Ferrer, J., 2016. Behavior of mixed Chlorophyceae cultures under prolonged dark exposure. Respiration rate modeling. *Ecol. Eng.* 91, 265–269. doi:10.1016/j.ecoleng.2016.02.025
- Rusten, B., Sahu, A.K., 2011. Microalgae growth for nutrient recovery from sludge liquor and production of renewable bioenergy. *Water Sci. Technol.* 64, 1195. doi:10.2166/wst.2011.722
- Ryckebosch, E., Drouillon, M., Vervaeren, H., 2011. Techniques for transformation of biogas to biomethane. *Biomass and Bioenergy* 35, 1633–1645. doi:10.1016/j.biombioe.2011.02.033
- Sander, R., 2015. Compilation of Henry’s law constants (version 4.0) for water as solvent. *Atmos. Chem. Phys.* 15, 4399–4981. doi:10.5194/acp-15-4399-2015
- Schlüter, M., Groeneweg, J., 1985. The inhibition by ammonia of population growth of the rotifer, *Brachionus rubens*, in continuous culture. *Aquaculture* 46, 215–220. doi:10.1016/0044-8486(85)90207-8
- Serejo, M.L., Posadas, E., Boncz, M.A., Blanco, S., García-Encina, P., Muñoz, R., 2015. Influence of biogas flow rate on biomass composition during the optimization of biogas upgrading in microalgal-bacterial processes. *Environ. Sci. Technol.* 49, 3228–3236. doi:10.1021/es5056116

-
-
- Singh, M., Reynolds, D.L., Das, K.C., 2011. Microalgal system for treatment of effluent from poultry litter anaerobic digestion. *Bioresour. Technol.* 102, 10841–8. doi:10.1016/j.biortech.2011.09.037
- Smith, V.H., Tilman, G.D., Nekola, J.C., 1999. Eutrophication : impacts of excess nutrient inputs on freshwater , marine , and terrestrial ecosystems. *Environmental Pollut.* 100, 179–196.
- Sorokin, D.Y., Kuenen, J.G., 2005. Haloalkaliphilic sulfur-oxidizing bacteria in soda lakes. *FEMS Microbiol. Rev.* 29, 685–702. doi:10.1016/j.femsre.2004.10.005
- Sorokin, D.Y., Lysenko, A.M., Mityushina, L.L., Tourova, T.P., Jones, B.E., Rainey, F.A., Robertson, L.A., Kuenen, G.J., 2001. *Thioalkalimicrobium aerophilum* gen. nov., sp. nov. and *Thioalkalimicrobium sibericum* sp. nov., and *Thioalkalivibrio versutus* gen. nov., sp. nov., *Thioalkalivibrio nitratis* sp. nov. and *Thioalkalivibrio denitrificans* sp. nov., novel obligately alkaliphilic. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 51, 565–580.
- Straub, K.L., Benz, M., Schink, B., Widdel, F., Straub, K.L., Benz, M., Schink, B., 1996. oxidation of ferrous iron . These include : Anaerobic , Nitrate-Dependent Microbial Oxidation of Ferrous Iron 62.
- Strevett, K.A., Vieth, R.F., Grasso, D., 1995. Chemo-autotrophic biogas purification for methane enrichment: mechanism and kinetics. *Chem. Eng. J. Biochem. Eng. J.* 58, 71–79. doi:10.1016/0923-0467(95)06095-2
- Strous, M., Jetten, M., 1997. Effects of aerobic and microaerobic conditions on anaerobic ammonium-oxidizing (anammox) sludge . Effects of Aerobic and Microaerobic Conditions on Anaerobic Ammonium-Oxidizing (Anammox) Sludge 63.
- Su, J., Liu, B., Liu, C., 2001. Comparison of aerobic denitri @ cation under high oxygen atmosphere by *Thiosphaera pantotropha* ATCC 35512 and *Pseudomonas stutzeri* SU2 newly isolated from the activated sludge of a piggery wastewater treatment system 457–462.
- Suganya, T., Varman, M., Masjuki, H.H., Renganathan, S., 2016. Macroalgae and microalgae as a potential source for commercial applications along with biofuels production : A biore fi nery approach. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 55, 909–941. doi:10.1016/j.rser.2015.11.026
- Tan, X.B., Zhang, Y.L., Yang, L. Bin, Chu, H.Q., Guo, J., 2016. Outdoor cultures of *Chlorella pyrenoidosa* in the effluent of anaerobically digested activated sludge: The effects of pH and free ammonia. *Bioresour. Technol.* 200, 606–615. doi:10.1016/j.biortech.2015.10.095
- Tay, W.H., Lau, K.K., Shariff, A.M., 2017. High frequency ultrasonic-assisted chemical absorption of CO 2 using monoethanolamine (MEA). *Sep. Purif. Technol.* 183, 136–144. doi:10.1016/j.seppur.2017.03.068
- Tigini, V., Franchino, M., Bona, F., Varese, G.C., 2016. Is digestate safe? A study on its ecotoxicity and environmental risk on a pig manure. *Sci. Total Environ.* 551–552, 127–132. doi:10.1016/j.scitotenv.2016.02.004
- Tippayawong, N., Thanompongchart, P., 2010. Biogas quality upgrade by simultaneous removal of CO2 and H2S in a packed column reactor. *Energy* 35, 4531–4535. doi:10.1016/j.energy.2010.04.014
- Tock, L., Gassner, M., Maréchal, F., 2010. Thermochemical production of liquid fuels from biomass: Thermo-economic modeling, process design and process integration analysis. *Biomass and Bioenergy* 34, 1838–1854. doi:10.1016/j.biombioe.2010.07.018

