



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE INGENIERÍA

**Biorreactor para fermentación anaerobia de
la fracción orgánica de residuos sólidos
urbanos para producción de lactato y etanol**

TESIS

Que para obtener el título de

Ingeniero Civil

P R E S E N T A

Fernando Ramsés Ramírez Meneses

DIRECTOR(A) DE TESIS

Dr. Oscar González Barceló



Ciudad Universitaria, Cd. Mx., 2022



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

DIVISIÓN DE INGENIERÍAS CIVIL Y GEOMÁTICA
COMITÉ DE TITULACIÓN
FING/DICyG/SEAC/UTIT/069/22

Señor
FERNANDO RAMSÉS RAMÍREZ MENESES
Presente

En atención a su solicitud me es grato hacer de su conocimiento el tema que propuso el profesor DR. ÓSCAR GONZÁLEZ BARCELÓ, que aprobó este Comité, para que lo desarrolle usted como tesis de su examen profesional de INGENIERO CIVIL.

"BIORREACTOR PARA FERMENTACIÓN ANAEROBIA DE LA FRACCIÓN ORGÁNICA DE RESIDUOS SÓLIDOS URBANOS PARA PRODUCCIÓN DE LACTATO Y ETANOL"

- INTRODUCCIÓN
- I. ANTECEDENTES
- II. CARACTERÍSTICAS DE LA FORSU
- III. DIAGRAMA DE FLUJO DE PROCESO
- IV. CINÉTICA DE LA FERMENTACIÓN
- V. METODOLOGÍA
- VI. RESULTADOS
- VII. CONCLUSIONES

Ruego a usted cumplir con la disposición de la Dirección General de la Administración Escolar en el sentido de que se imprima en lugar visible de cada ejemplar de la tesis el Título de ésta.

Asimismo, le recuerdo que la Ley de Profesiones estipula que deberá prestar servicio social durante un tiempo mínimo de seis meses como requisito para sustentar Examen Profesional.

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cd. Universitaria a 19 de octubre del 2022.
EL PRESIDENTE


M.I. MARCO TULIO MENDOZA ROSAS

MTMR/gar.

Jurado designado

Presidenta: **M.I. Nikté Norma Ocampo Guerrero**

Secretario: **M.I. Cristian Emmanuel González Reyes**

Vocal: **Dr. Óscar González Barceló**

1er suplente: **M.I. Rodrigo Takashi Sepúlveda Hirose**

2do suplente: **Dr. Armando Rafael Hermosillo Arteaga**

Instituto de Ingeniería, Ciudad Universitaria, Ciudad de México.

Agradecimientos

A mi asesor, Dr. Óscar González Barceló, le agradezco la confianza depositada en mí para el desarrollo de este trabajo de esta área tan noble que es la ingeniería ambiental, por transmitirme parte del conocimiento que se desarrolla en el instituto, por su apoyo durante la realización de esta tesis y por abrirme el panorama de la investigación.

Ángeles Montealegre, por el apoyo incondicional, cuidar de mí como una madre y ser tan importante para la familia.

Sergio Ramírez, por las enseñanzas y por tu esfuerzo que estuvo que estuvo presente hasta en las situaciones más desfavorables. Agradezco ser tu hijo.

Marlene Meneses, por ser tan importante en mi desarrollo personal y mi formación como persona estando al pendiente de mí.

Ana Paola García, por ser apoyo constante para crecer y ser mejor humano cada día. Por el hecho de existir, te mereces lo mejor de la vida. Gracias por vivir conmigo.

Universidad Nacional Autónoma de México, por brindarme educación de calidad en la Facultad de Ingeniería y también al Instituto de Ingeniería por abrirme las puertas para la realización de esta tesis.

Tesis realizada gracias al Programa de apoyo a proyectos de investigación e innovación tecnológica UNAM-PAPIIT- IT101320 - Biorrefinería para producción de ácidos grasos volátiles, biogás y digestato a partir de residuos sólidos orgánicos urbanos.

Índice

Introducción	1
Objetivos y alcances	2
Objetivo general.....	2
Objetivos particulares	2
Alcances.....	2
Capítulo I	
Antecedentes	3
1.1 Fermentación	4
1.2 Fermentaciones de interés industrial.....	7
1.3 Diagrama general de la fermentación de FORSU	9
1.4 Composición química de la FORSU.....	12
1.4.1 Proteínas	12
1.4.2 Lípidos	12
1.4.3 Carbohidratos.....	12
1.5 Ruta metabólica acidogénica.....	13
1.6 Hidrólisis de macromoléculas en glucosa.....	14
1.7 Parámetros que modifican la digestión anaerobia.....	15
1.7.1 Temperatura.....	16
Temperatura de operación.....	16
Tolerancia de microorganismos a la temperatura	18
1.7.2 Alcalinidad y pH	20
Valores óptimos de pH para fermentación heteroláctica	21
Nivelación de pH en el digestor.....	21
Relación de pH con el metabolismo	22
1.7.3 Cantidad de sólidos totales (ST)	23
1.7.4 Carga orgánica (OLR).....	23
Velocidades de OLR en la fermentación.....	24
Tasa de carga orgánica aplicada en el digestor	24

1.7.5	Tamaño de la partícula.....	25
1.7.6	Tiempo de retención (TR).....	26
	Tiempo de retención hidráulico (TRH)	26
	Intervalo de TRH por sustrato, tipo y temperatura del reactor	27
	Tiempo de retención de sólidos (TRS).....	28
1.7.7	Agitación	28
	Control de la agitación en el proceso	29
1.7.8	Inhibidores en la fermentación	30
	Concentraciones de inhibidores.....	31
	Efectos de los inhibidores en el proceso	32
1.7.9	Potencial de óxido reducción como indicador del proceso	33
1.8	Metabolitos a nivel industrial.....	33
1.8.1	Ácido láctico	34
	Bacterias de ácido láctico (LAB)	35
1.8.2	Etanol.....	37
1.8.3	Ácidos grasos volátiles.....	38
	Ácido acético.....	39
	Ácido propiónico.....	40
	Ácido butírico	40

Capítulo II

	Características de la FORSU	41
2.1	Composición de los sustratos.....	41
	2.1.1 Sustratos con abundancia de proteínas.....	42
	2.1.2 Sustratos con abundancia de carbohidratos.....	42
	2.1.3 Sustratos con abundancia de lípidos.....	43
2.2	Nutrientes de la FORSU	43
	2.2.1 Macronutrientes.....	44
	2.2.2 Micronutrientes	45
2.3	Caracterización de fracciones de la FORSU en Ciudad de México	46
	2.3.1 Método de caracterización.....	46

Capítulo III

Diagrama de flujo de proceso.....	49
3.1 Digestato.....	49
3.2 Tratamiento de la FORSU.....	49
3.3 Componentes de los reactores anaerobios.....	50
3.4 Digestores para tratamiento de FORSU.....	52
3.4.1 Reactores continuos.....	53
3.4.2 Semicontinuos.....	56
3.4.3 Discontinuos.....	56
Etapas del digestor tipo batch.....	58
3.5 Clasificación de digestores de una etapa por porcentaje de ST.....	59
3.5.1 Digestores húmedos de una etapa para $ST < 15\%$	59
3.5.2 Digestores secos de una etapa para $ST > 20\%$	60
3.6 Reactores en la fermentación de lactato y etanol.....	60
3.6.1 Fermentación de ácido láctico en el digestato.....	61
3.6.2 Fermentación de etanol.....	62
3.7 Integración del fermentador en la planta MBT.....	62
3.8 Ubicación del tren de tratamiento.....	63

Capítulo IV

Cinética de la fermentación.....	66
4.1 Cinética sin inhibición.....	66
4.1.1 Modelo cinético de Michaelis-Menten.....	66
4.1.2 Ecuación de Lineweaver-Burk.....	68
4.2 Cinética con inhibición por sustrato.....	69
4.2.1 Teoría de Haldane.....	72

Capítulo V

Metodología.....	75
------------------	----

Capítulo VI

Resultados	77
6.1 Adaptación de modelo de Stover y Kincannon a cinética de Haldane.....	77
6.1.1 Producción de lactato sin adición de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	80
6.1.2 Producción de metabolitos con adición de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	82
6.2 Diseño de reactor	87
6.2.1 Fermentación natural para obtención de ácido láctico.....	87
6.2.2 Fermentación con adición de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	88
6.3 Propuesta del tren de tratamiento.....	90

Capítulo VII

Conclusiones	91
Referencias	93

Índice de tablas

Tabla 1.1 <i>Grupos de enzimas hidrolíticas y sus funciones (Schnürer et al., 2010).</i>	15
Tabla 1.2 <i>Rangos de temperatura y tiempo de fermentación anaerobia (Lagrange, 1979).</i>	18
Tabla 1.3 <i>Temperaturas de crecimiento de especies representativas de bacterias y arqueas que participan en el proceso de digestión anaerobia (Atlas et al., 2002).</i>	19
Tabla 1.4 <i>Compuestos comúnmente utilizados para la adición de alcalinidad (Gerardi, 2003).</i>	22
Tabla 1.5 <i>Cargas orgánicas típicas en sistemas de digestión anaerobia de una etapa (Rapport et al., 2008).</i>	24
Tabla 1.6 <i>Tiempos de retención típicos en sistemas de una etapa (Rapport et al., 2008).</i>	27
Tabla 1.7 <i>Valores perjudiciales de algunas sustancias inorgánicas y orgánicas (Gerardi, 2003).</i> ...	32
Tabla 2.1 <i>Cantidad de macronutrientes necesarios en digestores anaerobios (Gerardi, 2003).</i>	44
Tabla 2.2 <i>Cantidad de micronutrientes necesaria en digestores anaerobios (Gerardi, 2003).</i>	45
Tabla 2.3 <i>Caracterización de fracciones en FORSU (Figueroa-Escamilla et al., 2021).</i>	47
Tabla 2.4 <i>Comparación de las características de la FORSU de la investigación de Figueroa-Escamilla et al. (2021) con otras ciudades del mundo.</i>	48
Tabla 3.1 <i>Tratamiento biológico de la FORSU (Montes, 2008).</i>	50
Tabla 3.2 <i>Ventajas y desventajas de digestores batch (Adaptado de Vandevivere et al., 2003).</i>	57
Tabla 6.1 <i>Caracterización de la FORSU experimental (Mosquera, 2022).</i>	80
Tabla 6.2 <i>Resultados de OLR y sus rendimientos específicos de lactato para fermentaciones de 24 horas solamente con población presente en FORSU a diferentes concentraciones de ST.</i>	81

Tabla 6.3 OLR con respecto a *Saccharomyce cerevisiae* agregada y tasa específica de producción de lactato a 9 horas de reacción con diferentes concentraciones de *Saccharomyces cerevisiae* y porcentaje de sólidos totales..... 82

Tabla 6.4 OLR con respecto a *Saccharomyce cerevisiae* agregada y tasa específica de producción de etanol a 9 horas de reacción con diferentes concentraciones de *Saccharomyces cerevisiae* y porcentaje de sólidos totales..... 84

Tabla 6.5 OLR con respecto a *Saccharomyce cerevisiae* agregada y tasa específica de producción de acetato a 9 horas de reacción con diferentes concentraciones de *Saccharomyces cerevisiae* y porcentaje de sólidos totales..... 85

Índice de figuras

Figura 1.1 <i>Proceso de degradación mediante el proceso de glucólisis en presencia y ausencia de oxígeno (Adaptado de Datta et al., 2006)</i>	5
Figura 1.2 <i>Proceso durante la fermentación láctica (Adaptado de Datta et al., 2006)</i>	6
Figura 1.3 <i>Fundamentos de un sistema de gestión de residuos sólidos (Tchobanoglous, 1994)</i> ..	10
Fig. 1.4 <i>Rutas metabólicas de la fermentación acidogénica adaptado al enfoque de la tesis (Adaptado de Zhou et al., 2018)</i>	14
Figura 1.5 <i>Demanda de ácido láctico en diferentes sectores según los ingresos del mercado mundial del ácido láctico 2018 (Rawoof et al., 2021)</i>	37
Figura 3.1 <i>Esquema de un CSTR de contacto anaerobio (Varnero, 2011; De Mes et al., 2003)</i>	54
Figura 3.2 <i>Reactor continuo completamente mezclado (CSTR) también llamado reactor de mezcla completa con recirculación (Varnero, 2011)</i>	55
Figura 3.3 <i>Reactor de mezcla completa sin recirculación (Varnero, 2011)</i>	55
Figura 3.4 <i>Etapas operacionales del reactor anaerobio tipo batch (Varnero, 2011)</i>	59
Figura 3.5 <i>Diagrama esquemático de la planta de tratamiento mecánico-biológico en estudio (Fernández-Domínguez, et al. 2020)</i>	64
Figura 4.1 <i>Representación gráfica de la ecuación de Michaelis-Menten (Adaptado de Bisswanger, 2017)</i>	67
Figura 4.2 <i>Representación gráfica de la ecuación de Lineweaver-Burk (Adaptado de Bisswanger, 2017)</i>	69
Figura 4.3 <i>Curva de crecimiento característico del cultivo microbiano (Adaptado de Benefield et al., 1980)</i>	70

Figura 4.4 <i>Gráficas de las funciones de Monod y Haldane (Ouchtout et al., 2020).</i>	73
Figura 4.5 <i>Representación gráfica de la ecuación de Haldane comparando el comportamiento de la ecuación de Monod en función de la concentración del sustrato.</i>	74
Figura 6.1 <i>Representación gráfica de la adaptación de Stover-Kincannon a la cinética de Haldane, comparando con Monod en función de la tasa de carga orgánica.</i>	79
Figura 6.2 <i>Resultados de experimento para rendimiento específico con relación a la carga orgánica para lactato sin adición de Saccharomyces cerevisiae.</i>	81
Figura 6.3 <i>Interpretación de inhibición con resultados de Mosquera (2022) mediante modelo de Stover-Kincannon que relaciona la carga orgánica para lactato con adición de Saccharomyces cerevisiae.</i>	83
Figura 6.4 <i>Interpretación de inhibición en resultados de Mosquera (2022) mediante modelo de Stover-Kincannon que relaciona la carga orgánica para etanol con adición de Saccharomyces cerevisiae.</i>	84
Figura 6.5 <i>Interpretación de inhibición en resultados de Mosquera (2022) mediante modelo de Stover-Kincannon que relaciona la carga orgánica para acetato con adición de Saccharomyces cerevisiae</i>	85
Figura 6.7 <i>Propuesta de diagrama de proceso de la planta de tratamiento mecánico-biológico para producir y separar VFA de la FORSU (adaptado de Fernandez-Dominguez, et al., 2020).</i>	90

