



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

EFFECTO DE IONES METÁLICOS SOBRE LA METANOGÉNESIS EN LA DIGESTIÓN
ANAEROBIA DE RESIDUOS SÓLIDOS ORGÁNICOS URBANOS

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

PRESENTA:
GABRIELA MARISCAL JURADO

TUTOR PRINCIPAL
ALFONSO DURÁN MORENO, FACULTAD DE QUÍMICA

COMITÉ TUTOR
GERMÁN BUITRÓN MÉNDEZ, INSTITUTO DE INGENIERÍA
CONSTANTINO GUTIÉRREZ PALACIOS, FACULTAD DE INGENIERÍA

MÉXICO, D. F. OCTUBRE 2014

JURADO ASIGNADO:

Presidente: Dra. Moeller Chávez Gabriela Eleonora

Secretario: M. I. Gutiérrez Palacios Constantino

1 er. Vocal: Dr. Buitrón Méndez Germán

2 do. Vocal: Dr. Moreno Andrade Iván

3 er. Vocal: Dr. Duran Moreno Alfonso

Lugar donde se realizó la tesis: Laboratorio de Ingeniería Química Ambiental y Química de Alimentos, laboratorio 301, Conjunto E, Facultad de Química, Ciudad Universitaria.

TUTOR DE TESIS:

ALFONSO DURÁN MORENO

FIRMA

Agradecimientos

Principalmente quiero agradecer a Dios porque sin el nada de esto sería posible.

Jambién quiero agradecer a todas aquellas personas e instituciones que de una u otra forma me han ayudado a llegar aquí, y de forma muy especial:

A mis padres por su apoyo en esta etapa, a mi papá por seguirme manteniendo y permitirme cumplir esta meta, a mi mamá por seguirme atendiendo y preparándome comida para la escuela. A mis hermanas por acompañarme en el transcurso de esta etapa. A Guillermo por todo su apoyo y comprensión durante esas horas, fines de semana y vacaciones que han sido dedicadas a este trabajo, gracias.

Al profesor Dr. Alfonso Durán Moreno, tutor de este trabajo de tesis, por todas sus consejos, comentarios y ayuda, por las correcciones del documento de tesis y en resumen por todo el apoyo que me ha brindado tanto en el ámbito escolar y científico como en el personal.

A los miembros del jurado ampliado por ser parte de la evaluación de este trabajo así como a los miembros de mi comité tutorial quienes semestre con semestre evaluaron y aportaron comentarios, sugerencias y críticas constructivas que han ayudado a la elaboración del presente documento.

A mis amigos de la maestría, Sandra y Mario, por todas las horas que pasamos juntos estudiando y/o perdiendo el tiempo, soportándonos en los momentos de estrés y divirtiéndonos cuando ya era justo y necesario.

Al grupo de trabajo del laboratorio 301 del conjunto J de la Facultad de Química por sus aportaciones, sugerencias y por los buenos ratos que me han hecho pasar, en especial a Iván por su colaboración en la parte experimental y por todas las horas gastadas ayudándome en el laboratorio, en cada uno de los montajes de las pruebas. También quiero agradecer a la M. Rafaela por su apoyo incondicional en el inicio de este trabajo.

Al CONACYT por la beca de maestría que he disfrutado durante estos dos años, y al proyecto FONDECYT 174710 que de una forma u otra hizo posible la realización del presente trabajo. Por último y no menos importante a la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación (USAI) de la Facultad de Química por el apoyo en algunas de las pruebas analíticas de este trabajo.

Contenido

Contenido	4
Lista de Figuras	6
Lista de Tablas	8
Nomenclatura	10
Resumen	11
Abstract	13
1 Introducción	15
2 Marco Teórico.....	17
2.1 Digestión Anaerobia	17
2.1.1 Hidrólisis.....	17
2.1.2 Acidogénesis y Acetogénesis	19
2.1.3 Metanogénesis	30
2.2 Factores que afectan la producción de biogás.....	34
2.3 Elementos traza y su función como cofactores	38
2.3.1 Molibdeno.....	40
2.3.2 Selenio y Cobalto	40
2.3.3 Hierro y Níquel.....	40
2.3.4 Tungsteno	41
2.3.5 Presencia de selenio, molibdeno, tungsteno y níquel en fuentes naturales	42
2.4 Pruebas de actividad metanogénica	43
3 Metodología.....	43
3.1 Etapa 1. Obtención de la muestra de residuos sólidos orgánicos urbanos generados en la delegación Benito Juárez	49
3.2 Etapa 2. Pruebas de Potencial Bioquímico de Metano (PBM) con diferentes relaciones inóculo:sustrato	50
3.3 Etapa 3. Desarrollo experimental de la técnica de Actividad Metanogénica (AME).....	51
3.4 Etapa 4. Pruebas de Actividad Metanogénica. Influencia de la adición de una solución nutritiva y la adición de una solución de iones metálicos	52
3.5 Etapa 5. Pruebas de Actividad Metanogénica. Diseño de mezclas simplex centroide aumentado	54

3.6	Etapa 6. Cuantificación de Metales.....	55
3.7	Etapa 7. Pruebas de Potencial Bioquímico de Metano con FORSU adicionando iones metálicos.....	56
3.8	Tratamiento de Resultados.....	57
3.9	Determinaciones Analíticas	57
4	Resultados.....	58
4.1	Etapa 1. Obtención de la muestra de residuos sólidos orgánicos urbanos generados en la delegación Benito Juárez.	58
4.2	Etapa 2. Pruebas de Potencial Bioquímico de Metano con diferentes relaciones de inóculo:sustrato en el equipo de potencial bioquímico de metano	60
4.3	Etapa 3. Desarrollo experimental de la técnica de Actividad Metanogénica.....	65
4.4	Etapa 4. Pruebas de Actividad Metanogénica. Influencia de la adición de una solución nutritiva y la adición de una solución de iones metálicos.	66
4.5	Etapa 5. Pruebas de Actividad Metanogénica. Diseño de mezclas simplex centroide aumentado.	70
4.6	Etapa 6. Cuantificación de metales.....	74
4.7	Etapa 7. Pruebas de Potencial Bioquímico de metano con FORSU adicionando iones metálicos.....	75
5	Conclusiones	80
6	Recomendaciones para trabajos futuros.....	81
7	Referencias	82
8	Anexos	90

Lista de Figuras

Figura 1. Interacciones microbianas en el proceso de degradación anaerobia (Almeida <i>et al.</i> , 2011)..	18
Figura 2. Ruta de Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) para la glucosa.....	21
Figura 3. Ruta Entner-Doudoroff para glucosa.	22
Figura 4. Productos finales de la fermentación de carbohidratos.	23
Figura 5. Formación de acetato a partir de piruvato por <i>E. coli</i>	23
Figura 6. Conversión de CO ₂ a acetato por <i>Clostridium thermoaceticum</i>	24
Figura 7. Formación de butirato por el género <i>Clostridium</i>	25
Figura 8. Formación de butanol y acetona por el género <i>Clostridium</i>	25
Figura 9. Formación de ácido propiónico, ruta de propionato-succinato.....	27
Figura 10. Formación de ácido propiónico mediante la ruta del acrilato.	27
Figura 11. Ruta de fosfoacetolasa (FK) y enzimas involucradas para la formación de gliceraldehído 3-fosfato y acetilfosfato.....	28
Figura 12 . Obtención de butanodiol y acetoína por bacterias entéricas.....	28
Figura 13. Obtención de acetoína, lactato, acetato y dióxido de carbono por bacterias ácido lácticas..	28
Figura 14. Ruta de metanol realizada por arqueas metanogénicas para la síntesis de metano.....	33
Figura 15. Ruta de Acetato realizada por arqueas metanogénicas para la síntesis de metano.	33
Figura 16. Ruta de H ₂ /CO ₂ o por formiato realizada por arqueas metanogénicas para la síntesis de metano.....	34
Figura 17. Holoenzima formada al unirse el cofactor y la coenzima a la apoenzima.....	38
Figura 18. Diagrama de metodología experimental de este trabajo de investigación.....	48
Figura 19. Actividades y equipo utilizado durante la experimentación. A) Disgregación de lodos. B) Exceso de agua contenido en los lodos. C) Centrifugado de lodos. D) Lodos centrifugados. E) Reactores conectado en serie para agitación mecánica dentro del baño maría a 35°C. F) Frascos de NaOH 3 M con indicador para absorción de CO ₂ generado. G) Medición del volumen generado mediante el principio de flotación de una burbuja de gas. H) Etiquetado de reactores. I) Adición de gas N ₂ para mantener una atmósfera anaerobia en los reactores.....	54
Figura 20. Resultados en porcentaje obtenidos de la selección y cuantificación de subproductos de los residuos orgánicos muestreados en la estación de transferencia de la delegación Benito Juárez.	59
Figura 21. Proporción de macromoléculas en la FORSU de la delegación Benito Juárez.....	60

Figura 22. Comportamiento del metano producido durante las pruebas de relación Inóculo:sustrato a condiciones estándar de presión y temperatura.	61
Figura 23. Producción de metano para cada relación inóculo:sustrato.	62
Figura 24. Índice tampón (IB) y relación alfa, valores obtenidos al finalizar los experimentos para las diferentes relaciones inóculo:sustrato.	62
Figura 25. Intervalos alrededor de la media basados en la prueba de la diferencia menos significativa (LSD).	64
Figura 26. Valores de los índices de alcalinidad, relación alfa e índice tampón (IB).	66
Figura 27. Volumen acumulado de metano para las condiciones del diseño factorial 2^2	67
Figura 28. Diagrama de Pareto para el diseño factorial 2^2	68
Figura 29. Diagrama de efectos principales A) y de interacción de los efectos B).	69
Figura 30. Gráfica de residuales con un patrón de distribución aleatoria.	69
Figura 31. DQO disuelta y total, inicial y final para cada condición del diseño factorial 2^2	70
Figura 32. Contornos de la superficie de respuesta estimada para $Mo^{+6}=0$	73
Figura 33. Superficie de respuesta estimada para $Mo^{+6}=0$	74
Figura 34. Gráfica de residuales.	74
Figura 35. Volumen acumulado de metano para las pruebas de: 0.6 g de SV de inóculo y 0.3 g de SV de FORSU. (0.6:0.3) y para 3 g de SV de inóculo y 1.5 g de FORSU (3:1.5). <i>FORSU</i> : pruebas con adición de solo FORSU e inóculo; <i>FORSU + IM</i> : pruebas con adición de FORSU, inóculo y mezcla de iones metálicos.	76
Figura 36. Incremento y decremento en la producción del volumen acumulado de metano para 3 g de SV de inóculo y 1.5 g de FORSU (relación 3:1.5) y para 0.6 g de SV de inóculo y 0.3 g de SV (relación 0.6:0.3).	77

Lista de Tablas

Tabla 1. Enzimas involucradas en la Ruta Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) y su interacción con algún ión metálico del interés de este trabajo, sea un efecto positivo (+), negativo (-) o indefinido (i) siendo solamente reportado como parte de la enzima.	21
Tabla 2. Enzimas involucradas en la Ruta Entner-Doudoroff y su interacción con algún ión metálico del interés de este trabajo sea un efecto positivo (+), negativo (-) o indefinido (i) siendo solamente reportado como parte de la enzima.....	22
Tabla 3. Enzimas involucradas en los diferentes tipos de fermentación y su interacción con algún ión metálico del interés de este trabajo sea un efecto positivo (+), negativo (-) o indefinido (i) siendo solamente reportado como parte de la enzima.	29
Tabla 4. Algunas fuentes de carbono utilizadas por las arqueas metanogénicas.	31
Tabla 5. Enzimas involucradas en los diferentes tipos de metanogénesis y su interacción con algún ión metálico del interés de este trabajo sea un efecto positivo (+), negativo (-) o inconcluso (i) siendo solamente reportado como parte de la enzima.	32
Tabla 6. Requerimiento de nutrientes para un tratamiento biológico anaerobio (Fulekar, 2011).	36
Tabla 7. Intervalos de concentración de cationes (Fulekar, 2011).....	37
Tabla 8. Concentración de metales reportado en la literatura.	41
Tabla 9. Concentración de metales reportados en la literatura.	42
Tabla 10. Formas naturales de obtención de Se, Mo, W y Ni(Sharma D., 2013; USDA, 2012; NIH, 2013; NYU, 2013).	42
Tabla 11. Sustratos comúnmente empleados en pruebas de actividad del inóculo (Soto <i>et al.</i> , 1993; Muxi <i>et al.</i> , 1992).	43
Tabla 12. Relaciones de inóculo sustrato (R I:S).	51
Tabla 13. Condiciones encontradas en la etapa 3 y utilizadas en las etapas 4 y 5.	52
Tabla 14. Composición y concentración final de la solución nutritiva utilizada en cada reactor.	52
Tabla 15. Condiciones evaluadas en el equipo de potencial bioquímico de metano, experimento 4. ...	53
Tabla 16. Tratamientos del diseño de mezclas simplex centroide aumentado.	55
Tabla 17. Pruebas con FORSU con la mezcla óptima de iones metálicos.	56
Tabla 18. Técnicas analíticas a utilizar en el trabajo experimental.	57
Tabla 19. Caracterización fisicoquímica de la FORSU generada en la delegación Benito Juárez.	59
Tabla 20. Caracterización del inóculo de Grupo Modelo antes del acondicionamiento utilizado en las pruebas de relación inóculo:sustrato.....	61

Tabla 21. Volumen final acumulado de metano y producción de metano, a condiciones estándar de presión y temperatura (0°C y 1 atm) para las relaciones de inóculo:sustrato evaluadas.	61
Tabla 22. Tabla de resultados del análisis de varianza ANOVA para las cuatro relaciones inóculo:sustrato.....	63
Tabla 23. Resultados de la prueba estadística de comparación de rangos múltiples, LSD.....	64
Tabla 24. Pruebas de rango múltiple (LSD).	65
Tabla 25. Condiciones de las pruebas experimentales (etapa 4 y 5). Desarrollo de la técnica de AME.	65
Tabla 26. Resultados de la AME con formiato de sodio y con una mezcla de ácidos grasos volátiles (acetato, propionato y butirato).	66
Tabla 27. Valores obtenidos de AME para el diseño factorial 2 ²	67
Tabla 28. Análisis de varianza del diseño factorial 2 ²	68
Tabla 29. Valores de remoción de DQO total y soluble promedio para cada condición del diseño factorial 2 ²	70
Tabla 30. Valores de actividad metanogénica específica para el diseño de mezclas.	70
Tabla 31. Estimación de efectos del modelo completo de la AME.	72
Tabla 32. Resultados estadísticos por modelo.....	72
Tabla 33. Resultados del análisis de varianza ANOVA.	72
Tabla 34. Resultados de contenido de Se, Mo, W y Ni en el lodo anaerobio granular y en la FORSU generada en la delegación Benito Juárez.	74
Tabla 35. Resultados de producción final promedio de las pruebas de FORSU y adición de iones metálicos, remoción de DQO y parámetros de alcalinidad.	77
Tabla 36. ANOVA de una vía para la prueba 1.	78
Tabla 37. Valor promedio e intervalos de la prueba LSD a un 95% de confianza de la producción de metano para cada tratamiento de la prueba 1.....	78
Tabla 38. ANOVA de una vía para la prueba 2.	79
Tabla 39. Valor promedio e intervalos de la prueba LSD a un 95% de confianza de la producción de metano para cada tratamiento de la prueba 2.....	79

Nomenclatura

AME	Actividad metanogénica específica
atm	Atmósferas, unidad de presión.
CODH	Enzima monóxido de carbono deshidrogenasa
DQO	Demanda química de oxígeno
EC	Comisión enzimática (Enzyme Commission)
EMP	Ruta Bioquímica Embden-Meyerhof-Parnas
FORSU	Fracción Orgánica de los Residuos Sólidos Urbanos
ED	Ruta Bioquímica Entner-Doudoroff
HM	Ruta bioquímica Hexosa Monofosfato
IB	Índice tampón (índice de alcalinidad)
M	Concentración molar [mol/L]
NADH	Nicotinamida adenina dinucleótido
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
NAFDH	Flavín adenín dinucleótido
pH	Potencial de hidrógeno
PK	Ruta Bioquímica Fosfocetolasa
R I:S	Relación inóculo:sustrato
RSU	Residuos Sólidos Urbanos
T	Temperatura
THF	Coenzima tetrahidrofolato
USAI	Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación de la Facultad de Química

Resumen

En el proceso de digestión anaerobia de la Fracción Orgánica de Residuos Sólidos Urbanos (FORSU) existen pocos reportes que evalúan la influencia de la presencia de iones metálicos sobre la actividad metanogénica, en México no se tienen reportes al respecto. El Ni, Co, W, Se, Mo y Fe en cantidades traza son esenciales debido a que son cofactores de enzimas involucradas en diferentes etapas del proceso de digestión anaerobia. Limitar la disponibilidad de estos iones metálicos requeridos por las enzimas afecta todo el proceso de digestión anaerobia (Facchin *et al.*, 2012). La formación de metano a partir de H₂ y CO₂ es favorable (metanogénesis hidrogenotrófica), sin embargo por esta vía se genera solamente del 27-30% de metano, el resto es generado por la vía acetoclástica (Almeida *et al.*, 2011). En este trabajo se pretendió cubrir la presencia de iones metálicos (Ni⁺², Se⁺⁴, Mo⁺⁶ y W⁺⁶) necesarios para las enzimas involucradas en la ruta hidrogenotrófica con la finalidad de aumentar la producción de metano.

Este estudio se dividió en siete etapas, la primera consistió en la toma de muestra y caracterización de la FORSU de la delegación Benito Juárez. En la segunda etapa, con esta misma muestra de FORSU, se determinó la mejor relación inóculo:sustrato con la finalidad de conocer aquella que generará más metano y con la cual se evitara una posible inhibición en el proceso de digestión anaerobia, con esta misma relación inóculo:sustrato se llevaron a cabo las pruebas de la etapa final de este trabajo.

Posteriormente, en la tercera etapa, se llevó a cabo el desarrollo de la técnica para la determinación de la actividad metanogénica, con la finalidad de establecer las condiciones experimentales bajo las cuales se llevarían a cabo las posteriores pruebas de actividad. Se determinó la actividad metanogénica sin la adición de iones metálicos con el uso de formiato, acetato y una mezcla de ácidos grasos volátiles (acetato, propionato y butirato).

En la cuarta etapa se realizó un diseño factorial 2², teniendo como factores la adición o no de nutrientes y la adición o no de metales (variables categóricas). La finalidad de este diseño experimental fue encontrar si existía o no una sinergia al mezclar iones metálicos con una solución nutritiva. Esta sinergia no se encontró, por lo tanto se concluyó que no existe una diferencia estadísticamente significativa al adicionar la solución nutritiva; debido a esto se procedió a obtener una mezcla de iones metálicos que maximizara la producción de metano mediante la ruta de metanogénesis hidrogenotrófica.

La quinta etapa consistió en un diseño de mezclas simplex centroide aumentado bajo el cual fue posible evaluar mezclas, puras, binarias, terciarias y cuaternarias de los iones metálicos; el modelo matemático que describe el efecto de los iones metálicos sobre la actividad metanogénica tuvo un ajuste del 90% y bajo estas condiciones la combinación de efectos que maximiza la actividad metanogénica es con 0.125 mg/L de Se⁺⁴ y W⁺⁶ respectivamente.

La sexta etapa de este trabajo de investigación consistió en cuantificar el contenido de metales (Se, Mo, W y Ni) en la FORSU generada en la delegación Benito Juárez, siendo ésta rica en Ni

principalmente, seguido de Mo, y W en muy poca proporción. El Se no fue posible cuantificarlo probablemente por estar presente en una cantidad por debajo del límite de detección del método.

Finalmente se estudió el efecto de los iones metálicos Se^{+4} y W^{+6} (esto de acuerdo a las condiciones que maximizaron la actividad metanogénica en el diseño de mezclas simplex centroide aumentado) en la digestión de la FORSU de la delegación Benito Juárez, encontrándose que el uso de estos iones a las concentraciones utilizadas, no tiene un efecto estadísticamente significativo sobre la producción de metano comparado con la digestión anaerobia sin el uso de iones metálicos; sin embargo, se mejoró la estabilidad del proceso de digestión anaerobia viéndose reflejado en los índices de alcalinidad (relación alfa e índice tampón, IB).

Abstract

In the anaerobic digestion process the fact of not understanding or underestimate the nutritional requirements of methanogen microorganisms causes a disadvantage in the commercial application of the process. Ni, Co, W, Se, Mo and Fe in trace amounts are essential because they are enzymes cofactors involved in different stages of the anaerobic digestion process. To limit the availability of these metal ions affects the enzymes required for the entire process of anaerobic digestion (Facchin *et al.*, 2012). Biological formation of methane from H₂ and CO₂ is favorable (hydrogenotrophic methanogenesis) however by this route is generated only 27-30 % methane, the rest is generated by the acetoclastic pathway (Almeida *et al.*, 2011). This study aimed to meet the need of metal ions (Ni, Se, Mo and W) required for enzymes involved in the hydrogenotrophic route in order to increase the production of methane.

This study was divided in seven stages; the first one was about how to take the sample of the organic fraction of the municipal solid waste generated in Benito Juárez and the characterization of it. In the second stage was studied with the same kind of waste different relations inoculum:substrate to avoid an inhibition on the anaerobic process. With this relation inoculum:substrate was carried out the last stage of this study.

In the third stage, was carried out the technique development for determining the methanogenic activity tests and with the intention to determine the best conditions of it. It was determined the methanogenic activity with formate, acetate and a mixture of volatile fatty acids (acetate, propionate and butyrate).

In the fourth stage was made a factorial design 2² with categorical variables, the addition or not of a nutritive solution and the addition or not of a metal ions solution. The purpose of this design was to know whether or not there is a synergy when a metal ions solution and a nutrient solution were mixed. This synergy was not found, it was obtained that not exist a significant difference by adding the nutrient solution, thus it was proceeded to obtain a mixture of metal ions that maximize the methane production by hydrogenotrophic methanogenesis pathway.

In the fifth stage was carried out a design of mixtures named simplex increased centroid. In this kind of design is possible to evaluate pure, binary, tertiary and quaternary mixtures. The mathematical model obtained, under which, it is possible to describe the effect of the metal ions on the methanogenic activity, had a fit of 90%. The combination of metal ions that maximizes the methanogenic activity is with 0.125 mg/L of W⁺⁶ and Se⁺⁴, respectively.

The sixth stage of this research was about the quantification of Se, Mo, W y Ni contained in the organic fraction of the municipal solid waste generated in Benito Juárez. The results were that Ni was found in a bigger proportion followed by Mo and W in a low proportion. The Se was not identified; it was probably contained in a quantity under the detection limit of the analytical method.

In the seventh stage was studied the effect of the addition of the metal ions Se⁺⁴ and W⁺⁶ (according to results of the design of mixtures that maximizes the methanogenic activity) on the anaerobic digestion

of the organic fraction of the municipal solid waste generated in Benito Juárez. It was found that statistically the metal ions mixture does not have a significance effect on the methane production, at least not at the concentrations that was used. However this metal ions mixture affects in a positive way the process stability improving the alkalinity numbers.



1 Introducción

La generación progresiva de residuos sólidos urbanos (RSU), principalmente en las grandes urbes, constituye un motivo de preocupación debido a los graves problemas ambientales y de salud que acarrea su gestión ineficiente. La valorización de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos (FORSU) puede contribuir a atenuar estos problemas al disminuir la cantidad de residuos que se disponen y al obtener subproductos útiles, trayendo consigo impactos positivos en el medio ambiente.

Existen dos procesos de conversión de los RSU a una materia prima para la obtención de energía, éstos son los de: a) *tipo biológico*, efectuados por bacterias mediante el proceso de digestión anaerobia el cual ocurre de manera natural en los rellenos sanitarios y sitios no controlados o bien en reactores donde se acelera este proceso generando una mezcla de gases, llamado biogás rico en CH_4 y CO_2 , ambos gases de efecto invernadero y a partir del cual se puede utilizar para generar energía; y b) *tipo térmico* como son la incineración, pirólisis y gasificación.

La digestión anaerobia es un proceso mediante el cual la materia orgánica es convertida por acción de los microorganismos bajo condiciones anaerobias en biogás (Angelidaki *et al.*, 2011). Los microorganismos degradan la materia orgánica mediante diversas reacciones bioquímicas obteniendo como productos finales principalmente CH_4 y CO_2 . Estos diversos grupos de microorganismos que interactúan entre sí en una dinámica metabólica compleja, estando constituida principalmente por 4 etapas: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis.

La disponibilidad de elementos traza como micronutrientes juega un papel importante en el desempeño y estabilidad del proceso de digestión anaerobia (Demirel y Scherer, 2011). Metales como Fe, Ni, Co, Mo, Se y W en cantidades traza, son necesarios para el crecimiento de diversos tipos de arqueas metanógenas tales como: *Methanosarcina barkeri*, *Methanospirillum hungatei*, *Methanocorpusculum parvum*, *Methanobacterium thermoautotrophicum* y *wolfei*, *Methanococcus voltae* (Jones y Stadtman, 1977; Taylor y Pirt, 1977; Schonheit y Thauer, 1979; Scherer y Sahm, 1981; Whitman, Ankwarda, y Wolfe, 1982). El Ni, Co, W, Se, Mo y Fe en cantidades traza son esenciales debido a que son cofactores de enzimas involucradas en las diferentes etapas del proceso de digestión anaerobia.

La producción de metano se lleva a cabo gracias a las arqueas metanogénicas, mediante la conversión de acetato e hidrógeno y dióxido de carbono, principalmente, sin embargo también ha sido reportado que pueden utilizar otros compuestos tales como alcoholes y compuestos metilados, para la formación de metano.

Las arqueas obtienen energía mediante la conversión de sustratos a metano, existiendo principalmente tres rutas: metanogénesis vía acetato; metanogénesis vía metanol y metanogénesis vía hidrogenotrófica. En cada una de estas rutas existen enzimas que requieren de algún ion metálico para su activación, la deficiencia de éstos, puede afectar todo el proceso de digestión.



Por lo anterior se plantearon los siguientes objetivos para este trabajo de investigación:

Objetivo General

Evaluar la influencia de los iones metálicos, en la etapa de metanogénesis de la digestión anaerobia de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos (FORSU), generada en la delegación Benito Juárez, para la producción de biogás.

Objetivos particulares

Como objetivos particulares de este trabajo de investigación se plantean los siguientes:

- Determinar la existencia o no de una sinergia al usar una solución nutritiva y una mezcla de iones metálicos sobre la actividad metanogénica con formiato de sodio como sustrato.
- Evaluar la influencia de los iones metálicos del interés de este trabajo en la actividad metanogénica con formiato de sodio como sustrato.

Como alcances de este trabajo de investigación se plantean los siguientes:

- La identificación de los iones metálicos e importancia que éstos tienen sobre la digestión anaerobia de carbohidratos debido a que estas macromoléculas constituyen el mayor porcentaje en la FORSU de la delegación Benito Juárez.
- El estudio del efecto de los iones metálicos sobre la actividad metanogénica vía formiato.

Hipótesis

Si a un reactor anaerobio que trata residuos sólidos urbanos orgánicos se adicionan elementos traza (Ni, Co, Mo, Se, Fe y W) se incrementará entonces la producción de biogás.

En este trabajo se pretende que la adición de Ni, Mo, Se y W (de forma individual o en mezcla) afecte positivamente la actividad del inóculo en la etapa de metanogénesis del proceso anaerobio, debido a su presencia en las enzimas de esta última etapa.



2 Marco Teórico

En este capítulo se presenta de manera breve antecedentes teóricos referentes al proceso de digestión anaerobia, cada una de las etapas que lo conforman así como las enzimas involucradas; posteriormente se abordan los factores que pueden afectar el proceso de digestión y finalmente la importancia de los iones metálicos que influyen en el proceso de digestión anaerobia así como su presencia en fuentes naturales.

2.1 Digestión Anaerobia

La digestión anaerobia permite la generación de compuestos de valor agregado a partir de materiales de desecho, principalmente metano (Almeida *et al.*, 2011). Esta etapa incluye una serie de procesos, en los cuales diversos grupos de microorganismos interactúan entre sí en una dinámica metabólica compleja, estando constituida principalmente por 4 etapas: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis.

Durante la digestión microbiana intervienen al menos 11 grupos de microorganismos diferentes, en la Figura 1 se representa la interacción de estos grupos en las diferentes etapas de la digestión anaerobia.

En el metabolismo anaerobio participan microorganismos facultativos y anaerobios obligados. De acuerdo al tipo de sustrato utilizado (carbohidratos, lípidos o proteínas) la formación de metano y otros subproductos será diferente de acuerdo a las rutas bioquímicas de degradación de cada macromolécula. Con base en la caracterización de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos de la delegación Benito Juárez se investigó la influencia de los iones metálicos reportados en la literatura que tenían alguna interacción con enzimas involucradas en las rutas de degradación de carbohidratos, debido a que éstos constituyen el mayor porcentaje de macromoléculas en los residuos utilizados.

2.1.1 Hidrólisis

Esta etapa se refiere a la descomposición de biopolímeros orgánicos mediante enzimas extracelulares (hidrolasas) a monómeros y dímeros, con la finalidad de que estos subproductos sean capaces de atravesar la membrana celular. Este proceso es llevado a cabo mediante bacterias hidrolíticas.

La importancia de las bacterias hidrolíticas radica en la velocidad con la que éstas solubilizan la materia particulada y se ha comprobado que dicha velocidad de hidrólisis depende del tipo de sustrato, de su origen así como de la previa adaptación del inóculo anaerobio al sustrato (Doyle *et al.*, 1983; Gavala y Liberatos, 2001); la naturaleza del sustrato determina el tipo y cantidad de bacterias



hidrolíticas presentes, la mayoría de este tipo de bacterias está adherida al sustrato antes de la hidrólisis extensiva (Pretti Rao y Seenayya, 1994).

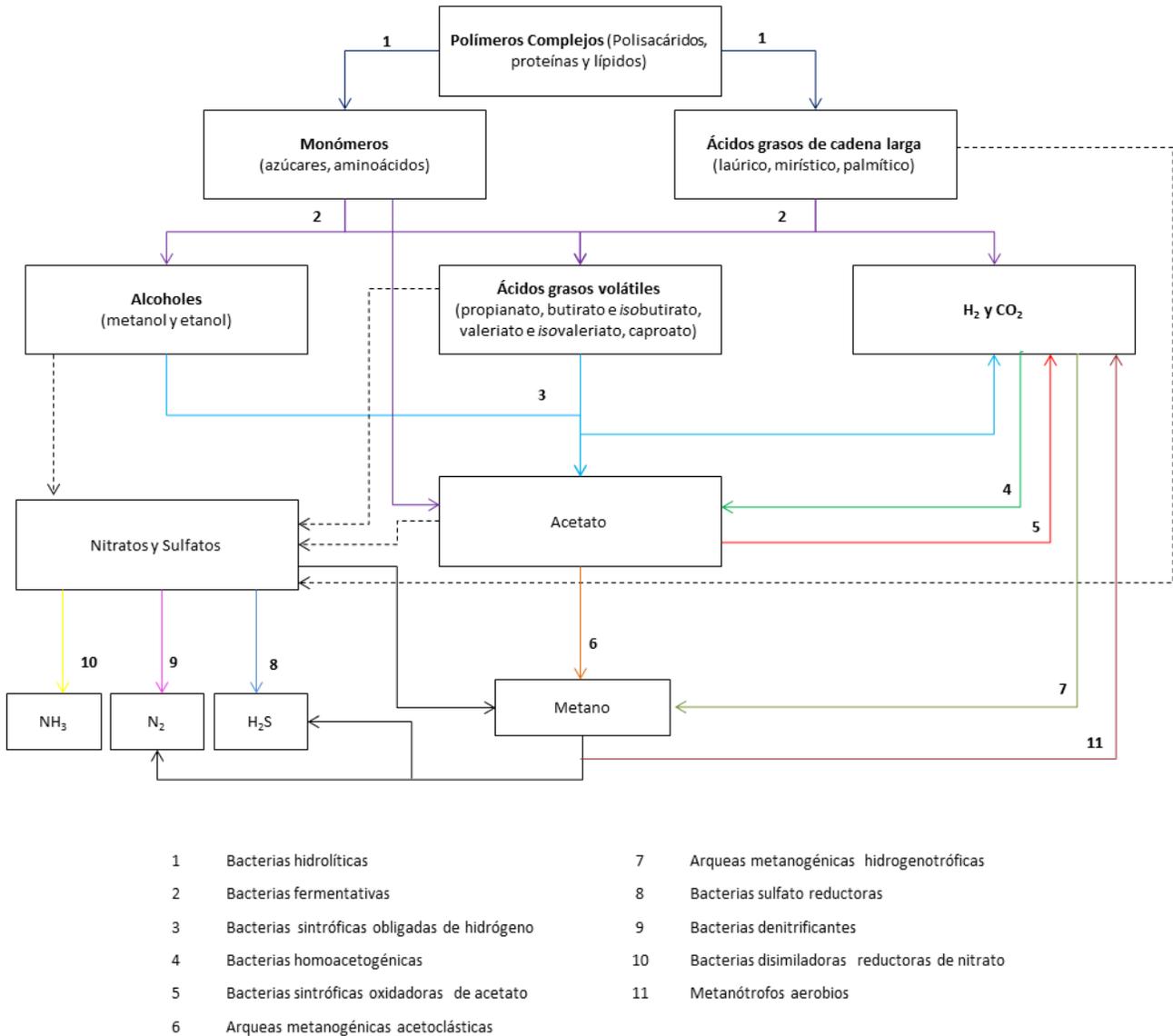


Figura 1. Interacciones microbianas en el proceso de degradación anaerobia (Almeida *et al.*, 2011).

A partir de la composición del sustrato usado para la digestión anaerobia se obtienen diversos monómeros y dímeros en esta primera etapa. Las proteínas además de ser una fuente de carbono tienen un elevado valor nutricional, éstas son hidrolizadas en péptidos y aminoácidos mediante las enzimas proteasas, parte de éstas son usadas en la síntesis de material celular y el resto es degradado a ácidos grasos volátiles, dióxido de carbono, hidrógeno, amonio y sulfuro en las etapas siguientes (Frioni, 1999).



La degradación de los lípidos empieza por la ruptura de las grasas mediante enzimas lipasas produciendo ácidos grasos de cadena larga y glicerol.

La degradación de material lignocelulósico (compuestos ricos en lignina, celulosa y hemicelulosa) suele ser la etapa limitante, siendo difícil de degradar (Buffiere *et al.*, 2006) debido a la resistencia de la lignina, una vez degradado este material los productos de la hidrólisis de la celulosa son la celobiasa, pentosas, glucosa, hexosas y ácidos urónicos.

2.1.2 Acidogénesis y Acetogénesis

En la acidogénesis, también conocida como fermentación, los productos obtenidos en la etapa de hidrólisis (monómeros y dímeros) son convertidos principalmente mediante bacterias, anaerobias obligadas y facultativas, a acetato, ácidos grasos de cadena corta, alcoholes, hidrógeno y dióxido de carbono; la producción de estos compuestos trae consigo una disminución en el pH debido principalmente a la acumulación de los ácidos, esta disminución puede afectar la etapa posterior de metanogénesis.

Los monómeros y dímeros son convertidos a aminoácidos y glicerol para producir glucosa (mediante rutas catabólicas de polisacáridos), ésta última es transformada vía glucólisis en piruvato el cual es usado en la fermentación (láctica, alcohólica o acética), como resultado se obtienen alcoholes y ácidos grasos, y como subproductos de esta transformación, hidrógeno y dióxido de carbono. Los ácidos grasos constituyen un indicador importante en el desempeño de un reactor anaerobio. En función del microorganismo y la ruta metabólica, los productos finales son diferentes.

En la etapa de acetogénesis, el hidrógeno y ácido acético, producidos en la acidogénesis, pueden ser utilizados por las arqueas metanogénicas directamente, en cambio, otros productos como el valerato, y propionato, entre otros, deben ser transformados a productos más sencillos (ácido acético e hidrógeno) mediante las bacterias acetogénicas y a través de una serie de reacciones a condiciones de una presión parcial de hidrógeno baja (10^{-4} a 10^{-5} atm).

El ácido acético puede ser producido por cualquiera de los dos mecanismos de acetogénesis: acetogénesis por hidrogenación o acetogénesis por deshidrogenación.

En la homoacetogénesis se produce acetato como único producto final debido a la reacción entre el dióxido de carbono e hidrógeno, es decir, éste tipo de bacterias no producen hidrógeno, usan éste como sustrato, permitiendo mantener bajas presiones parciales así como la actividad de las bacterias acetogénicas (acetogénesis por deshidrogenación) y acidogénicas. Esta etapa es llevada a cabo por las bacterias homoacetogénicas estrictamente anaerobias.

En la acetogénesis por deshidrogenación, los productos obtenidos en la acidogénesis, son convertidos por microorganismos a ácido acético, hidrógeno y dióxido de carbono, el hidrógeno producido representa la mayor cantidad, éste es utilizado por las arqueas metanogénicas para la formación de metano; la mayoría de las reacciones llevadas a cabo solo son posibles termodinámicamente a condiciones estándar (pH=7, P=1 atm, T=25°C) y presiones parciales de hidrógeno bajas. Esta etapa es llevada a cabo por bacterias acetogénicas productoras obligadas de hidrógeno.



2.1.2.1 Acidogénesis de monosacáridos, obtención de piruvato

Existen 4 rutas para la degradación de monosacáridos: ruta Embden-Meyerhof-Parnas (EMP), ruta hexosa monofosfato (HM), ruta Entner-Doudoroff (ED) y ruta Fosfocetolasa (PK). De acuerdo a los microorganismos existentes estos preferirán una ruta u otra, según Angelidaki *et al.* (2011) las rutas más favorecidas por los microorganismos para la acidogénesis de monosacáridos (productos obtenidos de la hidrólisis de carbohidratos) son la ruta Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) y Entner-Doudoroff (ED), a continuación se detallan estas rutas así como las enzimas involucradas:

- **Ruta Embden-Meyerhof-Parnas (EMP).** También conocido como ciclo glicolítico, glucólisis o ruta anaerobia, puede ser llevado a cabo por levaduras, hongos y bacterias. Aunque es conocida como una ruta anaerobia, no es solo usada por los microorganismos anaerobios. Reacción global:



La Figura 2 muestra el mecanismo llevado a cabo, la activación de la glucosa deber ser por un ATP (trifosfato de adenosina), esto puede ocurrir dentro de la célula o en la membrana celular, dependiendo del mecanismo de transporte. En la Tabla 1 se muestran las enzimas involucradas en cada uno de los pasos de esta ruta y los iones metálicos (del interés de este trabajo) que tienen un efecto en alguna de estas enzimas, esta tabla se elaboró con base en la información proporcionada del sitio BRENDA (2013), el cual hace referencia a los reportes obtenidos de investigaciones realizadas en diferentes tipos de microorganismos que indican la existencia de los iones metálicos así como su posible efecto sobre la enzima. Con esta información se realizaron también las tablas posteriores referentes a las enzimas que se presentan en este trabajo.

Es importante mencionar que las enzimas presentadas en este trabajo están reportadas de acuerdo a la nomenclatura utilizada por la comisión enzimática (Enzyme Commission) compuesta por un código numérico encabezado por las letras EC seguidas de cuatro números separados por puntos. El primer número indica a cuál de las seis clases pertenece la enzima, el segundo se refiere a distintas subclases dentro de cada grupo, el tercero y el cuarto se refieren a los grupos químicos específicos que intervienen en la reacción enzimática.

Tal como se puede ver en la Tabla 1 el $Fe^{+3,+2}$, Ni^{+2} y Co^{+2} son esenciales en las enzimas involucradas en la ruta EMP para la obtención de piruvato.

- **Ruta Entner-Doudoroff (ED).** Ocurre principalmente en microorganismos que carecen de enzimas esenciales para la glucólisis (ruta EMP), generalmente de los géneros *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Azotobacter*, *Agrobacterium*, y algunos otros géneros de bacterias gram-negativas llevan a cabo esta ruta.



Tabla 1. Enzimas involucradas en la Ruta Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) y su interacción con algún ión metálico del interés de este trabajo, sea un efecto positivo (+), negativo (-) o indefinido (i) siendo solamente reportado como parte de la enzima.

Enzima	Nombre	Fe ²⁺	Fe ³⁺	Co ²⁺	Efecto Ni ²⁺	W ⁺⁶	Se ⁺⁴	Mo ⁺⁶
EC 2.7.1.1	hexoquinasa			i	+			
EC 5.3.1.9	glucosa-fosfato isomerasa	+		i	+			
EC 2.7.1.11	fosfofructoquinasa	+		i	i			
EC 4.1.2.13	fructosa bifosfato aldolasa	+	i	+	i			
EC 5.3.1.1	triosa-fosfato isomerasa							
EC 1.2.1.12	gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa							
EC 2.7.2.3	fosfoglicerato quinasa			i	i			
EC 5.4.2.1	fosfogliceromutasa			i				
EC 4.2.1.11	enolasa	i		i	+			
EC 2.7.1.40	piruvato quinasa			+	-			

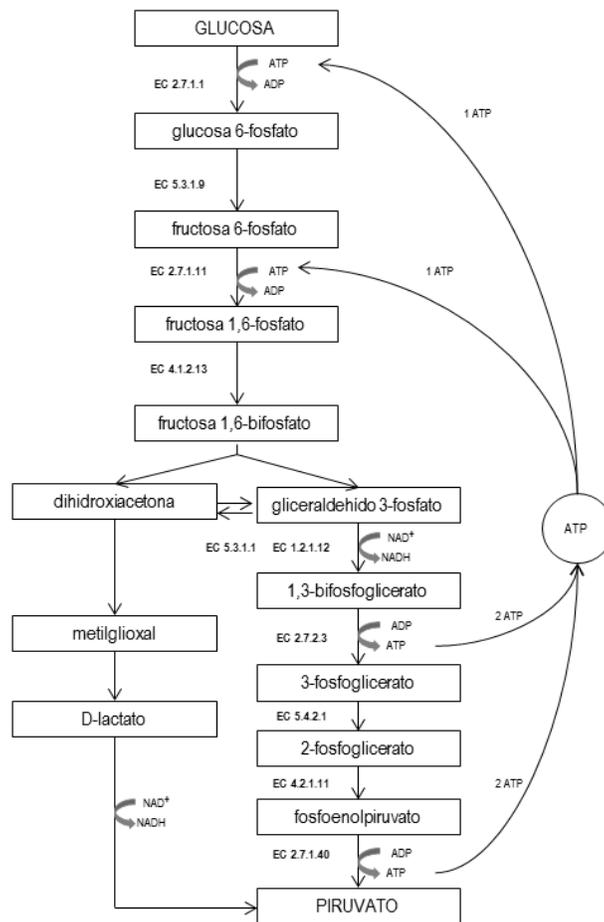


Figura 2. Ruta de Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) para la glucosa.