-
-
- Toledo-Cervantes, A., Madrid-Chirinos, C., Cantera, S., Lebrero, R., Muñoz, R., 2017. Influence of the gas-liquid flow configuration in the absorption column on photosynthetic biogas upgrading in algal-bacterial photobioreactors. *Bioresour. Technol.* 225, 336–342. doi:10.1016/j.biortech.2016.11.087
- Toledo-Cervantes, A., Morales, M., Novelo, E., Revah, S., 2013. Carbon dioxide fixation and lipid storage by *Scenedesmus obtusiusculus*. *Bioresour. Technol.* 130, 652–658. doi:10.1016/j.biortech.2012.12.081
- Toledo-Cervantes, A., Serejo, M.L., Blanco, S., Pérez, R., Lebrero, R., Muñoz, R., 2016. Photosynthetic biogas upgrading to bio-methane: Boosting nutrient recovery via biomass productivity control. *Algal Res.* 17, 46–52. doi:10.1016/j.algal.2016.04.017
- Torzillo, G., 2004. 2 Photosynthesis in Microalgae. *Microalgal Cult. Biotechnol. Appl. Phycol.* 20–39.
- Torzillo, G., Vonshak, A., 2013. *Environmental Stress Physiology* with 90–113.
- Tredici, M.R., 2010. Photobiology of microalgae mass cultures: understanding the tools for the next green revolution. *Biofuels* 1, 143–162. doi:10.4155/bfs.09.10
- Vázquez-Padín, J.R., Pozo, M.J., Jarpa, M., Figueroa, M., Franco, a, Mosquera-Corral, a, Campos, J.L., Méndez, R., 2009. Treatment of anaerobic sludge digester effluents by the CANON process in an air pulsing SBR. *J. Hazard. Mater.* 166, 336–41. doi:10.1016/j.jhazmat.2008.11.055
- Vílchez, C., Vega, J.M., 1994. Nitrite uptake by *Chlamydomonas reinhardtii* cells immobilized in calcium alginate. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 41, 137–141. doi:10.1007/BF00166096
- Wang, B., Li, Y., Wu, N., Lan, C.Q., 2008. CO₂ bio-mitigation using microalgae. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 79, 707–18. doi:10.1007/s00253-008-1518-y
- Wang, J., Peng, Y., Wang, S., Gao, Y., 2008. Nitrogen Removal by Simultaneous Nitrification and Denitrification via Nitrite in a Sequence Hybrid Biological Reactor. *Chinese J. Chem. Eng.* 16, 778–784. doi:10.1016/S1004-9541(08)60155-X
- WEF, A.A. and A.P.H.A., 2012. *Water Environment Federation, Standard methods for the examination of water and wastewater.*
- Wilkie, A.C., Mulbry, W.W., 2002. Recovery of dairy manure nutrients by benthic freshwater algae. *Bioresour. Technol.* 84, 81–91.
- Wubs, H.J., Beenackers, A., 1994. Kinetics of H₂S adsorption into aqueous ferric solutions of EDTA and HEDTA. *AIChE J.* 40, 433–444.
- Xu, D., Xiao, E., Xu, P., Zhou, Y., He, F., Zhou, Q., Xu, D., Wu, Z., 2017. Bacterial community and nitrate removal by simultaneous heterotrophic and autotrophic denitrification in a bioelectrochemically-assisted constructed wetland. *Bioresour. Technol.* 228, 39–46. doi:10.1016/j.biortech.2016.12.065
- Yan, C., Zheng, Z., 2013. Performance of photoperiod and light intensity on biogas upgrade and biogas effluent nutrient reduction by the microalgae *Chlorella* sp. *Bioresour. Technol.* 139, 292–299.
- Yarnold, J., Ross, I.L., Hankamer, B., 2015. Photoacclimation and productivity of *Chlamydomonas reinhardtii* grown in fluctuating light regimes which simulate outdoor algal culture conditions.

Algal Res. 13, 182–194. doi:10.1016/j.algal.2015.11.001

Zhao, Q., Leonhardt, E., Macconnell, C., Frear, C., Chen, S., 2010. Purification Technologies for Biogas Generated by Anaerobic Digestion.