Nomenclatura

AAB: Bacterias de ácido acético

ABE: Acetona-butanol-etanol

AC: Contacto anaerobio

AET: Fermentación de tipo acetato-etanol

AF: Filtro anaerobio

BTF: Fermentación de tipo butirato

COD: Carga orgánica degradable

CSTR: Reactor continuo completamente mezclado

DA: Digestión anaerobia

DQO: Demanda química de oxígeno

FORSU: Fracción orgánica de residuos sólidos urbanos

FW: Residuos de alimentos

LAB: Bacterias de ácido láctico

LTF: Fermentación de tipo lactato

MAF: Fermentación de ácidos mixtos

MBT: Planta de tratamiento mecánico-biológico

OLR: Carga orgánica

ORP: Potencial de óxido reducción

PFR: Reactor de flujo pistón

PTF: Fermentación de tipo propionato

RSU: Residuos sólidos urbanos

SEMERNAT: Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales

SF: Sólidos fijos

ST: Sólidos totales

SV: Sólidos volátiles

SVS: Sólidos volátiles en suspensión

SVT: Sólidos volátiles totales

TR: Tiempo de residencia

TRH: Tiempo de retención hidráulico

TRS: Tiempo de retención de sólidos

VFA: Ácidos grasos volátiles

Introducción

Los diferentes tipos de fermentación conducen a diferentes productos, que se pueden cambiar ajustando las condiciones del proceso (temperatura, pH, el potencial de oxidación-reducción (ORP), la tasa de carga orgánica (OLR). En esta tesis se trabajará en el camino de la fermentación anaerobia, este proceso también dependerá de las características que presente la fracción orgánica de residuos sólidos urbanos (FORSU), tales como las proteínas, lípidos y carbohidratos. En comparación con otros tipos, la fermentación láctica y etanólica tiene la menor dependencia de la intervención del proceso del tratamiento. El ácido láctico y los ácidos grasos volátiles son los productos comunes, y el alto rendimiento y la alta pureza son los principales objetivos de la fermentación de la fracción orgánica de residuos sólidos urbanos (Wang et al., 2020).

Además de los parámetros operativos, se tiene que realizar el diseño adecuado de los reactores y diagramas de proceso para su aplicación. En la actualidad, los reactores de tanque de agitación continua y los procesos de una etapa se utilizan principalmente para aumentar la fermentación continua de residuos de alimentos (Wang et al., 2020).

Actualmente se desarrollan estrategias de recuperación más eficientes en función de la composición de los residuos alimentarios y la demanda del mercado. Al pasar de los años dado el agotamiento de combustibles fósiles y problemas de gestión de los desechos derivados de esta fuente de energía, ha incrementado el interés de optar por fuentes de energía renovables, refiriéndonos a la biotransformación de desechos orgánicos en productos de valor agregado. Considerando estudios recientes, la producción de biogás a través de la digestión anaerobia (AD) es una de las energías renovables que se está desarrollando, a partir de la cual se cree que se puede originar al menos una cuarta parte de toda la bioenergía (Teixeira et al. 2016).

Esta tesis estará enfocada en recuperar la fracción líquida para la producción de ácido láctico y etanol. El primero es una sustancia empleada en la conservación y procesamiento de alimentos, del cual se ha reconocido su potencial como principal materia prima química, derivada de carbohidratos renovables mediante tecnologías sostenibles, para fabricar plásticos, fibras, disolventes y productos químicos oxigenados.

Se realizará el diagrama de proceso que considere al proceso de fermentación de la FORSU, en este tren de tratamiento se tendrá que incluir el reactor, el cual será diseñado dados los resultados experimentales de fermentación, por otros autores en el grupo de trabajo, acorde a su tasa de producción y la carga orgánica aplicada en reactor de fermentación.

Objetivos y alcances

Objetivo general

Cuantificar la máxima fermentación láctica-etanólica de la fracción orgánica de residuos sólidos urbanos con respecto a masa unitaria agregada de levaduras.

Objetivos particulares

Clasificar los tipos de fermentación anaerobia de la FORSU con base en los productos.

Describir la fermentación láctica-etanólica cuando se incorporan levaduras a la FORSU.

Diseñar el diagrama de proceso de la FORSU considerando requerimientos a nivel industrial.

Determinar la mejor carga orgánica para fermentación de FORSU mediante análisis de cinética de reacción

Determinar volumen de reactor considerando como referencia una tonelada de FORSU en sitio.

Alcances

Las características de la FORSU se obtendrán de tesis previas.

Las constantes cinéticas de las reacciones de fermentación para el dimensionamiento de los reactores se obtendrán de artículos científicos y tesis previas.

Capítulo I

Antecedentes

El mundo enfrenta una grave problemática ambiental en relación con la forma en que son fabricados los medicamentos, alimentos, ropa y demás insumos básicos que requiere el ser humano, tenemos que hacer énfasis en el desarrollo sostenible, será preciso desarrollar nuevas técnicas para maximizar la recuperación de recursos de las corrientes residuales (Puyol et al., 2017).

El vertido de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos (FORSU) está restringido en muchos países debido a las preocupaciones ambientales, sociales y de salud asociadas, así como la disponibilidad de tecnologías capaces de convertir la FORSU en productos útiles (por ejemplo, biogás y composta) (Mata-Alvarez et al., 2000; Montejo et al., 2013).

Actualmente las empresas realizan un esfuerzo considerable en tecnología dado el futuro que tiene tanto para el desarrollo de productos y comercialización. Para superar las barreras para reemplazar los productos derivados del petróleo establecidos desde hace mucho tiempo, también se necesita más apoyo de las organizaciones de consumidores, reguladoras y gubernamentales (Datta et al., 2006).

El recurso a la digestión anaerobia para el tratamiento de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos (RSU) está ganando rápidamente interés en Europa. El número de plantas se ha duplicado entre 2000 y 2006 (De Baere, 2006) y la capacidad instalada ha pasado de 1 millón de toneladas anuales a casi 4 millones. La Unión Europea (UE) fijó objetivos considerables: que al menos el 20% de la energía utilizada en la UE proceda de fuentes renovables y que el 10% de los combustibles utilizados en el transporte sean biocombustibles (De Baere, 2006). En este contexto, la digestión anaerobia con valorización del biogás es una buena respuesta a los retos medioambientales de los últimos años (Chynoweth, 1996).

La digestión anaerobia permite la posibilidad de cumplir dos objetivos complementarios: el tratamiento de los RSU y la producción de energía renovable. También, con recuperación de energía se producen menos gases de efecto invernadero que la incineración (Edelmann, 2003), y los subproductos sólidos pueden compostarse y utilizarse como mejorador orgánico para la agricultura. Sin embargo, esta tecnología necesita mejorar la fiabilidad de su funcionamiento para ser más sostenible (De Baere, 2006).

Concretamente, a escala industrial, el rendimiento en relación con las características de los residuos sigue siendo difícil de predecir (Cecchi et al., 1988, Mata-Alvarez et al., 2000).

En consecuencia, pueden surgir dificultades para el dimensionamiento y el funcionamiento de los digestores industriales. Por lo mencionado, se necesitan herramientas para la investigación aplicada y fundamental en el campo de la digestión anaeróbica de los RSU con el fin de mejorar los conocimientos y esta tesis pretende profundizarlos.

La fermentación de la biomasa (término para materiales sólidos susceptibles de biodegradación) ha ganado atención considerable debido a la próxima escasez de combustibles fósiles y también a la necesidad de aumentar el suministro mundial de alimentos. Las técnicas de fermentación dan como resultado la producción de ácido láctico, dependiendo del tipo de organismo utilizado (Aksu et al., 1986) y de etanol.

En el futuro, se espera que el crecimiento de la producción de ácido láctico provenga del desarrollo de nuevos usos de gran volumen, especialmente como materia prima para polímeros biodegradables, disolventes verdes y productos químicos oxigenados. La futura disponibilidad de ácido láctico de menor coste y las crecientes restricciones medioambientales sobre la eliminación de materiales residuales pueden reabrir estos mercados para el ácido láctico (Datta et al., 2006).

Además de su valor como mercancía, los VFA pueden utilizarse directamente para apoyar otras biotecnologías, como la recuperación biológica de nutrientes, la producción de bioplásticos y el alargamiento de la cadena del compuesto orgánico (Strazzera, 2018).

1.1 Fermentación

La fermentación es el término para referirnos a la degradación de la glucosa u otros nutrientes orgánicos en condiciones anaerobias, es decir, sin oxígeno para poder obtener energía en forma de ATP, la glucosa es degradada mediante el proceso de glucólisis que dará lugar al piruvato, este piruvato puede seguir por la vía aerobia, o bien anaerobia a las fermentaciones del ácido láctico o alcohólica (ver figura 1.1).

Pasada la glucólisis el piruvato podría, en caso de presentarse las condiciones donde existe oxígeno, ser transformada en acetil-CoA para después pasar al Ciclo de Krebs donde será oxidado a CO₂ y los electrones de estas oxidaciones pasarán a la cadena de transporte de electrones de la membrana interna de la mitocondria pasando al oxígeno hasta finalmente formar agua y la energía consiguiente dado este transporte de electrones es la que produce el ATP (Datta et al., 2006). Además de este camino, también se podría presentar el caso en ausencia de oxígeno (anaerobio) donde al concluir la glucólisis, bajo condiciones anaerobias se tendría el proceso conocido como fermentación, resultando en ácido láctico o etanol (ver figura 1.1) (Ciani et al., 2008).

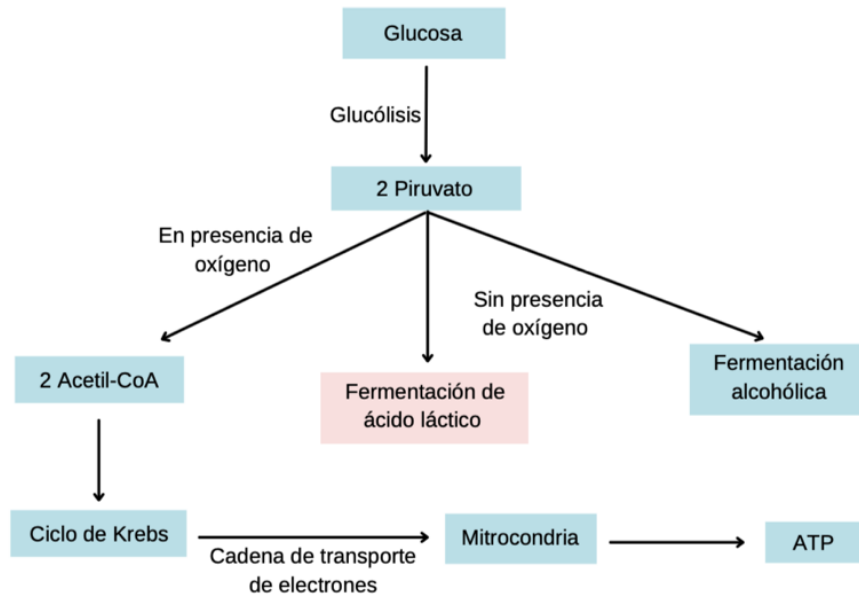


Figura 1.1 Proceso de degradación mediante el proceso de glucólisis en presencia y ausencia de oxígeno (Adaptado de Datta et al., 2006).

En condiciones aerobias, el NADH consiguiente dada la deshidrogenación de gliceraldehído-3-fosfato, se reoxidará a NAD⁺ al pasar sus electrones al oxígeno y a la respiración mitocondrial. Por el contrario, cuando las condiciones son anaerobias, donde la presencia de oxígeno es nula, el NADH producido en la glucólisis no puede ser reoxidado, si se agotara el NAD⁺ ocurriría un bloqueo ya que al no poderse generar el proceso de oxidación donde se pudieran perder los electrones, ocasionaría que se detengan las reacciones de la glucólisis que producen la energía, la falta de oxígeno ocasiona que no pueda reponerse el NAD⁺, imposibilitando la transformación del NADH a NAD⁺ en el proceso. Para lograr la reoxidación de NADH en ausencia de oxígeno, las bacterias anaerobias y facultativas llevan a cabo el proceso de fermentación (Gerardi, 2003).

Dada la última condición mencionada, un ejemplo de una solución biológica es la fermentación láctica donde la energía producida serán los 2 ATP netos de la glucólisis, siendo así un proceso alternativo para la reoxidación del NADH a NAD⁺. En esta fermentación lo que ocurre es que el piruvato generado durante la glucólisis se reduce a lactato (ácido láctico), proceso que es catalizado por la enzima lactato deshidrogenasa, se reducen las moléculas del piruvato a lactato y se regeneran las moléculas externas, es decir que no existe un cambio neto entre NAD⁺ y NADH (ver figura 1.2) (Bender, 2003).

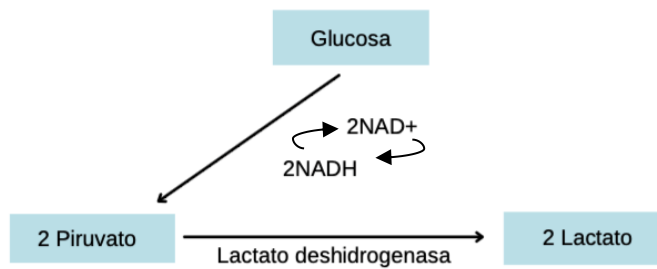


Figura 1.2 Proceso durante la fermentación láctica (Adaptado de Datta et al., 2006).

En los glóbulos rojos, que carecen de mitocondrias, la reoxidación del NADH formado en la glucólisis no puede realizarse a través de la cadena de transporte de electrones, como ocurre en otros tejidos. De manera similar, en condiciones de esfuerzo máximo, por ejemplo, en carreras de velocidad, la velocidad a la que el músculo puede absorber oxígeno es inadecuada ya que es tardada e ineficiente para generar la reoxidación de todo el NADH formado en la glucólisis (Gerardi, 2003). Para mantener la oxidación de glucosa y el rendimiento neto de 2ATP por mol de glucosa oxidada, el NADH se oxida a NAD por la reducción de piruvato a lactato (Bender, 2003).