La Figura 3 muestra la ruta ED así como las enzimas involucradas en cada paso y en la Tabla 2 se muestran las diferentes enzimas involucradas y los iones metálicos que tiene un efecto sobre éstas. En



la Tabla 2, como se puede ver, el Ni⁺² y el Co⁺² son esenciales para las enzimas involucradas en la ruta Entner- Doudoroff.

Tabla 2. Enzimas involucradas en la Ruta Entner-Doudoroff y su interacción con algún ión metálico del interés de este trabajo sea un efecto positivo (+), negativo (-) o indefinido (i) siendo solamente reportado como parte de la enzima.

Enzima	Nombre	Fe ²⁺	Fe ³⁺	Co ²⁺	Efecto Ni ²⁺	W ⁺⁶	Se ⁺⁴	Mo ⁺⁶
EC 2.7.1.1	hexoquinasa			i	+			
EC 1.1.1.49	glucosa 6-fosfato deshidrogenasa							
EC 3.1.1.17	gluconolactonasa			i				
EC 4.2.1.12	fosfogluconato deshidratasa	+						
EC 4.1.2.14	fosfo-2-ceto-3-deoxigluconato aldolasa				+			
EC 2.2.1.1	transcetolasa							
EC 2.2.1.2	transaldolasa							
EC 5.1.3.1	ribulosafosfato 3-epimerasa							
EC 5.3.1.6	ribosa 5-fosfato isomerasa			i				
EC 2.7.1.1	hexoquinasa			i	+			

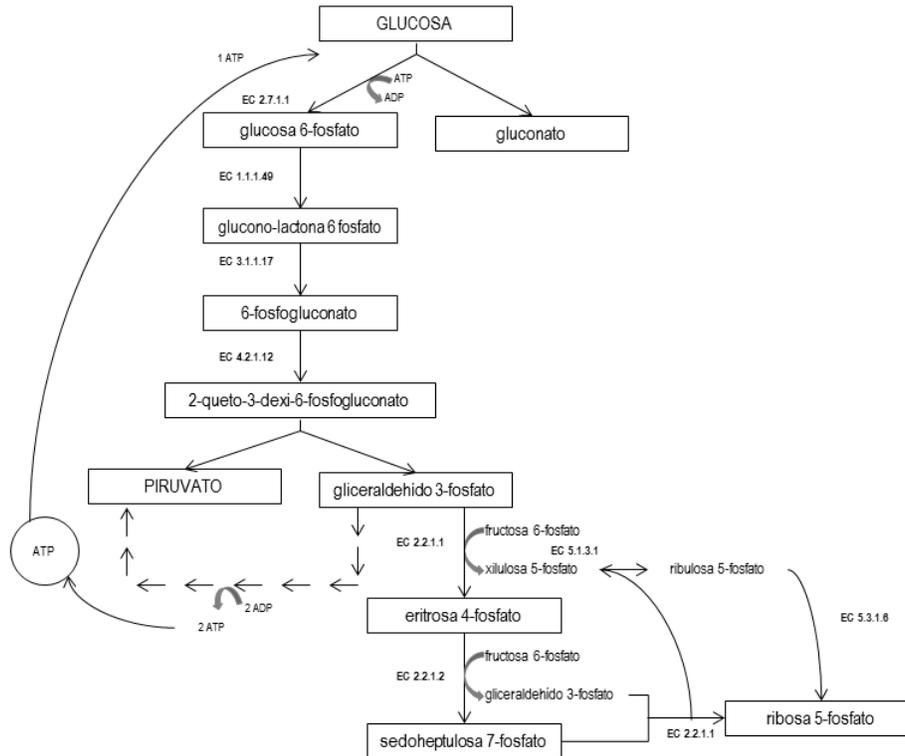


Figura 3. Ruta Entner-Doudoroff para glucosa.

2.1.2.2 Acidogénesis de monosacáridos, obtención de acetato

Una vez obtenido el piruvato éste es utilizado para obtener diferentes productos: propionato, acetato, hidrógeno, dióxido de carbono y alcoholes (etanol, butanol, isopropanol, 2,3 butanodiol); cada producto es obtenido de una ruta diferente. Los productos de 3 carbonos (propionato y lactato) son poco



comunes, excepto bajo condiciones de sobrecarga, siendo los productos más comunes: acetato, butirato, etanol, dióxido de carbono e hidrógeno (Rodríguez *et al.*, 2006).

La Figura 4 muestra los productos finales de la acidogénesis de carbohidratos.

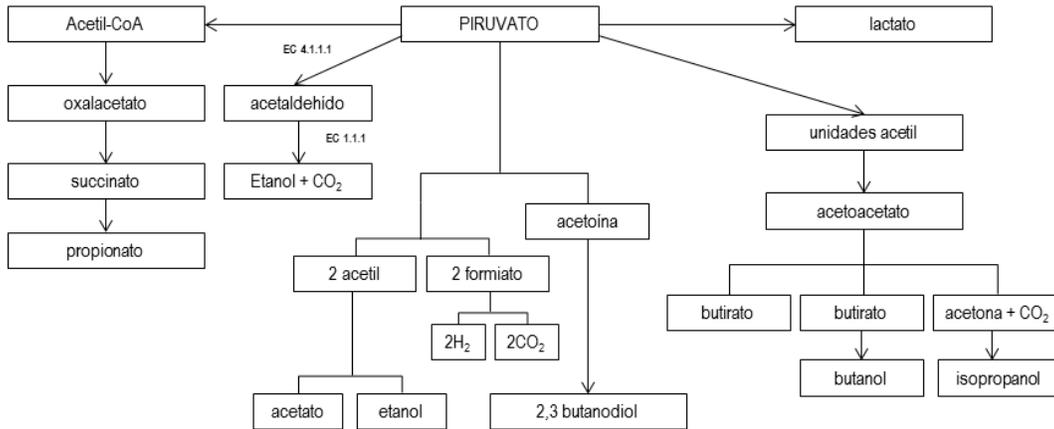


Figura 4. Productos finales de la fermentación de carbohidratos.

- Fermentación alcohólica, obtención de acetato y lactato.** Tradicionalmente este tipo de fermentación alcohólica es llevada a cabo por levaduras y algunas pocas bacterias, como es el caso de *Zymomonas mobilis*. A partir del piruvato se obtiene acetaldehído por la enzima piruvato descarboxilasa (EC.4.1.1.1) y posteriormente se obtiene etanol gracias a la enzima alcohol deshidrogenasa (EC.1.1.1). Debido a que la mayoría de las bacterias son deficientes en la enzima piruvato descarboxilasa, suelen sustituir ésta por alguna otra enzima y continuar una ruta diferente para la producción de alcohol y acetato, tal es el caso de *Escherichia coli* la cual forma acetil-CoA y formiato en un primer paso, gracias a la enzima fosfoacetil-transferasa (EC 2.3.1.8), el acetil CoA se encuentra en equilibrio con el acetilfosfato y éste puede formar acetato (Figura 6). Una gran cantidad de bacterias entéricas (anaerobios facultativos) cuentan con las enzimas: formiato deshidrogenasa (EC 1.2.1.2) con la cual a partir del formiato se puede formar dióxido de carbono e hidrógeno y con la enzima lactato deshidrogenasa (EC 1.1.1.27 o EC 1.1.1.28) la cual a partir de piruvato forma lactato (Figura 5).

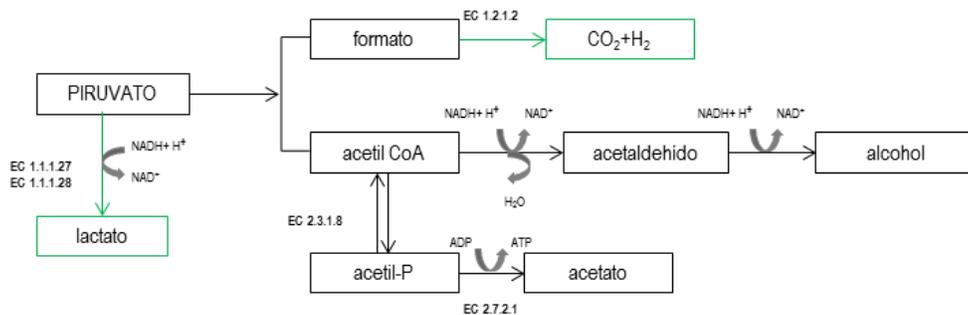


Figura 5. Formación de acetato a partir de piruvato por *E. coli*.



- **Formación de acetato, butirato, acetona y butanol.** Los microorganismos anaerobios obligados forman butirato como producto principal, sin embargo este tipo de fermentación donde se obtienen diversos productos finales es llevada a cabo por las bacterias del género *Clostridium* y *Butiribacterium*. Las especies del género *Clostridium* están divididas de acuerdo al producto final obtenido por cada una de ellas (*C. Butyricum* produce ácido butírico, *C. acetobutylicum* produce principalmente acetona y butanol, *C. Butylicum* principalmente butanol, dióxido de carbono e hidrógeno).

La formación de estos productos es gracias a la reacción catalizada por la enzima piruvato-ferredoxin oxidoreductasa (EC 1.2.7.1) por medio de la cual se obtiene acetyl CoA, dióxido de carbono e hidrógeno a partir de piruvato.

- **Formación de acetato.** El acetyl CoA está en equilibrio con acetyl-P (acetyl fosfato) por la enzima fosfoacetyl-transferasa (EC 2.3.1.8), éste último es convertido a acetato por la enzima acetoquinasa (EC.2.7.2.1). Existen 2 microorganismos del género *Clostridium* (*C. thermoaceticum* y *C. formicoaceticum*) que pueden formar otra molécula de acetato a partir del CO₂ e H₂ liberados en el primer paso, gracias a la coenzima tetrahidrofolato (THF) metil transferasa y a otras como: formiato tetrahidrofolato-ligasa (EC 6.3.4.3), metil tetrahidrofolato ciclohidrolasa (EC 3.5.4.9), metil tetrahidrofolato deshidrogenasa (EC 1.5.1.15) y metil tetrahidrofolato reductasa (EC 1.5.1.20). La Figura 6 muestra la intervención de estas enzimas para la formación de una tercera molécula de acetato a partir de 2 moléculas de piruvato.

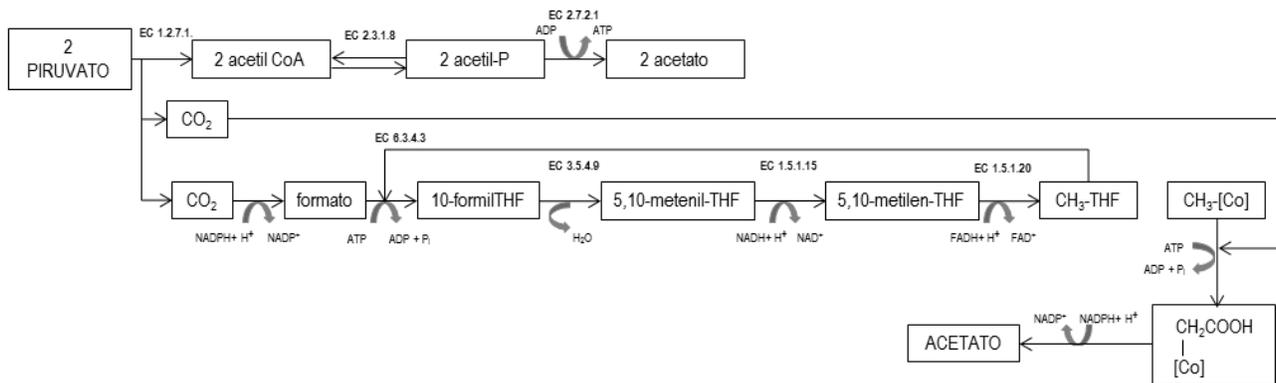


Figura 6. Conversión de CO₂ a acetato por *Clostridium thermoaceticum*.

- **Formación de butirato.** La formación de acetato está limitada por factores como el pH en el medio, al decaer este parámetro se vuelve más complicado reoxidar la coenzima NADH+H⁺, debido a esto, se produce no solo acetato, sino también butirato como uno de los productos finales. Una vez formada la molécula de acetyl CoA, ésta entra en un mecanismo cíclico en el cual se forma butirato y acetyl CoA nuevamente, ésta puede ser convertida a acetato o ingresar nuevamente en el ciclo para formar más butirato. Las enzimas involucradas en este mecanismo cíclico son: piruvato ferredoxin



oxidoreductasa (EC 1.2.7.1), acetil-CoA C-acetiltransferasa (EC 2.3.1.9), 3-hidroxibutiril-CoA deshidrogenasa (EC.1.1.1.157), enoil-CoA hidratasa (EC 4.2.1.74) butiril-CoA deshidrogenasa (EC 1.3.8.1) y enzimas de ácidos grasos-CoA transferasas. La Figura 7 muestra los productos intermedios formados así como estas enzimas involucradas.

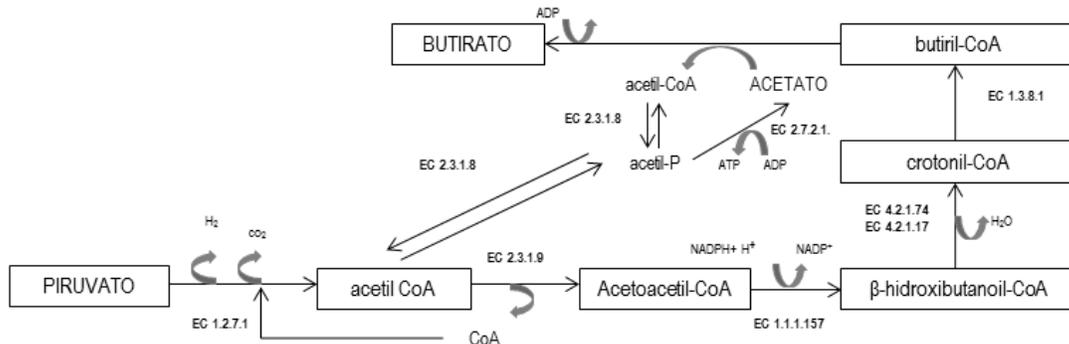


Figura 7. Formación de butirato por el género *Clostridium*.

- **Formación de acetona y butanol.** Cuando el pH del medio es alrededor de 4, algunos microorganismos del género *Clostridium*, pueden cambiar su metabolismo y en lugar de formar butirato, producen acetona y butanol o a partir del ácido butírico acumulado éste es convertido a butanol, el equilibrio de la acidogénesis se desplaza hacia compuestos neutros (butanol y acetona) con el fin de prevenir una disminución mayor en el pH. La Figura 8 muestra el mecanismo llevado a cabo y las enzimas involucradas en este proceso.

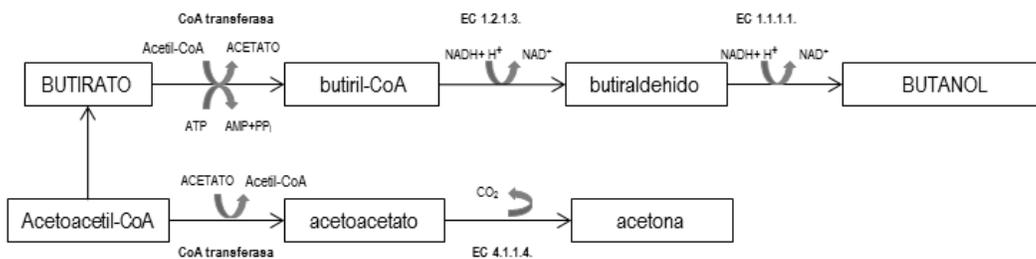


Figura 8. Formación de butanol y acetona por el género *Clostridium*.

- **Formación de propionato y succinato.** Dependiendo de la fuente de carbono, existen para la formación de propionato dos rutas, mientras que para el succinato sólo una.
 - **Ruta del propionato-succinato.** Es realizada por los microorganismos que siguen la ruta EMP para la obtención de piruvato, a partir de éste se obtiene acetato, dióxido de carbono y propionato, la enzima clave en esta ruta es la D₅.metilmalonal-CoA: piruvato transcarboxilasa. (EC 2.1.3.1). Cuando el succinato es acumulado, el oxaloacetato es



generado por la fijación de dióxido de carbono (EC.2.7.9.1). La Figura 9 muestra esta ruta y las enzimas involucradas en ella.

- **Ruta del acrilato.** Microorganismos como *Clostridium propionicum* y *Megasphaera elsdenii* producen propionato y acetato a partir del lactato, el mecanismo de esta ruta se muestra en la Figura 10 así como las enzimas involucradas.
- **Formación de Lactato.** Es llevado a cabo por bacterias ácido lácticas, las cuales están divididas en homofermentativas y heterofermentativas, esta clasificación está hecha con base en los subproductos obtenidos además del lactato (homofermentativas producen lactato solamente, las heterofermentativas producen además etanol/acetato y dióxido de carbono).
 - **Homofermentación.** Corresponden a este grupo todas las bacterias ácido lácticas que usan la ruta EMP para obtener lactato. Los microorganismos heterofermentadores obligados cuentan con las enzimas glucosa 6-fosfato deshidrogenasa (EC 1.1.1.49) y 6-fosfogluconato deshidrogenasa (EC 1.1.1.43).
 - **Heterofermentación.** Se lleva a cabo la ruta fosfocetolasa (FK) en la cual a partir de glucosa se obtiene como producto final xilulosa 5-fosfato, este último producto es convertido a gliceraldehído 3-fosfato y a acetilfosfato por la enzima fosfocetolasa (EC 2.7.1.47). El gliceraldehído 3-fosfato es convertido a piruvato y ácido láctico siguiendo la ruta EMP, el acetilfosfato puede ser transformado a acetato por la enzima acetato quinasa (EC 2.7.2.1) o convertido a etanol por la vía acetil-CoA y acetaldehído (Figura 4). Los microorganismos homofermentadores obligados contienen la enzima fructosa bifosfato aldolasa (EC 4.2.1.13), mientras que los microorganismos homofermentadores facultativos contienen las tres enzimas (EC 1.1.1.49, EC 1.1.1.43 y EC 4.1.2.13). La Figura 11 muestra la ruta fosfocetolasa y las enzimas involucradas.
- **Fermentación malo-láctica.** Se lleva a cabo la formación de L-lactato y dióxido de carbono a partir de L-malato. Es llevada a cabo por una gran cantidad de bacterias ácido lácticas.
- **Formación de acetoína, diacetil y butanodiol.** Es llevado a cabo por algunos microorganismos ácido lácticos. Las bacterias entéricas no contienen la enzima acetoína deshidrogenasa, debido a esto obtienen acetoína y butanodiol por la ruta mostrada en la Figura 12. Otros microorganismos ácido lácticos usan como fuente de carbono el citrato teniendo como productos finales acetoína, lactato, acetato y dióxido de carbono (Figura 13). La formación de acetoína y butanodiol es estrictamente dependiente del pH en este grupo de organismos. Si el pH sube por encima de 6.3 el acetato y formiato se acumulan y la producción de dióxido de carbono, hidrógeno, acetoína y butanodiol se evita.

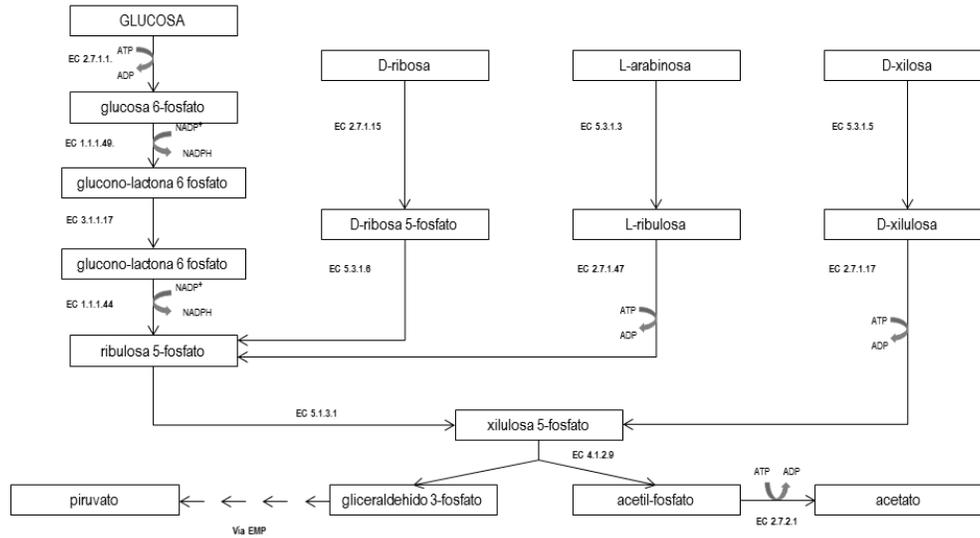


Figura 11. Ruta de fosfoctetolasa (FK) y enzimas involucradas para la formación de gliceraldehído 3-fosfato y acetilfosfato.

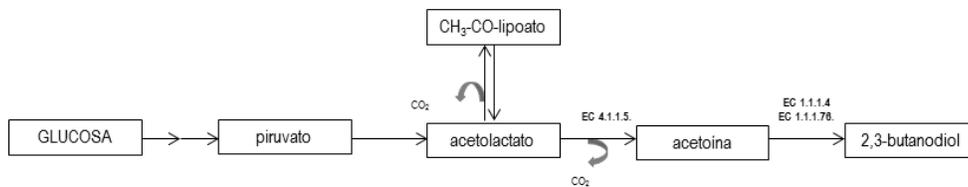


Figura 12 . Obtención de butanodiol y acetoina por bacterias entéricas.

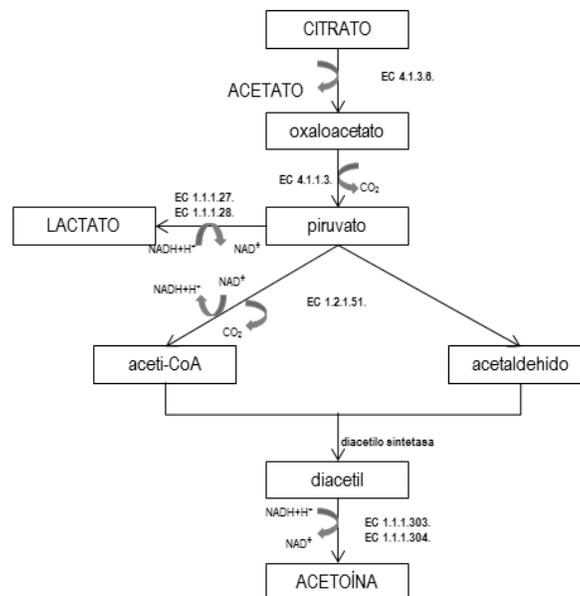


Figura 13. Obtención de acetoína, lactato, acetato y dióxido de carbono por bacterias ácido lácticas.



Se puede ver en la Tabla 3 que los iones $Fe^{2+,3+}$, Ni^{2+} y Co^{2+} son necesarios en la mayoría de las enzimas sin importar la ruta favorecida, en cambio el W^{+6} , Se^{+4} y Mo^{+6} son necesarios solamente en ciertas enzimas de las rutas: fermentación alcohólica, obtención de acetato y lactato (EC 1.2.1.2, formiato deshidrogenasa), formación de acetato (EC 1.5.1.20, metilentetrahidrofolato reductasa), formación de butirato (EC 1.1.1.157, 3-hidroxi-butilil-CoA deshidrogenasa) y en la formación de acetona y butanol (EC 1.2.1.3, aldehído deshidrogenasa).

Tabla 3. Enzimas involucradas en los diferentes tipos de fermentación y su interacción con algún ión metálico del interés de este trabajo sea un efecto positivo (+), negativo (-) o indefinido (i) siendo solamente reportado como parte de la enzima.

Enzima	Nombre	Efecto						
		Fe^{2+}	Fe^{3+}	Co^{2+}	Ni^{2+}	W^{+6}	Se^{+4}	Mo^{+6}
Productos finales de la fermentación de carbohidratos								
EC 4.1.1.1	piruvato descarboxilasa							
EC 1.1.1.1	alcohol deshidrogenasa	+		-				
Fermentación alcohólica, obtención de acetato y lactato								
EC 2.3.1.8	fosfoacetil-transferasa	i						
EC 1.2.1.2	formiato deshidrogenasa	i				i		i
EC 1.1.1.27	lactato deshidrogenasa	+		+				
EC 1.1.1.28	lactato deshidrogenasa							
Formación de acetato, butirato, acetona y butanol.								
EC 1.2.7.1	piruvato ferredoxin oxidoreductasa	+						
Formación de acetato								
EC 2.3.1.8	fosfoacetil-transferasa	i						
EC 2.7.2.1	acetoquinasa			i	i			
EC 6.3.4.3	formiato tetrahidrofolato-ligasa							
EC 3.5.4.9	meteniltetrahidrofolato ciclohidrolasa							
EC 1.5.1.15	metilentetrahidrofolato deshidrogenasa							
EC 1.5.1.20	metilentetrahidrofolato reductasa	i						+
Formación de butirato								
EC 1.2.7.1	piruvato ferredoxin oxidoreductasa	+						
EC 2.3.1.9	acetil-CoA C-acetiltransferasa							
EC 1.1.1.157	3-hidroxi-butilil-CoA deshidrogenasa						i	
EC 4.2.1.74	enoil-CoA hidratasa	+		+				
EC 1.3.8.1	butiril-CoA deshidrogenasa	i						
-----	enzimas de ácidos grasos-CoA transferasas							
Formación de acetona y butanol								
-----	CoA transferasa							
EC 4.1.1.4	acetoacetato descarboxilasa							
EC 1.2.1.3	aldehído deshidrogenasa	i			+			i
EC 1.1.1.1	alcohol deshidrogenasa	+		-				
Ruta del propionato-succinato								
EC 2.7.2.1	acetoquinasa			i	i			
EC 2.3.1.8	fosfoacetil-transferasa	i						
EC 1.2.7.1	piruvato ferredoxin oxidoreductasa	+						
EC 1.1.1.27	lactato deshidrogenasa	+		+				
EC 1.1.1.28	lactato deshidrogenasa							
EC 2.7.9.1	piruvato fosfato diquinasa			i				
EC 2.1.3.1	D _S .metilmalonil-CoA: piruvato transcarboxilasa			+				
EC 2.7.9.1	piruvato fosfato diquinasa			i				
EC 1.1.1.37	malato deshidrogenasa							
EC 4.2.1.2	fumarato hidratasa	+						
EC 1.3.99.1	succinato deshidrogenasa	i						
EC 2.8.3.5	3-oxoácido CoA transferasa							
EC 5.4.99.2	metilmalonil CoA mutasa							
EC 5.1.99.1	metil malonil CoA epimerasa	+		+				



Enzima	Nombre	Efecto						
		Fe ²⁺	Fe ³⁺	Co ²⁺	Ni ²⁺	W ⁺⁶	Se ⁺⁴	Mo ⁺⁶
Ruta acrilato								
EC 5.1.2.1	racemasa lactato	+						
EC 2.8.3.1	propionato CoA transferasa							
EC 1.3.1.8	acil-CoA deshidrogenasa							
EC 1.1.1.28	lactato deshidrogenasa							
EC 1.2.7.1	piruvato ferredoxin oxidoreductasa	+						
EC 2.3.1.8	fosfoacetil-transferasa	i						
EC 2.7.2.1	acetoquinasa			i	i			
Homofermentación								
EC 1.1.1.49	glucosa 6-fosfato deshidrogenasa							
EC 1.1.1.43	6-fosfogluconato deshidrogenasa							
Heterofermentación								
EC 2.7.1.47	D-ribuloquinasa			i				
EC 2.7.2.1	acetoquinasa			i	i			
EC 4.1.2.13	fructosa bifosfato aldolasa	+	i	+	i			
EC 1.1.1.49	glucosa 6-fosfato deshidrogenasa							
EC 1.1.1.43	6-fosfogluconato deshidrogenasa							
EC 4.2.1.13	L-serina amonía liasa	+						
EC 2.7.1.1	hexoquinasa			i	+			
EC 1.1.1.49	glucosa 6-fosfato deshidrogenasa							
EC 3.1.1.17	gluconolactonasa			i				
EC 1.1.1.44	fosfogluconato deshidrogenasa			i				
EC 5.1.3.1	ribulosa fosfato 3-epimerasa							
EC 2.7.1.15	ribiquinasa			+	+			
EC 5.3.1.6	ribosa 5-fosfato isomerasa			i				
EC 5.3.1.3	rabinosa isomerasa							
EC 2.7.1.47	D-ribuloquinasa			i				
EC 5.3.1.5	xilosa isomerasa			+				
EC 2.7.1.17	xiluloquinasa	i			+			
EC 4.1.2.9	fosfoquetolasa							
EC 2.7.2.1	acetoquinasa			i	i			
Fermentación malo-láctica								
EC 4.1.3.6	citrato oxaloacetato-liasa			+				
EC 4.1.1.3	oxaloacetato descarboxilasa			+	+			
EC 1.1.1.27	lactato deshidrogenasa	+		+				
EC 1.1.1.28	lactato deshidrogenasa							
EC 1.2.1.51	piruvato deshidrogenasa	i						
-----	diacetilo sintetasa							
EC 1.1.1.303	diacetilo reductasa (R)							
EC 1.1.1.304	diacetilo reductasa (S)							
Diacetil, acetoína y formación de butanodiol								
EC 4.1.1.5	acetolactato descarboxilasa	+						
EC 1.1.1.4	(R,R)-butanodiol deshidrogenasa							
EC 1.1.1.76	(S,S) butanodiol deshidrogenasa	+		+				

2.1.3 Metanogénesis

En esta etapa la producción de metano es posible a través de dos rutas principales: metanogénesis acetoclástica y metanogénesis hidrogenotrófica.

Las arqueas metanogénicas se encuentran en casi todos los ambientes anaerobios posibles, desde el rumen hasta sedimentos marinos, se desarrollan en un rango de temperaturas de 5 – 110°C y en salinidades de agua dulce hasta la salmuera. Estos microorganismos son anaerobios estrictos, y



dependiendo el sustrato que consumen son hidrogenotróficos, aquellos que usan como sustrato el hidrógeno, dióxido de carbono y ácido fórmico; y acetoclásticos quienes usan el ácido acético como sustrato entre otros.

La producción de metano se lleva a cabo mediante la conversión de hidrógeno y dióxido de carbono por las arqueas metanogénicas, sin embargo también ha sido reportado que pueden utilizar otros compuestos para la formación de metano (Tabla 4).

Las arqueas metanogénicas obtienen energía mediante la conversión de sustratos a metano, principalmente existen tres rutas:

- Metanogénesis vía metanol (Figura 14)

Reacción global:



- Metanogénesis vía acetato (Figura 15)

Reacción global:



- Metanogénesis H₂/CO₂ o por formiato (Figura 16)

Reacción global:



La mayor parte del metano producido (aproximadamente un 70%) es a través de la metanogénesis acetoclástica (Almeida *et al.*, 2011), debido a que la tasa de crecimiento de los microorganismos hidrogenotróficos es menor a la de los microorganismos acetoclásticos. Durante esta etapa puede ocurrir una oxidación anaerobia del metano debido a bacterias sulfato-reductoras.

Tabla 4. Algunas fuentes de carbono utilizadas por las arqueas metanogénicas.

Orden metanogénico	Fuente de Carbono	Referencias
Methanosarcinales	Acetato, H ₂ +CO ₂ , CO, metanol, metilaminas, metilo mercaptopropionato, sulfuro de dimetilo	Kendall y Boone, 2006; Liu y Whitman, 2008; Deppenmeier, 2002; Cheng , y otros, 2007; Thauer <i>et al.</i> , 2008
Methanomicrobiales	H ₂ +CO ₂ , Formiato, etanol ^a , 2-propanol ^b , 2-butanol ^b , ciclopentanol ^b	García, Oliver y Whitman, 2006; Liu y Whitman, 2008; Dianou <i>et al.</i> , 2001 ; Thauer, <i>et al.</i> , 2008
Methanobacterales	H ₂ +CO ₂ , CO, formiato, C1-compuestos metilados ^c	Bonin y Boone, 2006; Liu y Whitman, 2008; Thauer, <i>et al.</i> , 2008
Methanococcales	H ₂ +CO ₂ , Formiato	Whitman y Jeanthon, 2006; Liu y Whitman, 2008; Thauer, <i>et al.</i> , 2008
Methanopyrales	H ₂ +CO ₂	Huber y Stetter, 2001
Methanocellales	H ₂ +CO ₂ , Formiato	Sakai <i>et al.</i> ,2008

^a solo para methanogenium sp.

^b Solo para methanoculleus sp.

^c Solo para methanosphaerasp.



Las arqueas metanógenas utilizan 2-mercapto etanol sulfonato (coenzima M) como el portador metilo terminal en la metanogénesis (EC 2.1.1.86) y tienen cuatro enzimas de la biosíntesis para la obtención de esta enzima (EC 4.4.1.19, EC 3.1.3.71, EC 1.1.1.272, EC 4.1.1.79). En la Tabla 5 se encuentran las diferentes enzimas involucradas en la etapa de metanogénesis y su interacción con algún ión metálico del interés de este trabajo, nótese que en la formación de metano por las rutas de metanol y acetato el Ni^{+2} y Co^{+2} son esenciales en estas enzimas, el $Fe^{+2,+3}$ es necesario en cualquiera de las tres rutas, sin embargo en la ruta para la formación de metano a partir de H_2 y CO_2 son necesarios tanto el Ni^{+2} como el Se^{+4} y en menor medida el W^{+6} y Mo^{+6} .

Tabla 5. Enzimas involucradas en los diferentes tipos de metanogénesis y su interacción con algún ión metálico del interés de este trabajo sea un efecto positivo (+), negativo (-) o inconcluso (i) siendo solamente reportado como parte de la enzima.

Enzima	Nombre	Fe^{2+}	Fe^{3+}	Co^{2+}	Efecto Ni^{2+}	W^{+6}	Se^{+4}	Mo^{+6}
Metanogénesis H_2/CO_2								
EC 1.2.1.2	formiato deshidrogenasa	i				i		i
EC 1.2.99.5	formil metanofurano deshidrogenasa	i			i	+		+
EC 3.5.4.27	meteniltetrahidrometanopterina ciclohidrolasa							
EC 2.3.1.101	Formilmetanofurano-tetrahidrometanopterina N-formiltransferasa							
EC 1.5.99.9	metilentetrahidrometanopterina deshidrogenasa							
	5,10-metenil							
EC 1.12.98.2	tetrahidrometanopterina hidrogenasa	i			i			
EC 1.12.98.1	coenzima F_{420} hidrogenasa	i			i		i	
	5,10-							
EC 1.55.99.11	metilentetrahidrometanopterina reductasa							
EC 2.1.1.86	tetrahidrometanopterina s-metiltransferasa							
EC 1.12.98.1	Coenzima F_{420} hidrogenasa	i			i		i	
EC 2.1.1.86	tetrahidrometanopterina s-metiltransferasa							
EC 2.8.4.1	coenzima B sulfoetiltiottransferasa				+			
EC 1.8.98.1	CoB-CoM heterodisulfuri reductasa	+			+			
Metanogénesis vía Metanol								
EC 2.1.1.90	metanol-corrinoide proteína Co-metiltransferasa			+	+			
EC 2.1.1.246	[metil-Co (III)-metanol específico de la proteína corrinoide]: coenzima M metiltransferasa			+				
EC 2.8.4.1	Coenzima B sulfoetiltiottransferasa				+			
EC 1.8.98.1	CoB-CoM heterodisulfuri reductasa	+			+			
Metanogénesis vía Acetato								
EC 2.7.2.1	acetoquinasa			i	i			
EC 2.7.2.15	propionato quinasa							
EC 6.2.1.1	acetato CoA ligasa	+		+	+			
EC 2.3.1.8	fosfoacetil-transferasa	i						
EC 2.1.1.245	5-metil-tetrahidro sarcinapterin: corrinoide / proteína hierro-azufre	+		+				



Enzima	Nombre	Fe ²⁺	Fe ³⁺	Co ²⁺	Efecto Ni ²⁺	W ⁺⁶	Se ⁺⁴	Mo ⁺⁶
EC 2.1.1.86	Co-metiltransferasa tetrahidrometanopterin s-metiltransferasa							
EC 1.8.98.1	CoB-CoM heterodisulfuri reductasa	+			+			
EC 2.8.4.1	coenzima B sulfoetiliotransferasa				+			

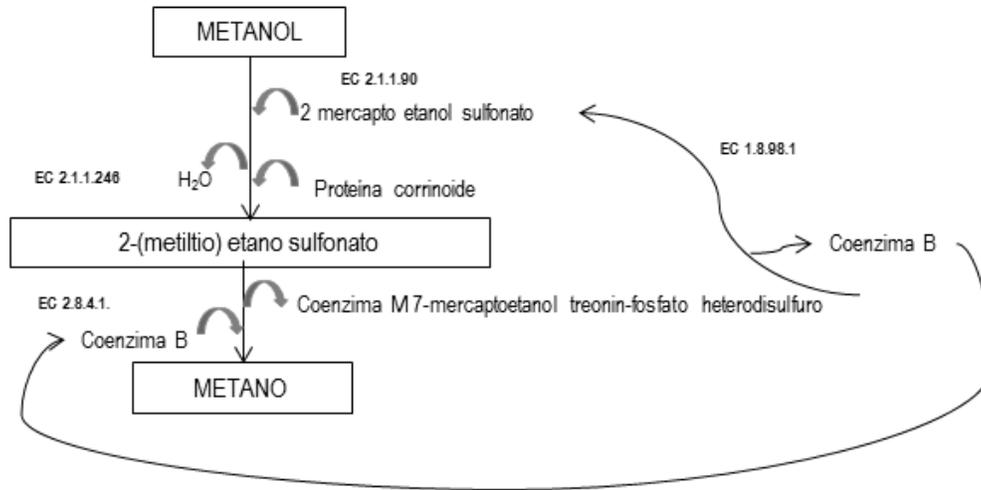


Figura 14. Ruta de metanol realizada por arqueas metanogénicas para la síntesis de metano.

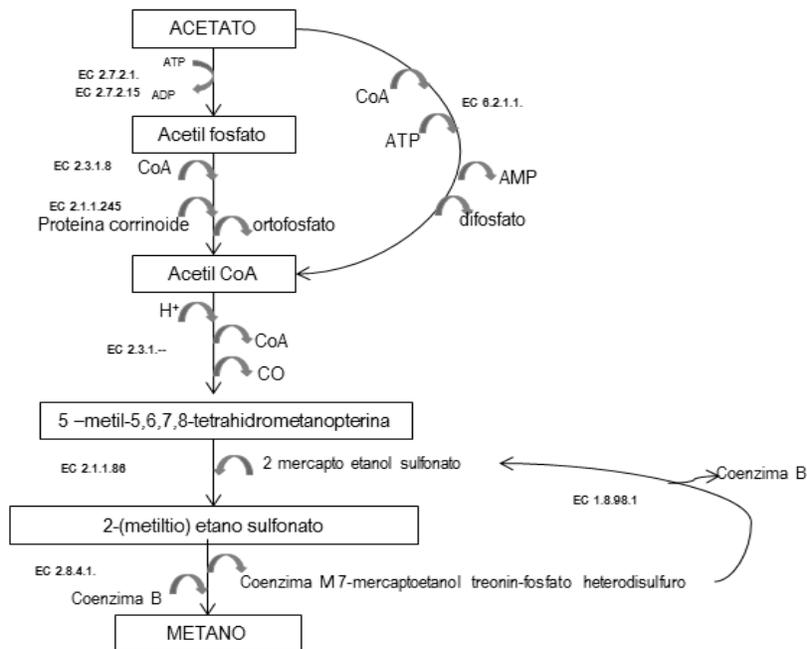


Figura 15. Ruta de Acetato realizada por arqueas metanogénicas para la síntesis de metano.

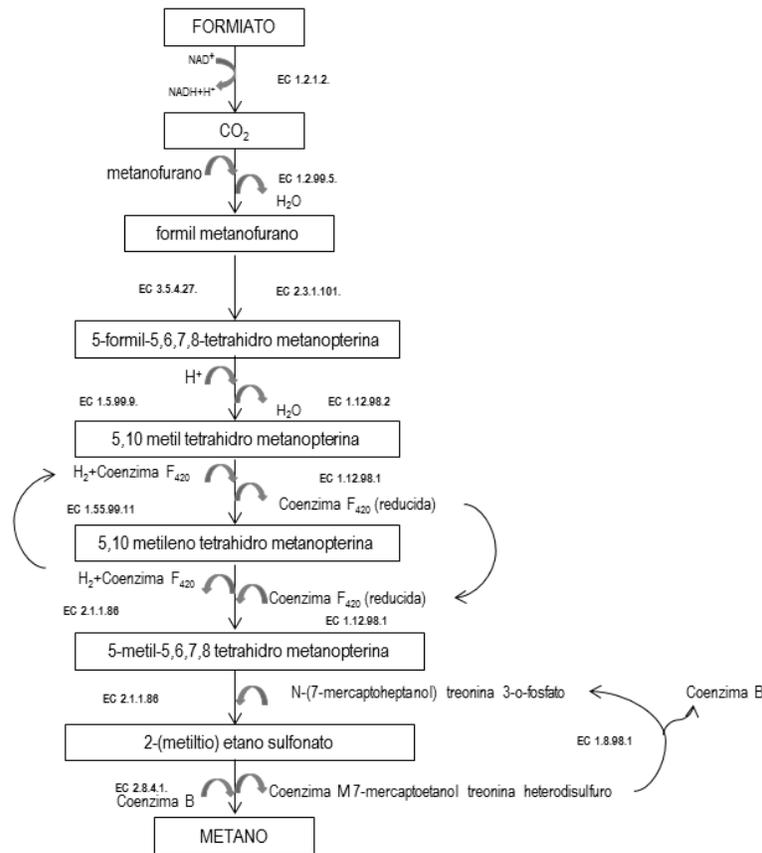


Figura 16. Ruta de H₂/CO₂ o por formiato realizada por arqueas metanogénicas para la síntesis de metano.

2.2 Factores que afectan la producción de biogás

El biogás es un subproducto de la descomposición biológica, bajo condiciones libres de oxígeno de los residuos orgánicos tales como: plantas, comida, residuos de cosechas, madera, corteza, y el estiércol animal y excremento humano (Igoni *et al.*, 2008).

Existen diversos compuestos que su presencia resulta tóxica e inhibe el crecimiento de los microorganismos. Usualmente la inhibición en la digestión anaerobia es indicada por un decremento en la tasa de producción de metano y en la acumulación de ácidos grasos volátiles.