Zhi, W., Ji, G., 2014. Quantitative response relationships between nitrogen transformation rates and nitrogen functional genes in a tidal flow constructed wetland under C/N ratio constraints. *Water Res.* 64, 32–41. doi:10.1016/j.watres.2014.06.035

Zhu, L., Dong, D., Hua, X., Xu, Y., Guo, Z., Liang, D., 2017. Ammonia nitrogen removal and recovery from acetylene purification wastewater by air stripping. *Water Sci. Technol.* 75, 2538–2545. doi:10.2166/wst.2017.117

ANEXO I. PROPUESTA DE LOS MECANISMOS FÍSICOS, QUÍMICOS Y BIOLÓGICOS QUE SE LLEVAN A CABO EN UN FOTOBIOREACTOR HRAP EN MEDIO ALCALINO-BÁSICO (pH > 9)

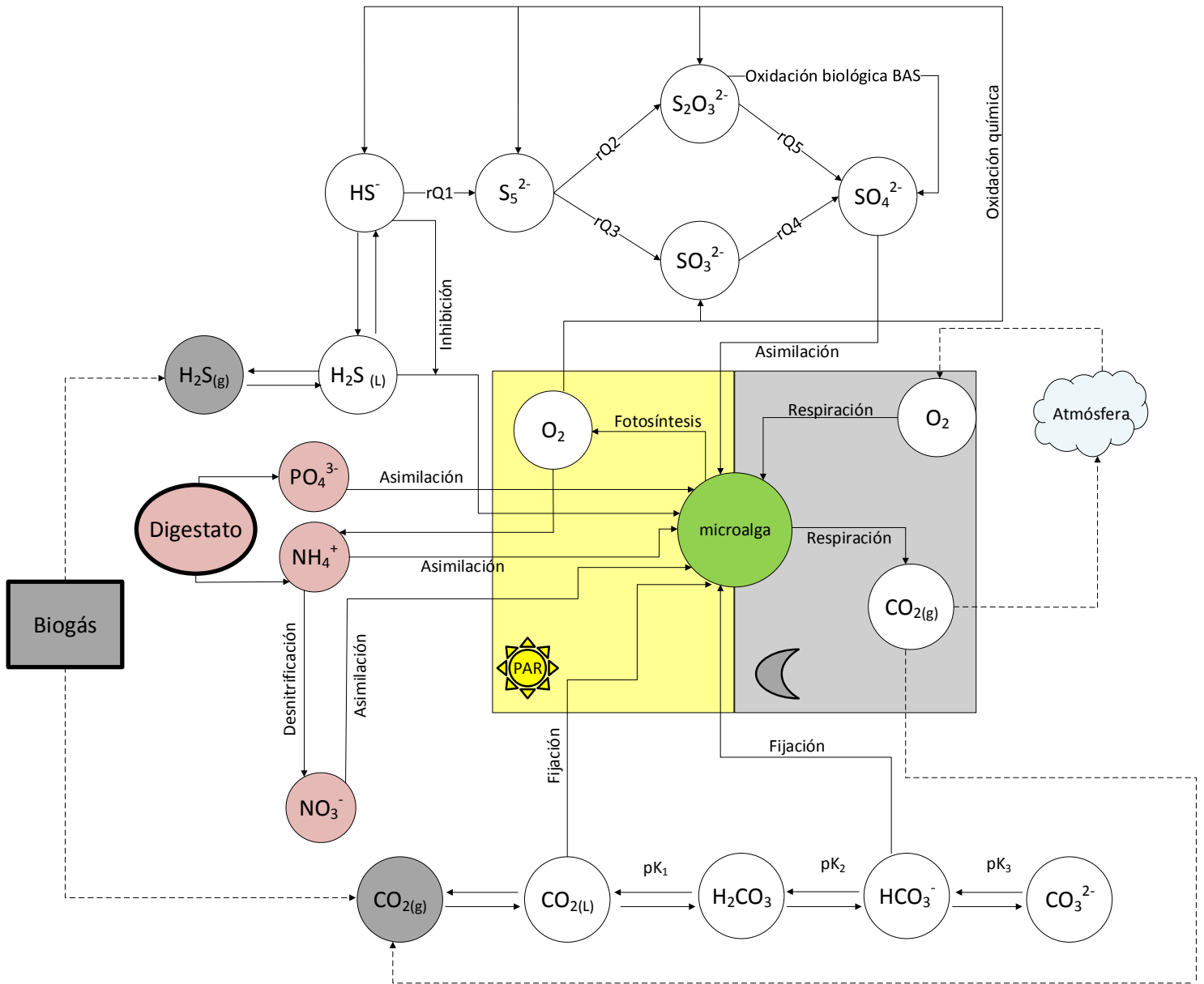


Figura AI.24 Mecanismos físicos, químicos y biológicos que se verifican en un fotobiorreactor HRAP en un medio alcalino-básico (pH=9.3)