En cuanto a la oxidación mencionada anteriormente de piruvato a acetil-CoA, el primer paso en la oxidación completa del piruvato es catalizado por el complejo multienzimático piruvato deshidrogenasa; una descarboxilación oxidativa que resulta en la formación de acetil-CoA (Bender, 2003). La oxidación implica la reducción de NAD a NADH. Dado que a partir de cada mol de glucosa se forman 2 mol de piruvato, este paso representa la formación de 2 mol de NADH, equivalente a 6ATP por cada mol de glucosa metabolizada.

También existe la fermentación alcohólica donde el piruvato dado de la glucólisis terminará fermentando a etanol y CO₂, será un proceso donde el piruvato pasará a acetaldehído por acción del piruvato carboxilasa que liberará CO₂, pasando a transformarse en etanol por acción de la enzima alcohol deshidrogenasa (Bender, 2003).

La fermentación es un paso central clave en la digestión anaerobia (productora de metano) en la que los monómeros orgánicos solubles se convierten en ácidos grasos de cadena corta, alcoholes, alcoholes de azúcar, hidrógeno y dióxido de carbono (Temudo et al., 2007).

La digestión anaerobia es un proceso de conversión por etapas en el que el material orgánico complejo, generalmente de corrientes de desechos industriales y/o municipales, se convierte en biomasa y biogás utilizando un consorcio mixto de microbios (Batstone et al., 2002).

La generación de estos productos durante la fermentación ofrece la oportunidad de producir industrialmente productos bioquímicos útiles como materia prima química para reemplazar los materiales fósiles (Angenent et al., 2004). La fermentación es un catabolismo biológico sin el uso de un aceptor de electrones externo, como podrían ser O_2 , NO_3^- o CO_2 , y normalmente se basa en reacciones de transferencia de electrones acopladas a sustratos para la generación de adenosina trifosfato (ATP) (El-Mansi et al., 2006).

El sumidero de electrones primario es el sustrato, pero el exceso de electrones puede disminuirse al reducir los protones a hidrógeno elemental. Las reacciones de oxidación proporcionan la energía potencial para generar energía celular en forma de ATP. Este proceso se conoce como fosforilación a nivel de sustrato (glucólisis y obtención de piruvato).

Las células de fermentación también pueden aprovechar la energía de la transferencia de electrones de otras maneras, incluso a través de cadenas de transporte de protones, cationes y electrones (El-Mansi et al., 2006).

1.2 Fermentaciones de interés industrial

La producción biotecnológica está basada en la fermentación de sustratos ricos en carbohidratos por bacterias u hongos y tiene la ventaja de formar enantiómeros D(-) ó L(+), ópticamente activos. La producción biotecnológica depende del tipo de microorganismo utilizado, la inmovilización o recirculación del microorganismo, el pH, la temperatura, la fuente de carbono, la fuente de nitrógeno, el modo de fermentación empleado y la formación de subproductos (Hofvendahl y Hhan-Hägerdal, 2000).

Desde hace muchos años ha existido la inquietud por el uso de bacterias lácticas en la conservación biológica de los alimentos. Estos organismos son especialmente adecuados como microorganismos antagonistas en los alimentos, ya que son capaces de inhibir otras bacterias alimentarias por diversos medios, como la producción de ácidos orgánicos, peróxido de hidrógeno o bacteriocinas (Fuller, 1989). Asimismo, su uso como probióticos, es decir, complementos dietéticos y terapéuticos, para el hombre y los animales está recibiendo una atención creciente (Juven et al., 1991).

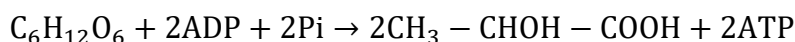
A pesar de que la producción industrial de ácido láctico se inició hace ya más de cien años, la investigación sigue aún muy activa, esto es debido básicamente a dos factores: las nuevas aplicaciones que se le han encontrado al ácido por la posibilidad que ofrece de polimerizarse y producir plásticos biodegradables; y el coste, que resulta (Agler et al., 2011).

El biogás y la composta tienen un valor de mercado relativamente bajo en comparación con otros compuestos que pueden producirse a partir de la FORSU, como los VFA (Strazzer et al., 2018).

Cuando se utilizan bacterias en la producción por fermentación, se busca que éstas sean preferiblemente termófilas, que fermenten rápida y completamente sustratos baratos, con adición mínima de nutrientes nitrogenados, que crezcan en condiciones de valores reducidos de pH, que presenten poca producción de biomasa y una despreciable cantidad de subproductos (Akerberg et al., 1998).

Dependiendo de cuales sean los productos finales de la fermentación de los hidratos de carbono las bacterias de ácido láctico se dividen en homofermentativas y heterofermentativas (Salminen, 1993).

En el metabolismo homofermentativo, se produce predominantemente ácido láctico y las bacterias utilizan las hexosas siguiendo la vía de Embden-Meyerhof; las bacterias que tienen este tipo de metabolismo son *Lb. delbruekii*, *Lb. rhamnosus*, *Lb. helveticus*, *Lb. amylovorus*; *Ped acidilactici*, *Ped. pentosaceus*, *Ped. damnosus*, *Str. salivarius*, *Lc. lactis*, entre otros (Salminen, 1993). La estequiometría, clásica de fermentación homoláctica (Salminen, 1993) es la siguiente:



La fermentación homoláctica puede, además, dar lugar a una mezcla de ácidos: a) cuando existe una concentración de glucosa limitante, b) cuando se incrementa el pH, se aumenta la temperatura o se fermentan azúcares diferentes a la glucosa. En estos casos, la diferencia radica en el metabolismo del piruvato, el cual además de producir ácido láctico produce también formiato y acetyl-CoA por la enzima piruvato formiato liasa (Hofvendahl et al., 2000).

Esta tesis está enfocada en la fermentación heteroláctica, la cual produce a partir de glucosa, cantidades equimolares de otros productos de fermentación como ácido acético, etanol y dióxido de carbono (Parés, 1997). Las bacterias que tienen este tipo de metabolismo son: *Lb. brevis*, *Lb. buchneri*, *Lb. bifidus* y todas las especies del género *Leuconostoc*. En la fermentación heteroláctica hay formación de xilulosa-5 fosfato por el sistema de la glucosa-6 fosfato deshidrogenasa (Salminen, 1993). La estequiometria heteroláctica a partir de glucosa es la siguiente:



1.3 Diagrama general de la fermentación de FORSU

La digestión anaerobia es un proceso biológico bien establecido para convertir la FORSU en metabolitos, además de otros beneficios como la reducción del volumen de residuos, la mitigación de las emisiones de gases de efecto invernadero y el control de los olores (Ward et al., 2008). Las plantas de tratamiento mecánico-biológico estabilizan la FORSU a través de la digestión anaerobia y/o el compostaje (Romero-Güiza et al., 2014).

A pesar de que la digestión anaerobia convierte efectivamente la FORSU en metano, esta misma es un sustrato ideal para producir VFA a través de la fermentación acidogénica (Capson-Tojo et al., 2016) lo que representa una oportunidad para mejorar y diversificar la economía de las plantas de tratamiento mecánico-biológico (Dahiya et al., 2018).

Las plantas de tratamiento mecánico-biológico (MBT) estabilizan la FORSU mediante digestión anaerobia y/o compostaje (Romero-Güiza et al., 2014).

La digestión anaerobia es un proceso biológico bien establecido para convertir FORSU en metano, además de otros beneficios como la reducción del volumen de desechos, la mitigación de las emisiones de gases de efecto invernadero y el control de olores (Ward et al., 2008).

En relación con la gestión integral de los residuos, se define como el conjunto articulado e interrelacionado de acciones normativas, operativas, sociales, educativas, de monitoreo, supervisión y evaluación para el manejo de residuos, abarcando desde la generación hasta la disposición final, con el fin de lograr beneficios ambientales tal y como lo es el enfoque de esta tesis, también lleva a la optimización económica durante el manejo y su aceptación social, respondiendo a las necesidades y circunstancias de la región (LGPGIR, 2003).

La gestión de residuos sólidos implica administrar todas y cada una de las acciones que se llevan a cabo desde la generación de los residuos hasta su disposición final, para reducir su costo y minimizar los impactos adversos (Rivera, 2005).

El principal objetivo de la gestión integral de los residuos sólidos es atenuar los efectos negativos sobre el medio ambiente (Durán, 2014). Para esto es importante considerar el flujo de residuos en la sociedad, la reducción de materia prima, el producto de la optimización de los procesos industriales, la disminución de la cantidad de residuos y la reutilización de materiales, así como su recuperación (Campos, 2001).

Existen seis fundamentos que forman el sistema de gestión de residuos (Tchobanoglous, 1994), los cuales se presentan a continuación:

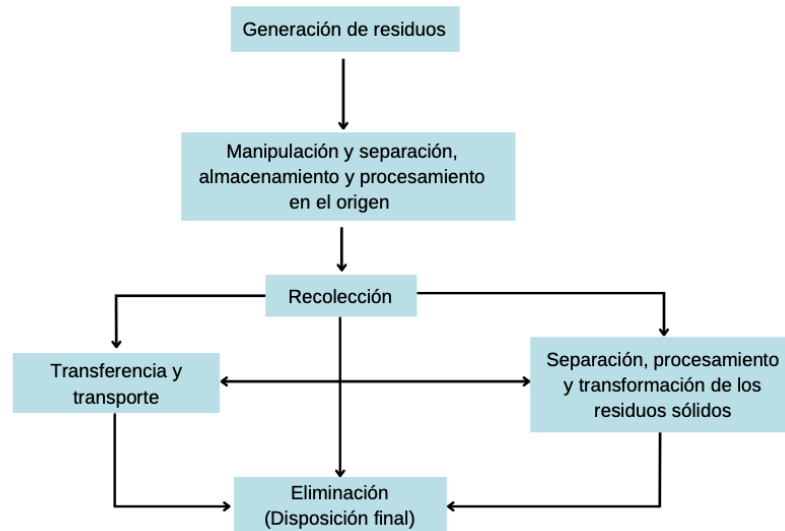


Figura 1.3 Fundamentos de un sistema de gestión de residuos sólidos (Tchobanoglous, 1994).

La generación de RSU es producida en la mayoría de las veces en los hogares, oficinas o espacios públicos y ocurre cuando los materiales son identificados como inservibles o que ya no tienen ningún valor para las actividades en las que se utilizan y son desechados o almacenados para su posterior disposición (Tchobanoglous y Kreith, 2002). De acuerdo con la SEMARNAT, en el año de 2011 se generaron alrededor de 14 millones de toneladas de RSU en México, siendo un promedio de referencia de aproximadamente 1 kg de RSU que cada habitante genera (Durán et al., 2014).

El manejo, la separación y almacenamiento de RSU en el lugar de origen engloba las actividades que inician desde la generación de los RSU hasta que se son llevados a sus respectivos depósitos para su próxima recolección. En la mayoría de los casos, el manejo de los residuos está referido al transporte de los contenedores hasta que son recolectados (Durán, 2014). La separación desde el lugar de generación es benéfica, dicha separación aborda la identificación y la clasificación manual de los residuos, transferencia y disposición final de los RSU (Tchobanoglous y Kreith, 2002).

Hoy en día, solamente la Ciudad de México es la única entidad del país cuyo reglamento sobre residuos sólidos establece la obligación de los generadores de separarlos en orgánicos e inorgánicos (Durán et al., 2014).

La recolección de RSU comprende desde el acopio de los mismos hasta su disposición final, pasando por las estaciones de transferencia, según su proceso (Tchobanoglous et al., 2002).

Datos proporcionados por la SEMARNAT señalan que durante 2011 fueron recolectadas 104,000 toneladas de RSU por día en el país mediante 14,000 vehículos recolectores (Durán et al., 2014).

Se realiza la transferencia y transporte de los residuos recolectados hacia las plantas de procesamiento y recuperación de los materiales reciclables, puede que el destino de estos residuos sea directamente a espacios de disposición final para aquellos residuos a los que no es posible darles un nuevo uso, es decir, los residuos sólidos no reciclables (Tchobanoglous et al., 2002). Existe el registro de que, en México, al menos en 2010, se contaban con 108 estaciones de transferencia y 241 centros de acopio de los residuos (Durán et al., 2014).

Los procesos para la transformación de los RSU son realizados para reducir el volumen y el peso antes de que sean llevados al sitio de disposición final, también se realizan para recuperar los productos reciclables que son llevados a plantas especializadas para cada material, es por ello que en los últimos años se han incorporado plantas para recuperar productos de conversión y energía mediante procesos químicos de combustión ó biológicos de compostaje (Tchobanoglous et al., 2002).

Esta tesis tiene, entre varios objetivos, diseñar el diagrama de proceso más adecuado para la obtención de los compuestos mencionados anteriormente, dado que, en México desafortunadamente, existe un registro muy bajo de centros para el aprovechamiento energético de la FORSU.

En nuestro país, los rellenos sanitarios son muchas veces el destino final de los residuos no reciclables, algunos residuos son separados desde la generación de los mismos o inclusive durante los procesos de manejo, separación, recolección, transferencia hasta incluso de los remanentes de las plantas de tratamiento de residuos, dado lo anterior, se tiene que tener conciencia de que relleno sanitario no es para nada factible cuando se hacen tiraderos improvisados sin control, deberá existir un método controlado de disposición de RSU (Tchobanoglous et al., 2002).

Existirá una clasificación de los RSU que estará dada por su capacidad de biodegradabilidad, dentro de los residuos rápidamente biodegradables estarán los residuos de jardín, cartón, papel de oficina, periódicos y residuos de comida. Serán lentamente biodegradables los residuos orgánicos misceláneos, la madera, cuero, goma y textiles (Tchobanoglous et al., 2002).

1.4 Composición química de la FORSU

A continuación, serán mencionadas las características de las proteínas, lípidos y carbohidratos de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos.

1.4.1 Proteínas

Estas son polímeros conformados por unidades de aminoácidos y representan casi la mitad del peso seco de la mayor parte de los microorganismos. Los aminoácidos contienen un grupo amino y un grupo carboxilo ácido, pueden asociarse entre sí las cadenas largas formando enlaces amino entre el grupo $-NH_2$ de un aminoácido y el grupo $-CO_2H$ de otro. Las cadenas con menos de 50 aminoácidos son llamadas péptidos, mientras que el término proteínas se usa para referirse a las cadenas más largas. Dada esta unión de dos aminoácidos, existe una liberación de agua (McMurry, 2008).