Entre los compuestos que causan inhibición se encuentran: amoníaco, sulfatos y ácido sulfhídrico, metales alcalinos y alcalinotérreos (Na, K, Ca y Al), metales pesados (Cr, Fe, Co, Zn, Cd y Zn), compuestos orgánicos como fenoles, bencenos y lignina (Hwu y Lettinga, 1997; Zayed y Winter, 2000; Gavala y Ahring, 2002; Livera *et al.*, 2011).

- **Relación Carbono/Nitrógeno (C/N).** La relación óptima para la digestión anaerobia es de 20-30, ambas concentraciones determinan el rendimiento del proceso de digestión, el carbono es la fuente de energía para los microorganismos, mientras que el nitrógeno sirve para potenciar



el crecimiento microbiano. Si esta relación es alta, el nitrógeno será limitante del crecimiento, la población microbiana se mantendrá pequeña y se requerirá de un mayor tiempo para descomponer el carbono disponible; mientras que si la relación C/N es baja, el exceso de nitrógeno producirá una inhibición en el proceso de producción de biogás, el nitrógeno se liberará y acumulará en forma de NH_4^+ provocando un incremento en el pH mostrando efectos tóxicos a un pH mayor a 8.5 (Fulekar, 2011). La adición de ciertos compuestos tales como estiércol, aguas residuales, biosólidos o urea pueden ser utilizados como suplementos de fuente de nitrógeno (Igoni *et al.*, 2008).

La relación de C/N puede ser expresada también en términos de la demanda química de oxígeno y considerando el fósforo como una relación DQO:N:P, Metcalf y Eddy (1991) y Ammary (2004) establecen una relación aceptable para un proceso anaerobio en 250:5:1, Speece R. (1996) establece dicha relación en 350:5:1; González *et al.*, (2008) sugieren una relación de 100:5:1 como óptima. Droste (1997) y la USEPA (1995) reportan el intervalo de la relación DQO:N:P como: 250:5:1 a 500:5:1.

- **Temperatura.** El proceso de producción de biogás puede llevarse a cabo bajo tres condiciones: psicrófilas, mesófilas y termófilas; siendo mayor la producción a altas temperaturas y óptima a condiciones mesófilas de 30 a 38°C y a condiciones termófilas de 44 a 57°C (Tchobanoglous G. y Burton, 1991), sin embargo algunas veces puede llegarse a dar una mayor inestabilidad del proceso a altas temperaturas, es decir a cualquier variación en las condiciones del sistema se puede reducir significativamente la eficacia del digestor (Igoni *et al.*, 2008).
- **pH.** El pH del medio de cultivo tiene una influencia directa sobre el crecimiento microbiano debido a que la digestión anaerobia es inhibida por un exceso de acidez. Las bacterias involucradas en la digestión anaerobia tienen un intervalo de pH de 6 a 8 con valores cercanos a 7 para la actividad óptima. De acuerdo a los microorganismos y la etapa del proceso los valores comúnmente óptimos son:
 - microorganismos fermentativos: 7.2 a 7.4
 - microorganismos acetogénicos: 7.0 a 7.2
 - microorganismos metanogénicos: 6.5 a 7.5

El pH también afecta el equilibrio químico de los compuestos existentes en el medio, tal es el caso de la formación del amoníaco el cual su formación es favorecida a un pH alto provocando la inhibición del crecimiento bacteriano.

En la fase inicial del proceso, la producción de ácidos grasos volátiles (AGV) disminuyen el pH, pero la reacción de CO_2 , que es soluble en agua, con los iones hidróxido forma iones bicarbonato, formando así HCO_3^- lo cual tiende a restaurar la neutralidad del pH del proceso, es decir se auto-estabiliza. Cuando la velocidad de formación de AGV es superior a la tasa de descomposición de metano, se produce un desequilibrio disminuyendo el pH, la producción de



gas decae, y el contenido de CO₂ del gas aumenta, debido a esto debe existir cierta alcalinidad disponible en todo momento, hasta un nivel de aproximadamente 3000 mg/L, como almacenamiento temporal para garantizar una alta tasa de producción de metano, por lo general se suele usar cal o bicarbonato de sodio para elevar el pH del sistema anaerobio cuando existe desequilibrio (Ritmann y McCarty, 2001; Fulekar, 2011).

- **Nutrientes.** Ciertos micronutrientes (Cu, Ni, Cr, Zn entre otros.) y macronutrientes (Na, K, Ca, Mg, NH₃, S) son necesarios en pequeñas cantidades para el crecimiento bacteriano, una alta concentración de estos compuestos tiene efectos tóxicos llegando a inhibir el crecimiento de los microorganismos en el digestor. En la Tabla 6 se mencionan los nutrientes típicos para un digestor anaerobio así como el exceso de concentración suficiente para que la falta del nutriente no se convierta en un limitante de crecimiento.

La adición de azufre en forma de sulfato debe ser especialmente controlado, debido a que un exceso puede provocar la competencia entre las bacterias sulfato reductoras y las bacterias acetogénicas reduciendo la generación de metano en el biogás. Es necesario también el requerimiento de metales en cantidades traza para la activación de ciertas enzimas.

Se requiere de un medio acuoso con un cierto balance de cationes: Na⁺, K⁺, Ca⁺² y Mg⁺², si algunos de estos se encuentra en una mayor concentración es necesario incrementar la concentración de los demás, principalmente el de aquel que se requiere en mayor cantidad, K⁺. Se debe tener cuidado de no agregar una mayor cantidad ya que a altas concentraciones se inhibe el crecimiento, las Tablas 6 y 7 muestran la concentración a partir de la cual se inhibe dicho crecimiento así como los intervalos de concentraciones de cationes.

Tabla 6. Requerimiento de nutrientes para un tratamiento biológico anaerobio (Fulekar, 2011).

Elemento	Requerimiento [mg/g DQO]	Concentración en exceso deseada [mg/L]	Forma típica de adición
Macronutrientes			
N	5.0 - 15.0	50	NH ₃ , NH ₄ Cl, NH ₄ HCO ₃
P	0.8 - 2.5	10	NaH ₂ PO ₄
S	1.0 - 3.0	5	MgSO ₄ ·7H ₂ O
Micronutrientes			
Fe	0.030	10.00	FeCl ₂ ·4H ₂ O
Co	0.003	0.02	CoCl ₂ ·2H ₂ O
Ni	0.004	0.02	NiCl ₂ ·6H ₂ O
Zn	0.020	0.02	ZnCl ₂
Cu	0.004	0.02	CuCl ₂ ·2H ₂ O
Mn	0.004	0.02	MnCl ₂ ·4H ₂ O
Mo	0.004	0.05	NaMoO ₄ ·2H ₂ O
Se	0.004	0.08	Na ₂ SeO ₃
W	0.004	0.02	NaWO ₄ ·2H ₂ O
B	0.004	0.02	H ₃ BO ₃
Cationes comunes			
Na ⁺¹		100 – 200	NaCl, NaHCO ₃
K ⁺¹		200 – 400	KCl
Ca ⁺²		100 – 200	CaCl ₂ ·2H ₂ O
Mg ⁺²		75 – 250	MgCl ₂



Tabla 7. Intervalos de concentración de cationes (Fulekar, 2011).

Elemento	Exceso de concentración deseada [mg/L]	Moderadamente inhibitoria [mg/L]	Fuertemente Inhibitoria [mg/L]
Na	100 - 200	3500 - 5 500	8000
K	200 - 400	2500 - 4 500	1200
Ca	100 - 200	2500 - 4 500	8000
Mg	75 - 250	1000 - 1 500	3000

- **Amoniaco.** Es producido de manera natural por la degradación de residuos ricos en proteína utilizados como sustrato, esta inhibición puede ser controlada por el pH, McCarty y McKinney (1961) y Koster y Koomen (1988) encontraron que el NH_3 posee un poder inhibitorio mayor que el del NH_4^+ , los cultivos se ven inhibidos desde concentraciones de 100 mg/L en reactores anaerobios sin soporte, sin embargo cuando el cultivo ha sido previamente adaptado e inmovilizado las arqueas metanogénicas pueden soportar concentraciones mayores (Zhou y Qiu, 2006). Una vez alcanzada la inhibición por amoniaco, existe un incremento en la producción de ácidos grasos volátiles, donde un cambio en el pH puede ayudar a controlar la inhibición, sin embargo si la inhibición es debida al NH_4^+ , un cambio en el pH no ayuda. Una forma de evitar esta inhibición es diluyendo el sustrato o evitando utilizar sustratos con alto contenido en amoniaco (Ritmann y McCarty, 2001).
- **Ácido sulfhídrico.** Es producido por la reducción del sulfato, el cual puede estar presente de forma natural en el sustrato, la formación es debido a que las bacterias sulfato-reductoras compiten con las bacterias fermentativas, acetogénicas productoras de hidrógeno obligadas y las arqueas metanogénicas por los electrones disponibles. Los sulfuros que forman complejos con metales pesados divalentes tales como Fe, Zn o Cu no resultan tóxicos, mientras que la forma soluble de H_2S sí lo es. Una vez solubilizado el H_2S (gas) en agua, el H_2S (acuoso) se disocia en las especies de H^+ , HS^- , y S^{2+} , esta última especie puede formar complejos con un metal divalente (Ritmann & McCarty, 2001).
- **Metales.** Entre los cationes reportados que causan inhibición se encuentra el Na^+ , Ca^{2+} y K^+ sin embargo, una aclimatación previa ayuda a evitar la inhibición a una baja concentración. En la inhibición por K^+ , según Daoming y Forster (1993) usando como sustrato residuos de café con alto contenido de K^+ , la adición de Ca^{2+} puede actuar con un efecto antagónico a este catión. Los metales pesados reportados como tóxicos son Cu, Cd, Fe, Zn y Ni, cuya toxicidad es atribuida a la interrupción enzimática (Ulmanu *et al.*, 2003).
- **Compuestos orgánicos.** Una gran variedad de compuestos orgánicos han sido reportados como tóxicos entre estos se encuentran: alquilbencenos, nitrobencenos, bencenos halogenados, alcoholes y fenoles, alcanos, éteres, aminas, amidas y ácidos grasos de cadena larga.



2.3 Elementos traza y su función como cofactores

La deficiencia de elementos traza puede ser un problema que debe ser evitado al principio de un tratamiento anaerobio, la falta de comprensión o el hecho de subestimar los requerimientos nutricionales de los microorganismos acarrea un inconveniente en la aplicación comercial de este proceso.

Algunos procesos comerciales de digestión anaerobia trabajan con cargas orgánicas bajas o con una pobre utilización del material orgánico, sin embargo, la adición de elementos traza puede permitir trabajar con altas cargas orgánicas sin riesgo en el proceso de sufrir una inestabilidad por la acumulación de ácidos grasos volátiles o por la formación de compuestos inhibitorios.

El Ni, Co, W, Se, Mo y Fe en cantidades traza son esenciales debido a que son cofactores de enzimas involucradas en diferentes etapas del proceso de digestión anaerobia. Limitar la disponibilidad de estos metales requeridos por las enzimas afecta todo el proceso de digestión anaerobia (Facchin *et al.*, 2012).

Todas las enzimas desde el punto de vista químico son proteínas, pero pueden asociarse con compuestos o sustancias no proteínicas, llamadas coenzimas, cofactores o grupos prostéticos, los cuales son esenciales para la acción de la enzima, muchas veces si estas moléculas (coenzimas, cofactores o grupos prostéticos) no están presentes la enzima es inactiva catalíticamente; la función de estas moléculas es activar la enzima para que se lleve a cabo la reacción. No toda la molécula de proteína presenta actividad catalítica, sino únicamente una región relativamente pequeña, la cual se denomina centro activo.

Los cofactores son iones metálicos, esto explica por qué los organismos requieren pequeñas cantidades de ciertos oligoelementos en la dieta diaria. Las coenzimas tienen la misma función que un cofactor, con la diferencia de que son moléculas orgánicas, algunos de estas se asocian solamente de manera transitoria con determinada molécula, por lo que pueden actuar como cosustratos. Existen cofactores, denominados grupos prostéticos, los cuales se asocian de manera permanente a su proteína, a menudo mediante enlaces covalentes.

Los cofactores y coenzimas ayudan a completar la estructura conjugada de una enzima, llamada holoenzima (Figura 17)

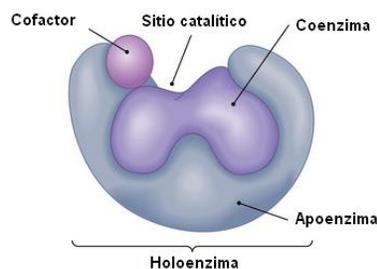


Figura 17. Holoenzima formada al unirse el cofactor y la coenzima a la apoenzima.



En las reacciones catalizadas por enzimas las velocidades de reacción, así como los mecanismos se ven afectados por cambios en la concentración, el pH y la temperatura.

Casi la tercera parte de las enzimas conocidas requieren iones metálicos para la actividad catalítica, sin embargo existen dos clases de enzimas que requieren de estos iones y se diferencian por las fuerzas de interacción ión-proteína (Voet y Voet, 2007):

- Las metaloenzimas: contienen iones metálicos unidos con firmeza, suelen ser iones metálicos de transición como: Fe^{2+} , Fe^{3+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , o Co^{2+} .
- Las enzimas activadas por metales: estas se unen en forma débil con iones metálicos de la solución, por lo general iones metálicos alcalinos como: Na^+ , K^+ , Mg^{2+} o Ca^{2+} .

Los iones metálicos participan en el proceso catalítico de tres formas principales:

1. A través de la unión a sustratos para orientarlos de manera más adecuada para la reacción.
2. Mediando las reacciones de óxido-reducción por medio de cambios reversibles en el estado de oxidación del ión metálico.
3. A través de la estabilización electrostática o bien, formando un escudo de cargas negativas.

En muchas reacciones catalizadas por iones metálicos el papel de éste es similar al de un protón, este protón puede ayudar a una reacción al atraer electrones debilitando por consiguiente el enlace que está rompiendo, o bien a estabilizar cargas negativas generadas en un estado de transición favoreciendo así la reactividad de los compuestos. Un ión cargado positivamente puede desempeñar la misma función, a menudo incluso más efectivamente que el protón debido a que muchos iones metálicos pueden llevar más de una carga positiva (Bender y Brubacher, 1977).

Además, los iones metálicos promueven la catálisis nucleofílica por medio de la ionización del agua, la carga de un ión metálico hace que sus moléculas de agua unidas sean más ácidas y por consiguiente una fuente de iones hidroxilo, incluso por debajo del pH neutro. Es decir, las moléculas de agua coordinadas con metales se ionizan mucho mejor que el agua no coordinada, por lo tanto los cationes metálicos acomplejados con agua son una fuente de iones hidroxilo altamente reactivos.

En los mecanismos de reacción de enzimas que involucran un ion metálico o metaloenzimas, se requiere conocer: a) la afinidad de los reactantes, las coenzimas y los cofactores; b) las constantes de velocidad para cada paso; c) las relaciones geométricas tridimensionales entre los reactantes, las coenzimas en relación a los sitios catalíticamente importantes de la enzima; y d) el mecanismo de cada paso, es decir los arreglos atómicos y electrónicos. El mecanismo químico está determinado por el tipo de rompimiento y formación de enlaces que lleva a cabo la enzima.

Las velocidades de las reacciones catalizadas por enzimas son en general proporcionales a la primera potencia de la concentración de la enzima (son de primer orden respecto a la enzima). Sin embargo, es frecuente encontrar una dependencia de la concentración del sustrato (sobre el que actúa la enzima). La velocidad varía linealmente con la concentración de sustrato a concentraciones bajas (primer orden respecto al sustrato) y se hace independiente de la concentración de éste (orden cero) a concentraciones elevadas. Este tipo de comportamiento fue explicado por Michaelis y Menten.



2.3.1 Molibdeno

Schauer y Ferry (1982) mencionan la importancia del Mo en las reacciones bioquímicas del proceso de digestión anaerobia ya que está presente en las enzimas formiato deshidrogenasa. Adicionalmente el Mo inhibe la competencia entre las bacterias sulfato reductoras y las arqueas metanogénicas (Stephenson *et al.*, 1994; Dong-Jie *et al.*, 2011). La adición de Mo en biodigestores ha reportado que decrece la tasa de reducción de sulfatos con el correspondiente decremento en los niveles de sulfuros e incremento en la producción de metano (Norqvist y Roffey, 1986). La inhibición de las bacterias sulfato reductoras puede resultar en bajas concentraciones de HS^- , permitiendo una mayor disponibilidad de los elementos traza esenciales para los microorganismos metanógenos en lugar de ser precipitados en sulfuros insolubles.

2.3.2 Selenio y Cobalto

Banks & Zhang (2010) y Banks *et al.*, (2012) concluyeron que ambos elementos son claves y esenciales para la estabilidad del proceso y que éstos se encuentran en cantidad insuficiente en residuos de comida. El Se se encontró que es esencial para promover las reacciones de consumo de ácidos grasos volátiles en concentraciones altas de amoníaco.

El Co es un cofactor de las enzimas metil transferasa y de la monóxido de carbono deshidrogenasa (CODH) (Roth *et al.*, 1996; Zandvoort *et al.*, 2006). La enzima CODH es esencial para la producción y consumo de acetato estando presente en la etapa de acetogénesis y metanogénesis (Hattori *et al.*, 2005).

Banks *et al.*, (2012) encontró que el Se y el Mo son capaces de reducir el tiempo de degradación del ácido acético y ácido propiónico comparados con un control y con la adición de Ni y Fe. El Se de manera individual mejora solamente la degradación del ácido acético.

2.3.3 Hierro y Níquel

El Fe y Ni son también cofactores de la enzima CODH; son esenciales para la actividad de las algunas enzimas hidrogenasas siendo importantes en la etapa fermentativa y metanogénica (Vignais y Billoud, 2007).

El Ni por si solo es esencial para el cofactor F_{430} requerido para la actividad del complejo metil reductasa, el cual cataliza la última etapa de la formación de metano (Thauer *et al.*, 2008).

La mejora en la digestión anaerobia al adicionar Fe es debido tanto a los requerimientos nutricionales como a su efecto desintoxicante por inhibición de sulfuros, los cuales en presencia de un metal divalente forman complejos que precipitan (Pretti Rao y Seenayya, 1994).

Los elementos traza necesarios para la metanogénesis hidrogenotrófica son muy diferentes a los requeridos cuando la vía predominante para la formación de metano es la metanogénesis acetoclástica; cuando éste es el caso el Ni, Fe y Co son esenciales para las enzimas: CO



deshidrogenasa (CODH), acetyl-CoA descarboxilasa metil-H4SPT:HS-COM metiltransferasa, metil-CoM reductasa y otras enzimas. Estos tres cationes, sin embargo, siguen siendo esenciales en la oxidación de acetato vía Wood-Ljungdahl (Thauer *et al.*, 2008).

Speece *et al.*, (1983) estudiaron la estimulación nutricional de un cultivo de bacterias metanogénicas, usando como sustrato (no limitante) acetato de etilo y Ni, en combinación con otros nutrientes inorgánicos y orgánicos como: Fe, Co, extracto de levadura, riboflavina y vitamina B12. Encontraron que en presencia de Ni y con levadura la tasa específica de utilización del sustrato aumento hasta tres veces.

2.3.4 Tungsteno

Feng *et al.*, (2010) encontraron que la mayor producción de metano en la digestión anaerobia de deshechos de comida se obtuvo con la adición de Se, W y Co.

Durante la fermentación en la ruta de acetyl coenzima-A, puede ser catalizada por Fe-S benzyl-Co A reductasa quien también contiene W como cofactor (Kung *et al.*, 2009). Se ha postulado que la acumulación de ácidos grasos volátiles que provocan la acidificación del reactor, en especial la acumulación del ácido propiónico, se debe a la deficiencia de W, Se y Mo, estos son considerados importantes en la oxidación de formiato debido a que actúan como cofactores de la enzima formiato deshidrogenasa durante la metanogénesis hidrogenotrófica (Bock, 2006).

Banks *et al.*, (2012) encontraron que la adición de W y Co tiene una moderada influencia positiva en la degradación del ácido propiónico.

Los elementos traza utilizados así como los intervalos de concentración reportados en la literatura se reportan en las Tablas 8 y 9, tal como se puede ver algunos autores reportan en base a los kg de DQO, kg ST o bien como concentraciones en mg/L; esta concentración reportada puede variar de acuerdo al tipo de microorganismos y a la cantidad presente de éstos, una mayor concentración puede inhibir la reacción enzimática.

Tabla 8. Concentración de metales reportado en la literatura.

Compuesto adicionado	Elemento	Pobeheim, <i>et al.</i> (2010)	Niu <i>et al.</i> (2011)	Hunag-Mu (2005)	Banks <i>et al.</i> (2012)	Speece <i>et al.</i> (1982)	Zhang <i>et al.</i> (2012)	Zhang & Jahng, (2011)
		Concentración óptima [M]			Concentración [mg/L]	Concentración [M]		
CoCl ₂ *6H ₂ O	Co	2.0E-06	--	--	1.8E-02	1.7E-01	1.13E-05	4.96E-04
NiCl ₂ *6H ₂ O	Ni	1.06E-05	--	1.7E-04 - 2.04E-02	6.6E-02	1.7E-01	5.68E-05	3.52E-05
FeCl ₂ *4H ₂ O	Fe	--	--	--	3.2E+00	4.5E+00	5.97E-04	5.63E-04
Na ₂ MoO ₄ *2H ₂ O	Mo	5.30E-05	0 - 1.5E-07	--	2.4E-02	--	1.74E-05	2.72E-05
Na ₂ SeO ₃ *5H ₂ O	Se	--	--	--	3.2E-03	--	--	5.61E-05
Na ₂ WO ₄ *2H ₂ O	W	--	--	--	1.1E-03	--	--	--

a: En este caso el autor reporta esta concentración como la de la solución stock, de esta es agregada ciertos mililitros sin embargo no reporta este volumen adicionado.



Tabla 9. Concentración de metales reportados en la literatura.

Compuesto adicionado	Elemento	Pobeheim <i>et al.</i> (2010) Lodos de 6 plantas con Reactores Anaerobios [mg/kgMat.Org.seca]	Fulekar (2011)		Facchin <i>et al.</i> (2013) Concentración óptima [mg/kgST]
			Requerimiento [mg/kgDQO]	Concentración en exceso deseada [mg/L]	
CoCl ₂ *6H ₂ O	Co	0.05 - 1.60	3	0.02	5 – 100
NiCl ₂ *6H ₂ O	Ni	3.10 - 8.40	4	0.02	5 – 100
FeCl ₂ *4H ₂ O	Fe	1150 – 2630	30	10	--
Na ₂ MoO ₄ *2H ₂ O	Mo	1.10- 16.5	4	0.05	3 – 60
Na ₂ SeO ₃ *5H ₂ O	Se	1.00 - 1.90	4	0.08	0.50- 10
Na ₂ WO ₄ *2H ₂ O	W	--	4	0.02	0.50- 10

2.3.5 Presencia de selenio, molibdeno, tungsteno y níquel en fuentes naturales

La Tabla 10 presenta la forma común en la que se puede encontrar cada uno de los iones metálicos, del interés de este trabajo, en la naturaleza.

Tabla 10. Formas naturales de obtención de Se, Mo, W y Ni(Sharma D., 2013; USDA, 2012; NIH, 2013; NYU, 2013).

Elemento	Forma común de obtención	Fuentes de obtención
Molibdeno	<p>Se encuentra en la naturaleza en el rango de las partes por millón (ppm).</p> <p>Se encuentra en gran cantidad en el agua de mar en forma de molibdatos (MoO₄²⁻), siendo fácilmente absorbible por seres vivos.</p>	<p>El Mo es conocido, por ser indispensable en el metabolismo y en la absorción intestinal del Fe, está presente en la mayoría de los animales y plantas, las cuales lo obtendrán en mayor o menor medida dependiendo del suelo. En el organismo está en mayores cantidades en los riñones, el hígado, el intestino delgado y las glándulas suprarrenales</p> <p>Entre las fuentes naturales de Mo se encuentran: el germen de trigo, trigo sarraceno, legumbres, cereales integrales, productos lácteos vegetales de hoja verde oscura como: espinacas, ejotes, lentejas, papas y semillas de girasol. En fuentes de origen animal se encuentra en las vísceras de tiburón.</p>
Níquel		<p>Los alimentos naturalmente contienen pequeñas cantidades de Ni, los de mayor contenido son: avena, maíz, trigo, cebada, perejil, cacahuete, almendras, nueces, avellanas, cacao, café, extracto de café, chocolate y las grasas, éstos son conocidos por contener altas cantidades.</p> <p>El níquel es acumulado en el organismo a través del consumo de grandes cantidades de vegetales procedentes de suelos contaminados, debido a la acumulación de éste en plantas.</p>
Selenio	<p>Formas inorgánicas: selenio, selenato y selenito.</p> <p>Forma orgánica: selenuro de dimetilo, selenocisteína, selenometionina, y metilselenocisteína.</p> <p>En suelos: se encuentra en forma soluble</p>	<p>Las fuentes naturales de selenio incluyen ciertos suelos ricos en selenio, y el selenio que se ha bioconcentrado en ciertas plantas.</p> <p>Entre las fuentes naturales más ricas se encuentran: las vísceras y los mariscos, seguidos por la carne. También es encontrado en nueces de Brasil, semillas de girasol, algas, cereales integrales, levadura de cerveza, germen de trigo, ajo, cebolla, limones, setas salvajes, salmón, túnidos; sin embargo la incorporación de Se dentro de las proteínas y plantas depende del contenido en el suelo o agua.</p>



Elemento	Forma común de obtención	Fuentes de obtención
Tungsteno		Es un elemento escaso en la corteza terrestre, es el único elemento de la tercera serie de metales de transición que se sabe que está presente en las biomoléculas, donde es utilizado por algunas pocas especies de microorganismos, siendo el elemento más pesado conocido utilizado por cualquier organismo vivo.

2.4 Pruebas de actividad metanogénica

La actividad del inóculo puede ser considerada como: a) medida general que proporciona información acerca de la actividad degradativa por los microorganismos hacia cierto sustrato, o bien, b) medida de la actividad de cada etapa que conforma el proceso de digestión anaerobia. La actividad individual, de cada etapa, hace posible la detección de situaciones potenciales de desequilibrio entre las diferentes especies bacterianas y la determinación de la importancia relativa de los diferentes pasos del proceso; además se puede determinar el efecto tóxico que una sustancia en específico ejerce sobre la digestión anaerobia. Un cambio en la actividad del inóculo puede señalar una inhibición o una acumulación de materia orgánica lentamente degradable o incluso no degradable.

Los resultados de la actividad del inóculo contribuyen dando una explicación acerca del rendimiento y comportamiento dinámico del proceso anaerobio llevado a cabo por el inóculo. Este método permite determinar las constantes cinéticas de la degradación del sustrato para las diferentes etapas del proceso (Soto *et al.*, 1993). A su vez, con los valores cinéticos, se puede determinar el efecto tóxico o benéfico de ciertos compuestos en el proceso anaerobio.

Aunque se han realizado diversos estudios del efecto de los elementos traza en la digestión anaerobia, los requerimientos para aumentar la actividad de las etapas de metanogénesis hidrogenotrófica y acetoclástica no es del todo comprendida, lo que se busca en esta investigación es encontrar una mezcla de iones metálicos que favorezcan la etapa más lenta de la digestión anaerobia (metanogénesis) para el inóculo seleccionado.

Las pruebas de actividad son llevadas a cabo en lotes con una cantidad fija de sustrato e inóculo, la actividad específica es estimada por la tasa de producción de metano o por el agotamiento del sustrato. La Tabla 11 muestra los sustratos comúnmente utilizados para llevar a cabo pruebas de actividad del inóculo para las etapas de la digestión anaerobia.

Tabla 11. Sustratos comúnmente empleados en pruebas de actividad del inóculo (Soto *et al.*, 1993; Muxi *et al.*, 1992).

Prueba	Sustrato
Actividad Hidrolítica	-Glucógeno (bacterias hidrolíticas)
Actividad Acidogénica	-Glucosa (baterías acidogénicas)
Actividad Metanogénica	- Ácido n-butírico (bacterias sintróficas)
	- Ácido acético (arqueas metanogénicas y bacterias sulfato reductoras)
	- Ácido Propiónico (bacterias sintróficas)
	- H ₂ /CO ₂ (arqueas metanogénicas y bacterias sulfato reductoras)
	- La mezcla de alguno de los anteriores



El conocimiento de la actividad metanogénica específica (AME) permite establecer la capacidad máxima de remoción de DQO, de tal forma que se puede estimar la carga orgánica máxima aplicada a un reactor impidiendo su desestabilización; así mismo, también permite determinar la concentración mínima de biomasa requerida en el reactor para garantizar la reducción de la carga orgánica (Aquino *et al.*, 2007).

La actividad se expresa en g DQO/g SV d y puede ser obtenida a partir de la rapidez de generación del producto (dV_{CH_4}/dt), volumen de metano, o bien a partir de la rapidez de consumo del sustrato (dS/dt) (Soto *et al.*, 1993):

- Rapidez de consumo del sustrato

$$AME = -\frac{dS}{dt} \left(\frac{1}{X_0} \right) \quad \text{Ecuación 1}$$

- Rapidez de generación del producto, metano

$$AME_p = -\frac{dV_{CH_4}}{dt} \left(\frac{1}{X_0 V_R f} \right) \quad \text{Ecuación 2}$$

donde:

S : Concentración del sustrato expresado en g DQO/L o g COD/L

X_0 : Biomasa, concentración de sólidos volátiles en g SV/L

V_R : Volumen útil del reactor en L

f : Es un coeficiente de rendimiento que representa el valor de DQO por unidad de volumen de metano, éste depende de la temperatura y composición del gas siendo:

- Metano seco a 20°C, $= f \cdot 0.376 \text{ L CH}_4/\text{g DQO}$ (Gallegos-García, Celis B., y Razo-Flores, 2010)
- Metano húmedo a 20°C medido mediante desplazamiento $f = 0.385 \text{ L CH}_4/\text{g DQO}$ (Gallegos-García *et al.*, 2010)
- Metano a 1 atm y 0°C $f = 0.34 \text{ L CH}_4/\text{g DQO}$ (Soto *et al.*, 1993)
- Metano húmedo a 25°C medido mediante desplazamiento $f = 0.405 \text{ L CH}_4/\text{g DQO}$

$\frac{dV_{CH_4}}{dt}$: Pendiente de la gráfica de producción de metano en función del tiempo en [L CH₄/d] a condiciones estándar de presión y temperatura, 1 atm y 0°C.

Para caracterizar la condición experimental cinéticamente y facilitar la comparación entre estas, se pueden obtener relaciones analíticas entre el volumen de metano (producto formado) y el tiempo de reacción (reactivos consumidos) (Borja *et al.*, 1993).



Usando la ecuación de Monod:

$$\mu = \frac{\mu_{Max}S}{k_s + S} \quad \text{Ecuación 3}$$

Y aplicando esta misma ecuación y considerando $S \ll k_s$:

$$\mu = \frac{\mu_{Max}S}{k_s} \quad \text{Ecuación 4}$$

donde μ es la rapidez específica de crecimiento de los microorganismos (d^{-1}) y μ_{Max} la rapidez máxima específica de crecimiento (d^{-1}), S es la concentración del sustrato (g DQO/L) y k_s la afinidad del microorganismo por el sustrato. El coeficiente de rendimiento de los microorganismos es Y_x :

$$Y_x = -\frac{dX}{dS} \quad \text{Ecuación 5}$$

donde X es la concentración de microorganismos (g SV/L). Por lo tanto:

$$-Y_x \left(\frac{dS}{dt} \right) = \frac{dX}{dt} \quad \text{Ecuación 6}$$

donde:

$$\frac{dX}{dt} = \mu X \quad \text{Ecuación 7}$$

Sustituyendo las ecuaciones 6 y 7 en la ecuación 4 y tomando en cuenta que $X \approx X_0$ y que Y_x es muy pequeña (Jeris, 1983), entonces:

$$-\frac{dS}{S} = k_0 dt \quad \text{Ecuación 8}$$

donde:

$$k_0 = \frac{\mu_{Max}X_0}{k_s Y_x} \quad \text{Ecuación 9}$$

Siendo X_0 la concentración inicial de microorganismos (g SV/L). Integrando la ecuación 8 y tomando en cuenta que en $t = 0$, $S = S_0$ se obtiene:

$$S = S_0 e^{-k_0 t} \quad \text{Ecuación 10}$$

El coeficiente de rendimiento de metano está definido como:



$$f = -\frac{dG}{dS}$$

Ecuación 11

Donde G es el volumen de metano, e integrando en $G = 0$ para $S = S_0$ se obtiene:

$$G = f(S_0 - S)$$

Ecuación 12

Resolviendo la ecuación 12 para S y sustituyendo en la ecuación 10 se obtiene:

$$G = S_0 f(1 - e^{-k_0 t})$$

Ecuación 13

Por lo tanto:

$$G = G_m(1 - e^{-k_0 t})$$

Ecuación 14

donde:

$$G_m = S_0 f$$

Ecuación 15

La ecuación 14, es la ecuación propuesta por Roediger (Edeline, 1980) que relaciona el volumen de gas y el tiempo en un digestor anaerobio en lotes. Donde G corresponde al volumen acumulado de metano (mL) a un cierto tiempo, t ; G_m es el volumen máximo de metano acumulando a un tiempo infinito. k_0 constante de rapidez específica (d^{-1}) observada en la cual un decremento de este valor puede indicar una posible inhibición y t el tiempo de digestión. De acuerdo a esta ecuación la producción de metano sigue una cinética de 1er orden (Winkler, 1986; McCarthy & Mosey, 1991).

La tasa de producción de metano puede ser calculada del volumen total acumulado al tiempo correspondiente y al conocer la biomasa contenida en el reactor, la actividad metanogénica específica (AME) a un tiempo determinado puede ser calculado como:

$$AME = \frac{G}{tXV_R f}$$

Ecuación 16



3 Metodología

En este capítulo se presenta la metodología experimental y las condiciones de trabajo bajo las cuales se llevó a cabo la experimentación con la finalidad de cumplir con los objetivos planteados.

De acuerdo al análisis previo del capítulo anterior respecto a los diferentes iones metálicos (Ni^{+2} , Co^{+2} , Fe^{+2} , Fe^{+3} , Se^{+4} , W^{+6} y Mo^{+6}) involucrados en la diferentes etapas de la digestión anaerobia y su importancia, se plantea evaluar la influencia de los iones: Ni^{+2} , Se^{+4} , Mo^{+6} y W^{+6} en la etapa de metanogénesis en la digestión anaerobia de residuos sólidos orgánicos urbanos, generados en la delegación Benito Juárez.

La formación de metano a partir de H_2 y CO_2 es termodinámicamente favorable (metanogénesis hidrogenotrófica), sin embargo por esta vía se genera solamente del 27-30% de metano, el resto es generado por la vía acetoclástica (Almeida *et al.*, 2011). En este trabajo se pretende cubrir la necesidad de iones metálicos (Ni^{+2} , Se^{+4} , Mo^{+6} y W^{+6}) necesarios para las enzimas involucradas en la ruta hidrogenotrófica con la finalidad de aumentar la producción de metano.

Se utilizó el equipo AMPTS II (Automatic Methane Potential Test System) de Bioprocess Control, el cual cuenta con un total de 15 reactores de 500 mL con agitación, éstos son introducidos en un sistema de calentamiento a baño maría manteniendo constante la temperatura a 35°C (proceso mesofílico), el biogás generado es conducido a frascos que contienen una solución de NaOH 3M donde el CO_2 es absorbido, posteriormente automáticamente es cuantificado solamente el CH_4 generando un archivo (formato Excel) del volumen acumulado de CH_4 , dicho volumen acumulado es reportado a condiciones estándar de presión y temperatura (STP). El volumen útil de cada reactor fue siempre de aproximadamente 300 mL.

La metodología experimental de este trabajo se divide principalmente en 7 etapas (Figura 18) las cuales se describen brevemente a continuación:

- Etapa 1: Consistió en la obtención de la muestra de residuos sólidos orgánicos urbanos generados en la delegación Benito Juárez.
- Etapa 2: En esta etapa se realizaron pruebas previas con diferentes relaciones de inóculo:sustrato (R I:S) en el equipo de potencial bioquímico de metano. La finalidad de esta etapa fue: 1) establecer una relación inóculo:sustrato en la cual se evitara una acidificación del proceso, 2) elegir una la relación inóculo:sustrato que tuviera la mayor producción de CH_4 y 3) determinar el tiempo de experimentación, al utilizar la FORSU como sustrato, bajo el cual se obtuviera una producción constante de CH_4 . Con la relación inóculo:sustrato más adecuada de esta segunda etapa, se realizaron las pruebas finales (etapa 7).
- Etapa 3. Se desarrolló la técnica experimental que consistió en la realización de pruebas de actividad metanogénica específica (AME) con HCOONa como sustrato. La finalidad de esta etapa fue establecer las condiciones experimentales bajo las cuales se obtuvieran resultados



confiables y un tiempo de experimentación representativo así como sistematizar el error en la técnica.

- Etapa 4: Se estudió la influencia de la adición de una solución nutritiva y la adición de una solución compuesta solamente por los iones metálicos de estudio en las mezclas de reacción. Se realizó un diseño factorial 2^2 teniendo como factores categóricos: solución nutritiva y solución de iones metálicos de estudio, ambos evaluados en un nivel bajo (no adición) y alto (adición). La finalidad de esta etapa, fue encontrar si existía o no una sinergia, al adicionar los iones metálicos y una solución nutritiva, que favoreciera las pruebas de AME con HCOONa como sustrato, y de acuerdo a los resultados que se encontrasen se procedería a descartar o no la adición de la solución nutritiva como una variable.
- Etapa 5: Se realizaron experimentos con un diseño de mezclas simplex centroide aumentado. Durante esta etapa se llevaron a cabo las pruebas del diseño experimental, que constó de 22 diferentes tratamientos los cuales incluyeron muestras puras, binarias, ternarias y cuaternarias.

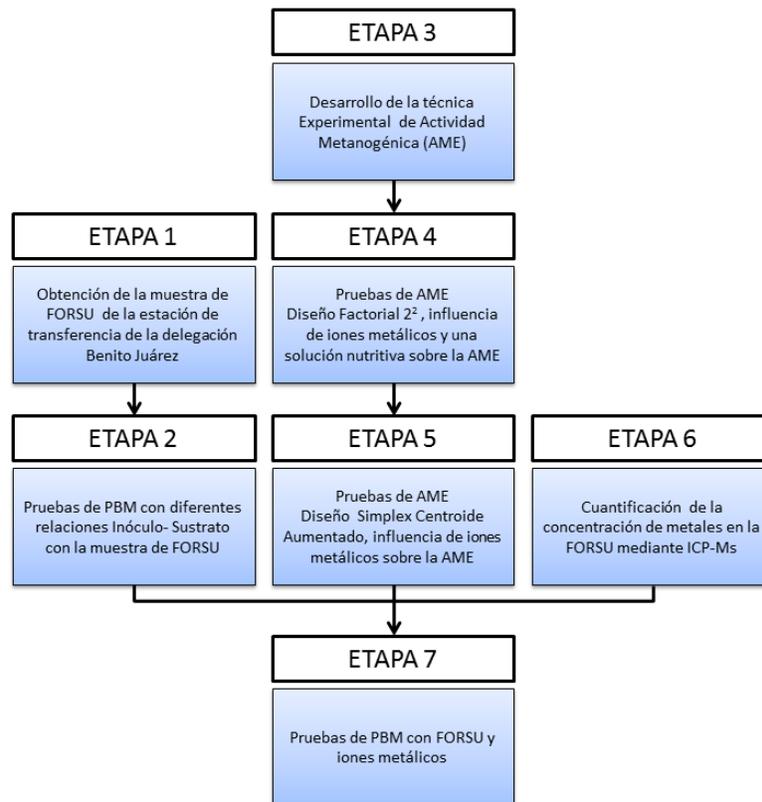


Figura 18. Diagrama de metodología experimental de este trabajo de investigación.

- Etapa 6: Se cuantificó la concentración de los metales de estudio. Se determinó la concentración de Mo, Se, W y Ni en el lodo y FORSU mediante espectrometría ICP-MS, estos análisis fueron llevados a cabo con apoyo de la USAI (Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación, Facultad de Química, UNAM). La finalidad fue atribuir el efecto (positivo o negativo) encontrado sobre la AME a la adición de los iones metálicos y no a la cantidad de



iones metálicos que pudiera ya contener el inóculo (lodo anaerobio) o FORSU, así como evitar utilizar concentraciones inhibitorias de estos iones metálicos.

- Etapa 7: Se llevaron a cabo pruebas con FORSU con una proporción de iones metálicos y la relación inóculo:sustrato más adecuada. De acuerdo los resultados obtenidos del diseño experimental de mezclas, la proporción de iones metálicos que aumentó la AME, se probó con FORSU de la delegación Benito Juárez en el equipo de potencial bioquímico de metano, tomando en cuenta la mejor relación inóculo:sustrato obtenida en la etapa dos.

3.1 Etapa 1. Obtención de la muestra de residuos sólidos orgánicos urbanos generados en la delegación Benito Juárez

La muestra se colectó de la estación de transferencia de la delegación Benito Juárez. Esta estación de transferencia inició actividades en el año de 1980 y tiene una capacidad de diseño para procesar 500 t/d de residuos sólidos, llegando a transportar en promedio 180 t/d de residuos orgánicos. Ocupa un área de 20,041 m² y opera los siete días de la semana en un horario de 06:00 a 20:00 h. La forma geométrica del área de descarga de la estación es hexagonal, cuenta con dos rampas de acceso y con tres tolvas de descarga, una de ellas es exclusiva para residuos orgánicos. De acuerdo a datos proporcionados por el personal de la estación, se cuenta con un grado de pureza en residuos orgánicos del 90%, presenta un déficit del transporte de transferencia de residuos, lo que ocasiona un tráfico interno para realizar la descarga de los vehículos de recolección, teniendo como horario crítico para la descarga de los camiones de recolección entre las 13:00 y 16:00 h. La Delegación Benito Juárez cuenta con una flotilla de 140 camiones recolectores de RSU, los cuales operan diariamente, con un promedio de 6.3 t/camión.

En esta estación se pueden llegar a recibir camiones de las colonias cercanas de las delegaciones Álvaro Obregón y Coyoacán, además de mercados públicos ubicados en la demarcación.

Para determinar el tamaño de la muestra se hizo con base en las características físicas que presenta el sitio de muestreo y de acuerdo con los sistemas de gestión de los residuos del área usuaria.

La técnica estadística utilizada en un muestreo para la caracterización física de los residuos puede ser la indicada para el muestreo de proporciones, tal como es mostrada en la siguiente ecuación:

$$n = \frac{z^2 pq}{d^2}$$

Ecuación 17

donde:

- n : Tamaño de la muestra en unidades de peso
- z: Factor de distribución normal, para un intervalo de confianza del 95 %, habitualmente z = 1.96
- p : Proporción del total que posee la característica deseada
- q : Proporción del total que no posee la característica deseada (q = 1 – p)
- d : Precisión deseada en la proporción. Para efectos de muestreo de residuos sólidos, es razonable un valor de 2.5% (0.025).



Para poder realizar el cálculo del tamaño de muestra, es necesario conocer los porcentajes en peso de los subproductos de la estación de transferencia, así como los porcentajes obtenidos de la fracción orgánica, esto se hizo tomando en cuenta los resultados encontrados por Orta *et al.*, 2009, donde estos valores corresponderían al valor p de la ecuación anterior para cada subproducto. Con estos datos se calculó el tamaño de la muestra para cada subproducto. Se eligió la n mayor, ya que con este valor se calcula la precisión que se desea para el subproducto correspondiente (en este caso los residuos alimenticios) y además se obtiene una precisión mayor para los demás subproductos. Los datos se muestran en el Anexo I.

Tomando esto en cuenta, el tamaño de la muestra de residuos orgánicos corresponde a 1185.13 kg. Por lo que para la estación de transferencia de Benito Juárez la muestra que se tomó fue de aproximadamente 1.2 toneladas.

Posteriormente, se aplicaron las normas NMX-AA-15-1985 y NMX-AA-19-1985 correspondientes a Método de Cuarteo y Peso Volumétrico *in situ*. La clasificación de los subproductos fue: restos de animales; dulces, galletas y pasteles; bolsas de té, filtros de café y tierra; cáscaras de frutas y vegetales; carne y pescado (incluyendo huesos, grasa y piel); plantas y flores de hogar; pasta pan y cereal; productos lácteos y cascarón de huevo, así como otros compostables; e inorgánicos presentes. Esta clasificación se realizó con la muestra procedente del primer cuarteo que no fue eliminada.

3.2 Etapa 2. Pruebas de Potencial Bioquímico de Metano (PBM) con diferentes relaciones inóculo:sustrato

Se realizaron pruebas con diferentes relaciones inóculo:sustrato con la finalidad de evitar una posible acidificación del sistema, obtener una mayor producción de metano y establecer un periodo de experimentación aceptable. La relación inóculo:sustrato es uno de los factores más importantes que influyen en el resultado de las pruebas de potencial bioquímico de metano.

El inóculo que se usó es lodo anaerobio granular proveniente de la cervecería de Grupo Modelo. Para esta etapa, previo al uso de este lodo granular para estas pruebas, se eliminó el exceso de agua por decantación y posteriormente fue disgregado con una batidora con la finalidad de formar un lodo de consistencia homogénea, posteriormente, este lodo fue incubado a una temperatura de 35°C, por un periodo de 3 días, para que el material biodegradable disuelto fuera consumido por los microorganismos. Una vez incubados los lodos, se determinó la cantidad de SV contenidos en éstos, así como en la FORSU para posteriormente pesar la cantidad correspondiente y obtener las relaciones propuestas; se adicionaron 110 mL de una solución buffer de fosfatos 0.15 M (K_2HPO_4 y KH_2PO_4) para amortiguar los cambios en el proceso y mantener un pH de 7. El volumen útil de cada reactor fue de 0.3 L con un espacio de cabeza para la formación del biogás de 0.35 L.

Como sustrato se usó FORSU con una relación DQO/N/P de 213/6/1. En la Tabla 12 se muestran las cuatro relaciones inóculo:sustrato que se probaron.



Tabla 12. Relaciones de inóculo sustrato (R I:S).

Cantidad de inóculo y FORSU empleados	Relación I:S	Cociente Inóculo/Sustrato
6 g SV de inóculo y 12 g SV de FORSU	6 : 12	0.5
6 g SV de inóculo y 6 g SV de FORSU	6 : 6	1
6 g SV de inóculo y 3 g SV de FORSU	6 : 3	2
6 g SV de inóculo y 1.5 g SV de FORSU	6: 1.5	4

Al finalizar las pruebas se midieron los siguientes parámetros: índices de alcalinidad (relación alfa e índice tampón, IB), pH además de la cuantificación del metano producido para cada relación.

3.3 Etapa 3. Desarrollo experimental de la técnica de Actividad Metanogénica (AME)

Se realizaron pruebas con HCOONa como sustrato con la finalidad de establecer la cantidad de inóculo y fuente de carbono tal que se obtuviera una duración del proceso representativa, siendo ésta de aproximadamente de 4 días. Durante esta etapa también se intentó sistematizar el error en la técnica.

La actividad metanogénica específica, AME, se define como la rapidez de producción de metano, expresada como g de DQO, con respecto a la biomasa medida como sólidos volátiles, siendo sus unidades g DQO-CH₄/g SV d.

Las pruebas de AME se realizaron en el equipo de potencial bioquímico de metano, aprovechando la configuración del sistema que incluye la agitación y absorción del CO₂ para la posterior cuantificación del CH₄, se usó como sustrato formiato de sodio, NaCOOH, esto con base en la ruta bioquímica para la formación de metano y en las enzimas involucradas en ésta etapa que requieren de los iones metálicos de estudio como cofactores de las mismas (Figura 16).

El formiato de sodio, al ser una sal y disociarse en agua forma el ion formiato, éste estará en equilibrio formando el ácido correspondiente, ácido fórmico con un pka=3.75. La conversión anaeróbica de formiato a metano consume la acidez del medio de acuerdo a las siguientes reacciones:



Estas reacciones provocan un incremento en el pH, si éste incrementa a más de 9 existe la posibilidad de que la actividad de las arqueas metanogénicas sea suprimida ya que éstas tienen una tolerancia al pH entre 6-9 (Liu y Whitman, 2008; Slonczewski y Foster, 2009), debido a esto se utilizó una solución buffer de fosfatos (K₂HPO₄ y KH₂PO₄) con una concentración de 0.5 M.

Las mejores condiciones experimentales encontradas finalmente después de varias pruebas y utilizadas en las etapas siguientes (Etapa 4 y 5) se resumen en la Tabla 13.



Tabla 13. Condiciones encontradas en la etapa 3 y utilizadas en las etapas 4 y 5.

Condición	Cantidad
Cantidad de inóculo agregado (lodo anaerobio granular)	0.6 de g SV
Concentración final en el reactor de la solución de carbono	3.33 g C/L
Concentración de la solución buffer de fosfatos adicionada	0.5 M
Etapas 4 y 5. Tratamiento del lodo para eliminar material biodegradable y nutrientes que pudiera contener el lodo anaerobio granular.	Lavado con agua destilada y centrifugado a 2500 rpm por 20 min (3 lavados en total)

Para cada prueba, se adicionaron 40 mL de la solución de formiato y 250 mL de la solución buffer de fosfatos, la cantidad de lodo adicionada varió de 7 a 8 g de acuerdo a los resultados del contenido de SV en el lodo antes de cada prueba. El volumen de las soluciones adicionadas de iones metálicos y/o solución nutritiva fue de 10 mL, con la finalidad de obtener siempre un volumen útil de 0.3 L.

Una vez establecidas las condiciones de experimentación, se realizaron pruebas por triplicado para obtener el valor de la AME con formiato de sodio con una concentración final en el reactor de 3.33 gC/L y con una mezcla de ácidos grasos volátiles de: acetato, propionato y butirato; y con una concentración final en el reactor de 2, 0.5 y 0.5 g C/L respectivamente, esto de acuerdo a Soto *et al.*, (1993). El volumen útil del reactor para cada prueba fue de 0.3 L.

Al finalizar las pruebas se midió: índices de alcalinidad (relación alfa e índice tampón, IB), pH además de la cuantificación del metano producido para cada relación.

3.4 Etapa 4. Pruebas de Actividad Metanogénica. Influencia de la adición de una solución nutritiva y la adición de una solución de iones metálicos

En los experimentos cuya finalidad era encontrar si existía o no una sinergia entre la adición de una solución de los iones metálicos de estudio y una solución de nutrientes la composición y concentración final de la solución nutritiva se muestra en la Tabla 14. La cantidad de iones metálicos adicionados fue de Mo^{+6} , W^{+6} y Ni^{+2} de 0.25 mg/L mientras que para Se^{+4} de 0.15 mg/L, estas concentraciones corresponden a los valores máximos de concentración empleados por Banks *et al.*, (2012).

Tabla 14. Composición y concentración final de la solución nutritiva utilizada en cada reactor.

Elemento	Concentración en exceso deseada [mg/L]	Forma típica de adición
Fe	10.00	$FeCl_2 \cdot 4H_2O$
Zn	0.20	$ZnCl_2$
Cu	0.20	$CuCl_2 \cdot 2H_2O$
Mn	0.20	$MnCl_2 \cdot 4H_2O$
B	0.20	H_3BO_3
N	0.050	HN_4Cl

Se realizó un diseño factorial 2^2 teniendo como variables categóricas la adición o no de la solución de iones metálicos y la adición o no de la solución nutritiva (la composición de esta solución se encuentra en la tabla 14). En la Tabla 15 se muestran las 4 condiciones de este diseño factorial realizadas por triplicado, así como el respectivo blanco.



Tabla 15. Condiciones evaluadas en el equipo de potencial bioquímico de metano, experimento 4.

Condición	Fuente de carbono	No. Replicas
1	Formiato de Sodio	2
2	Formiato de Sodio + Iones Metálicos	2
3	Formiato de Sodio + Nutrientes	2
4	Formiato de Sodio + Iones Metálicos + Nutrientes	2
5	Blanco	3

Para cada prueba, se adicionaron 40 mL de la solución de formiato y 250 mL de la solución buffer de fosfatos, la cantidad de lodo adicionada varío de 7 a 8 g de acuerdo a los resultados del contenido de SV en el lodo antes de cada prueba. El volumen de las soluciones adicionadas de iones metálicos y/o solución nutritiva fue de 10 mL, con la finalidad de obtener siempre un volumen útil de 0.3 L. En esta etapa experimental los lodos fueron disgregados con la ayuda de una batidora.

Posteriormente con los resultados de este diseño, se decidió eliminar la variable de adición de nutrientes debido a su influencia negativa sobre la AME y se procedió a ejecutar el diseño de mezclas simplex centroide aumentado (etapa 5). En la Figura 19 se muestran las actividades llevadas a cabo en cada montaje de los experimentos.

Al finalizar las pruebas se midió: DQO, pH, índices de alcalinidad (relación alfa e índice tampón, IB), además de la cuantificación del metano producido.

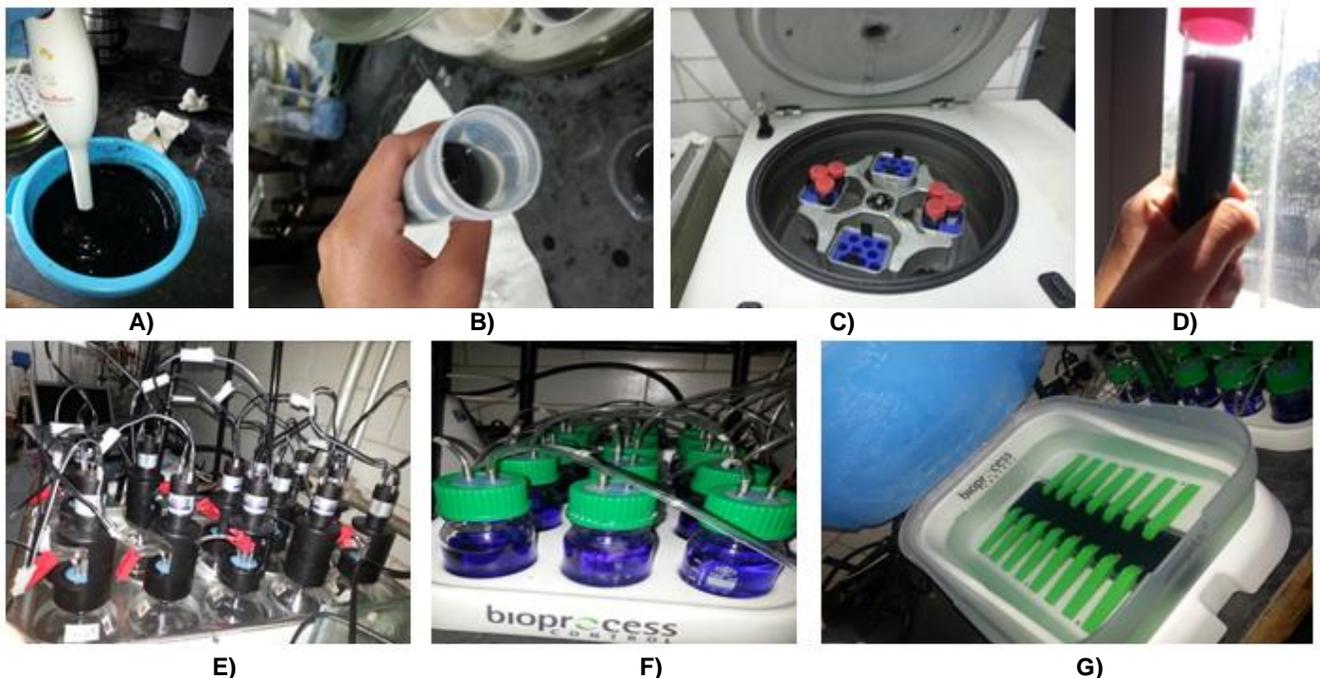




Figura 19. Actividades y equipo utilizado durante la experimentación. A) Disgregación de lodos. B) Exceso de agua contenido en los lodos. C) Centrifugado de lodos. D) Lodos centrifugados. E) Reactores conectado en serie para agitación mecánica dentro del baño maría a 35°C. F) Frascos de NaOH 3 M con indicador para absorción de CO₂ generado. G) Medición del volumen generado mediante el principio de flotación de una burbuja de gas. H) Etiquetado de reactores. I) Adición de gas N₂ para mantener una atmósfera anaerobia en los reactores

3.5 Etapa 5. Pruebas de Actividad Metanogénica. Diseño de mezclas simplex centroide aumentado

Se realizó un diseño de mezclas, simplex centroide aumentando. La finalidad de este trabajo de investigación es encontrar una mezcla de los iones metálicos Ni⁺², Se⁺⁴, Mo⁺⁶ y W⁺⁶ tal que maximice la producción de metano, favoreciendo la metanogénesis hidrogenotrófica, al buscar una mezcla de estos 4 ingredientes, las características de la calidad de esta mezcla dependerá de las proporciones con las que participen los ingredientes y no de la cantidad absoluta de éstos. Entre los objetivos de un experimento con mezclas se tiene:

- Determinar cuáles de los ingredientes de la mezcla, o interacciones entre ellos que tienen una mayor influencia sobre la respuesta.
- Modelar las respuestas en función de las proporciones de los componentes de la mezcla.
- Usar estos modelos para determinar en qué porcentaje debe participar cada uno de los ingredientes para lograr que la mezcla tenga las propiedades deseadas.

En este experimento de mezclas, se tiene q=4 componentes y cada tratamiento en el experimento consiste en una combinación particular de dichos componentes. En el caso de cuatro componentes, la región experimental es un tetraedro. La diferencia principal contra un diseño factorial, es que en éste no se puede dibujar la región experimental para cuatro factores en una figura compacta.

En general el objetivo de este diseño es cuantificar la influencia que tienen los diferentes componentes sobre la respuesta, tanto de forma individual como en su acción conjunta con otros componentes. Se trata de modelar esta respuesta para predecirla en cualquier formulación posible y utilizar los modelos con el propósito de encontrar la composición de la mezcla que proporcione mejores resultados.

Este tipo de diseño consta de 22 tratamientos, entre estos tratamientos se encuentran mezclas puras, binarias, ternarias y cuaternarias. Estos tratamientos así como el bloque en el cual se terminaron las réplicas de cada tratamiento, se muestran en la Tabla 16. El valor que corresponde a un 100% corresponde a una concentración de 0.25 mg/L de cada ión metálico, a partir de este valor se hicieron los cálculos correspondientes para los demás porcentajes. Cada reactor fue preparado con las



condiciones de la Tabla 13, es decir se agregó 40 mL de una solución concentrada de carbono (25 g C/L) tal que al tener un volumen de 0.3 L se tuviera una concentración de 3.33 gC/L en cada reactor, además se adicionaron 250 mL de una solución buffer 0.5 M capaz de amortiguar el cambio en el pH propio de la conversión de formiato a metano, los iones metálicos fueron añadidos de tal forma que ésta adición fuera siempre de 10 mL, para completar un volumen útil de 0.3 L, y cuidando que se tuviera la concentración indicada para tratamiento. En esta etapa experimental se utilizó lodo granular sin disgregar.

Tabla 16. Tratamientos del diseño de mezclas simplex centroide aumentado.

Exp.	Bloque	Proporción				Concentración [mg/L]			
		Mo	Se	W	Ni	Mo	Se	W	Ni
A	3	0.333	0.333	0.000	0.333	0.083	0.083	0.000	0.083
B	2	0.500	0.500	0.000	0.000	0.125	0.125	0.000	0.000
C	2	0.125	0.625	0.125	0.125	0.031	0.156	0.031	0.031
D	3	0.000	0.500	0.500	0.000	0.000	0.125	0.125	0.000
E	2	0.500	0.000	0.000	0.500	0.125	0.000	0.000	0.125
F	2	1.000	0.000	0.000	0.000	0.250	0.000	0.000	0.000
G	2	0.250	0.250	0.250	0.250	0.063	0.063	0.063	0.063
H	4	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	0.250	0.000	0.000
I	2	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	0.250
J	4	0.125	0.125	0.125	0.625	0.031	0.031	0.031	0.156
K	4	0.125	0.125	0.625	0.125	0.031	0.031	0.156	0.031
L	5	0.000	0.000	0.500	0.500	0.000	0.000	0.125	0.125
M	4	0.000	0.333	0.333	0.333	0.000	0.083	0.083	0.083
N	2	0.333	0.333	0.333	0.000	0.083	0.083	0.083	0.000
Ñ	1	0.625	0.125	0.125	0.125	0.156	0.031	0.031	0.031
O	5	0.333	0.000	0.333	0.333	0.083	0.000	0.083	0.083
P	4	0.000	0.500	0.000	0.500	0.000	0.125	0.000	0.125
Q	1	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	0.250	0.000
R	2	0.500	0.000	0.500	0.000	0.125	0.000	0.125	0.000
S	3	1.000	0.000	0.000	0.000	0.250	0.000	0.000	0.000
T	1	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	0.250	0.000	0.000
U	1	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	0.250	0.000

Al finalizar las pruebas se midió: pH, índices de alcalinidad (relación alfa e índice tampón, IB) además de la cuantificación del metano producido para cada relación.

3.6 Etapa 6. Cuantificación de Metales

Se enviaron muestras del lodo anaerobio granular de Grupo Modelo y de FORSU a la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación (USAI) de la Facultad de Química. Estas consistieron en lodo anaerobio granular sin ningún acondicionamiento solamente previamente seco a 105°C por un periodo de 12 h y posteriormente molido; lodo anaerobio granular lavado con agua destilada y centrifugado a 2500 rpm (3 lavados en total) y FORSU de la delegación Benito Juárez previamente seca a 105°C por un periodo de 12 h y posteriormente molida.



El tratamiento de las muestras fue sugerido por la USAI para poder llevar a cabo la digestión ácida de las mismas y su posterior cuantificación de los metales de estudio. La muestra fue digerida en un horno de microondas marca CEM, modelo MDS 2000 empleando HNO₃ suprapuro y agua destilada y desionizada. La técnica analítica empleada por la USAI para la cuantificación de los metales fue espectrometría ICP-MS.

3.7 Etapa 7. Pruebas de Potencial Bioquímico de Metano con FORSU adicionando iones metálicos

De acuerdo a los resultados obtenidos en el diseño de mezclas (etapa 5), la condición óptima se probó con la FORSU generada en la delegación Benito Juárez siendo la condición que maximiza la AME (AME=0.64 g DQO-CH₄/gSV d) de 0.125 mg Se⁺⁴/L y 0.125 mgW⁺⁶/L. Se usó la relación inóculo:sustrato de 6:3 por ser aquella con la mayor producción de CH₄ y con mejor estabilidad en el proceso de digestión anaerobia, esto de acuerdo a los resultados de la etapa 2.

Se realizaron 2 pruebas con diferente cantidad de lodo (0.6 g y 3 g de SV de inóculo) y con su correspondiente cantidad de FORSU respetando la relación inóculo:sustrato de 2; cada prueba fue realizada por duplicado, así como su correspondiente comparación con solo FORSU, es decir sin la adición de iones metálicos. En la Tabla 17 se resumen las pruebas realizadas, la cantidad de lodo y FORSU empleada así como la adición o no de iones metálicos para su debida comparación. Es importante comentar que para las pruebas donde se usó 0.6 g de SV se usó la concentración de 0.125 mg/L de Se⁺⁴ y de W⁺⁶ de acuerdo a los resultados obtenidos previamente. Sin embargo, al usar 3 g de SV se aumentó la concentración de los iones metálicos en la misma proporción que el inóculo, es decir 5 veces mayor (esta concentración se encuentra por debajo de la concentración inhibitoria de estos iones para las arqueas metanogénicas).

Tabla 17. Pruebas con FORSU con la mezcla óptima de iones metálicos.

Prueba	Replicas	Condición	Inóculo [g SV]	FORSU [g SV]	Concentración Iones metálicos
1	2	FORSU de Benito Juárez	0.6	0.3	Sin adición
	2	FORSU de Benito Juárez + Iones Metálicos	0.6	0.3	0.125 mg/L de Se ⁺⁴ y W ⁺⁶
	1	Inóculo (blanco)	0.6	---	Sin adición
	1	Inóculo + Iones metálicos (blanco con iones metálicos)	0.6	---	0.125 mg/L de Se ⁺⁴ y W ⁺⁶
2	2	FORSU de Benito Juárez	3	1.5	Sin adición
	2	FORSU de Benito Juárez + Iones Metálicos	3	1.5	0.625 mg/L de Se ⁺⁴ y W ⁺⁶
	1	Inóculo (blanco)	3	---	Sin adición
	1	Inóculo + Iones metálicos (blanco con iones metálicos)	3	---	0.625 mg/L de Se ⁺⁴ y W ⁺⁶

Se adicionó a cada prueba 150 mL de solución buffer con una concentración de 0.3 M para amortiguar los cambios de pH. El volumen útil del reactor para cada condición fue de 0.3 L.



Al finalizar las pruebas se midió: DQO, pH, índices de alcalinidad (relación alfa e índice tampón, IB) además de la cuantificación del metano producido.

3.8 Tratamiento de Resultados

Los datos obtenidos fueron analizados estadísticamente mediante análisis de varianza, ANOVA y con apoyo del software STATGRAPHICS CENTURION XVI.

3.9 Determinaciones Analíticas

Las técnicas analíticas utilizadas en este trabajo tanto para la caracterización de los residuos e inóculo se enlistan en la Tabla 18.

Tabla 18. Técnicas analíticas a utilizar en el trabajo experimental.

Determinación	Método	Observaciones
NMX-AA-15-1985	Método de Cuarteo	Homogeneización y selección de muestras al azar para análisis de laboratorio.
NMX-AA-19-1985	Peso Volumétrico in situ	Gravimetría y volumen.
NMX-AA-22-1985	Selección y cuantificación de subproductos	Clasificación, selección y gravimetría de los subproductos.
NMX-AA-018-1984	Porcentaje de Cenizas	
NMX-AA-033-1985	Poder calorífico	
Humedad	APHA 2540 B	Método por gravimetría, se obtiene por diferencia entre la masa inicial y los sólidos totales determinados.
Sólidos totales	APHA 2540-B	Método por gravimetría, sólidos secados a $103 \pm 2^\circ\text{C}$
Sólidos volátiles y fijos	APHA 2540-E	Método por gravimetría, sólidos secados a $103-105^\circ\text{C}$ e incinerados a 550°C . Los SV se determinan por diferencia con respecto al peso perdido.
Demanda química de oxígeno total (DQO)	APHA 5220-D	Método colorimétrico, digestión por reflujo a 150°C . Lectura a 600nm.
NMX-AA-028-SCFI-2001	Demanda Bioquímica de Oxígeno	Diferencia entre el oxígeno inicial y el final.
Titulación Wieninger	Nitrógeno Total Kjeldahl	Digestión ácida con catalizador de selenio y posterior neutralización y titulación con H_2SO_4 0.02N.
APHA 4500-P C	Fósforo Total	Digestión ácida con ácido sulfúrico y ácido nítrico. Método colorimétrico del ácido vanadomolibdofosfórico.
Fibras crudas	NMX-F-090-S-1978	
Carbohidratos	Metzler et al, 2006, AOAC, 1995	
Proteínas	Nielsen, 2010	
Grasas y aceites	NMX-F-089-S-1978	



4 Resultados

En este capítulo se presentan los resultados obtenidos de las etapas experimentales así como su interpretación. En un principio se presentan los resultados de la obtención de la muestra de FORSU generada en la delegación Benito Juárez y los resultados de las pruebas de potencial bioquímico de metano con diferentes relaciones inóculo:sustrato.

Posteriormente se exponen las condiciones bajo las cuales se llevaron a cabo las pruebas de actividad metanogénica, estas condiciones corresponden a los mejores resultados obtenidos en el desarrollo experimental de la técnica, seguido del análisis de la influencia sobre la AME de una solución nutritiva y de la adición de una solución de iones metálicos, con este análisis se procede a eliminar una de estas variables, para presentar posteriormente los resultados del diseño experimental de mezclas así como la condición bajo la cual se maximiza la AME. Consecutivamente se presentan los resultados de la cuantificación de los metales en el inóculo (lodo anaerobio) y FORSU

Finalmente se concluye con los resultados obtenidos de las pruebas de potencial bioquímico de metano con la FORSU adicionando la cantidad de iones metálicos que maximizó, en las pruebas anteriores, la AME.

Para cada etapa se muestra también su correspondiente análisis. Para cada etapa los valores reportados del volumen de metano se encuentran normalizados a condiciones estándar de presión y temperatura.

4.1 Etapa 1. Obtención de la muestra de residuos sólidos orgánicos urbanos generados en la delegación Benito Juárez

Se muestrearon 24 camiones en un periodo de dos días los cuales correspondieron a los de mayor recolección de residuos orgánicos de acuerdo al calendario de colecta de residuos separados en el D.F., martes y jueves; cada día se muestrearon 12 camiones. El primer día se muestreó desde las 11:00 am a 3:30 pm y el segundo día desde las 11:00 am a 5:00 pm.

Un total de 22 camiones provinieron de 16 colonias con un índice de desarrollo social alto, siendo estas colonias: Crédito Constructor, Santa Cruz Atoyac, del Valle, Tlacoquemecatl, Narvarte, Narvarte Oriente, Portales Sur, Ciudad de los Deportes, Álamos, Mixcoac, Independencia, San Jerónimo Aculco, Nativitas, San Simón Ticumac, del Carmen y Letrán Valle. La procedencia de los dos camiones restantes fueron de una industria y de un mercado local.

La clasificación de los subproductos fue: restos de animales; dulces, galletas y pasteles; bolsas de té, filtros de café y tierra; cáscaras de frutas y vegetales; carne y pescado (incluyendo huesos, grasa y piel); plantas y flores de hogar; pasta pan y cereal; productos lácteos y cascarón de huevo; otros compostables; e inorgánicos presentes. Es importante mencionar que no se encontraron residuos de los tres primeros subproductos de los 10 planteados, es decir: restos de animales; dulces, galletas y



pasteles; bolsas de té, filtros de café y tierra. Los resultados obtenidos se muestran en la Figura 20 así como los datos en el ANEXO II.

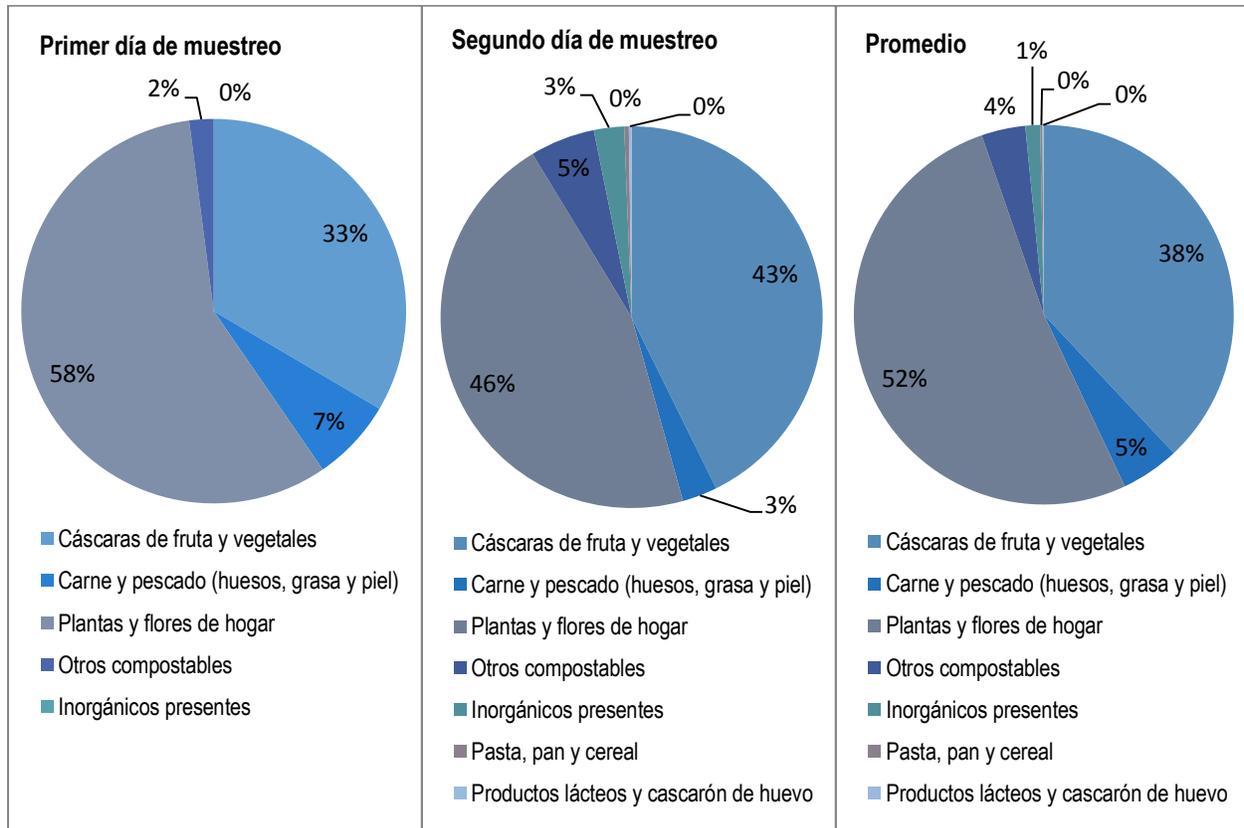


Figura 20. Resultados en porcentaje obtenidos de la selección y cuantificación de subproductos de los residuos orgánicos muestreados en la estación de transferencia de la delegación Benito Juárez.

Los resultados de la caracterización fisicoquímica de este muestreo se reportan en la Tabla 19. La relación DQO/ N/P promedio de estos residuos es de 154/4/1.

Tabla 19. Caracterización fisicoquímica de la FORSU generada en la delegación Benito Juárez.

Parámetro	Valor	Parámetro	Valor
Humedad [%]	76.95	Cenizas [g/kg]	42.40
STT [g/kg]	231.00	Grasas [g/kg]	22.50
SFT [g/kg]	49.25	Proteínas [g/kg]	37.90
SVT [g/kg]	181.75	COD [g/kg]	15.75
DQO [g/kg]	237.95	DBO [g/kg]	99.70
PT [g/kg]	1.55	Carbohidratos [g/kg]	128.10
N-K [g/kg]	6.10	Fibras [g/kg]	47.70

La Figura 21 muestra que la mayor proporción de macromoléculas en la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos de la delegación Benito Juárez corresponde a carbohidratos biodegradables,



seguido de fibras (carbohidratos de difícil biodegradación), proteínas y grasas siendo estas últimas de tan solo un 12%.

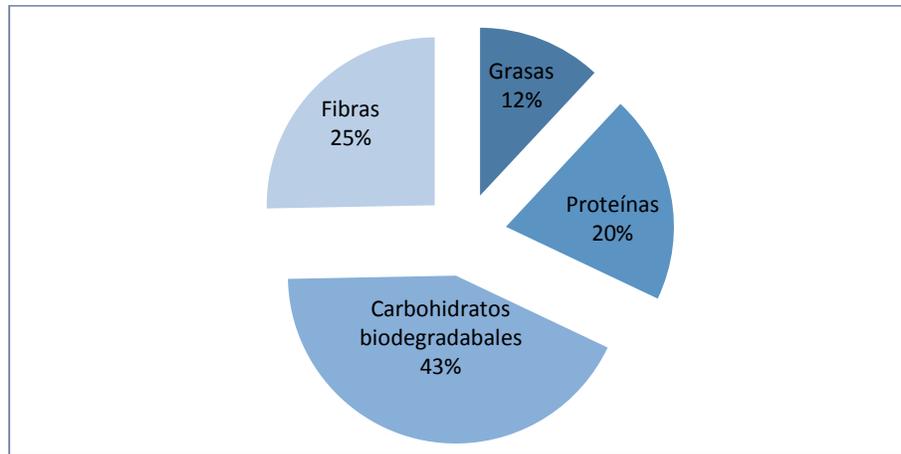


Figura 21. Proporción de macromoléculas en la FORSU de la delegación Benito Juárez

▪ Análisis de resultados

Como se puede ver en la figura 20 y 21, la mayor presencia en la muestra corresponde a macromoléculas de carbohidratos y de acuerdo a la composición de subproductos corresponde a plantas y flores de hogar con un valor promedio, de 52%; seguido por las cáscaras de fruta y vegetales (un 38% en valor promedio), y residuos de carne y pescado (5% en valor promedio) seguido de otro tipos de residuos compostables (4% en valor promedio).

La cantidad de residuos inorgánicos presente en la muestra fue de un 1.3% (0.83% corresponden a bolsas de plástico y 0.47% a residuos de papel). Los datos obtenidos contrastan con los registrados por Orta *et al.*, (2009) en esta misma estación de transferencia, en esos resultados la presencia de residuos de jardinería correspondía a un 24% y residuos alimenticios un 26%.

De acuerdo a la caracterización fisicoquímica, la relación DQO/N/P se encuentra dentro del intervalo reportado como recomendable por Droste (1997) y USEPA (1995).

4.2 Etapa 2. Pruebas de Potencial Bioquímico de Metano con diferentes relaciones de inóculo:sustrato en el equipo de potencial bioquímico de metano

Se realizaron pruebas con cuatro diferentes relaciones de inóculo:sustrato, en la Tabla 20 se muestra la caracterización del inóculo utilizado antes del acondicionamiento del inóculo previo a las pruebas.

En la Tabla 21 se muestran las cuatro relaciones probadas, en términos de SV así como el volumen de metano acumulado durante los 12 días de experimentación. Los resultados de volumen acumulado se muestran en el ANEXO III.



Tabla 20. Caracterización del inóculo de Grupo Modelo antes del acondicionamiento utilizado en las pruebas de relación inóculo:sustrato.

Parámetro	Unidad	Valor
pH	unidades de pH	7.58 ± 0.11
Relación α	Adimensional	0.23 ± 0.04
ST	g ST/kg inóculo	56.02 ± 0.02
SV	g SV/kg inóculo	47.40 ± 0.91
Humedad	%	94.39 ± 0.00

Tabla 21. Volumen final acumulado de metano y producción de metano, a condiciones estándar de presión y temperatura (0°C y 1 atm) para las relaciones de inóculo:sustrato evaluadas.

Proporción	Relación Inóculo:Sustrato [gSV/ gSV]		Volumen final acumulado de metano [L CH ₄]	Producción de metano [L CH ₄ / kg FORSU]
	Cociente Teórico	Cociente Real		
6:12	0.5	0.4551 ±0.0004	0.2707 ±0.0296	4.7218 ±0.5158
6: 6	1	0.9095 ±0.0048	2.1409 ±0.1409	54.2277 ±5.3583
6: 3	2	1.8148 ±0.0140	1.3342 ±0.0201	78.6307 ±2.2543
6:1.5	4	3.6463 ±0.0026	0.7301 ±0.0098	73.5722 ±0.8190

En las Figuras 22, 23 y 24 se muestra el comportamiento de la producción de metano, la producción final de metano así como el valor de la relación alfa obtenida al finalizar cada prueba.

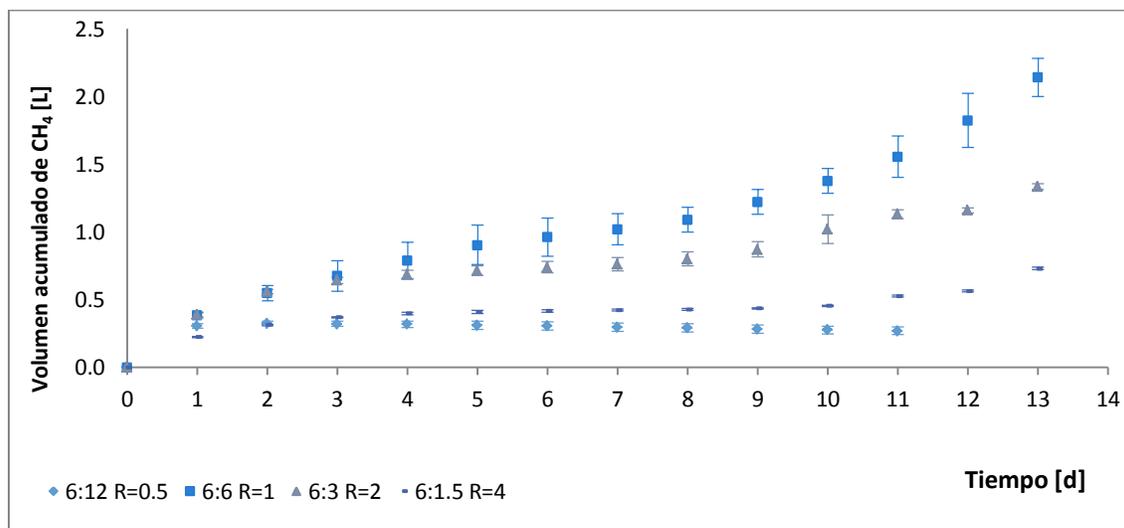


Figura 22. Comportamiento del metano producido durante las pruebas de relación Inóculo:sustrato a condiciones estándar de presión y temperatura.

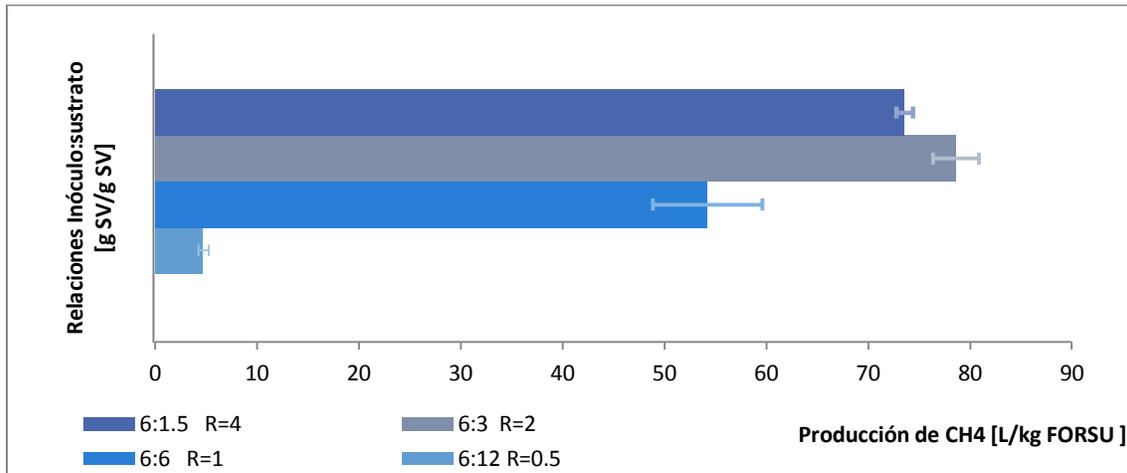


Figura 23. Producción de metano para cada relación inóculo:sustrato.

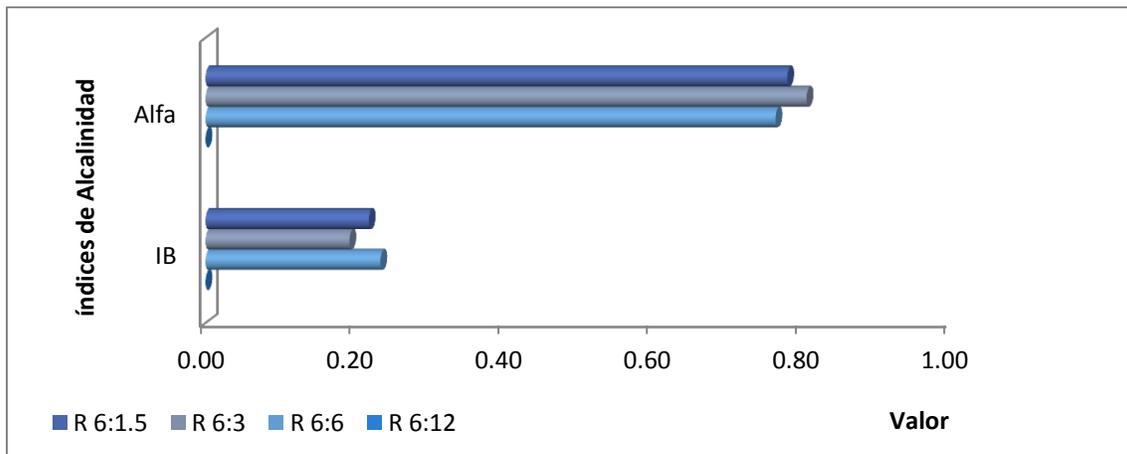


Figura 24. Índice tampón (IB) y relación alfa, valores obtenidos al finalizar los experimentos para las diferentes relaciones inóculo:sustrato.

La relación entre la alcalinidad debida a los ácidos grasos volátiles y la alcalinidad total, es empleada para el control de la estabilidad del proceso anaerobio (Speece, 1996). El índice tampón (IB) debe variar en un rango de 0.20-0.40 representando de esta forma que el 60% de la alcalinidad total del sistema se encuentra en forma de alcalinidad bicarbonática, valores menores a 0.2 indica una subalimentación y valores mayores a 0.40 principios de acidificación (Rojas, 2004; Rozzi, 1986), tomando esto en cuenta se puede ver que para la relación 6 a 12, no fue posible calcular este valor debido a que estaba acidificado el sistema, para las otras relaciones, de acuerdo a este índice podrían soportar un aumento de sustrato, ya que se encuentran en la región de subalimentación.