1.4.2 Lípidos

Estos conforman un grupo heterogéneo de sustancias de origen biológico fácilmente solubles en compuestos orgánicos como el metanol, acetona y benceno (Koolam et al, 2004). Pueden clasificarse en hidrolizables (que se descomponen ante la adición de agua) y los que no son hidrolizables (McMurry, 2008). Las grasas o triacilgliceroles, cera y éteres de esteroles forman parte de los hidrolizables, mientras que los alcoholes de cadena larga, esteroides cíclicos (como el colesterol) y esteroides (como la testosterona) forman parte de lípidos no hidrolizables (Koolam et al, 2004).

1.4.3 Carbohidratos

Estos también pueden ser llamados hidratos de carbono dada su composición química condensada es $C_nH_{2n}O_n$, donde por cada átomo de carbono hay una molécula de agua que la hidrata. Se trata de polihidroxialdehídos y polihidroxicetonas, moléculas con cadenas de carbono que contienen un grupo aldehído o cetona y varios grupos hidroxilo (Gama, 2004).

1.5 Ruta metabólica acidogénica

La fermentación acidogénica de desechos alimenticios se lleva a cabo a través de una serie de reacciones químicas catalizadas por diferentes enzimas.

Existen diferentes caminos dentro del digestor de la fermentación anaerobia que desempeñan un papel crucial en el rendimiento del sistema y la recuperación de recursos (Chen et al., 2013).

En la red de vías metabólicas acidogénicas, el piruvato es el punto de control central que se puede convertir en una amplia gama de productos como mezcla de ácidos grasos volátiles (acetato, propionato y butirato), solventes (etanol, propanol, butanol), de tipo láctico, tipo propiónico, H_2 y CO_2 (Chen et al., 2013). De la misma fuente, se sostiene que las vías metabólicas presentes en el reactor acidogénico juegan un papel vital en la determinación de la eficiencia de conversión general de residuos de alimentos (FW).

Las proporciones de piruvato dirigidas a cada vía dependen del sustrato utilizado, las condiciones ambientales y las propiedades de las cepas. Por lo general, las distribuciones de los principales productos solubles reflejan las vías metabólicas prevaletes (Chen et al., 2013).

Con base en la distribución de los principales productos líquidos, las vías metabólicas acidogénicas generalmente se clasifican como tipo acetato-etanol, tipo propionato, tipo butirato, ácido mixto y vía metabólica de tipo lactato (Chen et al., 2013).

La fermentación acidogénica es el paso en el proceso de digestión anaeróbica donde los monómeros solubles se convierten principalmente en ácidos grasos de cadena corta. La tecnología de fermentación promueve la acumulación de VFA (ácido acético, propiónico, y butírico), ácido láctico y/o alcoholes al inhibir la etapa de metanogénesis del proceso de digestión anaeróbica (Chen et al., 2013).

Durante el proceso también hay que mencionar que la temperatura es un factor, mientras más baja sea esta, la fermentación láctica puede no ser tan eficiente si no hay suficientes sustratos fácilmente degradables, pero más adelante será mencionado este factor de la DA. Si la fermentación se desarrolla a temperaturas más bajas, el metabolismo bacteriano se ralentiza hasta un punto en el que no se puede lograr la hidrólisis. Es fundamental que la temperatura no se convierta en un obstáculo para la hidrólisis y que se pueda producir ácido láctico como clave para la conservación del sustrato (Teixeira et al. 2016).

En la figura 1.4 se destacan las fermentaciones más comunes a partir de la glucosa (carbohidrato solubilizado de la FORSU):

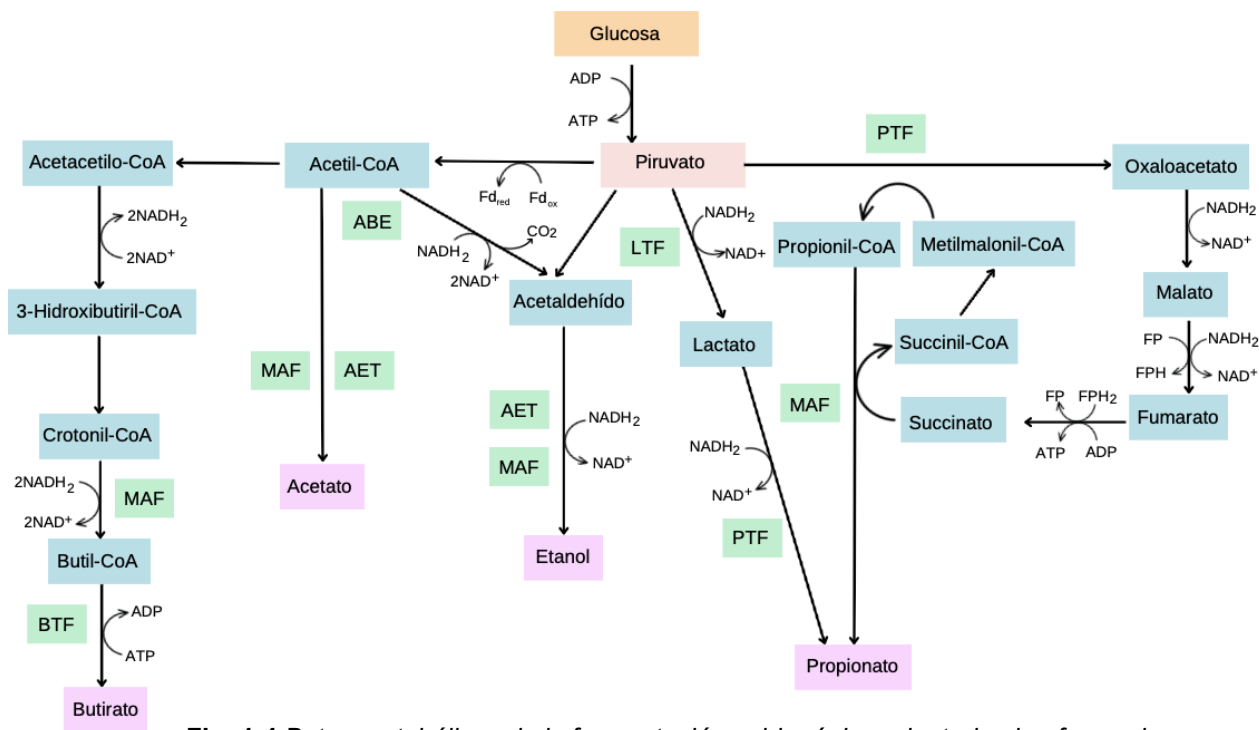


Fig. 1.4 Rutas metabólicas de la fermentación acidogénica adaptado al enfoque de la tesis (Adaptado de Zhou et al., 2018) (ver página de Nomenclatura).

1.6 Hidrólisis de macromoléculas en glucosa

La hidrólisis es el primer paso necesario para la digestión anaerobia de sustratos orgánicos complejos. Por tanto, es el proceso de hidrólisis el que proporciona sustratos orgánicos para la digestión anaerobia. La hidrólisis de estas moléculas complejas es llevada a cabo por la acción de enzimas extracelulares producidas por microorganismos hidrolíticos (Varnero, 2003), la materia orgánica polimérica no puede ser utilizada directamente por los microorganismos a menos que se hidrolicen en compuestos solubles que puedan atravesar la pared celular.

En esta fase, las moléculas orgánicas complejas y no disueltas como los carbohidratos, grasas y proteínas, se rompen en compuestos más simples, como podrían ser aminoácidos, ácidos grasos, alcoholes e incluso azúcares, por medio de la acción de las enzimas extracelulares secretadas por algunos microorganismos como lo son las amilasas, las celulasas, proteasas y lipasas (Schnürer et al., 2010).

Los autores mencionan que, en cuanto a los compuestos solubles, estos se transportan a través de una pared celular, así la etapa hidrolítica puede ser el proceso limitante de la velocidad global del proceso sobre todo cuando se tratan residuos con alto contenido de sólidos.

Además, la hidrólisis depende de la temperatura del proceso, del tiempo de retención hidráulico, de la composición bioquímica del sustrato (porcentaje de lignina, carbohidratos, proteínas y grasas), del tamaño de partículas, del nivel de pH, de la concentración de NH_4^+ y de la concentración de los productos de la hidrólisis (Varnero, 2003).

Es esta la primera etapa de la degradación de moléculas orgánicas que son absorbidas y usadas como sustrato por microorganismos, dado su tamaño grande. En la hidrólisis, las moléculas orgánicas complejas y no disueltas (grasas, proteínas y carbohidratos) se rompen en compuestos más simples (azúcares, aminoácidos, ácidos grasos) dada la acción de las enzimas extracelulares que liberan algunos microorganismos (celulasas, amilasas, proteasas, lipasas (Schnürer et al., 2010).

A continuación, se muestran las enzimas y el respectivo sustrato sobre el cual actúan, así como los productos finales de cada uno:

Tabla 1.1 Grupos de enzimas hidrolíticas y sus funciones (Schnürer et al., 2010).

Enzimas	Sustrato	Productos finales
Proteinasas	Proteínas	Aminoácidos
Celulasas	Celulosa (componentes importantes de plantas, se encuentran en frutas, granos, vegetales)	Celobiosa y glucosa
Hemicelulosas	Hemicelulosa (componentes importantes de plantas, se encuentran en frutas, granos, vegetales)	Azúcares como glucosa, xilosa, manosa y arabinosa
Amilasas	Almidón	Glucosa
Lipasas	Grasas	Ácidos grasos y glicerol.
Pectinasas	Pectina (se encuentra principalmente en frutas, tienen estructura compleja)	Azúcares como galactosa, arabinosa y ácido poligalacturónico

1.7 Parámetros que modifican la digestión anaerobia

Una vez planteadas las rutas de fermentaciones, a continuación, se describen los parámetros que modifican o alteran el proceso, el impacto de cada uno de estos factores y su interacción en el rendimiento y el perfil de VFA. Esta distribución de ácidos en la mezcla de VFA es un tema que actualmente se continúa investigando.

1.7.1 Temperatura

Los procesos anaerobios, al igual que muchos otros sistemas biológicos, son fuertemente dependientes de la temperatura. La velocidad de reacción de los procesos biológicos depende de la velocidad de crecimiento de los microorganismos involucrados que a su vez, dependen de la temperatura. A medida que aumenta la temperatura, aumenta la velocidad de crecimiento de los microorganismos y se acelera el proceso de digestión, dando lugar a mayores producciones de biogás (Varnero, 2011).

Temperatura de operación

La temperatura de operación del digestor es considerada uno de los principales parámetros de diseño, debido a la gran influencia de este factor en la velocidad de digestión anaerobia. Las variaciones bruscas de temperatura en el digestor pueden disparar la desestabilización del proceso. Por ello, para garantizar una temperatura homogénea en el digestor, es imprescindible un sistema adecuado de agitación y un controlador de temperatura (Varnero, 2011).

Además, la temperatura afecta directamente la energía de activación de una biorreacción, así como la termodinámica del equilibrio (Bakoyianis et al., 1997). Como se muestra en estudios sobre la producción de etanol con *S. cerevisiae*, el consumo total de sustrato, así como el rendimiento y la tasa de producción de etanol aumentan con el aumento de la temperatura, mientras que el rendimiento de subproductos volátiles disminuye con el aumento de la temperatura (Galanakis et al., 2012).

En un experimento se obtuvo una mayor tasa de fermentación con el aumento de la temperatura con cultivos mixtos, sin embargo, las respuestas de los productos individuales (VFA y H₂) se basaron más en el pH que en la temperatura (Batstone et al., 2002).

En general, las reacciones oxidativas (que producen hidrógeno como producto reducido) se ven favorecidas a alta temperatura sobre las reacciones reductoras (Batstone et al., 2002).

Así, de acuerdo con los principios de la fermentación anaerobia y con la mayoría de los resultados observados en la bibliografía, es necesario mantener temperaturas relativamente bajas para tener una fermentación más restringida. Sin embargo, en algunos casos puede ser necesario un cierto nivel de temperatura para superar la barrera inicial de hidrólisis con el fin de obtener una fermentación láctica eficiente.

Generalmente se acepta que la hidrólisis en condiciones termófilas incluye procesos fisicoquímicos y enzimáticos, mientras que en condiciones mesófilas y psicrófilas, la hidrólisis se lleva a cabo principalmente por procesos enzimáticos (Lee et al., 2014).

La temperatura afecta el crecimiento de microorganismos, las actividades de enzimas y la hidrólisis de materia orgánica particulada a sustancias solubles (Kim et al., 2003). La condición mesófila (35°C) se considera la temperatura favorable más eficiente y económica para la producción de VFA, ya que el rendimiento de VFA fue mayor a esta temperatura o similar a la de temperaturas más altas (Jiang et al., 2013). Pero cuando se consideró la composición de los VFA, la temperatura óptima fue diferente.

El acetato y el propionato fueron los ácidos más predominantes generados a 35 °C y 45 °C durante la fermentación de FW, mientras que el butirato fue el principal producto, representando el 81 % de todos los productos cuando la temperatura aumentó a 55 °C, seguido por el acetato y el propionato (Jiang et al., 2013). Se encontraron resultados similares al investigar el efecto de tres temperaturas diferentes en la hidrólisis y acidificación de FW, en el que la producción de ácido butírico fue mayor a 55°C que a 70°C y 35°C (He et al., 2012).

La temperatura es un factor operativo determinante para controlar el rendimiento y el perfil de los VFA debido a su impacto en los procesos bioquímicos (por ejemplo, tasas metabólicas, actividad enzimática, tasas de crecimiento y descomposición de los microorganismos) y fisicoquímicos (por ejemplo, tasas de transferencia de masa, solubilidad del gas, equilibrio químico).

Es importante destacar que la temperatura es una de las variables del proceso más fáciles de manipular y que las plantas MBT equipadas con digestión anaerobia tienen un exceso de calor (Lim et al., 2008).

La temperatura de fermentación para el digestato de esta tesis buscará:

- Maximizar la producción de VFA.
- Proporcionar un perfil adecuado de VFA.
- Minimizar la acumulación a DQO soluble distinta de VFA (es decir, una alta relación $DQO_{VFA}/sCOD$).
- Evitar la conversión de VFA en metano y, para algunas aplicaciones.
- Limitar la cantidad de nitrógeno amoniacal en el licor de fermentación.