La relación alfa, corresponde al cociente entre alcalinidad bicarbonática y la alcalinidad total, se recomiendan valores superiores a 0.5 durante el arranque de un reactor, y en condiciones estables valores de 0.7 a 0.8. Un valor menor a 0.5 indica una acidificación (Jenkins *et al.*, 1983), tomando esto



como referencia, a excepción de la relación 6:12, las demás relaciones reflejan una estabilidad en el sistema.

▪ **Análisis de resultados**

Se puede ver que la relación 6:12 se inhibió debido a la gran cantidad de sustrato agregado, provocando una acidificación y teniendo un pH de 5.4 mientras que en las demás relaciones se obtuvo un pH neutro, se calculó el valor de la relación alfa, siendo imposible encontrar un valor para la relación 6:12, y mostrando que la relación más estable es la relación de 6:3 (Figura 23).

Las relaciones inóculo:sustrato de 6:6, 6:3 y 6:1.5 muestran un comportamiento similar entre ellas, una primera pendiente que corresponde a la conversión del sustrato más fácilmente biodegradable a metano y una segunda pendiente, probablemente debido al inicio del consumo de otro sustrato, en el periodo del 5to al 8vo día es relativamente constante la producción de metano.

En la Tabla 12 se puede ver que aunque en la Figura 4 existe una variación, si bien no en el comportamiento, sí en los valores de volumen de metano acumulado, donde la producción de metano en términos de L CH₄/kg FORSU es muy similar para las relaciones de 6:3 y 6:1.5 siendo de 78.6 ± 2.2 y 73.5 ± 0.8 respectivamente.

Para el tratamiento estadístico de los resultados, se realizó un análisis de varianza, teniendo como hipótesis nula que el volumen acumulado de metano para las cuatro relaciones inóculo:sustrato es igual. En la Tabla 22 se muestran los resultados obtenidos.

$$H_0 : V_{CH_4 R 6:12} = V_{CH_4 R 6:6} = V_{CH_4 R 6:3} = V_{CH_4 R 6:1.5} = 0 \quad \text{Ecuación 18}$$

$$H_1 : V_{CH_4 i} \neq 0 \text{ para } i = R 6:12, R 6:6, R 6:3, R 6:1.2 \quad \text{Ecuación 19}$$

Tabla 22. Tabla de resultados del análisis de varianza ANOVA para las cuatro relaciones inóculo:sustrato.

Fuente de variabilidad	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	F ₀	Valor-p
Tratamientos	5.15828E6	3	1.71943E6	330.46	0.0000
Error	41624.9	8	5203.11		
Total	5.1999E6	11			

Dado que el valor-p de la prueba F es menor que 0.05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las cuatro relaciones a un nivel de confianza al 95.0%, por lo cual se rechaza la hipótesis nula.

Para determinar qué medias son significativamente diferentes se realizó la prueba de comparaciones múltiples, LSD por sus siglas en inglés (Least Significant Difference), esta prueba permite comparar las medias de los niveles de un factor después de haber rechazado la hipótesis nula de igualdad de medias mediante un análisis de varianza. Los resultados de esta prueba estadística se muestran en la Tabla 23.



Tabla 23. Resultados de la prueba estadística de comparación de rangos múltiples, LSD.

Relación I:S	Valor	Media	Error Estándar	Límite inferior	Límite Superior
6:12	3	423.667	41.6458	355.759	491.574
6:6	3	2140.87	41.6458	2072.96	2203.77
6:3	3	1334.23	41.6458	1266.33	1402.14
6:1.5	3	730.1	41.6458	662.193	798.007
Total	12	1157.22			

La Tabla 23 muestra el promedio para cada relación así como el error estándar el cual es una medida de la variabilidad de la muestra. Se muestra también el intervalo, compuesto por un límite inferior y superior, alrededor de la media; éste está basado en la diferencia menos significativa (LSD) y construido de tal manera que si dos relaciones son iguales sus intervalos se superponen un 95% del tiempo. La visualización gráfica de estos intervalos se muestra en la Figura 25 donde se puede ver que no se superponen los intervalos de las cuatro relaciones inóculo:sustrato, siendo éstas diferentes.

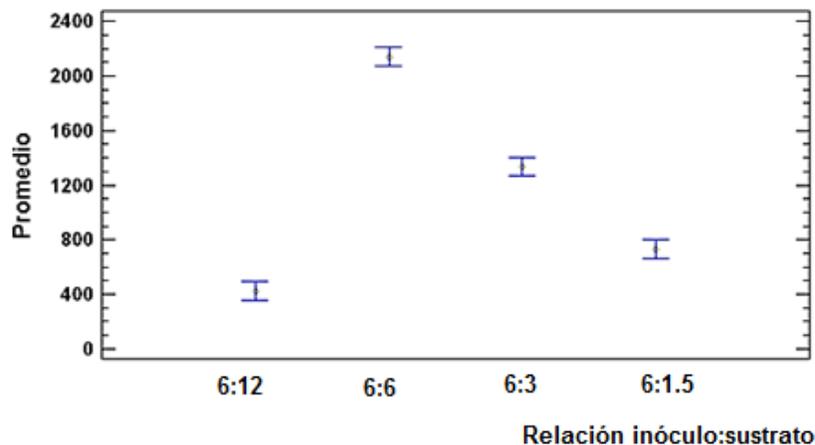


Figura 25. Intervalos alrededor de la media basados en la prueba de la diferencia menos significativa (LSD).

La Tabla 24 muestra la diferencia estimada entre cada par de medias, basada en la prueba de rangos múltiples (LSD), el objetivo del tratamiento estadístico de los datos es el de elegir la relación inóculo:sustrato más estable y además aquella que tenga una mayor producción de metano, siendo este valor muy cercano entre las relaciones inóculo:sustrato de 6:3 y 6:1.5, de acuerdo a los valores obtenidos mostrado en la Tabla 24 existe una diferencia significativa al 95% de confianza entre la relaciones inóculo:sustrato 6:3 y 6:1.5.

De acuerdo a los resultados obtenidos se elige la relación inóculo:sustrato de 6:3 como la más estable y aquella que tiene una mayor producción de metano en 12 días, siendo este valor de 78.63 ± 2.25 L CH₄/kg FORSU.



Tabla 24. Pruebas de rango múltiple (LSD).

Contraste	Significancia	Diferencia estimada entre cada par	Contraste	Significancia	Diferencia estimada entre cada par
R 6:12 – R 6:6	*	-1717.2	R 6:6 – R 6:3	*	806.633
R 6:12 – R 6:3	*	-910.567	R 6:6 – R 6:1.5	*	1310.77
R 6:12 – R 6:1.5	*	-306.433	R 6:3 – R 6:1.5	*	604.1331
+/- Límite	+/- 135.85				

NOTA: El * se ha colocado junto a los pares que muestran diferencias estadísticamente significativas a un nivel de confianza del 95,0%.

De acuerdo a los resultados obtenidos en el diseño de mezclas, se utilizarán las cantidades óptimas de iones metálicos en la FORSU, manteniendo una relación inóculo:sustrato de 6:3.

4.3 Etapa 3. Desarrollo experimental de la técnica de Actividad Metanogénica

En la Tabla 25 se presentan las condiciones bajo las cuales se llevaron a cabo las etapas 3, 4 y 5, es importante mencionar que la concentración de la solución amortiguadora de fosfatos fue suficiente para amortiguar los cambios de pH propios de la conversión de formiato a metano, obteniéndose un pH entre 6.8-7.6, ideal para las arqueas metanogénicas. El tiempo de duración de las pruebas con 0.6 g de SV y 3.33 g C/L fue de aproximadamente de 90-115 h (3.75 - 5 días), esto variaba de acuerdo a las condiciones evaluadas para cada prueba (si se adicionaban o no la solución nutritiva para la etapa 4, o bien de la proporción de iones metálicos para la etapa 5), las pruebas de AME se dejaron correr hasta encontrar un comportamiento no variable, que fuera constante al alcanzar la máxima producción de metano.

Tabla 25. Condiciones de las pruebas experimentales (etapa 4 y 5). Desarrollo de la técnica de AME.

Cantidad de inóculo [g SV]	Concentración solución de carbono [g C/L]	Concentración de la solución buffer [M]	Tratamiento del inóculo	Etapas Experimentales
0.6	3.33	0.5	Lavado con agua destilada y centrifugado, posteriormente se disgregaron los lodos.	4
0.6	3.33	0.5	Lavado con agua destilada y centrifugado. Uso de lodo granular.	5

Una vez establecidas las condiciones, como parte de la etapa tres, se evaluó la AME con formiato de sodio y con una mezcla de acetato, propionato y butirato (2, 0.5 y 0.5 g C/L respectivamente); ambas pruebas se realizaron por triplicado y sin la adición de la solución nutritiva ni iones metálicos. Estos resultados se reportan en la Tabla 26. En la Figura 26, se muestran los resultados obtenidos de los índices de alcalinidad para cada prueba. Los valores del volumen acumulado de metano de cada prueba se encuentran en el ANEXO IV.



Tabla 26. Resultados de la AME con formiato de sodio y con una mezcla de ácidos grasos volátiles (acetato, propionato y butirato).

Sustrato	AME [g DQO/g SV d]	Producción máxima de CH ₄ [mL]
Formiato	0.47 ± 0.08	524.9
Acetato	0.65 ± 0.03	60.5
Acetato, Propionato y Butirato (APB)	1.59 ± 0.31	23.7

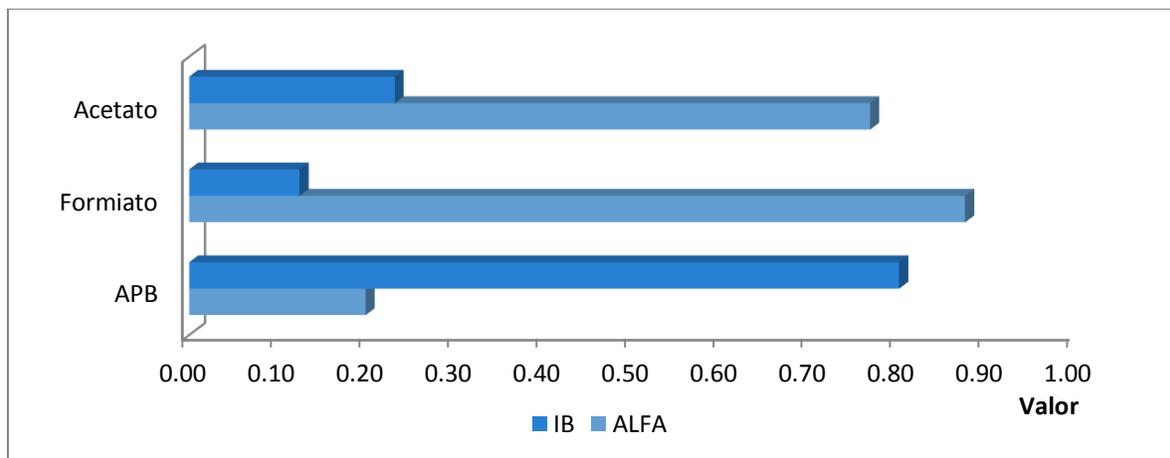


Figura 26. Valores de los índices de alcalinidad, relación alfa e índice tampón (IB).

▪ **Análisis**

Se calcularon los valores de los índices de alcalinidad al terminar las pruebas, se obtuvieron los resultados mostrados en la figura 26, en la cual para la mezcla de AGVs (acetato, propionato y butirato), la relación alfa es menor a 0.5 indicando acidificación, esto muestra que para la prueba con la mezcla de ácidos grasos volátiles las concentraciones utilizadas fueron muy grandes, esto a pesar de utilizar valores aproximados a lo reportado por Soto *et al.*, (1993), provocando la acidificación siendo imposible procesar estos sustratos por las arqueas metanogénicas reflejándose en una baja producción de metano. Esto mismo se ve reflejando con el índice tampón (IB), el cual debe encontrarse por debajo de 0.4, en este caso, para la mezcla de ácidos grasos volátiles el índice tampón, IB, es mayor a 0.7.

Para el caso del acetato y formiato, la relación alfa y el índice tampón, indican relativamente un proceso estable.

4.4 Etapa 4. Pruebas de Actividad Metanogénica. Influencia de la adición de una solución nutritiva y la adición de una solución de iones metálicos.

De acuerdo a los resultados obtenidos en los experimentos previos, se cuidó lavar el lodo con agua destilada para eliminar tanto el material biodegradable como algún nutriente y/o ión metálico, al



adicionar el volumen de lodo necesario se tuvo especial cuidado para asegurar adicionar a cada reactor la misma cantidad de lodo.

El pH final de las muestras fue de 7.59 ± 0.03 , la concentración de la solución buffer fue capaz de mantener el pH ideal en el cual las arqueas metanogénicas pueden funcionar. La Tabla 27 muestra los resultados obtenidos para cada tratamiento del diseño factorial 2^2 .

La Figura 27 muestra el comportamiento del volumen acumulado de metano, en este caso no se obtuvo generación alguna a partir del blanco, sin embargo la dispersión de los datos es muy grande, probablemente este asociado a algún error sistemático el cual ya no se puede minimizar. Se calculó la actividad metanogénica específica para cada replica de cada condición y se analizó estadísticamente para conocer si existe o no una diferencia significativa.

Tabla 27. Valores obtenidos de AME para el diseño factorial 2^2 .

Muestra	AME [g DQO /gSV d]	Muestra	AME [g DQO/g SV d]
F A	0.5802	F+N+M A	0.6631
F B	0.4791	F+N+M B	0.5256
F C	0.4623	F+N+M C	0.4130
F+N A	0.6351	F+M A	0.6360
F+N B	0.5224	F+M B	0.5989
F+N C	0.5158	F+M C	0.5382

F=Formiato, F+M=Formiato más iones metálicos, F+N=Formiato más nutrientes y F+M+N=Formiato más iones metálicos más nutrientes. A,B,C corresponden a las réplicas

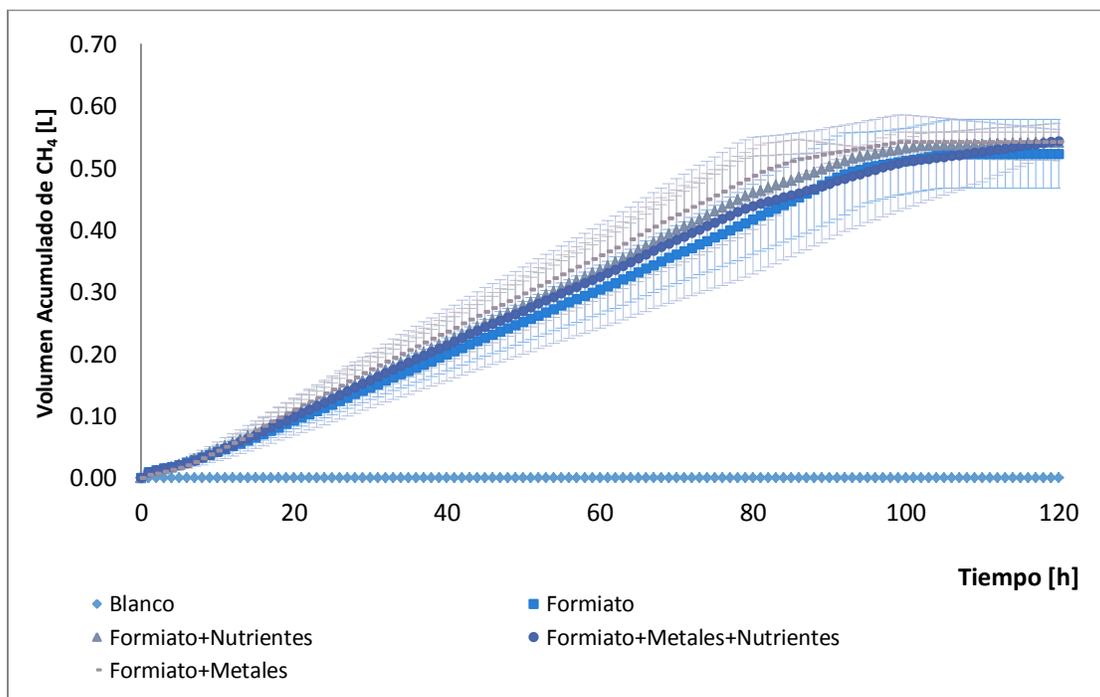


Figura 27. Volumen acumulado de metano para las condiciones del diseño factorial 2^2 .



▪ **Análisis**

La Tabla 28 muestra los resultados obtenidos del análisis de varianza. Los resultados del volumen acumulado de metano para cada tratamiento por triplicado se encuentran en el ANEXO V.

Tabla 28. Análisis de varianza del diseño factorial 2².

Fuente de variabilidad	Suma de cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	F ₀	valor-p
A:Iones Metálicos	0.002697	1	0.002697	0.40	0.5427
B:Nutrientes	0.0000323408	1	0.0000323408	0.00	0.9462
AB	0.00869947	1	0.00869947	1.30	0.2865
Total error	0.0533807	8	0.00667258		
Total (corr.)	0.0648095	11			

R² = 17.63%

R² ajustado = 0%

Estimación del error estándar. = 0.081

Error absoluto medio = 0.055

Estadístico Durbin-Watson = 0.7664 (P=0.0347)

En este caso, cero efectos tiene un valor-p de menor de 0.05, lo que indica que son significativamente diferentes de cero en un nivel de confianza de 95.0 %. Sin embargo, el estadístico R² indica que el modelo matemático explica un 17% de la variabilidad de la AME, siendo:

$$AME = 0.547475 + 0.0149917(\text{Iones Metálicos}) - 0.00164167(\text{Nutrientes}) - 0.026925(\text{Iones Metálicos})(\text{Nutrientes})$$

En este caso al ser variables categóricas los valores numéricos que éstas toman son: +1 para la adición o -1 para la no adición.

El diagrama de Pareto, en la Figura 28, muestra que la interacción iones metálicos + nutrientes tiene un efecto negativo sobre la AME, mientras que la adición de solo iones metálicos tiene un efecto positivo, si bien es mínimo, es positivo mientras que la adición de nutrientes por si solos, en este caso tienen un efecto negativo.

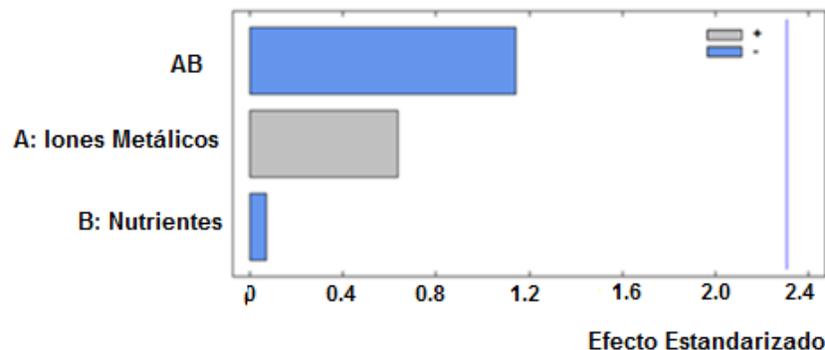


Figura 28. Diagrama de Pareto para el diseño factorial 2².

En el diagrama de los efectos principales sobre la AME, la adición de iones metálicos aumenta el valor de la AME, mientras que la adición de nutrientes la disminuye (Figura 29 A); en el diagrama de



interacción de los efectos, el valor mayor de AME se obtiene con solo la adición de iones metálicos, esto se muestra en la Figura 29 B (punto A).

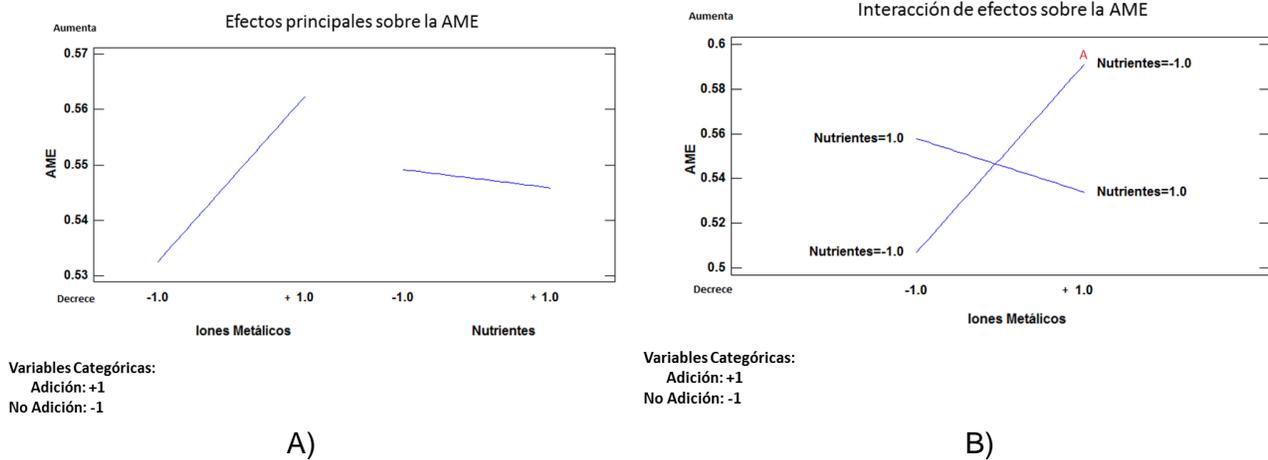


Figura 29. Diagrama de efectos principales A) y de interacción de los efectos B).

Se analizó la Figura 30 donde se muestran los residuales contra los valores previstos de AME, en esta figura se observa un patrón aleatorio lo cual indica que el modelo seleccionado describe adecuadamente los datos, de lo contrario se observaría un comportamiento no aleatorio en esta gráfica de residuales.

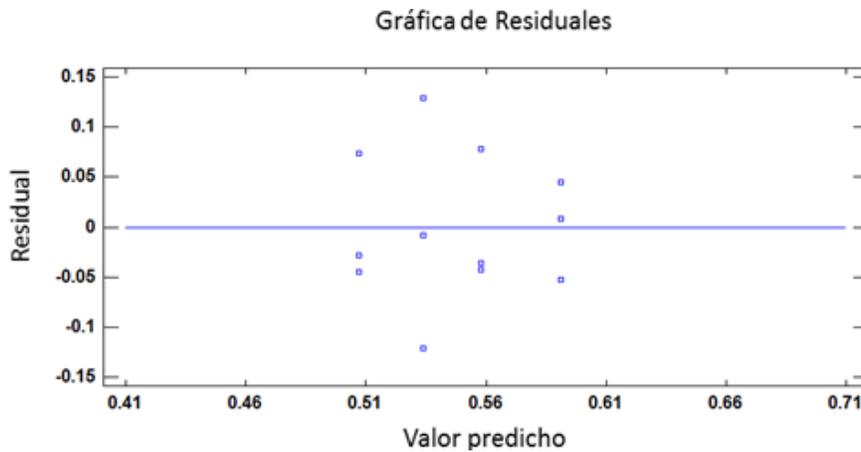


Figura 30. Gráfica de residuales con un patrón de distribución aleatoria.

Se midió la DQO total y soluble al inicio y final de la experimentación y se obtuvieron los valores de remoción total y disuelta, estos se presentan en la Tabla 29, la Figura 31 muestra de manera gráfica estos valores. Aunque la producción final de metano es muy parecida entre cada condición siendo esta de 0.54 ± 0.01 L de CH_4 , se obtuvieron remociones de DQO diferentes para cada condición, esta variación probablemente esté asociada a un error sistemático de la técnica de DQO.



Tabla 29. Valores de remoción de DQO total y soluble promedio para cada condición del diseño factorial 2².

Condición	Remoción de DQO [g/L]		Condición	Remoción de DQO [g/L]	
	Total	Disuelta		Total	Disuelta
F	91%	83%	F+N+M	83%	66%
F+N	64%	81%	F+M	73%	76%

Donde: F= Formiato; F+N= Formiato + Nutrientes; F+M+N=: Formiato +Iones Metálicos + Nutrientes; F+M= Formiato + Iones Metálicos.

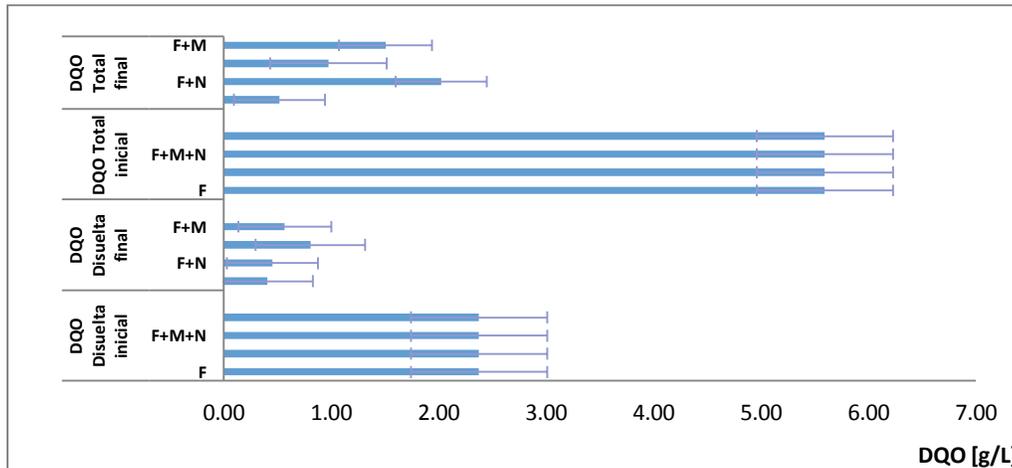


Figura 31. DQO disuelta y total, inicial y final para cada condición del diseño factorial 2².

Con los resultados estadísticos se decidió proceder a la ejecución del diseño de mezclas descartando la variable categórica de adición de nutrientes.

4.5 Etapa 5. Pruebas de Actividad Metanogénica. Diseño de mezclas simplex centroide aumentado.

Se realizó el diseño de mezclas simplex centroide por triplicado, los resultados obtenidos se describen a continuación, en la Tabla 30 se muestra el valor de la actividad metanogénica específica calculada para cada condición, estos datos fueron la variable de respuesta en el diseño de mezclas. Los resultados del volumen acumulado promedio para cada tratamiento por triplicado se encuentran en el ANEXO VI.

Tabla 30. Valores de actividad metanogénica específica para el diseño de mezclas.

Orden Experimental Aleatorio de terminación del tratamiento	Tratamiento	Réplicas AME [g DQO/ g SV d]			AME Promedio [g DQO/ g SV d]
		I	II	II	
1	E	0.48112	0.61131	0.48471	0.48292
2	Ñ	0.52490	0.65704	0.34896	0.51030
3	G	0.50418	0.52763	0.57714	0.51590
4	I	0.36172	0.63906	0.62863	0.63385
5	T	0.62134	0.52287	0.53330	0.52809
6	H	0.58338	0.62090	0.55869	0.57104
7	N	0.47523	0.53978	0.60801	0.50750
8	U	0.53645	0.54427	0.47388	0.54036



Orden Experimental Aleatorio de terminación del tratamiento	Tratamiento	Réplicas AME [g DQO/ g SV d]			AME Promedio [g DQO/ g SV d]
		I	II	II	
9	J	0.40739	0.64262	0.55038	0.53346
10	M	0.44495	<i>0.68631</i>	0.44356	0.44425
11	P	<i>0.42288</i>	0.61879	0.58671	0.60275
12	Q	0.56715	0.32768	0.44189	0.44557
13	F	<i>0.38475</i>	0.53912	0.53514	0.53713
14	A	<i>0.67831</i>	0.58813	0.56291	0.57552
15	L	0.56883	0.47309	0.40493	0.48229
16	B	<i>0.50510</i>	0.59803	0.57909	0.58856
17	D	0.63029	0.59376	0.65706	0.64368
18	S	0.66425	0.41406	0.53308	0.53713
19	R	0.47319	<i>0.59678</i>	0.48844	0.48081
20	K	0.49180	0.45072	<i>0.58902</i>	0.47126
21	C	0.51531	0.57574	<i>0.46821</i>	0.54553
22	O	0.50184	0.54657	0.52240	0.52360

Letras en cursiva: datos discriminados

▪ Análisis

Para el tratamiento de estos resultados, se analizó cada trío de datos para cada uno de los 22 tratamientos y se discriminó aquel dato que tuviera una mayor diferencia con el promedio, en algunos casos se promediaron los datos debido a que existía mucha variabilidad entre ellos. Posteriormente los datos fueron analizados con el software estadístico Statgraphics® CENTURION XVI.

Es importante mencionar que en experimentos de mezclas, la respuesta medida se asume que depende sólo de las proporciones relativas de los componentes de la mezcla y no de la cantidad de mezcla. Por consiguiente el propósito del diseño experimental de mezclas es modelar la superficie de mezcla bajo cierta forma de ecuación matemática empírica de modo que permita la predicción de la respuesta para cualquier mezcla o combinación de ingrediente y también establecer la influencia de cada componente en la mezcla.

La superficie de respuesta de actividad metanogénica específica es dependiente de la proporción de iones metálicos, la complejidad del modelo fue seleccionado basado en el cálculo secuencial desde un modelo lineal a un modelo cúbico.

Las Tablas 31 y 32 muestran los resultados de diferentes modelos de ajuste en los datos de la AME. El modelo de la media consta de sólo una constante, el modelo lineal se compone de términos de primer orden para cada uno de los componentes, el modelo cuadrático añade productos cruzados (interacciones) entre pares de componentes, el modelo cúbico especial añade términos relativos a los productos de tres componentes. Cada modelo se muestra con un valor-p que comprueba si ese modelo es estadísticamente significativo en comparación con el cuadrado medio. Normalmente, se selecciona el modelo más complicado, con un valor-p inferior a 0.05 al operar con un nivel de confianza del 95.0 %, de acuerdo con este criterio el modelo cúbico especial es suficientemente adecuado para los datos, por otro lado se debe seleccionar el modelo que maximiza la R^2 ajustada, lo cual indica, nuevamente, que el modelo cúbico especial es el más adecuado.



Tabla 31. Estimación de efectos del modelo completo de la AME.

Fuente de variabilidad	Suma de cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	F ₀	Valor-p
Media	6.2238	1	6.2238		
Lineal	0.0161	3	0.0053	2.09	0.1369
Cuadrático	0.0196	6	0.0032	1.47	0.2672
Cúbico Especial	0.0205	4	0.0051	6.60	0.0114
Error	0.0061	8	0.0007		
Total	6.2864	22			

Tabla 32. Resultados estadísticos por modelo.

Modelo	Estimación del error estándar	R ²	R ² ajustada
Lineal	0.050	25.876	13.51
Cuadrático	0.047	57.300	25.28
Cúbico Especial	0.027	90.170	74.21

Los resultados del análisis de varianza se muestran en la tabla 33, ésta tabla muestra un análisis del modelo cúbico especial seleccionado. Dado que el valor-p para este modelo es menor a 0.05, hay una relación estadísticamente significativa entre la AME y los componentes a un nivel de confianza del 95.0%.

El estadístico R² indica que el modelo explica un 90.19% de la variabilidad en la AME. El estadístico R² ajustada, el cual es adecuado para comparar modelos con diferentes números de variables independientes, es de 74.25%. El error estándar de la estimación muestra la desviación estándar de los residuos siendo 0.02. El error absoluto medio (MAE) de 0.0095 es el valor promedio de los residuos. El estadístico Durbin-Watson (DW) pone a prueba los residuos para determinar si hay alguna correlación significativa basada en el orden. Dado que el valor-p para este estadístico es mayor que 0.05 (5%), no hay ninguna indicación de autocorrelación serial en los residuos a un nivel de significancia del 5%.

Tabla 33. Resultados del análisis de varianza ANOVA.

Fuente de variabilidad	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	F ₀	Valor-p
Especial cúbico	0.0564	13	0.0043	5.66	0.0097
Error total	0.0061	3	0.0007		
Total (corr.)	0.0625	21			

R² = 90.1932 %

R² ajustado = 74.2572 %

Estimación del error estándar. = 0.0276

Error absoluto medio = 0.0095

Estadístico Durbin-Watson = 2.6612 (valor-p=0.7275)

Residual de autocorrelación lag 1=-0.1336

La ecuación ajustada para la respuesta, AME, en términos de los componentes expresados en proporciones (porcentajes) es:



$$AME = 0.53664\text{Mo}^{+6} + 0.549615\text{Se}^{+4} + 0.491547\text{W}^{+6} + 0.634691\text{Ni}^{+2} + 0.173375\text{Mo}^{+6}\text{Se}^{+4} - 0.14819\text{Mo}^{+6}\text{W}^{+6} - 0.417643\text{Mo}^{+6}\text{Ni}^{+2} + 0.479782\text{Se}^{+4}\text{W}^{+6} + 0.0382085\text{Se}^{+4}\text{Ni}^{+2} - 0.33424\text{W}^{+6}\text{Ni}^{+2} - 1.96267\text{Mo}^{+6}\text{Se}^{+4}\text{W}^{+6} + 0.800819\text{Mo}^{+6}\text{Se}^{+4}\text{Ni}^{+2} + 1.94087\text{Mo}^{+6}\text{W}^{+6}\text{Ni}^{+2} - 3.55696\text{Se}^{+4}\text{W}^{+6}\text{Ni}^{+2}$$

La respuesta optimizada en la cual se obtiene el mayor valor de la AME, siendo este valor de 0.6405 g DQO/g SV d, en proporción (porcentajes) de los componentes es de Mo^{+6} : 0%, Se^{+4} : 50%, W^{+6} : 50% y Ni^{+2} : 0%, siendo ésta la combinación de efectos con la cual se maximiza la AME.

La Figura 32 muestra los contornos de la superficie de respuesta por región con $\text{Mo}^{+6}=0\%$, se puede ver que los mayores valores de la AME se encuentran en la zona color beige (la región que corresponde a la mitad de la arista superior izquierda), con valores pequeños de Ni^{+2} , y con una misma proporción de 50% de W^{+6} y Se^{+4} , respectivamente, este mismo comportamiento se muestra en la superficie de respuesta tridimensional de la Figura 33. Por último se muestra el gráfico de residuales el cual no muestra algún patrón (Figura 34).

Al finalizar cada tratamiento se analizó la remoción de DQO, obteniéndose remociones en promedio de $88 \pm 3.07\%$.

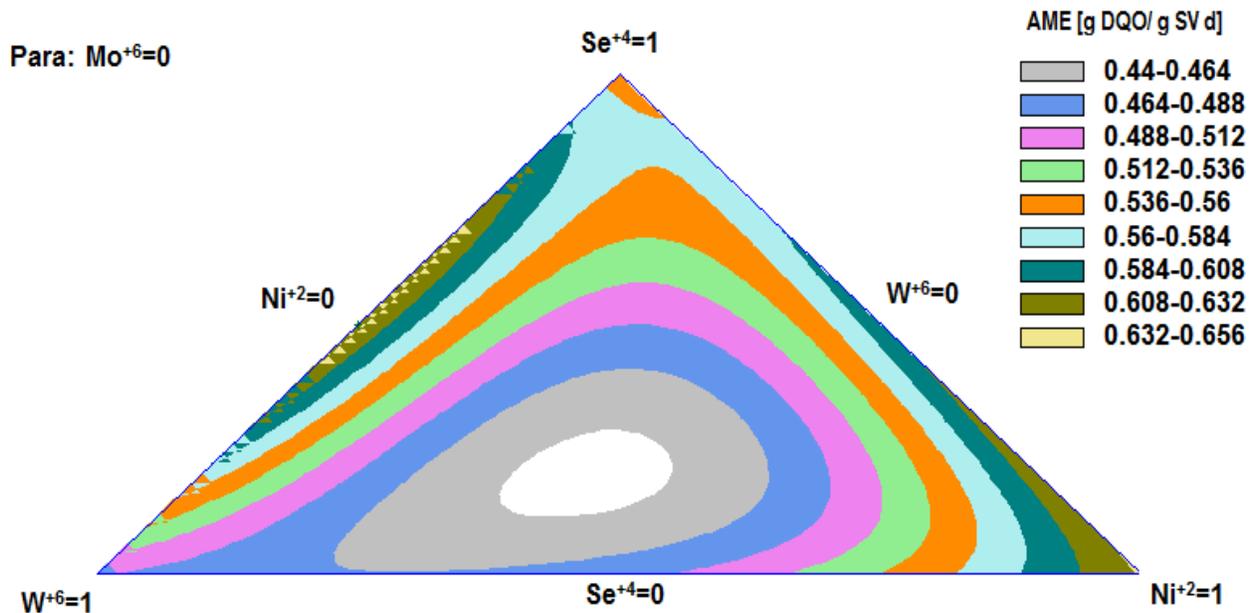


Figura 32. Contornos de la superficie de respuesta estimada para $\text{Mo}^{+6}=0$.



Para: $Mo^{+6}=0$

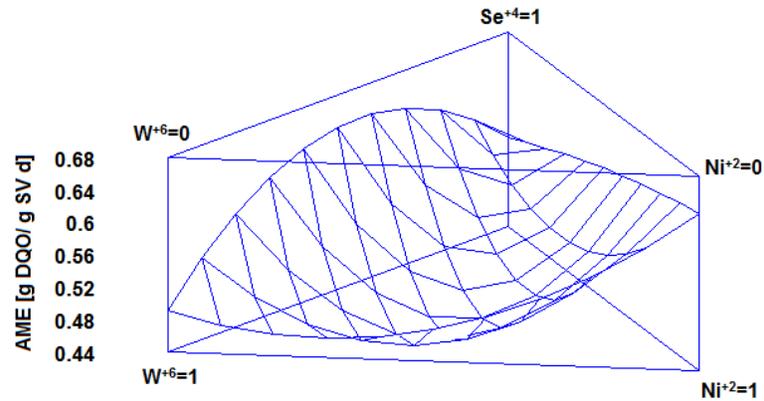


Figura 33. Superficie de respuesta estimada para $Mo^{+6}=0$.

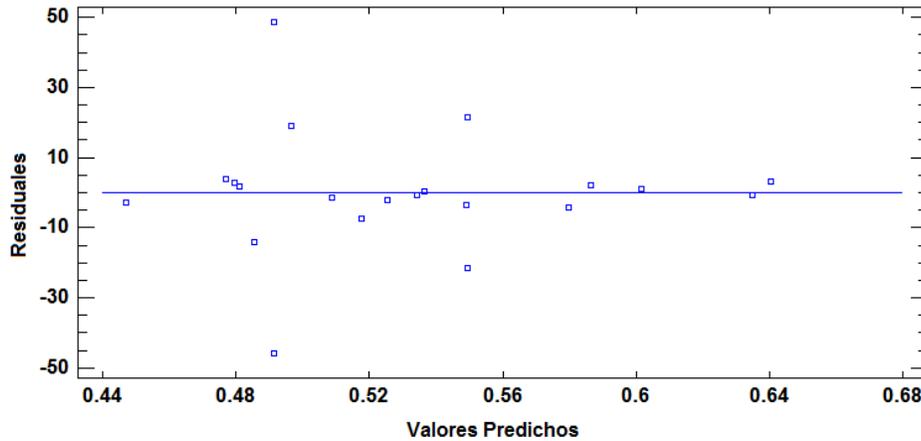


Figura 34. Gráfica de residuales.

4.6 Etapa 6. Cuantificación de metales

Se reportan los valores encontrados del contenido de metales (Se, Mo, W y Ni) en el lodo anaerobio utilizado como inóculo y en la FORSU por el método de espectroscopía ICP-MS en la Tabla 34.

Tabla 34. Resultados de contenido de Se, Mo, W y Ni en el lodo anaerobio granular y en la FORSU generada en la delegación Benito Juárez.

Muestra	Ni	Mo	Se	W
		[$\mu\text{g}/\text{kg}$]		
Lodo anaerobio granular (tratamiento de incubación)	494.68	230.7	31.05	8.02
Lodo anaerobio granular (tratamiento de lavado y centrifugación)	372.13	178.45	23.36	5.98
FORSU Benito Juárez	344.28	13.15	N/D	2.14

N/D: Corresponde a un valor por debajo del límite de detección del método.



▪ Análisis de resultados

Se calculó el aporte del lodo en cuanto a los metales de interés de este trabajo, tomando en cuenta la cantidad de lodo en g de SV para las pruebas de actividad metanogénica (Etapas 4 y 5), de 0.6; se encontró que este aporte es del orden de 10^{-4} mg/L comparado con las concentraciones de cada ión metálico, por lo tanto este aporte es despreciable. Es decir, el efecto encontrado de los iones metálicos sobre la actividad metanogénica, es debido a la adición y no al contenido de estos mismos iones metálicos en el lodo.

Tomando en cuenta la Tabla 10 referente a las formas de obtención del Se, Mo, W y Ni por fuentes naturales así como los valores de los subproductos encontrados de la FORSU, no es de extrañarse que el Ni y Mo se encuentren en mayor proporción, ya que estos metales se incorporan a la FORSU a través de alimentos y/o plantas cuyo origen es del suelo. De acuerdo al contenido de los subproductos de: plantas y flores de hogar y de cáscaras de frutas y vegetales, este tipo de residuos corresponde a un 52% y 38% en la FORSU respectivamente, es decir cerca del 90% de la FORSU corresponde a estos dos tipos de residuos.

En menor proporción se encuentra el Se, seguido por el W. Las fuentes naturales más ricas de selenio son las vísceras y mariscos, seguidos por la carne. Este tipo de subproducto (carne y pescado incluidos huesos, grasa y piel) corresponde a un 5% en la composición de la FORSU. El W es uno de los elementos más escasos en la corteza terrestre; suele estar presente en biomoléculas, sin embargo es utilizado por algunas pocas especies de microorganismos.

Por otro lado, considerando los resultados obtenidos en la etapa 5, donde para maximizar la AME se requiere la adición de Se^{+4} y W^{+6} , esto es coherente debido a que son aquellos elementos que se encontraron en menor proporción en la FORSU.

4.7 Etapa 7. Pruebas de Potencial Bioquímico de metano con FORSU adicionando iones metálicos

Los resultados de los valores promedio obtenidos del comportamiento del volumen acumulado de metano con FORSU y con la adición de iones metálicos se muestran en la Figura 35. Se puede ver que para ambas pruebas (0.6 g SV de inóculo con 0.3 g SV de FORSU y 3 g SV de inóculo con 1.5 g SV de FORSU) se respetó la relación inóculo:sustrato de 2 y se obtuvo un comportamiento similar, al inicio las pruebas con la adición de iones metálicos son ligeramente superiores en cuanto a producción de metano que aquellas sin la adición de iones metálicos. Llega un punto en ambas pruebas (a las 90h y 40 h) en que las líneas de producción de metano se cruzan, situándose por encima las prueba sin la adición de iones metálicos.