Tolerancia de microorganismos a la temperatura

Las bacterias se reproducirán siempre y cuando la temperatura del ambiente se encuentre dentro del rango que delimita su crecimiento, los microorganismos se dividen en mesófilos, termófilos e hipertermófilos (Atlas, 2002). Los rangos de temperatura mencionados, en donde pueden trabajar los microorganismos anaerobios (ver tabla 1.2) son los siguientes:

Tabla 1.2 Rangos de temperatura y tiempo de fermentación anaerobia (Lagrange, 1979).

Fermentación	Mínimo	Óptimo	Máximo	Tiempo de fermentación
Psicrófila	4 a 10 °C	15 a 18 °C	20 a 25 °C	Sobre 100 días
Mesófila	15 a 20 °C	25 a 35 °C	35 a 45 °C	30 a 60 días
Termófila	25 a 45 °C	50 a 60 °C	75 a 80 °C	10 a 15 días

Cada microorganismo posee cierta tolerancia ante la temperatura, este intervalo será en el cual puedan presentar sus tasas más elevadas de crecimiento, dependerá de cada tipo de microorganismo el intervalo al cual pudieran desarrollarse, siendo esto, cada uno de ellos ejercerá una función distinta en el ecosistema (Atlas et al., 2002). A continuación, se muestran las temperaturas óptimas de algunos microorganismos (ver tabla 1.3):

Tabla 1.3 Temperaturas de crecimiento de especies representativas de bacterias y arqueas que participan en el proceso de digestión anaerobia (Atlas et al., 2002).

Microorganismo	T mínima de crecimiento (°C)	T máxima de crecimiento (°C)
<i>Micrococcus</i>	-8	25
<i>Escherichia coli</i>	7	41
<i>Vibrio cholerae</i>	11	41
<i>Bacillus subtilis</i>	15	50
<i>Bacillus coagulans</i>	25	65
<i>Bacillus stearothermophilus</i>	30	70
<i>Methanococcus voltae</i>	25	50
<i>Methanococcus thermolithotrophicus</i>	30	70
<i>Methanococcus igneus</i>	40	95
<i>Methanococcus jannaschii</i>	50	95

Dentro de cada rango de temperatura, existe un intervalo para el cual dicho parámetro se hace máximo, determinando así la temperatura de trabajo óptima en cada uno de los rangos posibles de operación (Varnero, 2011).

El impacto de la temperatura en la fermentación de FORSU no ha sido ampliamente investigado ya que la mayoría de los estudios han llevado a cabo la fermentación acidogénica en condiciones mesófilas (35°C) o termófilas (55°C) (Dahiya et al., 2015; Kim et al., 2011; Wang et al., 2014).

Entre los estudios que han investigado la fermentación de FORSU a diferentes temperaturas, Jiang et al. (2013) informaron de un rendimiento máximo de VFA a 45°C (0.44 g de VFA/g de VS), seguido de 35°C (0.38 g de VFA/g de VS) y 55°C (0.14 g de VFA/g de VS). Sin embargo, Lim et al. (2008) informaron de un mayor rendimiento de VFA a 35 °C (0.35 g COD_{VFA}/g VS) que a 45°C (0.29 g COD_{VFA}/g VS) y 25 °C (0.25 g COD_{VFA}/g VS).

Komemoto et al. (2009), que llevaron a cabo fermentaciones de 15 a 65°C con incrementos de 10°C, concluyeron que a 35 y 45°C se obtienen mayores rendimientos de VFA que a temperaturas psicrófilas y termófilas.

Las condiciones mesófilas (35 a 45°C) han proporcionado rendimientos de VFA más altos que las condiciones psicrófilas y termófilas; sin embargo, el grado de mejora varía entre los estudios (Fernandez-Dominguez et al., 2020), además, el autor expone que no existe una tendencia clara con respecto al impacto de la temperatura en el perfil de los VFA.

El ácido acético, propiónico y butírico son los principales VFA de la fermentación acidogénica de la FORSU independientes de la temperatura (Cheah et al., 2019, Garcia-Aguirre et al., 2017, Jiang et al., 2013). Las condiciones mesófilas parecen generar un licor de fermentación con una mayor proporción de VFA, mientras que las condiciones termófilas conducen a un licor de fermentación enriquecido en ácido acético y butírico (Bolzonella et al., 2005, Jiang et al., 2013, Lim et al., 2008, Moretto et al., 2019). No obstante, el impacto de la temperatura de fermentación en el perfil de VFA requiere más investigación, especialmente ahora que los VFA se consideran un precursor ideal para aplicaciones de biorrefinería.

1.7.2 Alcalinidad y pH

La calidad del digestato está dada por el proceso de digestión y por los residuos utilizados para la alimentación del digestor, regularmente, el pH en el digestato es alcalino (Makádi et al., 2012). Para la FORSU, la acumulación de VFA se promueve sobre otros productos de fermentación (lactato y etanol) cuando el pH de fermentación es superior a 5.5 (Strazzera et al., 2018).

El pH de los residuos incrementa durante el proceso de la DA dependiendo de la calidad de la materia prima, este aumento se debe a la formación de carbonato de amonio $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ (Georgacakis et al., 1982).

Bajo condiciones de sobrecarga orgánica y en presencia de inhibidores, la actividad microbológica no puede convertir el hidrógeno y los ácidos orgánicos tan rápido como son producidos, generando acumulación de estos ácidos, disminuyendo la capacidad amortiguadora del medio y consecuentemente, el pH (Durán et al., 2014).

El pH afecta la disociación de los grupos funcionales de carboxilo y amino en la cadena de las moléculas proteínicas, para que se lleve a cabo la actividad catalítica, las enzimas deberán encontrarse en un estado de disociación (Gerardi, 2003).

Los microorganismos no pueden tolerar valores extremos de pH, ya que, en condiciones alcalinas ó ácidas, algunos componentes microbianos se hidrolizan o puede que algunas enzimas se desnaturalicen (Gerardi, 2003).

Algunos valores de pH resultarán más adecuados para la actividad de algunas enzimas específicas, puede depender de otros factores, uno de ellos podría ser la concentración de sal. Los valores extremos de pH desnaturalizan la mayoría de las proteínas irreversiblemente (Atlas et al., 2002).

Valores óptimos de pH para fermentación heteroláctica

Los niveles óptimos de pH para la actividad de los microorganismos acidogénicos se encuentran entre 5.5 y 6.5, el pH óptimo para los cultivos mixtos se encuentra en un intervalo entre 6.8 y 7.4, ya que se encuentra en un intervalo neutral (Gerardi, 2003).

Para la FORSU, la acumulación de VFA se promueve sobre otros productos de fermentación (lactato y etanol) cuando el pH de fermentación es superior a 5.5 (Strazzer et al., 2018).

Frecuentemente en los procesos anaerobios cabe la posibilidad de la disminución de pH dado que se podrían presentar acumulaciones de VFA e inclusive una excesiva acumulación de CO₂, una solución a esto es reducir la carga orgánica volumétrica hasta el punto en el cual los VFA se consuman con mayor velocidad que la de su producción. Una vez que el exceso de VFA se ha agotado, el pH del sistema retorna a los intervalos de operación normal (Durán et al., 2014).

A pesar de lo mencionado anteriormente, existen microorganismos que podrían sobrevivir a niveles bajos de pH como consecuencia de la descomposición de los residuos, ya que, en la mayoría de las ocasiones, comienza antes del proceso de fermentación, generando la formación de ácidos que disminuyen el nivel de pH.

Nivelación de pH en el digestor

En la práctica, para poder mantener un nivel óptimo de pH en los digestores, es necesaria la adición de alcalinidad utilizando sustancias (ver tabla 1.6.1) las más comunes son el bicarbonato de sodio (NaHCO₃), hidróxido de sodio (NaOH), carbonato de sodio (Na₂CO₃), hidróxido de amonio (NH₄OH), hidróxido de potasio (KOH) ó carbonato de calcio (CaCO₃). En la mayoría de los casos se añade la primera mencionada dada su baja toxicidad y alta solubilidad (Vernero, 2011).

Tabla 1.4 *Compuestos comúnmente utilizados para la adición de alcalinidad (Gerardi, 2003).*

Compuesto	Fórmula	Catión amortiguador
Bicarbonato de sodio	NaHCO ₃	Na ⁺
Bicarbonato de potasio	KHCO ₃	K ⁺
Carbonato de sodio	Na ₂ CO ₃	Na ⁺
Carbonato de potasio	K ₂ CO ₃	K ⁺
Carbonato de calcio	CaCO ₃	Ca ²⁺
Hidróxido de calcio	Ca(OH) ₂	Ca ²⁺
Amoniaco	NH ₃	NH ₄ ⁺
Nitrato de sodio	NaNO ₃	Na ⁺

Relación de pH con el metabolismo

El pH de los medios afecta el grado de disociación de los ácidos orgánicos producidos por las células (Rodríguez et al., 2006), el mismo autor planteó la hipótesis de que el grado de disociación afecta la cantidad de ATP que una célula debe gastar en mantenimiento. Los ácidos orgánicos no disociados (que se forman a un pH bajo) se difunden pasivamente en la célula, lo que requiere una mayor tasa de transporte activo que consume ATP para eliminar los productos ácidos.

Es posible que este mayor uso de energía indique a las células que cambien su modo principal de generación de ATP de la vía del acetato a la vía del butirato que produce menos ATP a pH bajo (Hoelzle et al., 2014).

La producción de butirato tiene un impacto reducido en el pH por mol de glucosa debido a la estequiometría de la reacción. Por tanto, reduce el gasto energético del transporte activo (Hoelzle et al., 2014).

El cambio metabólico de acetato a butirato ha sido bien documentado en cultivos mixtos (Lu et al., 2011; Temudo et al., 2007). Sin embargo, también se ha informado que los cultivos mixtos responderán a un pH bajo aumentando el etanol de pH neutro y manteniendo la generación de ATP a través de la producción de acetato (Ren et al., 1997).

1.7.3 Cantidad de sólidos totales (ST)

Toda la materia orgánica está compuesta de agua y una fracción sólida llamada sólidos totales (ST). El porcentaje de sólidos totales contenidos en la mezcla con que se carga el digestor es un factor importante a considerar para asegurar que el proceso se efectúe satisfactoriamente (Varnero, 2011).

La composición de la carga orgánica (OLR) está dada por agua y una fracción sólida que en la mayoría de las veces predomina la cantidad de ST. El porcentaje de sólidos en el sustrato que abastecerá al digestor es un factor que tomar en cuenta para que el proceso se efectúe con éxito, dado que la movilidad de los microorganismos que participan en el proceso se ve limitada a medida que aumenta el contenido de sólidos, lo que afecta la eficiencia del mismo proceso (Durán et al., 2014).

Experimentalmente se ha demostrado que una carga en digestores semicontinuos no debe tener más de un 8% a 12 % de sólidos totales para asegurar el correcto funcionamiento del proceso, a diferencia de los digestores discontinuos, que tienen entre un 40 a 60% de sólidos totales. Para calcular el volumen de agua que se debe mezclar con la materia prima para dar la proporción adecuada de sólidos totales, es necesario conocer el porcentaje de sólidos totales de la FORSU (Varnero, 2011).

1.7.4 Carga orgánica (OLR)

Está dada por la masa de los ST, SV, DQO que se agrega por día a una unidad de volumen del digestor (Rowse, 2011), a continuación, la ecuación de la OLR:

$$OLR = Q \left(\frac{C_{SV}}{V} \right)$$

Donde:

Q : Flujo volumétrico de entrada, m^3/d

C_{SV} : Concentración de sólidos volátiles, $kg\ SV/m^3$

V : Volumen activo del reactor (en estado líquido y/o sólido), m^3

La carga orgánica o sólidos volátiles (SV) se refiere a la parte de la materia seca (MS) o sólidos totales (ST), que se volatilizan durante la incineración a temperaturas superiores a 550°C. Según los requerimientos operacionales para un reactor anaerobio, el contenido de MS no debe exceder el 10 % de la mezcla en la mayoría de los casos. La eficiencia del proceso dependerá generalmente expresando el volumen de producción por unidad de peso de MS o SV (Varnero, 2011).

Velocidades de OLR en la fermentación

La fermentación anaerobia requiere un cierto rango de concentración de MS que es muy amplio, regularmente va del 1% al 30% (Rapport et al., 2008).

La OLR (carga orgánica) óptima dependerá también de la temperatura, la siguiente tabla muestra las OLR, según el intervalo de temperatura (Lagrange, 1979), las cargas mínima y máxima por tipo de sustrato, considerando DA semiseca a aquella cuyo contenido de ST está entre el 15% y 20%.

Tabla 1.5 Cargas orgánicas típicas en sistemas de digestión anaerobia de una etapa (Rapport et al., 2008).

Temperatura	Sustrato	Tipo	OLR _{min} (kg SVm ⁻³ d ⁻¹)	OLR _{max} (kg SVm ⁻³ d ⁻¹)
Mesofílica	Separado mecánicamente	Seca	6	9
		Semiseca	6	8
		Húmeda	2.6	4
	Industria alimenticia	Seca	4	6
		Semiseca	3	4
	Residuos residenciales	Seca	4	6
Húmeda		3	4	
Termofílica	Separado mecánicamente	Seca	9	15
		Semiseca	6	20
	Industria alimenticia	Seca	6	9
	Residuos residenciales	Seca	4	6
		Semiseca	8	12

Tasa de carga orgánica aplicada en el digestor

Esta especificación afecta en gran medida al diseño del digestor anaerobio, en particular al volumen del digestor, y de hecho al rendimiento global del proceso. La tasa de carga es un parámetro importante porque indica la cantidad de sólidos volátiles (SV) que deben introducirse en el digestor cada día (Mattocks, 1984).

Los SV representan la parte de los sólidos de materia orgánica que pueden ser digeridos, mientras que el resto de los sólidos es fijo. Los sólidos fijos (SF) y una parte de los SV no son biodegradables. La tasa de carga real depende de los tipos de residuos introducidos en el digestor (Mattocks, 1984), ya que los tipos de residuos determinan el nivel de actividad bioquímica que se producirá en el digestor.

Las grandes variaciones en la composición del flujo entrante y las cargas orgánicas pueden alterar el equilibrio entre la fermentación ácida y la metanogénesis en los procesos anaerobios (Tchobanoglous, 2003).

En el caso de los sustratos solubles y fácilmente degradables, como los azúcares y los almidones solubles, las reacciones acidogénicas pueden ser mucho más rápidas con cargas elevadas y pueden aumentar las concentraciones de VFA e hidrógeno del reactor y disminuir el valor del pH. La tasa de carga también afecta a la relación alimento-microbios (F/M) (Kiely, 1998).

El sistema alcanza el equilibrio cuando los sustratos alimenticios y los microorganismos que los consumen están en equilibrio. Cuando se desequilibra, puede haber demasiado sustrato o muy poco, o demasiados organismos o muy pocos. Cualquiera de estas situaciones desestabilizaría el proceso: el parámetro de equilibrio es la relación F/M (Hilkiah, 1998).

1.7.5 Tamaño de la partícula

La fermentación por DA está claramente afectada por el tamaño de partícula de la materia prima, ya que interfiere en la cinética de hidrólisis de sustratos complejos (Weiland, 2010).

Normalmente, la producción de metabolitos se ve favorecida por la reducción del tamaño de partícula, principalmente debido al aumento del área superficial específica disponible y a la reducción tanto del grado de polimerización como de la cristalinidad de la celulosa (Agbor et al., 2011).

Se espera una influencia idéntica cuando se trata de ensilaje, ya que la reducción del tamaño de las partículas puede conducir a una fermentación más rápida de las LAB y, por lo tanto, a menores pérdidas de materia orgánica. En la cosecha, el corte como tratamiento mecánico reduce el tamaño de las partículas para mejorar la manejabilidad del material de cultivo y para mejorar las condiciones del proceso en el ensilado y la alimentación (Herrmann et al., 2012).

Al reducir el tamaño de las partículas mecánicamente, la degradación se acelera en los primeros días debido a que algunas veces se incrementa la solubilidad y la disponibilidad

del material orgánico (Deublein et al., 2008). Cuanto más pequeñas sean las partículas, mayor será el área superficial en el cual las bacterias podrían actuar sobre el sustrato, en esta acción, cabe la posibilidad de que los microorganismos segreguen enzimas y se absorban los productos que resultan del proceso catalítico, de manera simultánea. De este modo, el rendimiento de biogás será mayor y sin necesidad de triturar.

El aumento del área de contacto se logra mediante un proceso de reducción de tamaño de la partícula de los reactivos, ya sea por trituración o molienda (Durán et al., 2014). Este parámetro se tomará en cuenta para el diseño del tren de tratamiento.

1.7.6 Tiempo de retención (TR)

En la operación del digestor se tiene que establecer el tiempo de retención adecuado, la determinación de este tiempo estará dado según las condiciones del sustrato, el tipo de operación y del digestor seleccionado en el diseño del tren de tratamiento. La descomposición en la fermentación anaerobia es realizada con un mayor tiempo de retención en el sistema, aumentando este tiempo, se elevaría el grado de degradación de la materia orgánica (Al Seadi et al., 2008).

Tiempo de retención hidráulico (TRH)

Este tiempo está referido al tiempo promedio que un sustrato reside en el digestor, este será igual al volumen dividido entre el caudal de entrada por día (Burke, 2001):

$$TRH = \frac{V}{Q}$$

Donde:

V : Volumen del digestor, m³

Q : Caudal de entrada en el digestor, m³/s

El TRH será proporcional al tamaño del digestor, en caso de que se considere un TRH alto, tendrá que aumentar el tamaño del digestor y viceversa (Durán et al., 2014). Reduciendo el TRH reducirá el tamaño del digestor, por lo que se requerirá una menor inversión.

Intervalo de TRH por sustrato, tipo y temperatura del reactor

Cuando es corto, se da lugar a una producción de gas con mayor rapidez por unidad de volumen del reactor, pero deberá considerarse que, de ser el caso, se tendrá un menor rendimiento por unidad de masa del sustrato, reflejándose en una menor degradación de la materia orgánica (SV ó DQO), en caso de que se requiera una fácil degradación, un TRH corto será el apropiado (Vaertero, 2011).

Tabla 1.6 *Tiempos de retención típicos en sistemas de una etapa (Rapport et al., 2008).*

Temperatura	Sustrato	Tipo	TRH _{min} (d)	TRH _{máx} (d)
Mesofílica	Separado mecánicamente	Seca	17	30
		Semiseca	15	20
		Húmeda	14	30
	Industria alimenticia	Seca	17	25
		Semiseca	12	14
	Residuos residenciales	Seca	15	25
Húmeda		14	30	
Termofílica	Separado mecánicamente	Seca	12	20
		Semiseca	6	15
	Industria alimenticia	Seca	12	16
	Residuos residenciales	Seca	12	16
		Semiseca	12	14

El TRH para el tratamiento de residuos sólidos orgánicos varía de 3 a 55 días, dependiendo del tipo de biomasa, la temperatura de operación, la CO, las etapas para las que se configuran los digestores, el TRH más común oscila entre los 10 y 25 días, pero podría ser mayor (Schnürer et al., 2010).

El tiempo de retención hidráulico, junto con la velocidad de carga orgánica determinada por el tipo de sustrato, son los principales parámetros de diseño, definiendo el volumen del digestor. La materia orgánica o sólidos volátiles (SV) se refiere a la parte de la materia seca (MS) o sólidos totales (ST), que se volatilizan durante la incineración a temperaturas superiores a 550°C (Vaertero, 2011).

Tiempo de retención de sólidos (TRS)

Este parámetro está dado por la relación entre la cantidad de MO o de SV que hay en el digestor y la cantidad que sale de este. En reactores continuos completamente mezclados (CSTR) y reactores de flujo pistón (PFR) sin recirculación tendrán el TRH y el TRS idénticos (Varnero, 2011), solamente en los casos donde se presente recirculación de los sólidos será cuando estos tiempos sean independientes entre sí.

El tiempo de retención de sólidos es el factor más importante cuando se pretende mantener al sistema estable (Burker, 2001), este parámetro se calcula de la siguiente manera:

$$TRS = \frac{V(C_d)}{Q_w(C_w)}$$

Donde:

V : Volumen del digestor, m^3

C_d : Concentración de sólidos en el digestor, kg_d/m^3

Q_w : Caudal diario del lodos a la salida del digestor, m^3/d

C_w : Concentración de los sólidos a la salida, kg_w/m^3

1.7.7 Agitación

También llamado mezclado, facilita el consumo de los metabolitos que se produjeron por las bacterias más comunes mencionadas anteriormente, el mezclado busca la integración del sustrato fresco con la población bacteriana y también evitar que se forme una costra dentro del digestor. Busca uniformizar la densidad bacteriana y evitar la formación de espacios vacíos donde no se genere actividad biológica que podría reducir el volumen efectivo del reactor, también pretende prevenir la formación de espumas y la sedimentación en el reactor (Vernero, 2001).

Si el digestor tiene una adecuada agitación, se logrará una correcta distribución de las bacterias, de los sustratos y nutrientes, también permitirá mantener una temperatura homogénea dentro del reactor, minimizando el asentamiento de las fracciones pesadas y la formación de capas que pudieran disminuir la eficiencia del proceso (Deublein et al., 2008).

El mezclado debe de ejecutarse siguiendo las siguientes recomendaciones (Deublein et al., 2008):

- El biogás deberá removerse correctamente del reactor.
- Las capas flotantes y de fondos deberán ser destruidos.
- Se deberán evitar gradientes de temperaturas, ya que se traducen en una menor eficiencia de reacción.
- Se tiene que mezclar el sustrato fresco con el sustrato degradado para inocular la materia fresca con microorganismos activos.
- No deberá alterarse la simbiosis de los microorganismos acetogénicos.
- La agitación deberá de ser suave, pues con agitaciones fuertes, los microorganismos tienden a destruirse, esto va a prevenir además la formación de espuma debido a la gasificación.

Control de la agitación en el proceso

Como se mencionó anteriormente, deberá controlarse la velocidad con la que se mezcla, si la agitación es realizada a una velocidad muy alta, se verán alteradas las relaciones microbianas, en cambio, si la velocidad es demasiado baja, es probable que se creen gradientes de temperatura, una transferencia baja de biogás desde el lodo hacia la fase gaseosa y existirá una conglomeración de sólidos (Al Seadi et al., 2008).

Se ha encontrado que una velocidad de mezclado de manera constante en los digestores de 100 rpm mejora la estabilidad en el arranque del proceso y únicamente aumenta el rendimiento del biogás a concentraciones de ST mayores al 10% (Ghanimeh et al., 2012).

El mezclado puede realizarse con agitadores mecánicos, con la recirculación de lodos e incluso con inyección de biogás (Endar, 2009). Es recomendable, entonces, que la agitación se realice de manera constante para poder lograr una degradación positiva de los SV.

El mezclado mecánico requiere de mantenimiento continuo dado que se acumulan sólidos en la superficie del equipo (Gerardi, 2003).

La selección del tren de tratamiento, de la frecuencia e intensidad de la agitación tendrá que contemplar que el proceso anaerobio incluye un equilibrio simbiótico entre diferentes tipos de bacterias, en caso de que se presente la ruptura de dicho equilibrio donde el metabolito de un grupo específico servirá de alimento para el siguiente, implicará una merma en la actividad biológica y la consecuente reducción en la producción de biogás (Varnero, 2011).

La agitación aumentará la producción de gas en el proceso y una disminución en el TRH dado que se presentará una distribución de la temperatura, distribución de los productos, también por el contacto entre el substrato y las bacterias, lo que evita la formación de cúmulos alrededor de las bacterias (Atlas et al., 2002).

Finalmente, también se conserva el TRH dado que se evita la acumulación del lodo en la parte superior del digestor, lo que dificultaría la salida del biogás (Varnero, 2011).

La agitación mecánica se realiza manualmente o con motores eléctricos, la hidráulica es ejecutada mediante bombas de flujo lento que recircula la biomasa. Por último, el burbujeo de biogás hace que este mismo recircule desde el fondo del digestor, esta agitación requiere de instalación de tubería para poder generar el burbujeo (Varnero, 2011).

1.7.8 Inhibidores en la fermentación

El propósito del uso de inhibidores es preservar, en la medida de lo posible, el material original, evitando su degradación en compuestos indeseables y, posteriormente, minimizando las pérdidas de materia seca y energía. Su modo de acción implica la inhibición de la actividad biológica de los microorganismos degradantes mediante la disminución del pH. Se aplican principalmente en forma de ácidos minerales y orgánicos. Dentro de estos grupos de compuestos, el ácido sulfúrico y fórmico son los más utilizados, respectivamente. En cuanto a los estimulantes, los inhibidores de la fermentación a menudo se comercializan como una mezcla de compuestos. En este caso particular, es habitual combinar ácidos con características de inhibición de la fermentación (Muck, 1988).

La digestión anaerobia es sensible a varios factores ambientales y a algunos grupos de inhibidores, como los receptores de electrones (oxígeno, nitratos, sulfatos), los sulfuros, los metales pesados, los hidrocarburos halogenados, los ácidos orgánicos volátiles, el amoníaco y algunos cationes (Atlas et al., 2002).

La presencia intermitente de los inhibidores microbianos que se encuentran en la corriente líquida después de la separación del digestato podría ocasionar alteraciones en el sistema incluyendo el escenario donde se detenga el proceso.

El efecto tóxico de los componentes inhibidores dependerá de la concentración que presenten, así como de la habilidad que tengan las bacterias para poder adaptarse a las condiciones generadas (Atlas et al., 2002).

La magnitud de la inhibición dependerá de diferentes variables, del pH, la temperatura, el tiempo de residencia del sustrato, así como de la relación de la concentración de las sustancias tóxicas en la concentración de las bacterias (Durán et al., 2014).

Al planificar y operar una planta de biogás, debe tenerse en cuenta que algunos compuestos que se forman, aunque sea en forma limitada, como productos del metabolismo de la degradación anaerobia, inhiben la biocenosis e incluso pueden ser tóxicos a niveles más altos de concentraciones (Deublein et al., 2008).

Concentraciones de inhibidores

La inhibición depende de la concentración de los inhibidores, la composición del sustrato y la adaptación de las bacterias al inhibidor. Las bacterias anaerobias necesitan una baja concentración de inhibidores como oligoelementos. Degradan un alto porcentaje del inhibidor. En cuanto su efecto sobre el proceso anaerobio, la literatura muestra comentarios contradictorios, esto es porque los microorganismos se adaptan a su entorno, la rapidez con que se produce la adaptación depende de la composición de los organismos (Deublein et al., 2008).

Existe una variedad de desechos orgánicos e inorgánicos que podrían generar la inhibición en el proceso de la digestión anaerobia, sin embargo, los organismos pueden soportar valores de concentración altos de sustancias inhibitoras al adaptarse a las nuevas condiciones (Gerardi, 2003).

Los valores de la toxicidad están clasificados por diferentes factores (Gerardi, 2003):

- La capacidad de un microorganismo para adaptarse a concentraciones constantes de la sustancia tóxica.
- La ausencia o presencia de otras sustancias contaminantes.
- Cambios en las condiciones operacionales.

Existen contaminantes que pueden encontrarse en detergentes domésticos y en compuestos orgánicos antropogénicos complejos, pero los tres más comunes son el amoníaco, el sulfuro de hidrógeno y los metales pesados (Durán et al., 2014).

Los detergentes domésticos contienen tensoactivo laurilsulfato de sodio (SLS), provocando que las paredes celulares de los organismos se rompan. En cuanto a los compuestos orgánicos antropogénicos se incluyen a los disolventes y a los plaguicidas ya que se encuentran clorados o contienen cianuros (Gerardi, 2003).

El mismo autor realizó la siguiente lista donde se mencionan las concentraciones de sustancias inorgánicas más comunes que resultan perjudiciales en el proceso de la digestión anaerobia:

Tabla 1.7 Valores perjudiciales de algunas sustancias inorgánicas y orgánicas (Gerardi, 2003).