Al principio, para las pruebas de 0.6 g SV de inóculo la adición de iones metálicos aumenta la producción de metano hasta en un 100% en las primeras horas, posteriormente va disminuyendo este incremento, a partir de la hora 90, la prueba con solamente FORSU es capaz de producir la misma cantidad de metano sin algún ión metálico, incluso teniendo una mayor producción de un 6% más al finalizar las pruebas.

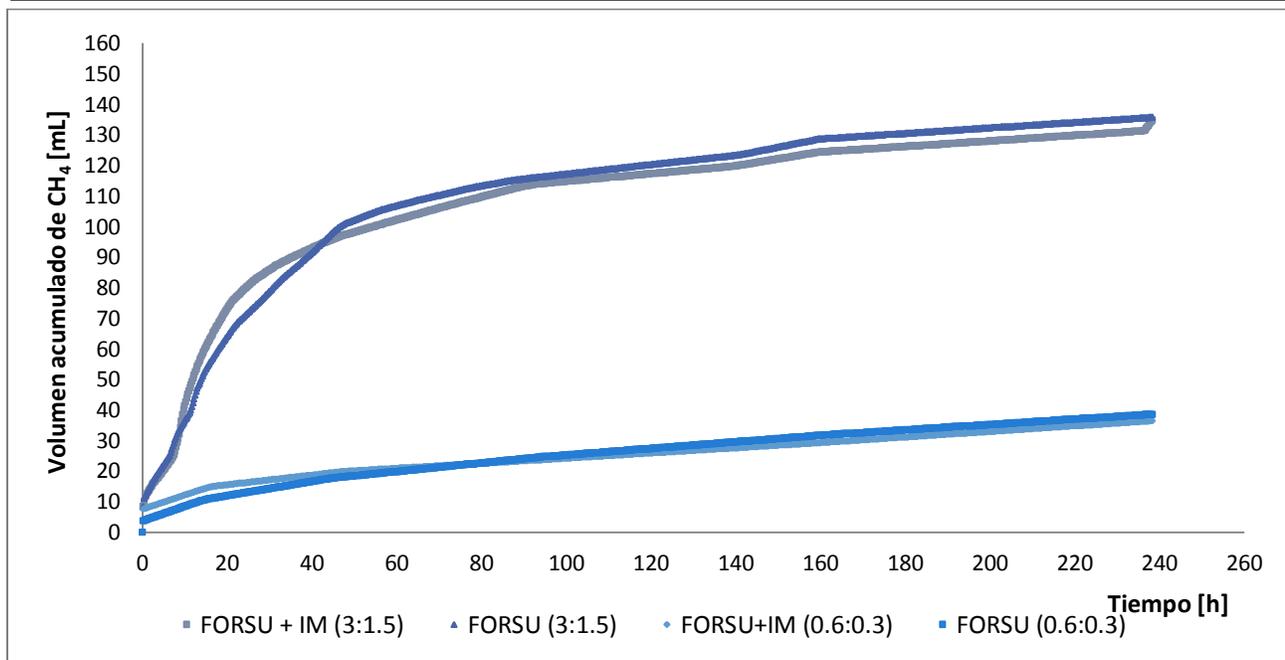


Figura 35. Volumen acumulado de metano para las pruebas de: 0.6 g de SV de inóculo y 0.3 g de SV de FORSU. (0.6:0.3) y para 3 g de SV de inóculo y 1.5 g de FORSU (3:1.5). *FORSU*: pruebas con adición de solo FORSU e inóculo; *FORSU + IM*: pruebas con adición de FORSU, inóculo y mezcla de iones metálicos.

Un comportamiento similar se obtuvo con 3 g de SV de inóculo y 1.5 g de SV de FORSU, sin embargo, la prueba con iones metálicos tuvo una producción menor en las primeras horas de experimentación, a partir de la octava hora la producción con iones metálicos aumento, sin embargo solo fue hasta un 20%; a partir de las 40 h, las pruebas con solamente FORSU produjeron más metano que las pruebas con iones metálicos. Al finalizar la experimentación, la producción de metano es muy parecida entre ambas (Figura 37).

La Tabla 35 muestra la producción final promedio para cada prueba, así como la diferencia de esta producción entre cada par de pruebas. No fue posible determinar una desviación debido a que las pruebas solo fueron realizadas por duplicado.

En cuanto a los índices de alcalinidad, las pruebas con iones metálicos tiene una mayor estabilidad; aunque en ambas condiciones los valores del índice tampón (IB) se encuentran dentro del intervalo recomendado (0.2-0.4) los valores de las muestras de FORSU sin iones metálicos son cercanos a 0.4, pudiendo llegar a indicar una acidificación del sistema. En la relación alfa, los valores recomendados se encuentran dentro del intervalo de 0.7-0.8, obteniéndose valores menores para las muestras de FORSU sin iones metálicos y tendiendo hacia la acidificación (valores menores a 0.5).

▪ Análisis

La producción final de metano obtenida para cada prueba se analizó estadísticamente mediante un ANOVA de una vía, en el cual un tratamiento fue la digestión de la FORSU con la adición de iones metálicos y otro, la digestión de la FORSU sin la adición de iones metálicos.

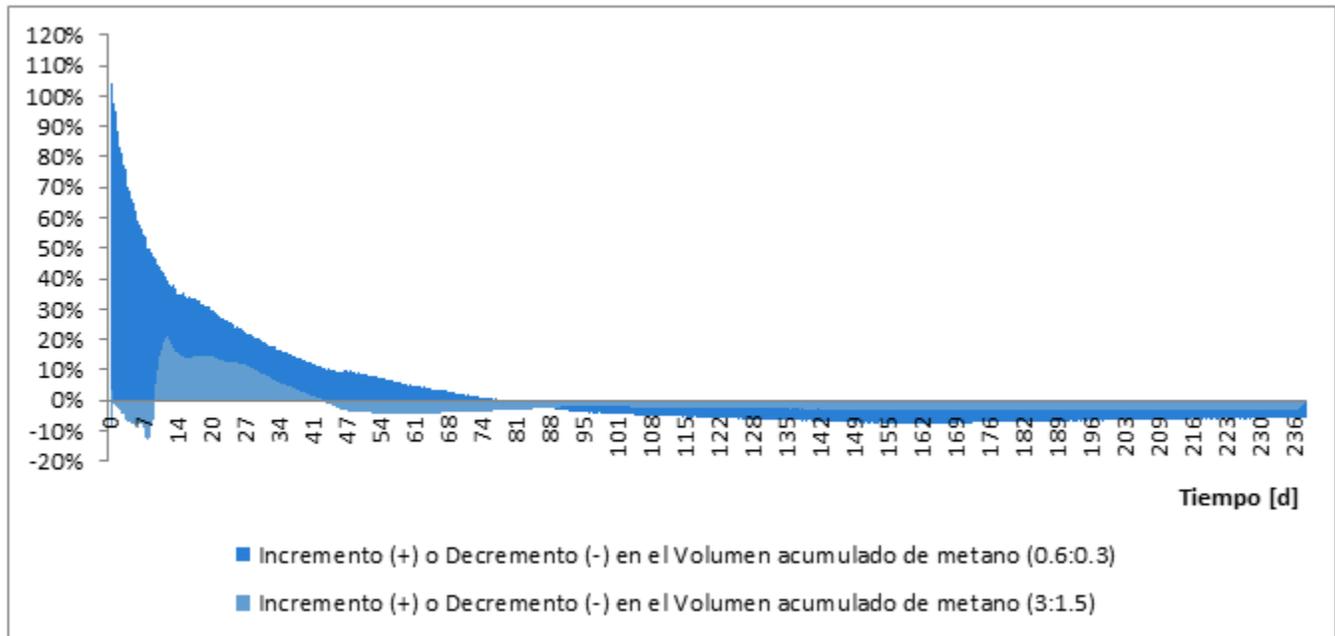


Figura 36. Incremento y decremento en la producción del volumen acumulado de metano para 3 g de SV de inóculo y 1.5 g de FORSU (relación 3:1.5) y para 0.6 g de SV de inóculo y 0.3 g de SV (relación 0.6:0.3).

Tabla 35. Resultados de producción final promedio de las pruebas de FORSU y adición de iones metálicos, remoción de DQO y parámetros de alcalinidad.

Prueba	Volumen final acumulado de CH ₄ [mL]	Producción final de CH ₄ [mL CH ₄ / g SV FORSU]	Diferencia en Producción de CH ₄	Porcentaje de Remoción de DQO	Relación Alfa	Índice IB
1 0.6 g de SV de inóculo y 0.3 g de SV de FORSU						
FORSU + Iones Metálicos	36.3	121.0		73%	0.78	0.22
FORSU	38.5	128.4	6%	71%	0.68	0.32
2 3 g de SV de inóculo y 1.5 g de SV de FORSU						
FORSU + Iones Metálicos	134.9	89.9	1%	91%	0.80	0.20
FORSU	135.7	90.4		88%	0.66	0.34

Posteriormente se utilizó la siguiente ecuación matemática (Azura-Nieto y Beristain-Guevara, 2007) para conocer la variación del volumen puntual de metano acumulado de cada tratamiento, considerando como un modelo normal la digestión de la FORSU sin iones metálicos, y comparando con éste los resultados del comportamiento del volumen acumulado de metano al adicionar iones metálicos, utilizando la siguiente ecuación en términos de un porcentaje de variabilidad:

$$\% P = \frac{100}{N} \sum_{i=1}^N \frac{|V_{i_{\text{FORSU+IM}}} - V_{i_{\text{FORSU}}}|}{V_{i_{\text{FORSU+IM}}}}$$

Ecuación 20



donde:

- N Número de datos experimentales
- $V_{i_{\text{FORSU+IM}}}$ Volumen de metano del tratamiento de la digestión de FORSU con iones metálicos
- $V_{i_{\text{FORSU}}}$ Volumen de metano del tratamiento de la digestión de FORSU
- %P Porcentaje de variación

Si el valor del %P es menor a 10% se considera que el comportamiento de ambos tratamientos, en este caso, es igual (Lomauro, Bakshi y Labuza, 1985).

Prueba 1. 3 g de SV de inóculo y 1.5 g de SV de FORSU

Los resultados del ANOVA de una vía se muestran en la Tabla 36 donde se muestra que no hay diferencia significativa en la producción de metano de los tratamientos al 95% de confianza.

Tabla 36. ANOVA de una vía para la prueba 1.

Fuente de variabilidad	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	F ₀	Valor-p
Entre grupos	0.5625	1	0.5625	0.0024	0.9649
Dentro de grupos	455.445	2	227.723		
Total	456.008	3			

La Tabla 37 muestra el valor promedio de la variable de respuesta (producción de metano final) para ambos tratamientos (con adición de iones metálicos y sin la adición de éstos). Esta tabla muestra el error estándar de cada valor promedio, el cual es una medida de la variabilidad de la muestra. Se muestra también un intervalo, compuesto por un límite superior e inferior para cada tratamiento basado en la prueba de la diferencia mínima significativa de Fisher (LSD) de tal forma que si ambos valores promedio son iguales, sus intervalos se superponen un 95%.

Tabla 37. Valor promedio e intervalos de la prueba LSD a un 95% de confianza de la producción de metano para cada tratamiento de la prueba 1.

Tratamiento	Réplicas	Valor promedio	Erros Estándar	Límite inferior	Límite Superior
FORSU + Iones Metálicos	2	134.90	10.6706	102.435	167.36
FORSU	2	135.65	10.6706	103.185	168.11
Total	4	135.27			

El porcentaje de variación puntual calculado entre ambos tratamiento fue de 4.1%

Prueba 2. 0.6 g de SV de inóculo y 0.3 g de SV de FORSU

Se analizó de la misma forma los datos obtenidos para las pruebas con 0.6 g de SV y se obtuvieron los resultados del ANOVA de una vía mostrados en la Tabla 38 donde se muestra que no hay diferencia significativa en la producción de metano de los tratamientos al 95% de confianza.



Tabla 38. ANOVA de una vía para la prueba 2.

Fuente de variabilidad	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	F ₀	Valor-p
Entre grupos	4.84	1	4.84	0.37	0.6038
Dentro de grupos	26.0	2	13.0		
Total	30.84	3			

La Tabla 39 muestra el valor promedio de la producción de metano final para ambos tratamientos así como el intervalo de éste para cada tratamiento basado en la prueba de la diferencia mínima significativa de Fisher (LSD) de tal forma que si ambos valores promedio son iguales, sus intervalos se superponen un 95%.

Tabla 39. Valor promedio e intervalos de la prueba LSD a un 95% de confianza de la producción de metano para cada tratamiento de la prueba 2.

Tratamiento	Réplicas	Valor promedio	Erros Estándar	Límite inferior	Límite Superior
FORSU + Iones Metálicos	2	36.3	2.54951	28.5433	44.0567
FORSU	2	38.5	2.54951	30.7433	46.2567
Total	4	37.4			

El porcentaje de variación puntual calculado entre ambos tratamientos fue de 9.1%

De acuerdo a estos resultados se considera que la adición de Se^{+4} y W^{+6} adicionados a la digestión de la FORSU en una proporción igual (concentración de 0.125 mg/L respectivamente para 0.6 g de SV y de 0.625 mg/L para 3 g de SV) no afecta la producción final de metano. Es decir, al adicionar estos iones, éstos pueden ser utilizados en otras rutas bioquímicas de la digestión de la digestión anaerobia, como es el caso de la formación de acetato, lactato y butirato y no están éstos solamente disponibles para las arqueas metanogénicas.



5 Conclusiones

En la digestión de la FORSU generada en la delegación Benito Juárez, con las pruebas de potencial bioquímico de metano, la adición de 0.125 mg/L de W^{+6} y 0.125 mg/L de Se^{4+} no afecta la producción de metano, comparado con la digestión de estos mismos residuos sin la adición de iones metálicos; estadísticamente no existe una diferencia a un 95% de confianza. Sin embargo, el uso de estos iones benefició la estabilidad del proceso favoreciendo los índices de alcalinidad.

En las pruebas de actividad metanogénica con formiato de sodio como sustrato, la adición de nutrientes y iones metálicos (a concentraciones de Ni^{+2} , W^{+6} y Mo^{+6} 0.250 mg/L respectivamente y Se^{+4} 0.150 mg/L) no provoca una sinergia que mejore la actividad metanogénica específica, al contrario la disminuye. Es decir la adición de solo iones metálicos aumentó la actividad metanogénica específica en un 17%, mientras que la adición de iones metálicos y nutrientes un 5% y los nutrientes por si solos en un 10% comparado con la actividad metanogénica específica obtenida con solo formiato de sodio (0.47 ± 0.08 g DQO/g SV d).

De los cuatro iones que posiblemente influirían en las pruebas de actividad metanogénica con formiato de sodio como sustrato y de acuerdo al diseño de mezclas simplex centroide aumentado, los iones Se^{+4} y W^{+6} , tienen una influencia, sobre la AME, positiva. Aumenta esta actividad en un 35% con una concentración de 0.125 mg/L de W^{+6} y 0.125 mg/L de Se^{4+} . Los iones de estos elementos son aquellos que se encuentran en menor proporción en la FORSU generada en la delegación Benito Juárez.

La FORSU de la delegación Benito Juárez está compuesta principalmente por los subproductos de plantas y flores de hogar y cascaras de frutas y vegetales. De acuerdo a la caracterización fisicoquímica es rica en carbohidratos biodegradables (43%), seguida de fibras (25%), proteínas (20%) y grasas (12%).

El contenido de metales en el inóculo empleado es de 230.70, 31.05, 8.02 y 494.68 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de Mo, Se, W y Ni respectivamente en base seca. En la FORSU de la delegación Benito Juárez es de 13.15, 2.14 y 344.28 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de Mo, W y Ni en base seca, el Se probablemente se encuentre por debajo del límite de detección, pues no fue posible cuantificarlo.

La mejor relación inóculo:sustrato para la FORSU de la delegación Benito Juárez y el inóculo empleado (lodo anaerobio de Grupo Modelo), en cuanto a los índices de alcalinidad y producción de metano, es de 6 g SV de inóculo con 3 g SV de FORSU.

La actividad metanogénica específica sin la adición de iones metálicos ni nutrientes con formiato es de 0.47 ± 0.08 , con acetato 0.65 ± 0.03 y con una mezcla de ácidos grasos volátiles (acetato 2 g C/L, propionato y butirato 0.5 g C/L respectivamente) de 1.59 ± 0.31 g DQO/g SV d respectivamente, sin embargo las pruebas con la mezcla de ácidos grasos mostraron una reducción en la producción de metano.



6 Recomendaciones para trabajos futuros

Se sugiere para trabajos futuros en este tema estudiar concentraciones mayores de los iones metálicos en la digestión de la FORSU para descartar el uso de éstos como sustancias que maximizan la producción de metano. De igual forma, probar estas concentraciones en un reactor en continuo, ya que en este trabajo los experimentos fueron realizados en un proceso por lotes.

Otra sugerencia importante sería el estudio de pruebas de actividad de cada una de las etapas de la digestión anaerobia (hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis) con sustratos modelos, la interacción de estos sustratos y su afectación al agregar iones metálicos.

Al usar el inóculo se recomienda tener especial cuidado en la manipulación de éste, además de considerar la forma de uso del inóculo, ya sea en forma granular o disgregado, ya que podría afectar los resultados experimentales.



7 Referencias

- Almeida, A., Nafarrete-Rivera, E., Alvarado, A., Cervantes-Ovalle, A., Luevanos, M. P., Oropeza, R., & Balagurusamy, N. (2011). Expresión genética en la digestión anaerobia: un paso adelante en la comprensión de las interacciones tróficas de esta biotecnología. *Acta Química Mexicana, Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila* Vol. 3 (6), pp. 14-34.
- Ammary, B. (2004). Nutrients requirements in biological industrial wastewater treatment. *African Journal of Biotechnology* Vol. 3 (4), pp. 236-238
- Angelidaki, I., Karakashev, D., Batstone, D., Plugge, C., & Stams, A. (2011). Biomethanation and its potential. *Methods in Enzymology* Vol. 494, pp. 327-351.
- Aquino, S., Chernicharo, C., Foresti, E., Florencio Dos Santos, M., & Monteggia, L. (2007). Metodologias para determinação da Atividade Metanogênica Específica (AME) EM Lodos Anaeróbios. *Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental* Vol. 12 (2), pp. 192-210.
- Arvizu, J., & Huacuz, J. (2003). Biogás de rellenos sanitarios para producción de electricidad. *Boletín Instituto de Investigaciones Eléctricas* Octubre-Diciembre, pp. 118-123.
- Azuara-Nieto, E., & Beristain-Guevara, C. (2007). Estudio termodinámico y cinético de la adsorción de agua en proteína de suero de leche. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* Vol. 6 (3), pp. 359-365.
- Babu, K., Nand, K., Srilatha, H., Srinath, K., & Madhukara, K. (1994). Improvement in biomethanation of mango processing wastes by addition of plant derived additives. *Biogas Forum*, pp. 16-19.
- Banks, C., Zhang, Y., & Jiang, S. (2012). Trace elements requirements for stable food waste digestion at elevated ammonia concentrations. *Bioresource Technology* Vol. 104, pp. 127-135.
- Bender, M. L., & Brubacher, L. J. (1977). *Catálisis y acción enzimática*. Editorial Reverté.
- Bioworks. (Abril de 2014). *BIOWORKS*. Recuperado el 16 de Enero de 2014, de www.bioworks.com.mx
- Biswas, J., Chowdhury, R., & Bhattacharya, P. (2006). Kinetic studies of biogas generation using municipal waste as feed stock. *Enzyme and Microbial Technology* Vol. 38 (3-4), pp. 493-503.



- Bock, A. (2006). *Encyclopedia of inorganic chemistry: Selenium proteins containing selenocysteine*. John Wiley & Sons.
- Bonin A. S, Boone D. R. (2006). The Prokaryotes. The Order Methanomicrobiales. Editorial Springer- Verlag Berlin H., pp. 231-243
- Borja, R., Martín, B., Maestro, R., Luque, M., & Durán, M. (1993). Enhancement of the anaerobic digestion of wine distillery wastewater by the removal of phenolic inhibitors. *Bioresource Technology* Vol. 4 (2), pp. 99-104.
- Buffiere, P., Loisel D., Bernet, N., & Delgenes, J. (2006). Towards new indicators for the prediction of solid waste anaerobic digestion properties. *Water Science Technology* Vol. 53 (8), pp. 233-241.
- Carrillo, L. (2004). *Energía de Biomasa 1° ed.* S. S. Jujuy.
- Cervantes, F. (2008). Reducción de colorantes azo por distintos grupos microbianos en consorcios anaerobios. *Biotecnología, Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica*, pp. 6-20.
- Chowdri, S., Gupta, S., Banergy, S., & Chowdry, S. (1994). Evaluation of the potentiality of three leaves for biogas production. *Indian Forester* Vol. 120 (8), pp. 720-728.
- Clark, P., & Hillman, P. (1995). Enhancement of anaerobic digestion using duckweed (*Lemna minor*) enriched with iron. *Water and Environment* Vol. 10 (2), pp. 92-95.
- Clescerl, L., Greenberg, A., & Eaton, A. (1995). *Standard Methods for Examination of Water & Wastewater*. American Public Health Association, American Water Works Association, & Water Environment Federation.
- Daoming, S., & Forster, C. (1993). An examination of the startup of a thermophilic upflow sludge blanket reactor treating synthetic coffee waste. *Environmental Technology* Vol. 14 (10), pp. 956-972.
- Demirel, B., & Scherer, P. (2011). Trace element requirements of agricultural biogas digesters during biological conversion of renewable biomass to methane. *Biomass and Bioenergy* Vol. 35 (3), pp. 992-998.
- Deppenmeier U. (2002). The unique biochemistry of methanogenesis. *Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology* Vol. 71, pp.223-283
- Dhawale, M. (1996). Anaerobic fermentation with chemical inducers and higher solids for biogas production. *Project sponsored by MNES, 1993–1996, Shivasadan Renewable Energy Research. Institute, Sangli, Maharashtra, India.*



- Dianou, D., Miyaki, T., Asakawa, S., Morii, H., Nagaoka, K., Oyaizu, H. & Matsumoto, S. (2001). *Methanoculleus chikugoensis* sp. nov., a novel methanogenic archaeon isolated from paddy field soil in Japan, and DNA–DNA hybridization among *Methanoculleus* species. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* Vol.51, pp.1663–1669.
- Doyle, O., O'Malley, J., Clausen, E., & Gaddy, E. (1983). Kinetic improvements in the production of methane from cellulosic residues. *Institute of Gas Technology ETATS-UNIS Energy from Biomass and Waste 7 Symposium*, pp. 545-561.
- Droste, R. (1997). *Theory and Practice of water and wastewater treatment*. John Wiley & Sons Inc.
- Dubrovski, V., Plume, I., Kazulis, V., Celms, A., Kotelenees, V., & Zabarovski, E. (2012). Biogas production potential from agricultural biomass and organic residues in Latvia. *Engineering for rural development* Vol. 24, pp. 566-571
- Edeline, F. (1980). Reacteurs anaerobies (digesteurs). In *L'epuration Biologique des Eaux Residuaires. Théorie et Technologie*. Liege, Belgium: CEBEDOC.
- Facchin, V., Cavinato, C., Fatone, F., Pavan, P., & Cecchi, F. (2012). Effect of trace elements supplementation on the mesophilic anaerobic digestion of foodwaste in batch trials: The influence of inoculum origin. *Biochemical Engineering Journal* Vol. 70, pp. 71-77.
- Frioni, L. (1999). *Procesos Microbianos*. Rio Cuarto, Argentina: Editorial de la Fundación Universidad Nacional de Rio Cuarto Argentina.
- Fulekar, M. (2011). *Environmental Biotechnology*. CRC Press.
- Gallegos-García, M., Celis B., L., & Razo-Flores, E. (2010). Competencia por sustrato durante el desarrollo de biomasa sulfatorreductora a partir de un lodo metanogénico en un reactor UASB. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* Vol. 26 (2), pp. 109-117.
- García J.L., Oliver B. y Whitman W.B. (2006). The Prokaryotes. The Order Methanomicrobiales. Editorial Springer- Verlag Berlin H., pp 208-230
- Gavala, H., & Ahring, B. (2002). Inhibition of the anaerobic digestion by linear-alkylbenzene sulfonates. *Biodegradation* Vol. 13 (3), pp. 201-209.
- Gavala, H., & Liberatos, G. (2001). Influence of anaerobic culture acclimation on the degradation kinetics of various substrates. *Biotechnology and Bioengineering* Vol. 74 (3), pp. 181-195.
- González, G., Rustrían, E., Houbon, E., & Zamora, A. (2008). Impacto de la tasa de humedad en la biodegradación de los residuos sólidos urbanos de la ciudad de Veracruz, México. *Revista Latinoamericana de Recursos Naturales* Vol. 4 (3), pp. 336-341.



- Gupta, P., Singh, R., Sachan, A., Vidyarthi, A., & Gupta, A. (2012). A re-appraisal in intensification of biogas production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* Vol. 16 (7), pp. 4908-4916.
- Huber R, Stetter KO (2001). Order I. Methanopyrales ord. nov. En DR Boone and RW Castenholz, Bergey's (editores). *Manual of Systematic Bacteriology Volume 1: The Archaea and the deeply branching and phototrophic Bacteria* (2da edición). Editorial Springer Verlag Berlin H. p. 169
- Hwu, C., & Lettinga, G. (1997). Acute toxicity of oleate to acetate-utilizing methanogens in mesophilic and thermophilic anaerobic sludges. *Enzyme and Microbiology Technology* Vol. 21 (4), pp. 297-301.
- Igoni, H., Ayotamuno, M., Eze, C., Ogaji, S., & Probert, S. (2008). Designs of anaerobic digesters for producing biogas from municipal solid-waste. *Applied Energy* Vol. 85 (6), pp. 430-438.
- IUBMB. (2013). *International Union of Biochemistry and Molecular Biology*. Recuperado el 12 de marzo de 2013, de <http://www.iubmb.org/index.php?id=92>
- Jenkins, S. R., Morgan, J. M., & Sawyer, C. L. (1983). Measuring anaerobic sludge digestion and growth by simple alkalimetric titration. *Journal of the Water Pollution Control Federation* Vol. 55 (5), pp. 448-453.
- Jeris, J. (1983). Industrial Wastewater treatment using anaerobic fluidized bed reactors. *Water Science & Technology* Vol. 15 (8), pp. 169-176.
- Jones, J., & Stadtman, T. (1977). Methanococcus vannielii: culture and effects of selenium and tungsten on growth. *Journal of Bacteriology* Vol. 130 (3), pp. 1404-1406.
- Kalia, A., & Kanwar, S. (1989). Anaerobic fermentation of Ageratum for biogas production. *Biological Waste* Vol. 32 (2), pp. 155-158.
- Kendall M, Boone D. (2006). Cultivation of methanogens from shallow marine sediments at Hydrate Ridge, Oregon. *Archaea* Vol. 2(1), pp. 31-8.
- Koster, I., & Koomen, E. (1988). Ammonia inhibition of the maximum growth rate of hydrogenotrophic methanogens at various pH-levels and temperatures. *Applied Microbiology and Biotechnology* Vol. 28, pp. 500-505.
- Lin, C. (1993). Effect of heavy metals in acidogenesis in anaerobic digestion. *Water Research* Vol. 27 (1), pp.147-152.
- Liu, Y., & Whitman, W. (2008). Metabolic, phylogenetic, and ecological diversity of the Methanogenic Archaea. *Annals of the New York Academy of Sciences* Vol. 1125, pp. 171-189.



- Livera, J., McLaughlin, M., Hettiarachchi, K., & Beak, D. (2011). Cadmium solubility in paddy soils: effects of soil oxidation, metal sulfides and competitive ions. *Science of the total environment* Vol. 409 (8), pp. 1489-1497.
- Lo, H., Chiu, H., Lo, S., & Lo, F. (2012). Effects of micro-nano and non micro-nano MSWI ashes addition on MSW anaerobic digestion. *Bioresource Technology* Vol. 114, pp. 90-94.
- Lo, H.-M. (2005). Metals behaviors of MSWI bottom ash co-digested anaerobically with MSW. *Resources Conservation & Recycling* Vol. 43 (3), pp. 263-280.
- Lomauro, C., Bakshi, A., & Labuza, T. (1985). Evaluation of food moisture sorption isotherm equations. Part I: Fruit, vegetable and meat products. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, pp. 111-117.
- McCarthy, P., & Mosey, F. (1991). Modelling of anaerobic digestion processes (a discussion of concepts). *Water Science & Technology* Vol. 24 (8), pp. 17-33.
- McCarty, P., & McKinney, R. (1961). Salt toxicity in anaerobic digestion. *Journal of Water Pollution Control Federation* Vol. 33 (4), pp. 399-414.
- Menisher, T., Metghalchi, M., & Gutoff, E. B. (2000). Mixing studies in bioreactors. *Bioprocess Engineering* Vol. 22, pp. 115-120.
- Metcalf, & Eddy. (1991). *Wastewater Engineering, Treatment, Disposal and Reuse*. New York: McGraw-Hill.
- Nielsen, S. (2010). *Food Analysis Laboratory Manual*. Nueva York: Springer.
- NIH (2013). *National Institute of Health, US Department of health and human services*. Recuperado el 13 de Octubre del 2013 de: http://ods.od.nih.gov/search.aspx?zoom_query=TUNGSTEN.
- Norqvist, A., & Roffey, R. (1983). Alternative method for monitoring the effect of inhibitors on sulfate reduction. *Microbiology Research Foundation* Vol. 29 (5), pp. 111-123.
- Noyola, A., & Tinajero, A. (2005). Effect of biological additives and micronutrients in the anaerobic digestion of physicochemical sludge. *Water Science & Technology* Vol. 52 (1), pp. 275-281.
- NYU (2013). *NYU Langone Medical Center*. Recuperado el 2 de Octubre de 2013 de: <http://www.med.nyu.edu/content?ChunkIID=111707>
- Olsson, J., Bernesson, S., Rodhe, L., Salomon, E., & Hansson, P. (2010). Admixture of cereal ash into liquid biogas digestate. *RAMIRAN Treatment and use of non conventional organic residues in agriculture*. Lisboa, Portugal: FAO.



- Orta, M. T., Saucedo, G., & Tovar, L. R. (2009). *Composición y generación de residuos sólidos urbanos de la ciudad de México durante 2008-2009*. s.l., s.n.
- Patel, V., & Madamwar, D. (1994). Anaerobic digestion of a mixture of cheese whey, poultry waste and cattle dung: a study of the use of adsorbents to improve digester performance. *Environmental Pollution* Vol. 86 (3), pp. 337-340.
- Patel, V., Patel, A., & Madamwar, D. (1992). Effect of adsorbents on anaerobic digestion of water-hyacinth-cattle dung. *Bioresource Technology* Vol. 40 (2), pp. 179-181.
- Pretti Rao, P., & Seenayya, G. (1994). Improvement of methanogenesis from cow dung and poultry litter waste digesters by addition of iron. *World Journal of Microbiology. & Biotechnology* Vol. 10, pp. 211-214.
- Raja, A., & Lee, C. (2012). Biomethanation of water hyacinth using additives under forced mixing in a bio reactor. *International Journal of Chemistry Research*, pp.15-24.
- Rajaseskaran, P., Swaminathan, K., & Jayapragasam, M. (1989). Biogas production potential of Euphorbia Tirucalli L. along with cattle manure. *Biological Wastes* Vol. 30 (1), pp. 75-77.
- Ritmann, B., & McCarty, P. (2001). *Environmental Biotechnology: Principles and Applications*. Boston: Mc Graw Hill.
- Rojas, O. (2004). *Capacidad tampón en reactores anaerobios. Curso sobre tratamiento anaerobio de aguas residuales. Programa de Posgrado en Ingeniería Sanitaria y Ambiental, Universidad del Valle*. Cali, Colombia.
- Rongyul, H., Yuexiangl, Y., Zhyying, Y., Xianofengl, L., Yinzgangl, L., Xudong, L., y otros. (2008). Selection of combined additives for enhancing biogas production in anaerobic digestion. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, pp. 181-185.
- Rozzi, A. (1986). *Parámetros de operación y control de los procesos anaerobios. Tercer Seminario sobre deaespuración anaeróbica de aguas residuales*. Valladolid, España.
- Sakai S., Imachi H., Hanada S., Ohashi A., Harada H.y Kamagata Y. (2008). Methanocella paludicola gen. nov., sp. nov., a methane-producing archaeon, the first isolate of the lineage 'Rice Cluster I', and proposal of the new archaeal order Methanocellales ord. nov. *Internal Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* Vol. 58, pp. 929-936.
- Satyanarayan, S., Murkute, P., & Ramakant. (2008). Biogas production enhancement by Brassica Campestris amendment in cattle dung digesters. *Biomass and Energy* Vol. 32 (3), pp. 210-215.
- Sharma D. A. (2013). Low Nickel diet in dermatology. *Indian Journal of Dermatology* Vol. 58 (3), pp. 240-243.



- Schattauer, A., Abdoun, E., Weiland, P., & Plochl, M. (2011). Abundance of trace Elements in demonstration biogas plants. *Biosystems Engineering* Vol. 108 (1), pp. 57-65.
- Scherer, P., & Sahn, H. (1981). Effect of trace elements and vitamins on the growth of *Methanosarcina barkeri*. *Acta Biotechnológica* Vol. 1 (1), pp. 57-65.
- Schonheit, P., & Thauer, R. (1979). Nickel, Cobalt and Molybdenum requirement for growth of *Methanobacterium thermoautotrophicum*. *Archives of Microbiology* Vol. 123 (1), pp.105-107.
- SENER. (2010). *Secretaría de Energía*. Recuperado el Octubre de 7 de 2012, de <http://www.renovables.gob.mx/portal/Default.aspx?id=2195&lang=2>
- Singh, S., Kumar, S., Jain, M., & Dinesh, K. (2001). Increased biogas production using microbial stimulants. *Bioresource Technology* Vol. 78 (3), pp.313-316.
- Slonczewski, J., & Foster, J. (2009). *Microbiology: An evolving Science*. New York: W.W. Norton & Company Inc.
- Somayaji, D., & Khanna, S. (1994). Biomethanation of rice and wheat straw. *World Journal Microbiology Biotechnology* Vol. 10 (5), pp. 521-523.
- Soto, M., Méndez, R., & Lerma, M. (1993). Methanogenic and non-methanogenic activity test. Theoretical basis and experimental set up. *Water Research* Vol. 27 (8), pp. 1361-1376.
- Speece, R. (1996). *Anaerobic Biotechnology for Industrial Wastewaters*. Tennessee, USA: Archae Press.
- Speece, R., Gene, F., & Gallagher, D. (1983). Nickel Stimulation of anaerobic digestion. *Water Research* Vol. 17 (6), pp. 677-683.
- SPOBD. (1979). Biogas technology and utilization. *Chengdu Seminar, Sichuan Provincial Office of Biogas Development*. China: Sichuan, P.R.
- Taylor, G., & Pirt, S. (1977). Nutrition and factors limiting the growth of a methanogenic bacteria. *Archives of Microbiology* Vol. 113, pp. 17-22.
- Tchobanoglous G., & Burton, F. (1991). *Waste-water engineering: treatment disposal and reuse*. New York: Mc. Graw Hill.
- Ulmanu, M., Maranon, E., Fernández, Y., Castrillo'n, L., Anger, I., & Dumitriu, D. (2003). Removal of copper and cadmium ions from aqueous solutions by low cost and waste adsorbents. *Water, Air and Soil Pollution* Vol. 142 (1-4), pp. 357-373.
- USDA (2012). *U.S. Department of Agriculture; USDA National Nutrient Database for Standard Reference*. Recuperado el 13 de Octubre de 2013 de: http://www.ars.usda.gov/main/site_main.htm?modecode=12-35-45-00.



- US EPA. (s.f.). *Environmental Protection Agency*. Recuperado el 29 de Octubre de 2012, de http://www.epa.gov/agstar/documents/Riggle_11_26_07.pdf
- USEPA. (1995). *Industrial waste treatment a field study training program, volume 2*. California, USA: Sacramento and California Water Pollution Control Association for the USEPA.
- Vignais, P., & Billoud, B. (2007). Occurrence, classification and biological function of hydrogenases: an overview. *Chemical Reviews* Vol. 107 (10), pp. 4206-4272.
- Voet, D., & Voet, J. (2007). *Fundamentos de Bioquímica*. Madrid: Editorial Médica Panamericana.
- Weizhang, Z., Zhongzgi, Z., Wei, Q., & Liu, P. (2011). Comparison of chemical and biological pre treatment of corn straw for biogas production by anaerobic digestion. *Renewable Energy* Vol. 36 (6), pp. 1875-1879.
- Whitman, W., Ankwanda, E., & Wolfe, R. (1982). Nutrition and carbon metabolism of *Methanococcus voltae*. *Journal of Bacteriology* Vol. 149 (3), pp. 853-853.
- Whitman, W. B. y Jeanthon, C. (2006). The Prokaryotes. Methanococcales. Editorial Springer-Verlag Berlin H., pp. 257-273
- Winkler, M. (1986). *Tratamiento Biológico de Aguas de Desecho*. Ciudad de México: Limusa.
- Yen, H., & Brune, D. (2007). Anaerobic co.digestion of algal sludge and waste paper to produce methane. *Bioresource Technology* Vol. 98, pp. 130-134.
- Zayed, G., & Winter, J. (2000). Inhibition of methane production for whey by heavy metals protective effect of sulfide. *Applied Microbiology and Biotechnology* Vol. 53 (6), pp. 726-731.
- Zhou, H., & Qiu, G. (2006). Inhibition effect of ammonia on specific methanogenic activity of anaerobic granular sludge. *Journal Sputh University of Technology* Vol. 13 (1), pp. 63-67.



8 Anexos

ANEXO I.

Resultados de la cantidad a muestrear de FORSU de la Delegación Benito Juárez

- Composición física de los residuos sólidos en la estación de transferencia de la delegación Benito Juárez durante el 2008 (Orta, et al., 2009) y datos calculados para la obtención de muestra.

Subproducto	Datos de Orta et al., 2009		Valores Calculados (ecuación)		
	Peso [kg]	% Peso	P	q	n [kg]
Pañal desechable, toallas femeninas	48.25	3.84	0.038	0.962	226.750
Plásticos					
PET (Polietilen-tereftalato)	22.00	1.75	0.017	0.983	105.632
HDPE-PEAD (Polietileno de alta densidad)	52.75	4.19	0.042	0.958	246.975
PVC (Policloruro de vinilo)	0.00	0.00	0.000	1.000	0.000
LDPE-PEBD (Polietileno de baja densidad)	82.75	6.58	0.066	0.934	377.789
PP(Polipropileno)	18.30	1.45	0.015	0.985	88.130
PS(Poliestireno)	21.15	1.68	0.017	0.983	101.621
Materiales orgánicos					
Alimenticios	328.10	26.09	0.261	0.739	1185.139
Residuos de jardinería	294.70	23.43	0.234	0.766	1102.738
Trapo	17.10	1.36	0.014	0.986	82.431
Vidrio					
Vidrio Transparente	13.25	1.05	0.011	0.989	64.070
Vidrio de color	11.55	0.92	0.009	0.991	55.926
Tenis	0.00	0.00	0.000	1.000	0.000
Zapatos	0.00	0.00	0.000	1.000	0.000
Otros					
Bajo alfombra / Borra	0.10	0.01	0.000	1.000	0.489
Cera parafina	0.00	0.00	0.000	1.000	0.000
Chácharas	0.00	0.00	0.000	1.000	0.000
Muebles	0.00	0.00	0.000	1.000	0.000
Fibra de vidrio	0.00	0.00	0.000	1.000	0.000
Colchón	0.00	0.00	0.000	1.000	0.000
Electrónicos	0.00	0.00	0.000	1.000	0.000
Algodón	0.00	0.00	0.000	1.000	0.000
Cartón					
Cartón liso	46.70	3.71	0.037	0.963	219.747
Cartón corrugado	3.70	0.29	0.003	0.997	18.029
Otros cartones	3.50	0.28	0.003	0.997	17.057
Envase de cartón tetrapak	15.00	1.19	0.012	0.988	72.430
Cuero	0.00	0.00	0.000	1.000	0.000
Residuo fino	44.90	3.57	0.036	0.964	211.591
Residuo grueso	1.70	0.14	0.001	0.999	8.297
Fibra dura vegetal	0.00	0.00	0.000	1.000	0.000
Fibra sintética	0.10	0.01	0.000	1.000	0.489
Hueso	9.70	0.77	0.008	0.992	47.038



Efecto de Iones Metálicos sobre la Metanogénesis en la Digestión Anaerobia de Residuos Sólidos Orgánicos Urbanos

Anexos



Subproducto	Datos de Orta et al., 2009		Valores Calculados (ecuación)		
	Peso [kg]	% Peso	P	q	n [kg]
<u>Hule</u>					
Llantas de automóvil	0.00	0.00	0.000	1.000	0.000
Llantas de camioneta	0.00	0.00	0.000	1.000	0.000
Llantas de camión	0.00	0.00	0.000	1.000	0.000
Otros hules	0.00	0.00	0.000	1.000	0.000
<u>Latas</u>					
Lata aluminio	0.70	0.06	0.001	0.999	3.419
Lata metálica	14.50	1.15	0.012	0.988	70.044
Losa y cerámica	5.90	0.47	0.005	0.995	28.698
Madera	7.40	0.59	0.006	0.994	35.951
Material construcción	18.40	1.46	0.015	0.985	88.604
Material ferroso	0.00	0.00	0.000	1.000	0.000
Aluminio	2.40	0.19	0.002	0.998	11.706
Bronce	0.00	0.00	0.000	1.000	0.000
Cobre	0.00	0.00	0.000	1.000	0.000
Pilas eléctricas	0.35	0.03	0.000	1.000	1.710
<u>Otros materiales no ferrosos</u>					
Acero inoxidable	0.00	0.00	0.000	1.000	0.000
<u>Papel</u>					
Papel Bond	38.85	3.09	0.031	0.969	183.994
Periódico	27.45	2.18	0.022	0.978	131.219
Revista	0.40	0.03	0.000	1.000	1.954
Papel higiénico	106.10	8.44	0.084	0.916	474.766
Peso total de residuos caracterizados	1257.75	100.00			
Peso total de la muestra de caracterización	1270.00	99.40			
% Error	0.60	0.75			



ANEXO II.

Resultados de la cuantificación de subproductos. Etapa 1.

- Resultados obtenidos de la etapa 1 referente a la cuantificación de subproductos de los residuos orgánicos muestreados, provenientes de 24 camiones de la estación de transferencia Benito Juárez.

Tipo de residuo orgánico	1° día	2° día	Promedio
Cáscaras de fruta y vegetales	16.40	20.20	18.30
Carne y pescado (huesos, grasa y piel)	3.40	1.40	2.40
Plantas y flores de hogar	28.20	21.60	24.90
Otros compostables	1.00	2.60	1.80
Inorgánicos presentes	0.00	1.21	0.61
Pasta, pan y cereal	0.00	0.18	0.09
Productos lácteos y cascarón de huevo	0.00	0.11	0.06
Dulces, galletas y pasteles	0.00	0.00	0.00
Bolsas de té, filtros de café y tierra	0.00	0.00	0.00
Restos de animales	0.00	0.00	0.00
Total de residuos orgánicos	49.00	47.30	48.15



ANEXO III

Resultados Pruebas de Potencial Bioquímico de Metano con diferentes relaciones de inóculo:sustrato en el equipo de potencial bioquímico de metano. Etapa 2.

- Resultados de valores promedio obtenidos del volumen acumulado de metano para cada relación inóculo:sustrato.

Tiempo [días]	Volumen acumulado [L]									
	Blanco		6:12 R=0.5		6:6 R=1		6:3 R=2		6:1.5 R=4	
	V [mL]	s	V [mL]	s	V [mL]	s	V [mL]	s	V [mL]	s
0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
1	0.056	0.004	0.307	0.015	0.386	0.020	0.390	0.014	0.225	0.005
2	0.072	0.005	0.323	0.017	0.548	0.057	0.561	0.017	0.314	0.005
3	0.086	0.004	0.322	0.018	0.675	0.113	0.643	0.024	0.370	0.007
4	0.099	0.004	0.319	0.023	0.789	0.136	0.687	0.030	0.398	0.009
5	0.109	0.006	0.311	0.031	0.904	0.146	0.717	0.036	0.409	0.011
6	0.117	0.006	0.304	0.031	0.962	0.140	0.739	0.042	0.418	0.010
7	0.125	0.006	0.298	0.030	1.021	0.114	0.763	0.049	0.424	0.008
8	0.133	0.007	0.291	0.030	1.092	0.091	0.801	0.052	0.430	0.008
9	0.141	0.004	0.284	0.030	1.221	0.091	0.872	0.058	0.436	0.004
10	0.150	0.003	0.276	0.030	1.376	0.093	1.019	0.104	0.456	0.004
11	0.156	0.003	0.278	0.030	1.556	0.154	1.131	0.031	0.527	0.006
12	0.160	0.003	0.278	0.030	1.823	0.198	1.161	0.019	0.564	0.006

- Valores obtenidos para los índices de alcalinidad para cada relación inóculo:sustrato. Se usó H₂SO₄ 0.8 M.

Relación	pH	Volumen 1	Volumen 2	ALFA	IB
Blanco A	7.13	14.1	17.2	0.450	0.5495
Blanco B	7.12	13.9	17.1	0.448	0.5516
Blanco C	7.17	0.0	31.4	0.000	1.0000
R 6:12 A	5.41	0.0	29.7	0.000	1.0000
R 6:12 B	5.39	0.0	30.5	0.000	1.0000
R 6:12 C	5.39	25.4	33.0	0.435	0.5651
R 6:6 A	7.52	25.8	33.4	0.436	0.5642
R 6:6 B	7.55	24.7	32.8	0.430	0.5704
R 6:6 C	7.60	17.4	26.6	0.395	0.6045
R 6:3 A	7.32	17.1	26.6	0.391	0.6087
R 6:3 B	7.33	17.5	26.5	0.398	0.6023
R 6:3 C	7.43	17.4	22.0	0.442	0.5584
R 6:1.5 A	7.21	17.1	22.2	0.435	0.5649
R 6:1.5 B	7.22	17.5	22.4	0.439	0.5614
R 6:1.5 C	7.26	14.1	17.2	0.450	0.5495



ANEXO IV

Resultados del Desarrollo experimental de la técnica de actividad metanogénica. Etapa 3.

- Resultados obtenidos de la AME con formiato.

Tiempo [h]	Formiato A [mL CH ₄]	Formiato B [mL CH ₄]	Formiato C [mL CH ₄]	Tiempo [h]	Formiato A [mL CH ₄]	Formiato B [mL CH ₄]	Formiato C [mL CH ₄]	Tiempo [h]	Formiato A [mL CH ₄]	Formiato B [mL CH ₄]	Formiato C [mL CH ₄]
0.00	0.0	0.0	0.0	40.25	231.5	183.7	185.9	80.50	485.7	388.4	385.6
0.25	8.1	7.8	5.9	40.50	232.9	184.9	187.1	80.75	487.6	389.8	386.9
0.50	9.0	8.4	7.6	40.75	234.4	186.1	188.5	81.00	489.4	391.2	388.2
0.75	9.8	9.1	8.1	41.00	235.9	187.4	189.8	81.25	491.3	392.6	389.4
1.00	10.7	9.8	8.7	41.25	237.3	188.7	191.2	81.50	493.1	394.0	390.7
1.25	11.6	10.5	9.2	41.50	238.8	190.0	192.5	81.75	494.9	395.3	392.0
1.50	12.4	11.1	9.8	41.75	240.3	191.3	193.9	82.00	496.8	396.7	393.3
1.75	13.3	11.8	10.4	42.00	241.8	192.6	195.2	82.25	498.6	398.1	394.6
2.00	14.2	12.5	10.9	42.25	243.3	193.9	196.4	82.50	500.4	399.5	395.8
2.25	15.0	13.1	11.5	42.50	245.0	195.2	197.7	82.75	502.1	400.9	397.1
2.50	15.8	13.8	12.0	42.75	246.7	196.5	199.0	83.00	503.8	402.3	398.3
2.75	16.5	14.5	12.6	43.00	248.3	197.8	200.3	83.25	505.5	403.7	399.6
3.00	17.3	15.1	13.1	43.25	250.0	199.1	201.5	83.50	507.2	405.1	400.8
3.25	18.1	15.7	13.7	43.50	251.5	200.3	202.8	83.75	509.0	406.5	402.0
3.50	18.9	16.4	14.2	43.75	252.9	201.5	204.0	84.00	510.9	407.9	403.3
3.75	19.6	17.0	14.9	44.00	254.4	202.8	205.3	84.25	512.7	409.3	404.6
4.00	20.4	17.6	15.7	44.25	255.8	204.0	206.5	84.50	514.5	410.6	405.9
4.25	21.2	18.2	16.5	44.50	257.3	205.2	207.8	84.75	516.4	412.0	407.2
4.50	22.0	18.9	17.3	44.75	258.8	206.4	209.0	85.00	518.3	413.4	408.5
4.75	23.0	19.5	18.1	45.00	260.3	207.6	210.2	85.25	520.2	414.8	409.9
5.00	24.1	20.1	18.9	45.25	261.8	208.8	211.3	85.50	522.1	416.2	411.1
5.25	25.2	20.8	19.7	45.50	263.3	210.0	212.5	85.75	523.8	417.6	412.3
5.50	26.3	21.4	20.5	45.75	264.8	211.2	213.6	86.00	525.6	419.0	413.6
5.75	27.3	22.4	21.3	46.00	266.4	212.3	214.8	86.25	527.3	420.4	414.8
6.00	28.4	23.3	22.2	46.25	267.9	213.5	216.0	86.50	529.0	421.9	416.0
6.25	29.5	24.2	23.2	46.50	269.5	214.7	217.1	86.75	530.9	423.5	417.3
6.50	30.7	25.2	24.2	46.75	271.1	215.8	218.2	87.00	532.8	425.0	418.6
6.75	31.9	26.1	25.1	47.00	272.6	216.9	219.4	87.25	534.7	426.6	419.9
7.00	33.1	27.0	26.1	47.25	273.9	218.0	220.5	87.50	536.6	428.1	421.2
7.25	34.3	28.0	27.1	47.50	275.2	219.2	221.6	87.75	538.5	429.7	422.5
7.50	35.5	28.9	28.1	47.75	276.6	220.3	222.8	88.00	540.4	431.3	423.8
7.75	36.8	29.9	29.1	48.00	277.9	221.4	224.0	88.25	542.4	432.8	425.2
8.00	38.1	30.9	30.2	48.25	279.2	222.6	225.3	88.50	544.3	434.4	426.7
8.25	39.4	31.9	31.3	48.50	280.7	223.8	226.6	88.75	546.3	436.0	428.2
8.50	40.8	32.9	32.4	48.75	282.2	225.0	228.0	89.00	548.2	437.6	429.8
8.75	42.1	33.9	33.5	49.00	283.8	226.2	229.3	89.25	550.2	439.3	431.3
9.00	43.5	34.8	34.5	49.25	285.4	227.4	230.6	89.50	552.0	440.9	432.8
9.50	46.1	36.9	36.6	49.75	288.3	229.9	233.0	90.00	555.3	444.1	435.5
9.75	47.4	37.9	37.7	50.00	289.8	231.1	234.2	90.25	556.9	445.7	436.9
10.00	48.8	39.0	38.7	50.25	291.2	232.3	235.4	90.50	558.5	447.3	438.3
10.25	50.1	40.0	39.7	50.50	292.6	233.5	236.6	90.75	560.0	448.9	439.7
10.50	51.4	41.1	40.7	50.75	294.0	234.8	237.8	91.00	561.5	450.5	441.1
10.75	52.8	42.1	41.8	51.00	295.5	236.0	239.0	91.25	562.9	452.1	442.5
11.00	54.1	43.2	42.8	51.25	297.0	237.2	240.3	91.50	564.4	453.7	443.9
11.25	55.5	44.2	43.8	51.50	298.5	238.4	241.5	91.75	565.9	455.3	445.3
11.50	56.8	45.2	44.8	51.75	300.0	239.7	242.8	92.00	566.2	457.0	446.7
11.75	58.2	46.2	45.8	52.00	301.5	240.9	244.0	92.25	566.2	458.9	447.9
12.00	59.5	47.3	46.8	52.25	302.9	242.1	245.2	92.50	566.3	460.8	449.1
12.25	60.9	48.3	47.8	52.50	304.4	243.3	246.5	92.75	566.3	462.6	450.3
12.50	62.3	49.3	48.9	52.75	305.8	244.5	247.7	93.00	566.3	464.2	451.5
12.75	63.6	50.4	49.9	53.00	307.2	245.7	248.9	93.25	566.3	465.5	452.7
13.00	65.0	51.5	51.0	53.25	308.7	246.9	250.1	93.50	566.4	466.9	453.9
13.25	66.5	52.6	52.1	53.50	310.3	248.2	251.4	93.75	566.4	468.2	455.2
13.50	68.0	53.7	53.2	53.75	312.0	249.4	252.6	94.00	566.4	469.6	456.4
13.75	69.6	54.8	54.3	54.00	313.6	250.6	253.9	94.25	566.4	471.0	457.7



Efecto de Iones Metálicos sobre la Metanogénesis en la Digestión Anaerobia de Residuos Sólidos Orgánicos Urbanos

Anexos



Tiempo [h]	Formiato A [mL CH ₄]	Formiato B [mL CH ₄]	Formiato C [mL CH ₄]	Tiempo [h]	Formiato A [mL CH ₄]	Formiato B [mL CH ₄]	Formiato C [mL CH ₄]	Tiempo [h]	Formiato A [mL CH ₄]	Formiato B [mL CH ₄]	Formiato C [mL CH ₄]
14.00	71.1	55.9	55.4	54.25	315.3	251.8	255.1	94.50	566.5	472.5	458.9
14.25	72.7	57.0	56.6	54.50	316.8	253.1	256.4	94.75	566.5	474.0	460.1
14.50	74.1	58.2	57.7	54.75	318.2	254.3	257.6	95.00	566.5	475.5	460.5
14.75	75.5	59.3	58.9	55.00	319.7	255.5	258.9	95.25	566.5	477.0	460.5
15.00	76.9	60.5	60.1	55.25	321.1	256.8	260.1	95.50	566.6	478.5	460.6
15.25	78.3	61.6	61.2	55.50	322.5	258.0	261.2	95.75	566.6	480.0	460.6
15.50	79.7	62.8	62.4	55.75	323.9	259.1	262.4	96.00	566.6	481.4	460.6
15.75	81.2	64.0	63.6	56.00	325.4	260.3	263.6	96.25	566.6	482.8	460.6
16.00	82.9	65.2	64.8	56.25	326.9	261.5	264.8	96.50	566.7	484.3	460.7
16.25	84.6	66.4	66.0	56.50	328.4	262.6	265.9	96.75	566.7	485.9	460.7
16.50	86.2	67.6	67.3	56.75	329.9	263.8	267.1	97.00	566.7	487.5	460.7
16.75	87.9	68.8	68.5	57.00	331.4	265.0	268.4	97.25	566.7	489.2	460.7
17.00	89.4	70.0	69.8	57.25	332.9	266.1	269.6	97.50	566.8	490.8	460.8
17.25	91.0	71.2	71.0	57.50	334.4	267.3	270.8	97.75	566.8	492.4	460.8
17.50	92.5	72.5	72.2	57.75	335.9	268.5	272.0	98.00	566.8	493.9	460.8
17.75	94.1	73.8	73.4	58.00	337.4	269.6	273.2	98.25	566.8	495.5	460.8
18.00	95.6	75.1	74.6	58.25	338.9	270.8	274.4	98.50	566.8	497.0	460.9
18.25	97.1	76.4	75.8	58.50	340.5	272.0	275.5	98.75	566.9	498.6	460.9
18.50	98.7	77.7	77.0	58.75	342.0	273.3	276.6	99.00	566.9	500.2	460.9
18.75	100.2	78.9	78.2	59.00	343.6	274.5	277.7	99.25	566.9	501.8	460.9
19.00	101.7	80.2	79.5	59.25	345.1	275.7	278.8	99.50	566.9	503.3	461.0
19.25	103.2	81.4	80.8	59.50	346.6	277.0	279.9	99.75	567.0	504.9	461.0
19.50	104.8	82.7	82.1	59.75	348.1	278.2	281.0	100.00	567.0	506.5	461.0
19.75	106.3	83.9	83.4	60.00	349.6	279.4	282.3	100.25	567.0	508.1	461.0
20.00	107.8	85.2	84.7	60.25	351.0	280.7	283.6	100.50	567.0	509.7	461.0
20.25	109.4	86.3	86.0	60.50	352.5	281.9	284.9	100.75	567.1	511.3	461.1
20.50	110.8	87.5	87.3	60.75	354.1	283.1	286.2	101.00	567.1	513.0	461.1
20.75	112.3	88.6	88.5	61.00	355.8	284.3	287.6	101.25	567.1	514.6	461.1
21.00	113.8	89.7	89.7	61.25	357.5	285.6	288.8	101.50	567.1	516.2	461.1
21.25	115.2	90.8	91.0	61.50	359.2	286.9	289.9	101.75	567.2	517.8	461.2
21.50	116.7	92.0	92.2	61.75	360.9	288.3	290.9	102.00	567.2	519.4	461.2
21.75	118.1	93.1	93.4	62.00	362.4	289.6	292.0	102.25	567.2	521.1	461.2
22.00	119.6	94.3	94.6	62.25	363.9	291.0	293.1	102.50	567.2	522.8	461.2
22.25	121.0	95.4	95.7	62.50	365.5	292.3	294.2	102.75	567.3	524.5	461.3
22.50	122.4	96.6	96.8	62.75	367.0	293.7	295.3	103.00	567.3	526.1	461.3
22.75	123.9	97.7	98.0	63.00	368.5	295.0	296.7	103.25	567.3	527.8	461.3
23.00	125.4	98.9	99.1	63.25	370.2	296.4	298.0	103.50	567.3	529.3	461.3
23.25	127.0	100.0	100.2	63.50	371.9	297.7	299.4	103.75	567.4	530.8	461.4
23.50	128.6	101.2	101.5	63.75	373.6	299.1	300.7	104.00	567.4	532.3	461.4
23.75	130.3	102.3	102.8	64.00	375.3	300.4	302.1	104.25	567.4	533.8	461.4
24.00	131.9	103.5	104.1	64.25	376.8	301.8	303.5	104.50	567.4	535.2	461.4
24.25	133.4	104.6	105.5	64.50	378.4	303.1	304.9	104.75	567.5	536.6	461.5
24.50	134.8	105.8	106.8	64.75	380.0	304.5	306.3	105.00	567.5	537.9	461.5
24.75	136.3	107.0	108.1	65.00	381.5	305.8	307.7	105.25	567.5	539.3	461.5
25.00	137.8	108.3	109.5	65.25	383.1	307.2	309.1	105.50	567.5	540.6	461.5
25.25	139.2	109.6	110.9	65.50	384.9	308.6	310.4	105.75	567.6	541.3	461.6
25.50	140.8	111.0	112.3	65.75	386.6	310.0	311.8	106.00	567.6	541.3	461.6
25.75	142.4	112.3	113.6	66.00	388.4	311.4	313.1	106.25	567.6	541.4	461.6
26.00	144.0	113.6	115.0	66.25	390.1	312.8	314.4	106.50	567.6	541.4	461.6
26.25	145.6	114.9	116.4	66.50	391.8	314.2	315.7	106.75	567.7	541.4	461.7
26.50	147.2	116.2	117.7	66.75	393.4	315.6	317.1	107.00	567.7	541.4	461.7
26.75	148.7	117.5	119.0	67.00	395.0	316.9	318.4	107.25	567.7	541.5	461.7
27.00	150.2	118.8	120.3	67.25	396.7	318.3	319.8	107.50	567.7	541.5	461.7
27.25	151.8	120.0	121.7	67.50	398.3	319.7	321.1	107.75	567.8	541.5	461.8
27.50	153.3	121.3	123.0	67.75	400.0	321.0	322.4	108.00	567.8	541.5	461.8
27.75	154.8	122.5	124.3	68.00	401.6	322.4	323.8	108.25	567.8	541.6	461.8
28.00	156.4	123.8	125.6	68.25	403.3	323.8	325.0	108.50	567.8	541.6	461.8
28.25	158.0	125.0	126.9	68.50	405.0	325.2	326.3	108.75	567.9	541.6	461.9
28.50	159.6	126.3	128.2	68.75	406.5	326.6	327.5	109.00	567.9	541.6	461.9
28.75	161.2	127.5	129.5	69.00	408.1	328.1	328.8	109.25	567.9	541.7	461.9
29.00	162.8	128.7	130.7	69.25	409.7	329.4	330.0	109.50	567.9	541.7	461.9
29.25	164.3	130.0	131.9	69.50	411.2	330.6	331.3	109.75	568.0	541.7	462.0
29.50	165.8	131.2	133.1	69.75	412.8	331.9	332.5	110.00	568.0	541.7	462.0



Efecto de Iones Metálicos sobre la Metanogénesis en la Digestión Anaerobia de Residuos Sólidos Orgánicos Urbanos

Anexos



Tiempo [h]	Formiato A [mL CH ₄]	Formiato B [mL CH ₄]	Formiato C [mL CH ₄]	Tiempo [h]	Formiato A [mL CH ₄]	Formiato B [mL CH ₄]	Formiato C [mL CH ₄]	Tiempo [h]	Formiato A [mL CH ₄]	Formiato B [mL CH ₄]	Formiato C [mL CH ₄]
29.75	167.3	132.5	134.2	70.00	414.3	333.1	333.7	110.25	568.0	541.8	462.0
30.00	168.9	133.7	135.4	70.25	415.8	334.4	335.0	110.50	568.0	541.8	462.0
30.25	170.5	135.0	136.6	70.50	417.4	335.7	336.2	110.75	568.1	541.8	462.1
30.50	172.0	136.2	137.9	70.75	418.9	336.9	337.4	111.00	568.1	541.8	462.1
30.75	173.6	137.5	139.2	71.00	420.5	338.0	338.7	111.25	568.1	541.8	462.1
31.00	175.2	138.7	140.5	71.25	422.1	339.2	339.9	111.50	568.1	541.9	462.1
31.25	176.8	139.9	141.8	71.50	423.8	340.4	341.0	111.75	568.2	541.9	462.2
31.50	178.4	141.2	143.1	71.75	425.4	341.6	342.2	112.00	568.2	541.9	462.2
31.75	179.9	142.4	144.4	72.00	427.1	342.8	343.4	112.25	568.2	541.9	462.2
32.00	181.5	143.7	145.7	72.25	428.7	344.2	344.6	112.50	568.2	542.0	462.2
32.25	183.1	145.0	147.0	72.50	430.4	345.5	345.7	112.75	568.3	542.0	462.3
32.50	184.7	146.3	148.2	72.75	432.0	346.8	346.9	113.00	568.3	542.0	462.3
32.75	186.2	147.5	149.5	73.00	433.6	348.1	348.0	113.25	568.3	542.0	462.3
33.00	187.7	148.8	150.8	73.25	435.3	349.4	349.1	113.50	568.3	542.1	462.3
33.25	189.3	150.0	152.0	73.50	437.0	350.7	350.3	113.75	568.4	542.1	462.4
33.50	190.8	151.2	153.1	73.75	438.7	352.1	351.4	114.00	568.4	542.1	462.4
33.75	192.3	152.3	154.3	74.00	440.4	353.4	352.6	114.25	568.4	542.1	462.4
34.00	193.8	153.5	155.4	74.25	442.1	354.7	353.7	114.50	568.4	542.2	462.4
34.25	195.2	154.7	156.6	74.50	443.8	356.1	355.0	114.75	568.5	542.2	462.5
34.50	196.7	155.8	157.8	74.75	445.5	357.4	356.2	115.00	568.5	542.2	462.5
34.75	198.2	157.0	159.0	75.00	447.2	358.7	357.4	115.25	568.5	542.2	462.5
35.00	199.7	158.2	160.3	75.25	448.9	360.0	358.7	115.50	568.5	542.3	462.5
35.25	201.1	159.5	161.5	75.50	450.6	361.3	359.9	115.75	568.6	542.3	462.6
35.50	202.6	160.8	162.8	75.75	452.4	362.6	361.2	116.00	568.6	542.3	462.6
35.75	204.0	162.0	164.1	76.00	454.1	363.9	362.4	116.25	568.6	542.3	462.6
36.00	205.5	163.3	165.4	76.25	455.9	365.3	363.7	116.50	568.6	542.4	462.6
36.25	207.0	164.5	166.6	76.50	457.6	366.6	364.9	116.75	568.7	542.4	462.7
36.50	208.5	165.6	167.9	76.75	459.3	368.0	366.2	117.00	568.7	542.4	462.7
36.75	210.0	166.7	169.1	77.00	461.0	369.3	367.5	117.25	568.7	542.4	462.7
37.00	211.5	167.9	170.4	77.25	462.8	370.7	368.8	117.50	568.7	542.5	462.7
37.25	213.1	169.0	171.7	77.50	464.5	372.0	370.1	117.75	568.8	542.5	462.8
37.50	214.5	170.2	172.9	77.75	466.2	373.3	371.4	118.00	568.8	542.5	462.8
37.75	216.0	171.3	174.1	78.00	467.9	374.7	372.7	118.25	568.8	542.5	462.8
38.00	217.4	172.6	175.3	78.25	469.6	376.0	374.0	118.50	568.8	542.6	462.8
38.25	218.9	173.9	176.4	78.50	471.3	377.3	375.3	118.75	568.9	542.6	462.9
38.50	220.4	175.2	177.6	78.75	473.1	378.7	376.6	119.00	568.9	542.6	462.9
38.75	222.0	176.5	178.8	79.00	474.9	380.0	377.9	119.25	568.9	542.6	462.9
39.00	223.6	177.8	179.9	79.25	476.7	381.4	379.2	119.50	568.9	542.7	462.9
39.25	225.3	179.0	181.1	79.50	478.5	382.8	380.4	119.75	569.0	542.7	463.0
39.50	227.0	180.2	182.3	79.75	480.3	384.1	381.7	120.00	569.0	542.7	463.0
39.75	228.6	181.4	183.5	80.00	482.1	385.5	383.0				
40.00	230.0	182.5	184.7	80.25	483.9	386.9	384.3				

- Resultados obtenidos de la AME con acetato.

Tiempo [h]	Acetato A [mL CH ₄]	Acetato B [mL CH ₄]	Tiempo [h]	Acetato A [mL CH ₄]	Acetato B [mL CH ₄]
1	4.9	1.1	25	60.45	58.4
2	10.8	4.2	26	60.50	58.4
3	16.9	9.2	27	60.55	58.5
4	24.3	14.9	28	60.60	58.5
5	31.5	21.7	29	60.65	58.6
6	39.0	28.9	30	60.70	58.6
7	46.4	36.5	31	60.75	58.7
8	53.4	44.2	32	60.80	58.7
9	58.0	50.9	33	60.85	58.8
10	59.1	55.1	34	60.90	58.8



Efecto de Iones Metálicos sobre la Metanogénesis en la Digestión Anaerobia de Residuos Sólidos Orgánicos Urbanos

Anexos



Tiempo [h]	Acetato A [mL CH ₄]	Acetato B [mL CH ₄]	Tiempo [h]	Acetato A [mL CH ₄]	Acetato B [mL CH ₄]
11	60.1	57.5	35	60.95	58.9
12	60.6	57.8	36	61.00	58.9
13	60.6	58.4	37	61.05	59.0
14	60.8	59.0	38	61.10	59.0
15	61.0	59.0	39	61.15	59.1
16	61.0	59.1	40	61.20	59.1
17	60.9	59.1	41	61.25	59.1
18	60.7	58.8	42	61.30	59.2
19	60.4	58.5	43	61.35	59.2
20	60.2	58.1	44	61.40	59.3
21	60.25	58.2	45	61.45	59.3
22	60.30	58.2	46	61.50	59.4
23	60.35	58.3	47	61.55	59.4
24	60.40	58.3	48	61.60	59.5

- Resultados obtenido de la AME con mezcla de ácidos grasos volátiles, acetato, propionato y butirato)

Tiempo [h]	Mezcla AGVs A [mL CH ₄]	Mezcla AGVs B [mL CH ₄]	Mezcla AGVs C [mL CH ₄]	Tiempo [h]	Mezcla AGVs A [mL CH ₄]	Mezcla AGVs B [mL CH ₄]	Mezcla AGVs C [mL CH ₄]	Tiempo [h]	Mezcla AGVs A [mL CH ₄]	Mezcla AGVs B [mL CH ₄]	Mezcla AGVs C [mL CH ₄]
0.00	0.00	0.00	0.00	15.25	7.80	15.00	7.80	30.50	8.50	15.70	8.50
0.25	3.70	8.60	7.10	15.50	7.80	15.00	7.80	30.75	8.50	15.70	8.50
0.50	7.20	9.90	7.10	15.75	7.90	15.00	7.80	31.00	8.50	15.70	8.50
0.75	7.20	11.30	7.10	16.00	7.90	15.00	7.80	31.25	8.60	15.70	8.50
1.00	7.20	12.70	7.10	16.25	7.90	15.00	7.80	31.50	8.60	15.70	8.50
1.25	7.20	14.00	7.20	16.50	7.90	15.10	7.80	31.75	8.60	15.70	8.50
1.50	7.20	14.40	7.20	16.75	7.90	15.10	7.80	32.00	8.60	15.80	8.50
1.75	7.20	14.40	7.20	17.00	7.90	15.10	7.90	32.25	8.60	15.80	8.50
2.00	7.20	14.40	7.20	17.25	7.90	15.10	7.90	32.50	8.60	15.80	8.50
2.25	7.20	14.40	7.20	17.50	7.90	15.10	7.90	32.75	8.60	15.80	8.60
2.50	7.30	14.40	7.20	17.75	7.90	15.10	7.90	33.00	8.60	15.80	8.60
2.75	7.30	14.40	7.20	18.00	8.00	15.10	7.90	33.25	8.60	15.80	8.60
3.00	7.30	14.50	7.20	18.25	8.00	15.10	7.90	33.50	8.70	15.80	8.60
3.25	7.30	14.50	7.20	18.50	8.00	15.20	7.90	33.75	8.70	15.80	8.60

Tiempo [h]	Mezcla AGVs A [mL CH ₄]	Mezcla AGVs B [mL CH ₄]	Mezcla AGVs C [mL CH ₄]	Tiempo [h]	Mezcla AGVs A [mL CH ₄]	Mezcla AGVs B [mL CH ₄]	Mezcla AGVs C [mL CH ₄]	Tiempo [h]	Mezcla AGVs A [mL CH ₄]	Mezcla AGVs B [mL CH ₄]	Mezcla AGVs C [mL CH ₄]
3.50	7.30	14.50	7.30	18.75	8.00	15.20	7.90	34.00	8.70	15.90	8.60
3.75	7.30	14.50	7.30	19.00	8.00	15.20	7.90	34.25	8.70	15.90	8.60
4.00	7.30	14.50	7.30	19.25	8.00	15.20	8.00	34.50	8.70	15.90	8.60
4.25	7.30	14.50	7.30	19.50	8.00	15.20	8.00	34.75	8.70	15.90	8.60
4.50	7.40	14.50	7.30	19.75	8.00	15.20	8.00	35.00	8.70	15.90	8.70
4.75	7.40	14.50	7.30	20.00	8.00	15.20	8.00	35.25	8.70	15.90	8.70
5.00	7.40	14.50	7.30	20.25	8.10	15.20	8.00	35.50	8.70	15.90	8.70
5.25	7.40	14.60	7.30	20.50	8.10	15.20	8.00	35.75	8.80	15.90	8.70
5.50	7.40	14.60	7.30	20.75	8.10	15.30	8.00	36.00	8.80	15.90	8.70
5.75	7.40	14.60	7.40	21.00	8.10	15.30	8.00	36.25	8.80	16.00	8.70
6.00	7.40	14.60	7.40	21.25	8.10	15.30	8.00	36.50	8.80	16.00	8.70
6.25	7.40	14.60	7.40	21.50	8.10	15.30	8.10	36.75	8.80	16.00	8.70
6.50	7.40	14.60	7.40	21.75	8.10	15.30	8.10	37.00	8.80	16.00	8.70
6.75	7.50	14.60	7.40	22.00	8.10	15.30	8.10	37.25	8.80	16.00	8.80



Efecto de Iones Metálicos sobre la Metanogénesis en la Digestión Anaerobia de Residuos Sólidos Orgánicos Urbanos

Anexos



Tiempo [h]	Mezcla AGVs A [mL CH ₄]	Mezcla AGVs B [mL CH ₄]	Mezcla AGVs C [mL CH ₄]	Tiempo [h]	Mezcla AGVs A [mL CH ₄]	Mezcla AGVs B [mL CH ₄]	Mezcla AGVs C [mL CH ₄]	Tiempo [h]	Mezcla AGVs A [mL CH ₄]	Mezcla AGVs B [mL CH ₄]	Mezcla AGVs C [mL CH ₄]
7.00	7.50	14.60	7.40	22.25	8.10	15.30	8.10	37.50	8.80	16.00	8.80
7.25	7.50	14.60	7.40	22.50	8.20	15.30	8.10	37.75	8.80	16.00	8.80
7.50	7.50	14.70	7.40	22.75	8.20	15.30	8.10	38.00	8.90	16.00	8.80
7.75	7.50	14.70	7.40	23.00	8.20	15.40	8.10	38.25	8.90	16.00	8.80
8.00	7.50	14.70	7.50	23.25	8.20	15.40	8.10	38.50	8.90	16.10	8.80
8.25	7.50	14.70	7.50	23.50	8.20	15.40	8.10	38.75	8.90	16.10	8.80
8.50	7.50	14.70	7.50	23.75	8.20	15.40	8.20	39.00	8.90	16.10	8.80
8.75	7.50	14.70	7.50	24.00	8.20	15.40	8.20	39.25	8.90	16.10	8.80
9.00	7.60	14.70	7.50	24.25	8.20	15.40	8.20	39.50	8.90	16.10	8.90
9.25	7.60	14.70	7.50	24.50	8.20	15.40	8.20	39.75	8.90	16.10	8.90
9.50	7.60	14.70	7.50	24.75	8.30	15.40	8.20	40.00	8.90	16.10	8.90
9.75	7.60	14.80	7.50	25.00	8.30	15.40	8.20	40.25	9.00	16.10	8.90
10.00	7.60	14.80	7.50	25.25	8.30	15.50	8.20	40.50	9.00	16.10	8.90
10.25	7.60	14.80	7.60	25.50	8.30	15.50	8.20	40.75	9.00	16.20	8.90
10.50	7.60	14.80	7.60	25.75	8.30	15.50	8.20	41.00	9.00	16.20	8.90
10.75	7.60	14.80	7.60	26.00	8.30	15.50	8.30	41.25	9.00	16.20	8.90
11.00	7.60	14.80	7.60	26.25	8.30	15.50	8.30	41.50	9.00	16.20	8.90
11.25	7.70	14.80	7.60	26.50	8.30	15.50	8.30	41.75	9.00	16.20	9.00
11.50	7.70	14.80	7.60	26.75	8.30	15.50	8.30	42.00	9.00	16.20	9.00
11.75	7.70	14.80	7.60	27.00	8.40	15.50	8.30	42.25	9.00	16.20	9.00
12.00	7.70	14.90	7.60	27.25	8.40	15.50	8.30	40.00	8.90	16.10	8.90
12.25	7.70	14.90	7.60	27.50	8.40	15.60	8.30	40.25	9.00	16.10	8.90
12.50	7.70	14.90	7.70	27.75	8.40	15.60	8.30	40.50	9.00	16.10	8.90
12.75	7.70	14.90	7.70	28.00	8.40	15.60	8.30	40.75	9.00	16.20	8.90
13.00	7.70	14.90	7.70	28.25	8.40	15.60	8.40	41.00	9.00	16.20	8.90
13.25	7.70	14.90	7.70	28.50	8.40	15.60	8.40	41.25	9.00	16.20	8.90
13.50	7.80	14.90	7.70	28.75	8.40	15.60	8.40	41.50	9.00	16.20	8.90
13.75	7.80	14.90	7.70	29.00	8.50	15.60	8.40	41.75	9.00	16.20	9.00
14.00	7.80	14.90	7.70	29.25	8.50	15.60	8.40	42.00	9.00	16.20	9.00
14.25	7.80	15.00	7.70	29.50	8.50	15.60	8.40	42.25	9.00	16.20	9.00
14.50	7.80	15.00	7.70	29.75	8.50	15.70	8.40	40.00	8.90	16.10	8.90
14.75	7.80	15.00	7.80	30.00	8.50	15.70	8.40				
15.00	7.80	15.00	7.80	30.25	8.50	15.70	8.40				

- Valores obtenidos para el cálculo de los índices de alcalinidad

	pH	Volumen 1 [mL]	Volumen 2 [mL]	ALFA	IB
Mezcla de AGVs A	6.020	4.400	16.300	0.21256	0.78744
Mezcla de AGVs B	5.000	4.300	16.500	0.20673	0.79327
Mezcla de AGVs C	5.960	3.500	16.200	0.17766	0.82234
Formiato A	9.170	86.100	12.000	0.87768	0.12232
Formiato B	9.640	87.400	12.600	0.87400	0.12600
Formiato C	9.190	86.500	12.400	0.87462	0.12538
Acetato A	7.200	26.700	7.900	0.77168	0.22832
Acetato B	6.980	27.300	8.400	0.76471	0.23529



ANEXO V

Resultados de la Pruebas de Actividad Metanogénica. Influencia de la adición de una solución nutritiva y la adición de una solución de iones metálicos. Etapa 4.

- Resultados obtenidos del volumen acumulado de metano para el diseño factorial 2².

Tiempo [h]	Formiato			Formiato + Sol. Nutritiva			Formiato + Sol. Nutritiva + Sol. Iones Metálicos			Formiato + Sol. Iones Metálicos		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
0.00	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
1.00	10.7	9.8	8.7	9.9	9.6	4.5	11.4	8.0	10.2	3.4	10.0	2.1
2.00	14.2	12.5	10.9	12.4	12.2	8.8	15.4	9.5	13.1	6.8	12.8	4.2
3.00	17.3	15.1	13.1	15.0	14.9	12.8	19.0	11.0	15.7	10.2	15.5	6.3
4.00	20.4	17.6	15.7	17.8	18.4	17.3	22.8	12.5	18.0	13.7	17.9	9.2
5.00	24.1	20.1	18.9	20.6	22.0	22.3	27.6	13.9	20.4	18.2	20.4	12.7
6.00	28.4	23.3	22.2	23.9	26.3	28.1	33.0	16.3	23.3	23.0	23.4	17.2
7.00	33.1	27.0	26.1	27.8	30.7	34.1	38.9	19.1	27.2	28.1	27.4	23.0
8.00	38.1	30.9	30.2	32.0	35.2	40.4	45.0	22.0	31.4	33.8	31.8	29.8
9.00	43.5	34.8	34.5	36.4	40.3	46.8	51.8	25.5	35.9	39.7	36.4	37.2
10.00	48.8	39.0	38.7	40.8	45.3	53.3	58.5	29.1	40.8	45.8	41.3	45.3
11.00	54.1	43.2	42.8	45.2	50.2	59.9	65.6	32.8	45.7	51.7	46.3	52.9
12.00	59.5	47.3	46.8	49.7	54.8	66.5	72.0	36.5	50.6	57.3	51.5	60.6
13.00	65.0	51.5	51.0	54.3	59.7	73.0	78.8	40.5	55.6	63.2	56.7	68.5
14.00	71.1	55.9	55.4	59.0	64.8	79.7	85.9	44.6	60.9	69.5	62.0	76.3
15.00	76.9	60.5	60.1	63.8	69.8	86.4	93.1	48.9	66.3	75.8	67.4	87.1
16.00	82.9	65.2	64.8	68.9	75.4	93.6	100.5	53.4	72.0	82.2	73.2	97.9
17.00	89.4	70.0	69.8	74.5	81.0	100.5	108.0	57.9	77.8	88.9	79.4	106.3
18.00	95.6	75.1	74.6	80.1	86.7	108.2	115.6	62.4	83.6	95.6	85.3	113.9
19.00	101.7	80.2	79.5	85.5	92.3	115.3	123.0	66.9	89.3	102.4	91.2	121.1
20.00	107.8	85.2	84.7	90.7	97.6	122.0	130.6	71.4	95.1	109.1	97.0	128.0
21.00	113.8	89.7	89.7	95.7	102.9	129.0	137.9	75.7	100.8	115.8	102.7	134.9
22.00	119.6	94.3	94.6	100.7	108.2	135.7	144.9	80.0	106.1	121.9	108.4	141.5
23.00	125.4	98.9	99.1	105.9	113.4	142.3	151.9	84.1	111.4	128.1	114.0	148.0
24.00	131.9	103.5	104.1	111.1	118.8	149.0	159.4	88.3	117.2	134.7	119.6	154.9
25.00	137.8	108.3	109.5	116.7	124.2	155.9	167.0	93.0	122.8	141.6	125.3	161.8
26.00	144.0	113.6	115.0	122.1	129.7	162.9	174.5	97.7	128.7	148.5	131.3	168.7
27.00	150.2	118.8	120.3	127.5	135.3	170.0	182.0	102.4	134.7	155.2	137.3	175.9
28.00	156.4	123.8	125.6	133.1	140.8	177.0	189.5	107.0	140.6	161.9	143.3	182.7
29.00	162.8	128.7	130.7	138.5	146.4	184.0	196.9	111.7	146.4	168.5	149.3	189.5
30.00	168.9	133.7	135.4	143.8	152.1	190.9	204.1	116.4	152.2	175.0	155.2	196.2
31.00	175.2	138.7	140.5	149.1	157.8	197.8	211.5	120.9	157.9	181.6	161.1	202.6
32.00	181.5	143.7	145.7	154.4	163.3	204.4	218.7	125.3	163.6	188.2	167.0	209.2
33.00	187.7	148.8	150.8	159.8	169.0	211.1	226.1	129.7	169.3	194.8	172.8	215.6
34.00	193.8	153.5	155.4	165.1	174.6	217.6	233.3	134.0	175.1	201.2	178.6	221.9
35.00	199.7	158.2	160.3	170.1	180.0	224.1	240.3	138.2	180.6	207.4	184.4	228.3
36.00	205.5	163.3	165.4	175.4	185.6	230.5	247.3	142.6	186.1	213.5	190.0	234.6
37.00	211.5	167.9	170.4	180.7	191.0	237.0	254.2	147.0	191.5	219.6	195.7	240.7
38.00	217.4	172.6	175.3	185.9	196.4	243.8	261.0	151.2	196.9	225.7	201.5	246.9
39.00	223.6	177.8	179.9	191.1	201.8	250.4	267.9	155.5	202.4	231.5	207.3	253.4
40.00	230.0	182.5	184.7	196.2	207.1	257.2	274.6	159.7	208.2	237.4	213.1	259.8
41.00	235.9	187.4	189.8	201.4	212.5	264.2	281.6	164.3	214.1	243.6	218.9	266.3
42.00	241.8	192.6	195.2	206.7	218.1	270.8	288.9	168.9	219.8	250.2	224.8	273.0



Efecto de Iones Metálicos sobre la Metanogénesis en la Digestión Anaerobia de Residuos Sólidos Orgánicos Urbanos