Sustancias inorgánicas		Sustancias orgánicas	
Sustancia	Concentración (mg/L) en la entrada al biodigestor	Sustancia	Concentración (mg/L) en la entrada al biodigestor
Amoniaco	1,500	Alcohol alílico	100
Arsénico	1.6	Alcohol octílico	200
Boro	2	Acrilonitrilo	5
Cobre	1 a 10	Benzidina	5
Cianuro	4	Cloroformo	10 a 16
Hierro	5	Tetraclorocarbono	10 a 20
Magnesio	1,000	Cloro metileno	100 a 500
Sodio	3,500	1,1,1-Tricloroetano	1
Sulfuro	50	Triclorofluorometano	20
Zinc	5 a 20	Triclorotrifluorometano	5

Efectos de los inhibidores en el proceso

Los inhibidores tienen diferentes efectos, dependiendo de si fluyen de forma intermitente o continua; daño reversible en el caso de una sola adición breve, el daño irreversible se desarrolla solo si el tiempo de exposición es demasiado largo y las concentraciones son demasiado altas.

Estos no pueden penetrar muy rápidamente en la biopelícula si se utilizan fermentadores con biomasa fija en lugar de fermentadores convencionales con menor concentración de biomasa o biomasa inmovilizada (Deublein et al., 2008).

El efecto de diferentes inhibidores se ve afectado por otros componentes; así, por ejemplo, el efecto de restricción de los metales pesados se ve afectado por cualquier anión presente al mismo tiempo, ya que los metales pueden precipitarse (Deublein et al., 2008).

Por otro lado, una concentración de iones de sulfuro demasiado alta puede incluso tener un efecto tóxico, dependiendo de la temperatura. Por lo tanto, la reducción de un contaminante mediante la adición de un material que actúe en su contra puede ser problemática debido a las diferentes interacciones (Deublein et al., 2008).

1.7.9 Potencial de óxido reducción como indicador del proceso

El potencial de óxido reducción (ORP) es un indicador que muestra la diferencia de potencial formada por una sustancia que pasa del estado reducido al estado oxidado, este valor se mide a partir del punto 0 arbitrario del valor del electrodo normal de hidrógeno (Durán et al., 2014).

Es la tendencia de un compuesto a adquirir electrones, por lo tanto, se requieren dos compuestos para que ocurra una reacción de oxidación-reducción, durante la cual el compuesto reductor dona electrones al compuesto oxidante.

Cada par redox tiene su valor ORP intrínseco, cuanto mayor sea la afinidad por los electrones, mayor será el ORP de un par redox (Liu et al., 2011). El mismo autor explica que las reacciones de oxidación-reducción ocurren simultáneamente dentro de las células en la fermentación anaerobia para la producción de etanol o butanol, lo que hace que la detección de ORP en el entorno extracelular sea un indicador del resultado neto del metabolismo intracelular dominado por la transferencia de electrones y el balance redox.

En la fermentación, el ORP indica el resultado neto de los metabolismos intracelulares dominados por la transferencia de electrones y el equilibrio redox, y el ORP extracelular puede afectar la proporción intracelular de la forma reducida y oxidada del dinucleótido de nicotinamida y adenina (NADH/NAD⁺). El ORP es capaz de cambiar la dirección de las reacciones cambiando la proporción de NADH/NAD⁺, lo que determina las actividades de las enzimas dependientes de NADH o NAD⁺ (Liu et al., 2011).

La capacidad que tiene un organismo para llevar a cabo estas reacciones dependerá del estado de óxido-reducción del ambiente, algunos microorganismos pueden estar en ambientes oxidados y otros solo pueden estar en ambientes reducidos (Atlas et al., 2002).

En comparación con el valor de pH que proporciona información de los protones, el ORP representa las actividades de los electrones. Por lo tanto, el ORP es más sensible a los cambios delicados del metabolismo intracelular (Liu et al., 2011).

1.8 Metabolitos a nivel industrial

A continuación, se explicarán las aplicaciones más relevantes de la literatura científica en relación con los metabolitos en estudio, el ácido láctico y el etanol, así como de los ácidos grasos volátiles de esta tesis: ácidos acético, propiónico y butírico.

1.8.1 Ácido láctico

El ácido láctico puede ser obtenido por vía química ó biotecnológica (Chang et al., 1999). La producción química, está basada en la reacción de acetaldehído con ácido cianhídrico (HCN) para dar lactonitrilo, el cual puede ser hidrolizado a ácido láctico; otro tipo de reacción se basa en la reacción a alta presión de acetaldehído con monóxido de carbono y agua en presencia de ácido sulfúrico como catalizador (Lipinsky et al., 1986). La síntesis química tiene la desventaja que el ácido láctico producido es una mezcla de D y L ácido láctico ópticamente inactivo (Litchfield, 1996). Por medio de este, el 90% del ácido láctico producido en el mundo es elaborado por vía biotecnológica (Hofvendahl et al, 2000).

En la actualidad, con el desarrollo y la comercialización de los biopolímeros, el uso del ácido láctico ha aumentado considerablemente y se calcula que el 20-30% de la producción de 2005 se destina a estas nuevas aplicaciones (Datta et al., 2006).

El ácido láctico, ácido 2-hidroxipropanoico, es un compuesto muy versátil utilizado en las industrias química, farmacéutica, de alimentos y del plástico (Suriderp, 1995).

Fue descubierto en 1780 por el químico sueco Scheele, quien lo aisló de leche agria, fue reconocido como producto de fermentación por Blondeaur en 1847 y tan solo en 1881, Littlelon inicia la fermentación a escala industrial (Parés et al., 1997).

Es un ácido orgánico natural que puede producirse por fermentación o por síntesis química, está presente en muchos alimentos de forma natural o como producto de la fermentación microbiana in situ, como el suero de leche, los panes de masa fermentada y muchos otros alimentos fermentados. El ácido láctico es también un intermediario metabólico principal en la mayoría de los organismos vivos, desde los procariotas anaeróbicos hasta los seres humanos (Datta et al., 2006).

También tiene un carbono asimétrico lo cual da lugar a actividad óptica. Existen dos isómeros ópticos, el D(-) láctico y L(+) láctico y una forma racémica constituida por fracciones equimolares de las formas L(+) y D(-). A diferencia del isómero D(-), la configuración L(+) es metabolizada por el organismo humano (Suriderp, 1995).

Tanto las dos formas ópticamente activas como la forma racémica se encuentran en estado líquido, siendo incoloros y solubles en agua. En estado puro son sólidos altamente higroscópicos de punto de fusión bajo, el cual es difícil de determinar debido a la extrema dificultad de producirlo anhidro; es por esta razón que se manejan rangos de 18- 33°C (Hofvendahl et al., 2000).

Aunque el ácido láctico es omnipresente en la naturaleza y se ha producido como subproducto de la fermentación en muchas industrias (por ejemplo, el licor de maíz, un subproducto principal de la industria de la molienda húmeda de maíz de varios millones de toneladas al año contiene aproximadamente un 25% de ácido láctico con base en sólidos secos), no ha sido un producto químico de gran volumen (Datta et al., 2006).

El punto de ebullición del producto anhidro esta entre 125-140°C (Suriderp, 1995). Ambas formas isoméricas del ácido láctico pueden ser polimerizadas y se pueden producir polímeros con diferentes propiedades dependiendo de la composición (Naitove, 1998).

Bacterias de ácido láctico (LAB)

Las bacterias del ácido láctico tienen requerimientos nutricionales complejos debido a su limitada habilidad para sintetizar aminoácidos y vitamina B (Niel et al., 1999) por lo tanto ellas se encuentran en la naturaleza en ambientes nutricionalmente ricos, por ejemplo, en un medio con disponibilidad que contenga aminoácidos (Chopin, 1993).

La mayoría de LAB producen únicamente una forma isomérica de ácido láctico; las formas isoméricas de lactato deshidrogenasa presente en las LAB determinan el isómero de ácido láctico producido, ya que la deshidrogenasa láctica es esteroespecífica; las especies de los géneros *Aerococcus*, *Carnobacterium*; *Enterococcus*, *Vagococcus* y *Tetragenococcus* producen únicamente isómeros L, mientras las especies del género *Leuconostoc* producen únicamente isómeros D (Salminen, 1993).

Sin embargo, algunas LAB producen formas racémicas donde el isómero predominante depende de cambios en la aireación, cantidad de NaCl, tipo de fermentación, incrementos en el pH y concentración de sustrato (Hofvendahl et al., 2000).

Las bacterias que pueden utilizarse para la producción de ácido láctico son cocos y bacilos Gram positivos, anaerobios facultativos, no esporulados, inmóviles y catalasa negativo, pertenecientes a los géneros *Lactobacillus* (Lb), *Carnobacterium*, *Leuconostoc* (Leu), *Pediococcus* (Pd), *Streptococcus* (Str), *Tetragenococcus*, *Lactococcus* (Lc), *Vagococcus*, *Enterococcus* (Ent), *Aerococcus* y *Weissella* (Castillo et al., 2013).

La mayoría de las especies pertenecientes a estos géneros tienen alta tolerancia a pH por debajo de 5. Esta tolerancia ácida les da ventajas competitivas sobre otras bacterias; la temperatura óptima de crecimiento varía entre géneros y está en un rango de 20°C a 45°C (Hofvendahl et al., 2000).

Las bacterias lácticas desempeñan un papel esencial en la conservación y producción de alimentos sanos. Por lo general, las fermentaciones lácticas son de bajo costo y a menudo se requiere poco o ningún calor para su preparación. Por lo tanto, son eficientes desde el punto de vista del combustible (Van Leeuwenhoek, 1983). Los alimentos fermentados con ácido láctico desempeñan un papel importante en la alimentación de la población mundial en todos los continentes.

A medida que aumente la población mundial, se espera que la fermentación del ácido láctico sea aún más importante en la conservación de verduras, frutas, cereales y legumbres frescas para alimentar a la humanidad (Van Leeuwenhoek, 1983).

El ácido láctico y sus derivados como sales y ésteres son ampliamente utilizados en la industria alimenticia, química, farmacéutica, del plástico, textil, la agricultura, alimentación animal entre otros (Chan-Blanco et al., 2003).

El ácido láctico tiene diversos usos dado que tiene propiedades acidulantes por lo que el sector de los alimentos y bebidas lo requiere en la fabricación de refrescos, dulces, productos lácteos, entre muchos otros productos (Boonmee, 2003).

Se requiere de igual forma en el sector de belleza ya que al tener capacidad de retención de agua es utilizado para la elaboración de humectantes, también se usa como rejuvenecedor dado que el ácido láctico frena el desarrollo de tirosinasa (Kourkoutas et al., 2004) (ver gráfica 1.8.1).

También es usado para fabricar productos de limpieza, disolventes, desincrustantes y como agentes de liberación lenta de ácidos. En cuanto al sector médico es utilizado para fabricar ungüentos y lociones. Se utiliza en la generación de productos químicos oxigenados como ésteres de acrilato, óxido de propileno e intermedios químicos como plastificantes de éster de lactato (Olszewska-Widdrat et al., 2019).

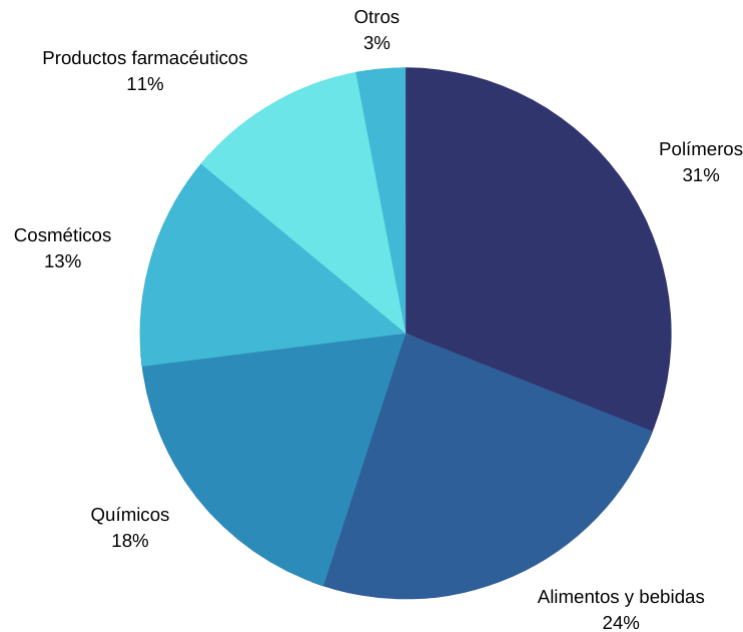


Figura 1.5 Demanda de ácido láctico en diferentes sectores según los ingresos del mercado mundial del ácido láctico 2018 (Rawoof et al., 2021).

La separación continua del ácido láctico del medio de fermentación, permite obtener las más altas concentraciones de este. Referente a los microorganismos utilizados, en la mayoría de los casos, las cepas que dan altas concentraciones y rendimientos dan altas productividades. Por otro lado, la inmovilización de las células no siempre incrementa el rendimiento y la productividad en ácido láctico (Hofvendahl et al., 2000).

La temperatura de fermentación también tiene influencia en la producción de ácido láctico, también será mencionado este factor más adelante. La temperatura que da la más alta productividad es en algunos casos inferior a la temperatura que da la más alta concentración y rendimiento en ácido láctico (Rawoof et al., 2021).

1.8.2 Etanol

El etanol no sólo es un importante material industrial, sino también un prometedor combustible. Se estima que la demanda mundial de bioetanol podría superar los 125-130 mil millones de litros en 2020 (Niphadkar et al., 2018)

El mismo autor explica que la producción industrial de etanol a partir de materiales orgánicos suele contener tres pasos: la hidrólisis (que convierte las materias primas en glucosa), la fermentación del etanol (que convierte la glucosa en etanol y CO₂) finalizando con la separación y purificación del etanol por destilación.

El etanol se utiliza como aditivo de la gasolina y se mezcla con toda la gasolina que se vende en Estados Unidos y Canadá. En 2016, la producción de etanol en Canadá era de aproximadamente 1,800 millones de litros (USDA, 2013). Esta producción está repartida por todo el país.

La bibliografía reciente que examina la estructura y el crecimiento de la industria del etanol es amplia y varía en cuanto a ubicación, alcance y metodología. Algunos estudios anteriores relacionados con este tema se han basado en métodos de programación matemática para identificar las ubicaciones óptimas de las plantas de etanol tanto en Estados Unidos como en Canadá (Peluso et al. 1998, Taylor et al., 2010, Keng et al. 2010, Wang et al. 2015), mientras que otros análisis han utilizado aplicaciones de sistemas de información geográfica (SIG) para predecir la ubicación de las nuevas plantas de etanol, sobre todo en función de la disponibilidad de materias primas (Eathington et al., 2007; Wilson 2009).