Anexos



Tiempo	Formiato		Formiato + Sol. Nutritiva				Formiato + Sol. Nutritiva + Sol. Iones Metálicos			Formiato + Sol. Iones Metálicos		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
43.00	248.3	197.8	200.3	212.2	223.8	277.6	296.1	173.6	225.5	256.6	230.6	279.3
44.00	254.4	202.8	205.3	217.8	229.4	284.5	302.6	178.1	231.1	262.5	236.4	285.7
45.00	260.3	207.6	210.2	223.0	234.8	291.0	309.7	182.6	236.7	268.8	242.2	292.3
46.00	266.4	212.3	214.8	228.5	239.9	297.5	316.3	186.5	242.1	274.7	248.0	298.7
47.00	272.6	216.9	219.4	233.9	244.9	304.0	322.7	190.5	247.1	280.4	253.4	304.9
48.00	277.9	221.4	224.0	239.2	250.1	309.9	329.4	194.8	252.1	286.2	258.5	311.0
49.00	283.8	226.2	229.3	244.5	255.5	316.4	336.1	199.1	257.2	292.8	264.0	317.8
50.00	289.8	231.1	234.2	249.8	260.9	323.0	342.9	203.4	262.5	299.5	269.4	324.5
51.00	295.5	236.0	239.0	255.2	266.3	329.5	349.9	207.8	268.1	306.0	274.9	331.3
52.00	301.5	240.9	244.0	260.8	271.8	336.1	356.9	212.2	273.8	312.5	280.5	337.9
53.00	307.2	245.7	248.9	266.4	276.9	342.8	363.8	216.4	279.4	319.0	286.1	344.4
54.00	313.6	250.6	253.9	271.7	282.4	349.5	370.5	220.7	284.6	325.5	291.7	350.6
55.00	319.7	255.5	258.9	277.0	288.1	356.1	377.3	225.1	290.0	332.0	297.2	357.5
56.00	325.4	260.3	263.6	282.3	293.5	362.8	384.1	229.4	295.2	338.4	302.7	364.2
57.00	331.4	265.0	268.4	287.8	298.7	369.3	390.9	233.6	300.5	344.8	308.0	370.5
58.00	337.4	269.6	273.2	293.3	304.0	375.6	397.9	237.7	306.0	351.2	313.5	377.0
59.00	343.6	274.5	277.7	298.7	309.4	382.6	405.0	241.9	311.3	357.7	318.9	383.7
60.00	349.6	279.4	282.3	303.9	314.8	389.2	412.0	246.0	316.7	363.6	324.3	390.2
61.00	355.8	284.3	287.6	309.6	320.3	396.2	419.1	250.2	322.1	370.1	330.1	397.3
62.00	362.4	289.6	292.0	315.3	326.1	403.2	426.0	254.5	327.6	376.1	335.8	403.8
63.00	368.5	295.0	296.7	320.6	332.0	410.5	433.1	259.0	333.1	382.5	341.5	410.6
64.00	375.3	300.4	302.1	326.3	338.0	417.9	440.6	263.5	338.9	389.6	347.1	418.4
65.00	381.5	305.8	307.7	332.4	344.1	425.3	448.4	268.4	345.0	396.8	352.8	426.2
66.00	388.4	311.4	313.1	338.4	350.0	433.0	456.2	273.3	351.3	404.1	358.8	434.0
67.00	395.0	316.9	318.4	344.2	355.9	441.0	464.2	278.0	357.4	411.5	364.9	441.5
68.00	401.6	322.4	323.8	350.2	361.8	448.6	471.9	282.6	363.2	418.7	370.8	448.9
69.00	408.1	328.1	328.8	355.8	367.7	456.0	479.3	287.0	368.8	425.1	376.8	455.5
70.00	414.3	333.1	333.7	361.1	373.4	463.4	486.8	291.2	374.3	430.3	382.5	461.0
71.00	420.5	338.0	338.7	366.5	378.9	470.3	494.0	295.3	379.7	436.8	388.1	467.6
72.00	427.1	342.8	343.4	371.9	384.5	477.0	501.4	299.3	385.0	443.5	393.7	474.0
73.00	433.6	348.1	348.0	377.5	390.4	483.9	508.6	303.4	390.2	449.8	399.6	480.2
74.00	440.4	353.4	352.6	383.3	396.3	491.1	515.6	307.4	395.5	456.1	405.6	486.8
75.00	447.2	358.7	357.4	389.1	402.1	498.1	522.8	311.6	400.9	462.8	411.4	493.4
76.00	454.1	363.9	362.4	394.8	407.9	505.5	530.2	315.9	406.4	469.5	417.3	500.0
77.00	461.0	369.3	367.5	400.7	414.4	512.5	537.4	320.4	412.2	476.0	423.4	507.0
78.00	467.9	374.7	372.7	406.4	420.8	519.4	544.7	324.8	418.1	482.7	429.6	513.9
79.00	474.9	380.0	377.9	412.1	427.1	524.7	549.9	329.2	423.8	489.6	435.5	520.5
80.00	482.1	385.5	383.0	418.1	433.2	527.3	553.5	333.4	429.5	496.2	441.5	526.4
81.00	489.4	391.2	388.2	423.8	439.5	527.4	553.6	337.7	435.3	503.0	447.5	531.5
82.00	496.8	396.7	393.3	430.0	446.0	527.5	553.7	341.9	441.2	509.7	453.5	533.0
83.00	503.8	402.3	398.3	436.1	452.5	527.6	553.8	346.2	447.2	516.1	459.8	533.1
84.00	510.9	407.9	403.3	442.0	458.7	527.7	553.9	350.5	453.1	522.3	466.4	533.2
85.00	518.3	413.4	408.5	448.1	464.7	527.8	554.0	354.8	458.9	527.8	472.5	533.3
86.00	525.6	419.0	413.6	454.1	471.4	527.9	554.1	359.2	465.3	532.3	478.7	533.4
87.00	532.8	425.0	418.6	460.5	478.1	528.0	554.2	363.6	471.7	532.4	485.0	533.5
88.00	540.4	431.3	423.8	467.0	485.0	528.1	554.3	368.1	478.4	532.5	491.6	533.6
89.00	548.2	437.6	429.8	473.8	492.2	528.2	554.4	372.7	485.7	532.6	498.3	533.7
90.00	555.3	444.1	435.5	480.6	499.1	528.3	554.5	377.6	493.4	532.7	505.0	533.8
91.00	561.5	450.5	441.1	487.5	505.7	528.4	554.6	382.4	501.3	532.8	511.8	533.9
92.00	566.2	457.0	446.7	494.3	511.9	528.5	554.7	387.2	507.8	532.9	518.4	534.0
93.00	566.3	464.2	451.5	500.8	517.7	528.6	554.8	391.6	514.1	533.0	525.0	534.1
94.00	566.4	469.6	456.4	507.2	521.5	528.7	554.9	396.0	520.7	533.1	531.1	534.2



Efecto de Iones Metálicos sobre la Metanogénesis en la Digestión Anaerobia de Residuos Sólidos Orgánicos Urbanos

Anexos



Tiempo	Formiato				Formiato + Sol. Nutritiva				Formiato + Sol. Nutritiva + Sol. Iones Metálicos			
	566.5	475.5	460.5	513.9	521.6	528.8	555.0	400.4	527.2	533.2	537.3	534.3
95.00	566.5	475.5	460.5	513.9	521.6	528.8	555.0	400.4	527.2	533.2	537.3	534.3
96.00	566.6	481.4	460.6	520.4	521.7	528.9	555.1	404.6	533.3	533.3	543.3	534.4
97.00	566.7	487.5	460.7	526.9	521.8	529.0	555.2	408.8	539.8	533.4	549.4	534.5
98.00	566.8	493.9	460.8	533.3	521.9	529.1	555.3	413.2	545.8	533.5	555.2	534.6
99.00	566.9	500.2	460.9	540.1	522.0	529.2	555.4	417.8	551.6	533.6	560.1	534.7
100.00	567.0	506.5	461.0	546.7	522.1	529.3	555.5	422.6	553.8	533.7	560.2	534.8
101.00	567.1	513.0	461.1	552.9	522.2	529.4	555.6	427.6	553.9	533.8	560.3	534.9
102.00	567.2	519.4	461.2	558.0	522.3	529.5	555.7	432.3	554.0	533.9	560.4	535.0
103.00	567.3	526.1	461.3	558.1	522.4	529.6	555.8	436.8	554.1	534.0	560.5	535.1
104.00	567.4	532.3	461.4	558.2	522.5	529.7	555.9	441.6	554.2	534.1	560.6	535.2
105.00	567.5	537.9	461.5	558.3	522.6	529.8	556.0	446.3	554.3	534.2	560.7	535.3
106.00	567.6	541.3	461.6	558.4	522.7	529.9	556.1	451.0	554.4	534.3	560.8	535.4
107.00	567.7	541.4	461.7	558.5	522.8	530.0	556.2	455.8	554.5	534.4	560.9	535.5
108.00	567.8	541.5	461.8	558.6	522.9	530.1	556.3	460.7	554.6	534.5	561.0	535.6
109.00	567.9	541.6	461.9	558.7	523.0	530.2	556.4	465.5	554.7	534.6	561.1	535.7
110.00	568.0	541.7	462.0	558.8	523.1	530.3	556.5	470.5	554.8	534.7	561.2	535.8
111.00	568.1	541.8	462.1	558.9	523.2	530.4	556.6	475.6	554.9	534.8	561.3	535.9
112.00	568.2	541.9	462.2	559.0	523.3	530.5	556.7	481.0	555.0	534.9	561.4	536.0
113.00	568.3	542.0	462.3	559.1	523.4	530.6	556.8	486.5	555.1	535.0	561.5	536.1
114.00	568.4	542.1	462.4	559.2	523.5	530.7	556.9	492.0	555.2	535.1	561.6	536.2
115.00	568.5	542.2	462.5	559.3	523.6	530.8	557.0	497.4	555.3	535.2	561.7	536.3
116.00	568.6	542.3	462.6	559.4	523.7	530.9	557.1	502.7	555.4	535.3	561.8	536.4
117.00	568.7	542.4	462.7	559.5	523.8	531.0	557.2	507.8	555.5	535.4	561.9	536.5
118.00	568.8	542.5	462.8	559.6	523.9	531.1	557.3	513.0	555.6	535.5	562.0	536.6
119.00	568.9	542.6	462.9	559.7	524.0	531.2	557.4	518.0	555.7	535.6	562.1	536.7
120.00	569.0	542.7	463.0	559.8	524.1	531.3	557.5	522.6	555.8	535.7	562.2	536.8
121.00	569.1	542.8	463.1	559.9	524.2	531.4	557.6	527.0	555.9	535.8	562.3	536.9
122.00	569.2	542.9	463.2	560.0	524.3	531.5	557.7	531.3	556.0	535.9	562.4	537.0

- Resultados obtenidos de DQO total y soluble para cada prueba del diseño factorial 2².

DQO		Condición	DQO [g DQO/L]
Disuelta inicial	Formiato		2.37 ± 0.64
	Formiato + Sol. Nutritiva		2.37 ± 0.64
	Formiato + Sol. Nutritiva + Sol. Iones Metálicos		2.37 ± 0.64
	Formiato + Sol. Iones Metálicos		2.37 ± 0.64
Disuelta final	Formiato		0.40 ± 0.42
	Formiato + Sol. Nutritiva		0.45 ± 0.42
	Formiato + Sol. Nutritiva + Sol. Iones Metálicos		0.81 ± 0.51
	Formiato + Sol. Iones Metálicos		0.57 ± 0.43
Total inicial	Formiato		5.59 ± 0.64
	Formiato + Sol. Nutritiva		5.59 ± 0.64
	Formiato + Sol. Nutritiva + Sol. Iones Metálicos		5.59 ± 0.64
	Formiato + Sol. Iones Metálicos		5.59 ± 0.64
Total final	Formiato		0.52 ± 0.42
	Formiato + Sol. Nutritiva		2.02 ± 0.42
	Formiato + Sol. Nutritiva + Sol. Iones Metálicos		0.98 ± 0.54
	Formiato + Sol. Iones Metálicos		1.51 ± 0.43



ANEXO VI

Resultados de Pruebas de Actividad Metanogénica. Diseño de mezclas simplex centroide aumentado. Etapa 5.

- Orden aleatorio de las pruebas del diseño de mezclas simplex centroide aumentado.

Bloque	Mo [%]	Se [%]	W [%]	Ni [%]	Consecutivo Alf. Exp.	Bloque	Mo [%]	Se [%]	W [%]	Ni [%]	Consecutivo Alf. Exp.
1	0.000	0.000	1.000	0.000	U	3	0.625	0.125	0.125	0.125	ÑÑ
1	0.333	0.000	0.333	0.333	OO	3	0.333	0.333	0.000	0.333	A
1	0.500	0.000	0.500	0.000	RR	3	0.125	0.125	0.125	0.625	JJ
1	0.500	0.500	0.000	0.000	BB	3	1.000	0.000	0.000	0.000	S
1	0.000	1.000	0.000	0.000	T	3	0.250	0.250	0.250	0.250	GG
1	0.125	0.125	0.625	0.125	KKK	3	0.000	0.000	0.000	1.000	III
1	1.000	0.000	0.000	0.000	SSS	3	0.000	1.000	0.000	0.000	TTT
1	0.250	0.250	0.250	0.250	GGG	4	0.125	0.125	0.125	0.625	JJJ
1	0.000	0.500	0.000	0.500	PP	4	0.000	1.000	0.000	0.000	H
1	0.000	1.000	0.000	0.000	HH	4	0.000	1.000	0.000	0.000	HHH
1	0.000	0.000	1.000	0.000	Q	4	1.000	0.000	0.000	0.000	FF
1	0.625	0.125	0.125	0.125	Ñ	4	0.333	0.333	0.333	0.000	NN
1	0.000	0.500	0.000	0.500	PPP	4	0.000	0.000	1.000	0.000	UU
2	0.500	0.000	0.000	0.500	E	4	0.125	0.125	0.125	0.625	J
2	0.500	0.000	0.000	0.500	EEE	4	0.125	0.125	0.625	0.125	K
2	0.000	1.000	0.000	0.000	TT	4	0.000	0.333	0.333	0.333	M
2	0.000	0.000	1.000	0.000	UUU	4	0.000	0.500	0.000	0.500	P
2	0.500	0.000	0.500	0.000	R	4	0.333	0.000	0.333	0.333	OOO
2	0.250	0.250	0.250	0.250	G	4	0.000	0.000	0.500	0.500	LLL
2	0.000	0.000	1.000	0.000	QQQ	4	0.000	0.000	1.000	0.000	QQ
2	0.333	0.333	0.333	0.000	N	5	0.333	0.333	0.000	0.333	AAA
2	0.125	0.625	0.125	0.125	C	5	1.000	0.000	0.000	0.000	FFF
2	0.500	0.500	0.000	0.000	B	5	0.000	0.000	0.500	0.500	L
2	0.000	0.333	0.333	0.333	MMM	5	0.333	0.333	0.000	0.333	AA
2	1.000	0.000	0.000	0.000	F	5	0.125	0.625	0.125	0.125	CC
2	0.000	0.000	0.000	1.000	I	5	0.500	0.500	0.000	0.000	BBB
2	0.625	0.125	0.125	0.125	ÑÑÑ	5	0.000	0.500	0.500	0.000	DD
3	0.000	0.333	0.333	0.333	MM	5	1.000	0.000	0.000	0.000	SS
3	0.000	0.500	0.500	0.000	DDD	5	0.000	0.000	0.500	0.500	LL
3	0.500	0.000	0.000	0.500	EE	5	0.500	0.000	0.500	0.000	RRR
3	0.000	0.000	0.000	1.000	II	5	0.125	0.125	0.625	0.125	KK
3	0.333	0.333	0.333	0.000	NNN	5	0.125	0.625	0.125	0.125	CCC
3	0.000	0.500	0.500	0.000	D	5	0.333	0.000	0.333	0.333	O



- Valores promedio del volumen acumulado de metano para el diseño de mezclas simplex centroide.

Tiempo [h]	Volumen Acumulado de metano para cada tratamiento [mL]												
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
1.00	9.30	10.53	9.90	11.77	7.33	8.00	7.50	7.97	8.70	12.23	10.80	14.93	11.87
3.00	13.33	13.73	12.80	15.70	12.13	11.03	10.47	11.23	13.53	15.00	13.80	17.13	16.07
5.00	17.43	17.37	15.73	19.77	15.77	13.27	13.53	13.63	18.27	16.57	16.47	19.43	19.63
7.00	24.67	23.10	20.73	27.27	21.70	17.40	19.83	18.03	24.73	20.00	20.50	23.73	24.50
9.00	33.73	30.83	27.60	36.90	29.60	23.60	27.80	26.00	32.27	26.87	27.33	29.80	31.63
11.00	44.07	40.07	36.00	47.60	38.57	31.10	37.00	35.70	41.37	35.07	35.20	36.60	40.17
13.00	54.60	49.73	44.93	58.80	48.03	39.33	46.90	45.93	51.13	43.83	43.53	44.00	49.33
15.00	65.73	60.10	54.40	70.50	57.47	47.83	56.83	56.73	60.80	52.97	52.33	52.03	58.60
17.00	77.40	72.87	64.33	82.70	67.57	56.73	68.67	68.80	71.23	62.53	63.87	60.37	68.57
19.00	89.90	84.90	75.27	95.70	78.17	66.17	80.23	81.20	82.27	72.93	74.07	69.83	79.07
21.00	103.00	97.50	86.73	109.40	89.40	76.23	92.40	93.87	93.97	84.13	84.93	79.53	90.17
23.00	115.97	110.17	98.37	122.77	101.37	87.20	104.93	106.73	106.07	95.43	95.90	89.30	102.10
25.00	128.37	122.10	109.03	135.77	112.63	97.13	116.60	119.63	117.73	106.60	106.37	98.67	113.17
27.00	140.53	133.47	119.40	148.30	123.43	107.13	127.93	132.07	128.60	117.23	116.27	108.03	123.90
29.00	152.60	144.87	130.00	160.83	133.97	116.53	139.07	143.67	139.33	127.27	125.93	116.93	133.87
31.00	165.03	156.43	140.43	173.67	144.60	125.93	150.40	155.77	150.40	137.53	136.20	126.33	144.67
33.00	177.67	168.03	151.30	186.87	155.27	135.87	161.87	167.93	161.57	148.17	146.73	135.73	155.50
35.00	190.20	179.70	161.97	199.93	166.33	145.73	173.30	180.23	172.87	158.93	157.13	145.13	166.37
37.00	202.50	191.20	172.33	212.87	177.00	155.43	184.53	192.47	183.90	169.57	167.23	154.27	177.13
39.00	214.67	202.50	182.77	225.67	187.57	165.13	195.73	204.37	195.03	180.30	177.53	163.60	187.70
41.00	227.40	213.87	193.47	238.60	197.97	174.90	207.03	216.57	206.13	191.07	187.90	173.57	198.40
43.00	240.57	225.53	204.63	251.93	208.83	185.07	218.57	229.40	217.63	202.70	198.70	184.23	209.43
45.00	253.70	237.47	215.97	265.77	219.87	195.83	230.50	242.13	229.57	214.87	209.90	194.93	221.03
48.00	272.77	255.37	232.40	285.57	236.70	211.47	248.33	261.20	246.90	232.20	226.37	210.37	237.87
50.00	285.00	266.77	242.80	298.27	247.50	221.40	259.63	273.20	258.00	243.10	236.77	220.17	248.73
52.00	296.73	277.53	252.60	310.47	257.63	230.73	270.40	284.30	268.77	253.60	246.57	229.13	258.90
54.00	308.63	288.23	262.50	322.77	267.80	239.80	281.03	295.63	279.57	263.70	256.40	238.40	268.83
56.00	320.97	299.23	272.73	335.40	278.07	249.50	291.90	307.37	290.60	274.27	266.63	248.23	279.30
58.00	333.67	310.27	283.30	348.30	288.50	259.40	303.17	319.27	301.83	285.13	276.97	258.43	289.87
60.00	346.13	321.37	293.70	361.17	298.83	269.27	314.17	330.97	313.00	296.03	287.33	268.27	300.57
62.00	358.60	332.33	303.77	373.83	309.13	279.03	325.10	342.73	324.13	306.97	297.70	277.97	311.07
64.00	371.13	343.47	314.13	386.67	319.47	288.90	336.07	354.30	335.27	317.80	307.90	287.83	321.70
66.00	384.10	354.93	324.83	399.90	330.03	298.83	347.27	366.07	346.73	328.83	318.37	298.30	332.27
68.00	397.70	366.60	336.00	413.70	340.97	309.07	358.87	378.03	358.43	340.03	329.33	309.07	343.17
70.00	411.23	378.43	347.33	427.50	352.03	319.60	370.67	390.13	370.40	351.60	340.33	319.83	354.30
72.00	424.97	390.30	358.43	441.30	363.20	330.27	382.23	402.37	382.43	363.20	351.23	330.70	365.50
74.00	437.83	401.53	369.03	454.37	373.97	340.53	393.43	414.30	393.90	374.47	361.80	341.00	376.20
76.00	450.33	412.60	379.33	467.20	383.13	350.50	404.37	426.00	404.77	385.17	371.93	351.17	386.47
78.00	463.03	423.80	389.67	480.47	395.17	360.57	415.83	437.70	415.97	396.33	382.47	361.43	396.73
80.00	476.10	435.17	400.37	494.13	407.43	370.57	427.33	449.70	427.40	407.77	393.13	372.03	406.73
82.00	487.35	446.63	411.03	507.70	418.57	380.97	439.07	461.97	438.97	419.47	404.07	382.73	406.90
84.00	500.31	458.13	421.73	537.10	429.90	391.33	450.83	474.43	439.20	431.10	414.90	393.23	407.07
86.00	512.37	469.50	432.30	545.33	440.30	401.57	462.47	486.43	439.35	442.37	425.77	403.90	407.35
88.00	520.37	481.03	443.13	545.70	450.17	412.00	474.23	498.40	439.56	452.93	436.77	414.50	407.68
90.00	523.08	481.20	443.23	546.10	460.60	414.70	486.67	510.70	437.10	453.15	436.63	413.33	408.90



Efecto de Iones Metálicos sobre la Metanogénesis en la Digestión Anaerobia de Residuos Sólidos Orgánicos Urbanos

Anexos



Tiempo [h]	Volumen acumulado de metano para cada tratamiento [mL]								
	N	Ñ	O	P	Q	R	S	T	U
0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
1.00	11.87	8.47	10.23	7.20	5.70	8.07	9.87	6.73	7.40
3.00	14.27	12.03	12.93	9.13	8.17	11.37	13.10	11.70	9.87
5.00	16.63	15.63	15.67	11.13	10.73	14.83	16.80	15.30	12.63
7.00	21.80	21.13	19.90	15.63	14.00	20.30	22.90	21.07	17.33
9.00	29.30	28.47	26.97	23.03	19.70	27.53	30.57	29.10	24.67
11.00	38.20	36.80	35.17	31.50	26.27	35.90	39.43	38.53	33.03
13.00	47.90	45.67	43.57	40.67	33.57	44.73	48.57	48.50	41.90
15.00	57.87	54.83	52.73	50.23	41.10	53.97	57.93	58.77	50.93
17.00	68.20	65.27	62.73	62.57	50.87	65.07	68.07	70.13	61.47
19.00	79.17	75.97	73.07	74.53	60.40	75.70	79.23	81.87	71.83
21.00	90.77	87.37	84.23	86.63	69.97	86.97	90.90	94.20	83.13
23.00	102.90	98.83	95.03	98.43	80.10	98.27	102.43	107.17	94.73
25.00	114.47	109.63	105.83	109.90	89.50	109.00	113.37	118.87	105.80
27.00	125.47	120.00	116.10	121.07	98.27	119.17	123.77	130.30	116.23
29.00	136.10	130.10	125.97	131.93	107.03	129.23	134.43	141.47	126.10
31.00	147.33	140.57	136.13	142.93	115.93	139.53	145.33	152.97	136.57
33.00	158.70	151.20	146.87	154.00	124.93	150.13	156.40	164.70	147.37
35.00	170.17	161.87	157.50	165.10	133.93	160.73	167.53	176.23	158.13
37.00	181.37	172.33	167.93	176.07	142.90	171.20	178.33	187.70	168.73
39.00	192.40	182.63	178.57	186.93	151.70	181.57	189.07	199.13	179.07
41.00	203.60	193.23	189.17	197.93	160.73	192.23	200.07	210.53	189.47
43.00	214.93	204.20	200.27	209.70	169.87	203.17	211.53	222.20	200.43
45.00	226.60	215.23	211.87	221.67	179.90	214.60	223.37	234.20	211.53
48.00	243.73	231.73	228.97	239.37	194.63	231.43	240.73	252.13	228.10
50.00	254.83	242.43	239.90	250.83	203.83	241.90	251.47	263.47	238.83
52.00	265.20	252.33	249.67	261.17	212.13	251.87	261.90	274.27	248.83
54.00	275.53	262.10	259.77	271.53	220.57	261.87	272.80	285.13	258.60
56.00	286.17	272.17	270.30	282.30	229.27	272.23	283.83	296.03	268.83
58.00	297.20	282.63	280.97	293.27	238.23	282.70	295.00	307.13	279.07
60.00	308.17	293.00	291.70	304.20	247.23	293.20	306.07	318.40	289.27
62.00	319.07	303.20	302.17	314.87	256.13	303.60	317.07	329.43	299.60
64.00	329.77	313.33	312.70	325.70	264.87	314.00	328.07	340.20	309.70
66.00	340.57	324.00	323.40	336.90	273.87	324.63	339.50	351.43	320.17
68.00	351.83	334.93	334.73	348.13	283.10	335.80	351.40	362.90	330.90
70.00	363.23	346.20	346.07	359.73	292.70	346.97	363.33	374.70	341.87
72.00	374.97	356.97	357.43	371.07	302.17	358.13	374.90	386.17	352.80
74.00	386.23	367.60	368.50	382.07	311.10	368.83	386.27	397.60	363.60
76.00	397.10	377.63	379.00	392.73	319.67	379.13	397.27	408.63	373.83
78.00	407.97	387.60	389.87	403.50	328.40	389.73	408.43	419.77	384.13
80.00	419.20	397.83	400.90	414.33	337.33	400.63	420.07	431.27	394.63
82.00	430.63	407.93	412.13	425.67	346.47	411.60	431.87	442.53	405.40
84.00	442.10	415.40	423.60	437.07	355.73	422.63	443.60	453.93	416.37
86.00	453.40	419.23	434.83	448.30	364.83	433.63	454.57	465.57	427.20
88.00	464.10	420.00	446.17	459.63	373.77	444.77	455.80	477.10	437.93
90.00	472.83	420.22	447.15	471.33	383.47	445.00	456.00	487.60	449.00



- Valores de DQO obtenidos para cada tratamiento.

Exp.	% de Remoción de DQO			Exp.	% Remoción de DQO		
	I	II	III		I	II	III
A	89.49%	85.05%	85.57%	L	83.93%	81.61%	91.32%
B	88.25%	91.90%	83.33%	M	90.14%	91.58%	89.29%
C	88.44%	85.85%	80.09%	N	88.84%	91.25%	90.73%
D	92.03%	85.25%	89.55%	Ñ	88.25%	89.29%	88.25%
E	89.29%	91.32%	91.12%	O	80.81%	88.97%	91.06%
F	90.01%	92.43%	82.27%	P	90.08%	89.16%	89.55%
G	90.21%	89.29%	88.18%	Q	88.31%	89.68%	88.12%
H	90.60%	88.97%	91.06%	R	88.18%	89.55%	82.87%
I	89.36%	89.81%	89.49%	S	89.42%	80.35%	88.31%
J	90.92%	89.42%	90.92%	T	89.10%	90.27%	89.55%
K	89.88%	80.55%	88.31%	U	89.75%	91.06%	89.10%



ANEXO VII

Resultados de Pruebas de Potencial Bioquímico de Metano con FORSU adicionando iones metálicos. Etapa 7.

- Resultados obtenidos del volumen acumulado de metano.

Tiempo [h]	FORSU 0.6 g SV inóculo 0.3 g SV FORSU			FORSU + Iones Metálicos 0.6 g SV inóculo 0.3 g SV FORSU			FORSU 3 g SV inóculo 1.5 g SV FORSU			FORSU + Iones Metálicos 3 g SV inóculo 1.5 g SV FORSU		
	I	II	Prom.	I	II	Prom.	I	II	Prom.	I	II	Prom.
0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
1.0	7.8	7.8	7.8	7.6	0.4	4.0	7.6	16.8	12.2	9.0	15.8	12.4
3.0	8.6	8.8	8.7	8.6	1.3	5.0	11.2	22.0	16.6	14.3	21.0	17.7
5.0	9.5	9.8	9.7	9.7	2.2	6.0	15.1	25.1	20.1	18.5	25.1	21.8
7.0	10.4	10.8	10.6	10.7	3.1	6.9	19.7	28.2	24.0	24.0	29.9	27.0
9.0	11.2	11.8	11.5	11.7	4.0	7.9	30.5	37.9	34.2	31.1	36.5	33.8
11.0	12.1	12.8	12.5	12.8	4.9	8.9	41.0	51.4	46.2	35.8	41.1	38.5
13.0	13.0	13.8	13.4	13.8	5.8	9.8	49.2	59.4	54.3	44.3	49.6	47.0
15.0	13.8	14.7	14.3	14.5	6.7	10.6	54.9	66.2	60.6	51.3	55.0	53.2
17.0	14.7	15.1	14.9	14.9	7.4	11.2	60.2	71.6	65.9	55.7	59.6	57.7
19.0	14.9	15.5	15.2	15.4	7.8	11.6	65.2	76.3	70.8	59.9	63.8	61.9
21.0	15.1	16.0	15.6	15.8	8.3	12.1	69.7	80.2	75.0	64.1	67.5	65.8
23.0	15.3	16.4	15.9	16.3	8.8	12.6	72.6	83.2	77.9	67.2	71.1	69.2
25.0	15.5	16.8	16.2	16.8	9.3	13.1	75.1	86.1	80.6	69.9	73.6	71.8
27.0	15.7	17.3	16.5	17.2	9.7	13.5	77.7	88.3	83.0	72.6	76.2	74.4
29.0	15.9	17.7	16.8	17.7	10.2	14.0	79.2	90.4	84.8	75.5	78.8	77.2
31.0	16.1	18.1	17.1	18.1	10.7	14.4	80.8	92.5	86.7	78.4	81.7	80.1
33.0	16.3	18.6	17.5	18.6	11.2	14.9	82.4	94.0	88.2	81.2	84.6	82.9
35.0	16.5	19.0	17.8	19.1	11.6	15.4	84.0	95.2	89.6	84.0	86.5	85.3
37.0	16.7	19.4	18.1	19.5	12.1	15.8	85.4	96.5	91.0	86.8	88.4	87.6
39.0	16.9	19.9	18.4	20.0	12.6	16.3	86.7	97.8	92.3	89.9	90.2	90.1
41.0	17.1	20.3	18.7	20.4	13.0	16.7	87.9	99.1	93.5	93.1	92.1	92.6
43.0	17.3	20.7	19.0	20.9	13.5	17.2	89.2	100.3	94.8	95.7	95.0	95.4
45.0	17.5	21.2	19.4	21.3	14.0	17.7	90.4	101.2	95.8	98.1	97.9	98.0
47.0	17.7	21.6	19.7	21.6	14.3	18.0	91.7	102.1	96.9	100.4	99.8	100.1
49.0	17.9	21.8	19.9	21.8	14.6	18.2	92.4	103.0	97.7	101.8	101.1	101.5
51.0	18.1	22.0	20.1	22.1	14.9	18.5	93.1	103.9	98.5	102.6	102.5	102.6
53.0	18.3	22.1	20.2	22.4	15.1	18.8	93.8	104.8	99.3	103.4	103.8	103.6
55.0	18.5	22.2	20.4	22.7	15.4	19.1	94.5	105.7	100.1	104.2	105.2	104.7
57.0	18.7	22.3	20.5	22.9	15.7	19.3	95.2	106.7	101.0	105.0	106.2	105.6
59.0	18.9	22.5	20.7	23.2	16.0	19.6	95.9	107.5	101.7	105.8	106.9	106.4
61.0	19.1	22.6	20.9	23.5	16.3	19.9	96.6	108.4	102.5	106.7	107.5	107.1
63.0	19.3	22.7	21.0	23.8	16.6	20.2	97.3	109.3	103.3	107.5	108.1	107.8
65.0	19.5	22.9	21.2	24.1	16.8	20.5	98.0	110.1	104.1	108.3	108.8	108.6
67.0	19.7	23.0	21.4	24.3	17.1	20.7	98.7	111.0	104.9	109.0	109.4	109.2
69.0	19.9	23.1	21.5	24.6	17.4	21.0	99.4	111.8	105.6	109.6	110.0	109.8
71.0	20.1	23.2	21.7	24.9	17.7	21.3	100.0	112.7	106.4	110.3	110.7	110.5
73.0	20.3	23.4	21.9	25.2	18.0	21.6	100.7	113.5	107.1	110.9	111.3	111.1
75.0	20.5	23.5	22.0	25.4	18.2	21.8	101.3	114.4	107.9	111.6	111.9	111.8
77.0	20.7	23.6	22.2	25.7	18.5	22.1	102.0	115.2	108.6	112.2	112.6	112.4
79.0	20.9	23.8	22.4	26.0	18.8	22.4	102.6	115.9	109.3	112.8	113.1	113.0
81.0	21.1	23.9	22.5	26.3	19.1	22.7	103.3	116.7	110.0	113.5	113.5	113.5



Efecto de Iones Metálicos sobre la Metanogénesis en la Digestión Anaerobia de Residuos Sólidos Orgánicos Urbanos

Anexos



Tiempo [h]	FORSU 0.6 g SV inóculo 0.3 g SV FORSU			FORSU + Iones Metálicos 0.6 g SV inóculo 0.3 g SV FORSU			FORSU 3 g SV inóculo 1.5 g SV FORSU			FORSU + Iones Metálicos 3 g SV inóculo 1.5 g SV FORSU		
	I	II	Prom.	I	II	Prom	I	II	Prom	I	II	Prom
	83.0	21.3	24.0	22.7	26.6	19.4	23.0	103.9	117.5	110.7	114.1	113.8
85.0	21.5	24.2	22.9	26.8	19.7	23.3	104.6	118.3	111.5	114.8	114.2	114.5
87.0	21.7	24.3	23.0	27.1	19.9	23.5	105.2	119.1	112.2	115.4	114.5	115.0
89.0	21.9	24.4	23.2	27.4	20.2	23.8	105.9	119.9	112.9	115.9	114.9	115.4
91.0	22.1	24.5	23.3	27.7	20.5	24.1	106.1	120.7	113.4	116.2	115.2	115.7
93.0	22.3	24.7	23.5	27.9	20.8	24.4	106.3	121.5	113.9	116.4	115.6	116.0
95.0	22.5	24.8	23.7	28.2	21.0	24.6	106.5	121.8	114.2	116.7	115.9	116.3
97.0	22.7	24.9	23.8	28.4	21.3	24.9	106.7	122.1	114.4	117.0	116.3	116.7
99.0	22.9	25.1	24.0	28.6	21.5	25.1	106.9	122.4	114.7	117.2	116.6	116.9
101.0	23.1	25.2	24.2	28.8	21.7	25.3	107.1	122.7	114.9	117.5	117.0	117.3
103.0	23.3	25.3	24.3	29.1	21.9	25.5	107.3	123.0	115.2	117.8	117.4	117.6
105.0	23.5	25.4	24.5	29.3	22.1	25.7	107.5	123.3	115.4	118.0	117.7	117.9
107.0	23.8	25.6	24.7	29.5	22.3	25.9	107.7	123.6	115.7	118.3	118.1	118.2
109.0	24.0	25.7	24.9	29.7	22.5	26.1	107.9	123.9	115.9	118.6	118.4	118.5
111.0	24.2	25.8	25.0	29.9	22.8	26.4	108.1	124.2	116.2	118.9	118.8	118.9
113.0	24.4	26.0	25.2	30.1	23.0	26.6	108.3	124.5	116.4	119.1	119.1	119.1
115.0	24.6	26.1	25.4	30.4	23.2	26.8	108.5	124.8	116.7	119.4	119.5	119.5
117.0	24.8	26.2	25.5	30.6	23.4	27.0	108.7	125.1	116.9	119.7	119.8	119.8
119.0	25.0	26.3	25.7	30.8	23.6	27.2	108.9	125.4	117.2	119.9	120.2	120.1
121.0	25.2	26.5	25.9	31.0	23.8	27.4	109.1	125.7	117.4	120.2	120.5	120.4
123.0	25.4	26.6	26.0	31.2	24.0	27.6	109.3	126.0	117.7	120.5	120.9	120.7
125.0	25.7	26.7	26.2	31.4	24.3	27.9	109.5	126.3	117.9	120.8	121.2	121.0
127.0	25.9	26.9	26.4	31.6	24.5	28.1	109.7	126.6	118.2	121.0	121.5	121.3
129.0	26.1	27.0	26.6	31.9	24.7	28.3	109.9	126.9	118.4	121.3	121.9	121.6
131.0	26.3	27.1	26.7	32.1	24.9	28.5	110.1	127.2	118.7	121.6	122.2	121.9
133.0	26.5	27.2	26.9	32.3	25.1	28.7	110.3	127.5	118.9	121.8	122.5	122.2
135.0	26.7	27.4	27.1	32.5	25.3	28.9	110.5	127.8	119.2	122.1	122.9	122.5
137.0	26.9	27.5	27.2	32.7	25.5	29.1	110.7	128.1	119.4	122.4	123.2	122.8
139.0	27.1	27.6	27.4	32.9	25.8	29.4	110.9	128.4	119.7	122.7	123.5	123.1
141.0	27.3	27.8	27.6	33.2	26.0	29.6	111.1	128.9	120.0	122.9	123.9	123.4
143.0	27.5	27.9	27.7	33.4	26.2	29.8	111.3	129.7	120.5	123.7	124.2	124.0
145.0	27.8	28.0	27.9	33.6	26.4	30.0	111.5	130.4	121.0	124.5	124.6	124.6
147.0	28.0	28.2	28.1	33.8	26.6	30.2	111.7	131.1	121.4	125.3	124.9	125.1
149.0	28.2	28.3	28.3	34.0	26.8	30.4	111.9	131.8	121.9	126.0	125.2	125.6
151.0	28.4	28.4	28.4	34.2	27.0	30.6	112.1	132.6	122.4	126.8	125.6	126.2
153.0	28.6	28.5	28.6	34.4	27.3	30.9	112.3	133.3	122.8	127.6	125.9	126.8
155.0	28.8	28.7	28.8	34.7	27.5	31.1	112.5	134.0	123.3	128.4	126.2	127.3
157.0	29.0	28.8	28.9	34.9	27.7	31.3	112.7	134.7	123.7	129.1	126.6	127.9
159.0	29.2	28.9	29.1	35.1	27.9	31.5	112.9	135.5	124.2	129.9	126.9	128.4
161.0	29.4	29.1	29.3	35.3	28.1	31.7	113.0	135.8	124.4	130.3	127.1	128.7
163.0	29.6	29.3	29.5	35.5	28.3	31.9	113.2	136.0	124.6	130.5	127.3	128.9
165.0	29.8	29.5	29.7	35.6	28.4	32.0	113.4	136.2	124.8	130.6	127.5	129.1
167.0	30.0	29.6	29.8	35.8	28.6	32.2	113.6	136.4	125.0	130.8	127.7	129.3
169.0	30.2	29.8	30.0	36.0	28.8	32.4	113.7	136.6	125.2	131.0	127.9	129.5
171.0	30.3	30.0	30.2	36.2	29.0	32.6	113.9	136.7	125.3	131.2	128.0	129.6
173.0	30.5	30.2	30.4	36.3	29.2	32.8	114.1	136.9	125.5	131.4	128.2	129.8
175.0	30.7	30.4	30.6	36.5	29.3	32.9	114.3	137.1	125.7	131.5	128.4	130.0
177.0	30.9	30.5	30.7	36.7	29.5	33.1	114.5	137.3	125.9	131.7	128.6	130.2
179.0	31.1	30.7	30.9	36.9	29.7	33.3	114.6	137.5	126.1	131.9	128.7	130.3



Efecto de Iones Metálicos sobre la Metanogénesis en la Digestión Anaerobia de Residuos Sólidos Orgánicos Urbanos

Anexos



Tiempo [h]	FORSU 0.6 g SV inóculo 0.3 g SV FORSU			FORSU + Iones Metálicos 0.6 g SV inóculo 0.3 g SV FORSU			FORSU 3 g SV inóculo 1.5 g SV FORSU			FORSU + Iones Metálicos 3 g SV inóculo 1.5 g SV FORSU		
	I	II	Prom.	I	II	Prom	I	II	Prom	I	II	Prom
181.0	31.3	30.9	31.1	37.0	29.9	33.5	114.8	137.7	126.3	132.1	128.9	130.5
183.0	31.4	31.1	31.3	37.2	30.0	33.6	115.0	137.9	126.5	132.3	129.1	130.7
185.0	31.6	31.3	31.5	37.4	30.2	33.8	115.2	138.0	126.6	132.5	129.3	130.9
187.0	31.8	31.5	31.7	37.6	30.4	34.0	115.3	138.2	126.8	132.6	129.5	131.1
189.0	32.0	31.6	31.8	37.8	30.6	34.2	115.5	138.4	127.0	132.8	129.6	131.2
191.0	32.2	31.8	32.0	37.9	30.7	34.3	115.7	138.6	127.2	133.0	129.8	131.4
193.0	32.4	32.0	32.2	38.1	30.9	34.5	115.9	138.8	127.4	133.2	130.0	131.6
195.0	32.6	32.2	32.4	38.3	31.1	34.7	116.0	139.0	127.5	133.4	130.2	131.8
197.0	32.7	32.4	32.6	38.5	31.3	34.9	116.2	139.2	127.7	133.6	130.3	132.0
199.0	32.9	32.5	32.7	38.6	31.4	35.0	116.4	139.3	127.9	133.7	130.5	132.1
201.0	33.1	32.7	32.9	38.8	31.6	35.2	116.6	139.5	128.1	133.9	130.7	132.3
203.0	33.3	32.9	33.1	39.0	31.8	35.4	116.8	139.7	128.3	134.1	130.9	132.5
205.0	33.5	33.1	33.3	39.2	32.0	35.6	116.9	139.9	128.4	134.3	131.1	132.7
207.0	33.7	33.3	33.5	39.3	32.2	35.8	117.1	140.1	128.6	134.5	131.2	132.9
209.0	33.8	33.4	33.6	39.5	32.3	35.9	117.3	140.3	128.8	134.6	131.4	133.0
211.0	34.0	33.6	33.8	39.7	32.5	36.1	117.5	140.5	129.0	134.8	131.6	133.2
213.0	34.2	33.8	34.0	39.9	32.7	36.3	117.6	140.6	129.1	135.0	131.8	133.4
215.0	34.4	34.0	34.2	40.1	32.9	36.5	117.8	140.8	129.3	135.2	131.9	133.6
217.0	34.6	34.2	34.4	40.2	33.0	36.6	118.0	141.0	129.5	135.4	132.1	133.8
219.0	34.8	34.4	34.6	40.4	33.2	36.8	118.2	141.2	129.7	135.6	132.3	134.0
221.0	34.9	34.5	34.7	40.6	33.4	37.0	118.3	141.4	129.9	135.7	132.5	134.1
223.0	35.1	34.7	34.9	40.8	33.6	37.2	118.5	141.6	130.1	135.9	132.6	134.3
225.0	35.3	34.9	35.1	40.9	33.7	37.3	118.7	141.7	130.2	136.1	132.8	134.5
227.0	35.5	35.1	35.3	41.1	33.9	37.5	118.9	141.9	130.4	136.3	133.0	134.7
229.0	35.7	35.3	35.5	41.3	34.1	37.7	119.0	142.1	130.6	136.5	133.2	134.9
231.0	35.9	35.4	35.7	41.5	34.3	37.9	119.2	142.3	130.8	136.6	133.4	135.0
233.0	36.0	35.6	35.8	41.6	34.4	38.0	119.4	142.5	131.0	136.8	133.5	135.2
235.0	36.2	35.8	36.0	41.8	34.6	38.2	119.6	142.7	131.2	137.0	133.7	135.4
237.0	36.4	36.0	36.2	42.0	34.8	38.4	119.8	144.6	132.2	137.2	133.9	135.6