1.8.3 Ácidos grasos volátiles

Los ácidos grasos volátiles (VFA) como fuentes de carbono potencialmente renovables, tienen diversas aplicaciones, como la eliminación biológica de nitrógeno (Lim et al., 2006), la producción de biodiésel (Fei et al., 2011), la generación de electricidad a través de celdas de combustible microbianas y síntesis de polímeros complejos (Chen et al., 2013).

En la actualidad, los VFA y sus derivados se utilizan ampliamente en las industrias alimentaria, textil, farmacéutica, del cuero y del plástico (den Boer et al., 2016). Además de los VFA, el gas hidrógeno también se produce en el proceso de acidogénesis (Kim et al., 2011), que se conoce como una energía ideal, limpia y renovable debido a que solo se genera agua después de su combustión oxidativa (Guo et al., 2010).

La concentración de VFA, productos intermedios mayoritarios del proceso anaerobio, es uno de los parámetros que más eficazmente pueden indicar la evolución del proceso. En los VFA se incluyen principalmente ácidos acético, propiónico y butírico (que se describirán más adelante) y en menores cantidades ácidos isobutírico, valérico, isovalérico y caproico (Hofvendahl et al., 2000).

La presencia de los VFA es también un parámetro muy utilizado en procesos de este tipo debido a su rápida respuesta ante variaciones del sistema. El término “volátil” se refiere a que pueden ser recuperados por destilación a presión atmosférica. Durante la degradación anaerobia, la materia orgánica compleja es hidrolizada y fermentada en compuestos de bajo peso molecular, esto incluye a los ácidos grasos de cadena corta (Varnero, 2011).

Cuando la relación simbiótica entre acidogénicos y metanogénicos se rompe, los VFA se acumulan. La inhibición de los metanogénicos debido a la toxicidad (sulfuro, amoníaco, metales pesados, compuestos orgánicos sintéticos), cambios en las condiciones ambientales o limitación de nutrientes pueden generar la acumulación de acetato e hidrógeno (Varnero, 2011). Un aumento en la concentración de ácidos volátiles en el sistema, implica una desestabilización del proceso y, en consecuencia, una disminución de la producción de biogás.

Además de su valor comercial, los VFA se pueden utilizar directamente para respaldar otras biotecnologías, como la recuperación biológica de nutrientes, la producción de bioplásticos y la elongación de cadenas (Battista et al., 2020, Cerda et al., 2019, Peces et al., 2020).

Ácido acético

El grupo de bacterias capaces de oxidar el etanol a ácido acético se denomina bacterias del ácido acético (AAB) (Beijerinck, 1898). Están muy extendidas en la naturaleza y desempeñan un papel importante en la producción de alimentos y bebidas, como el vinagre (Yetiman et al., 2015).

La capacidad de oxidar el etanol en ácido acético también permite el crecimiento indeseado de las AAB en otras bebidas fermentadas, como el vino, la sidra, la cerveza y las bebidas funcionales y no alcohólicas, causando un sabor agrio indeseable (Adachi et al., 1978). Estas bacterias también se utilizan en la producción de otros productos metabólicos, como el ácido glucónico y la celulosa bacteriana, con posibles aplicaciones en la industria alimentaria y biomédica.

La clasificación de los AAB en distintos géneros ha sufrido varias modificaciones en los últimos años, basadas en características morfológicas, fisiológicas y genéticas (Okumura et al., 1985).

Ácido propiónico

Se destaca la importancia de las bacterias del ácido propiónico (PAB) para la industria alimentaria y la producción de queso en particular. Además, se revisan los métodos de cultivo, detección y recuento, incorporando la taxonomía actual, así como el potencial de las aplicaciones de rutina (Bücher et al., 2021).

En el siglo pasado, la mayor parte de la investigación se refería a los efectos de las PAB en la producción de queso y a la cuestión de la taxonomía (Hettinga et al., 1972). Virtanen dirigió su atención más hacia la comprensión de los mecanismos químicos de la fermentación del ácido propiónico, y en 1928, Van Niel reconoció ocho especies después de revisar trabajos anteriores y elaborar sus propias investigaciones (Stackebrandt et al., 2006). Sin embargo, la mayor contribución en la investigación de las capacidades fermentativas de las PAB fue realizada por Wood y Werkman, y aún hoy en día, la vía metabólica de la reducción de piruvato a propionato se conoce como el ciclo de Wood-Werkman (Thierry et al., 2011).

Ácido butírico

El ácido butírico tiene muchos usos en diferentes industrias, y actualmente existe un gran interés por utilizarlo como precursor de los biocombustibles (Demirbas, 2009).

Como es uno de los biocombustibles más prometedores para sustituir a la gasolina en el futuro, en estos días se presta mucha atención al biobutanol (Ebert, 2008).

Su uso principal es como disolvente industrial, pero también ofrece varias ventajas sobre el etanol como combustible para el transporte. Además, el butanol es menos volátil que el etanol, puede sustituir a la gasolina en los motores de combustión interna sin ninguna modificación mecánica, no atrae el agua como el etanol, por lo que puede transportarse por las tuberías existentes, no es miscible con el agua y es menos sensible a las temperaturas más frías (Ebert, 2008).

Capítulo II

Características de la FORSU

La fermentación heteroláctica se compone de los siguientes procesos: Hidrólisis de macromoléculas, consumo de sustratos de la fermentación (productos solubilizados) producción de ácido láctico, VFA y acetato; con excepción del acetato los otros metabolitos pueden ser consumidos en reacciones acetogénicas (productora de acetato).

La rapidez de la reacción, la calidad y cantidad de lactato y etanol generados dependerán del tipo de sustrato que ingrese a la fermentación (Gerardi, 2003).

Dependerá de las características que presente la FORSU la rapidez de la reacción, la hidrólisis de carbohidratos se lleva a cabo rápidamente en unas cuantas horas, mientras que en la hidrólisis de proteínas y lípidos se podrían requerir días (Deublein et al., 2009), los mismos autores dicen que, en el caso de la lignina y lignocelulosa, éstas se degradan lenta e incompletamente, dado esto, requieren de algún pretratamiento para lograr una degradación parcial.

Todos los tipos de biomasa se pueden utilizar como sustratos en la fermentación, ya que los distintos tipos de residuos orgánicos contienen carbohidratos, proteínas y grasas, así como minerales, patógenos y otras sustancias más (Gerardi, 2003).

Las variaciones de los rendimientos de los productos se deberán a las características del sustrato, a la temperatura de la digestión y al pretratamiento en los casos donde se les dé. Los residuos alimenticios, por ejemplo, no siempre tienen la misma composición, varía con la fuente de generación y la época del año en que son recolectados (Schnürer et al., 2010).

2.1 Composición de los sustratos

Cada tipo de residuos presenta diferentes características y composición, incluso en el mismo tipo de residuos, provocando que se presenten distintos rendimientos y calidades de lactato y etanol (Schnürer et al., 2010).

Según la composición de los sustratos, los productos intermedios de la descomposición también pueden limitar o inhibir la degradación, así, por ejemplo, la degradación de las grasas puede dar lugar a ácidos grasos, que limitan la degradación posterior (Schnürer et al., 2010).

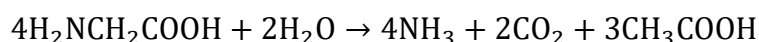
Con la descomposición de las proteínas, la fermentación del lactato y etanol puede verse restringida por la formación de amoníaco y sulfuro de hidrógeno. A continuación se presentan los casos cuando los sustratos se encuentran ricos en proteínas, carbohidratos o lípidos.

2.1.1 Sustratos con abundancia de proteínas

Las proteínas son ricas en energía en comparación con los carbohidratos. Como lo revisamos anteriormente, están compuestas por cadenas de aminoácidos, cuando está cadena cuenta con menos de 50 aminoácidos, se les denomina con el nombre de péptidos (McMurry, 2008), algunas proteínas contienen en su estructura algunos carbohidratos, éstas son llamadas glicoproteínas, las cuales son encontradas en las membranas celulares y corresponden al 80% de su peso (Schnürer et al., 2010).

En el proceso de DA, las proteínas son transformadas en aminoácidos, que se degradan para dar paso a grupos de aminas que liberan nitrógeno como amoníaco (NH₃) o amonio (NH₄⁺), estos se encuentran en equilibrio, en caso de que sea presentado un exceso de alguno de ellos, podrían inhibir el proceso (Batstone et al., 2000).

Generalmente, en la degradación de proteínas da como resultado al amoníaco, CO₂ y ácidos orgánicos, a continuación, se muestra un ejemplo dado por el autor citado, en la formación de un aminoácido (Batstone et al., 2000):



La hidrólisis de proteínas podría limitar el proceso y dependerá de la facilidad para degradar su estructura. Las proteínas son fácilmente hidrolizables, mientras que las proteínas fibrosas son difíciles de degradar (Batstone et al., 2000).

2.1.2 Sustratos con abundancia de carbohidratos

Durante la fermentación existe una variación en cuanto a los carbohidratos dado que estos se digieren a diferentes velocidades, la velocidad dependerá del tamaño que tenga la cadena (Deublein et al., 2008).

Los autores, (Deublein et al., 2008) mencionan que, en el caso de los azúcares, estos se degradan fácilmente y con rapidez, pero, si estos azúcares se presentan en abundancia a digerir, la concentración de ácidos puede aumentar significativamente e inhibir la producción de lactato y etanol, esto sucede dado que la hidrólisis de estos azúcares sucede rápidamente.

Dentro de los carbohidratos, la celulosa es el compuesto orgánico más común de la tierra, ya que lo podríamos encontrar en todas las plantas, este es un polisacárido de cadena extensa y estable, su degradación es tardada y difícil (Schnürer et al., 2010).

Son varios azúcares que componen a los polisacáridos, estos tienen baja solubilidad y son digeridos con menor velocidad, el más común en los residuos de los hogares es el almidón, este polisacárido es encontrado en la papa, en pastas y en el arroz (Schnürer et al., 2010).

2.1.3 Sustratos con abundancia de lípidos

La composición de las grasas dependerá del origen de estas, su estructura general consiste en una molécula de glicerol a la cual se le unen diferentes ácidos grasos de cadena larga por medio de un éster o éter (McMurry, 2008).

La hidrólisis de los lípidos es catalizada por las enzimas triacilglicerol éster hidrolasas, que también se les conoce como lipasas. Una característica de las lipasas es que estas enzimas incrementan su actividad con las grasas solubles en comparación con las grasas insolubles, esto quiere decir que hay presencia de mucha actividad cuando la concentración de triglicéridos alcanza la saturación y forma una segunda fase (Batstone et al., 2000).

Algunos residuos ricos en lípidos son aquellos que provienen de cocinas, desechos de la industria láctea y hasta de aceites, solamente que al degradarse forman ácidos grasos que podrían ser inhibitorios para algunos organismos cuando son acumulados, normalmente sucede más en los ácidos de cadena larga ya que son lentos de degradar (Gerardi, 2003). Algunos ejemplos dados son los ácidos láurico, oleico, cáprico, entre otros más.

2.2 Nutrientes de la FORSU

Los nutrientes de los organismos que se ven involucrados en el proceso de fermentación los clasificaremos como macronutrientes y micronutrientes:

2.2.1 Macronutrientes

Estos son requeridos por todos los organismos, su necesidad en el proceso anaerobio es menor que en relación a los procesos aerobios (Gerardi, 2003), esto se debe a que la producción de biomasa en el proceso anaerobio es menor para una misma cantidad de sustrato.

En los sistemas microbiológicos, el nitrógeno se encuentra disponible como nitrógeno amoniacal ($\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$) y el fósforo como ortofosfato (PO_4^{-3}), estos nutrientes, al igual que con las demás, son aprovechados por las bacterias en solución acuosa (Durán et al., 2014).

La cantidad requerida de estos macronutrientes para satisfacer la actividad bacteriana y que en ella se pueda mantener un rendimiento aceptable en el digestato, puede ser determinada de dos maneras (Gerardi, 2003):

- Calcular la cantidad de nutrientes que deberán estar presentes en la alimentación del digestor, es decir, en el sustrato, y de ser necesario, adicionarlos en la alimentación.
- Calculando las concentraciones residuales de los nutrientes en el efluente del reactor de fermentación, en caso de que no se consigan las concentraciones deseadas será necesario añadirlos al sustrato.

Dicho lo anterior, se tiene que controlar la cantidad de nutrientes, de forma que se asegure el mínimo recomendado en relación con el porcentaje de DQO que ingresa al reactor.

Por ejemplo, en el caso que se requiera aumentar la cantidad de nitrógeno, por lo regular se utiliza el cloruro de amonio, amoniaco y urea. Para incrementar el fósforo se utilizan sales de fosfatos o ácido fosfórico (Durán et al., 2014).

Tabla 2.1 Cantidad de macronutrientes necesarios en digestores anaerobios (Gerardi, 2003).

Macronutriente	Mínimo recomendado (% de DQO)
Nitrógeno	3 - 4
Fósforo	0.5 - 1

2.2.2 Micronutrientes

Los microorganismos tienen diversos sistemas enzimáticos, es por ello que requieren de micronutrientes, específicamente de cobalto, níquel y azufre (Gerardi, 2003).

En relación con el cobalto (Co), este es requerido por ser un activador del sistema enzimático en los organismos que participan en el proceso, la incorporación de este en el sistema enzimático aporta una mejoría en la eficiencia en la conversión de metabolitos (Gerardi, 2003). En cuanto al hierro (Fe), el autor (Gerardi, 2003) redacta que éste se encuentra en altas concentraciones durante la fermentación, es por ello que es complicado que los organismos lo asimilen fácilmente, a menos de que este se encuentre en una solución.

El níquel es uno de los requerimientos, pero solamente para los organismos metanogénicos, por lo que no será requerida su participación en este proceso, ya que no es esencial para el crecimiento de todas las bacterias, sin embargo, la adición de Ni puede aumentar la conversión de acetato a metano (Gerardi, 2003).

El sulfuro será la principal fuente de azufre (S) para algunos organismos, para que este pueda ser asimilado por los organismos, este debe estar presente como sulfuro de hidrógeno no ionizado (H_2S), cuando el pH es encontrado en concentraciones entre 6.8 y 6.9, será cuando se presente esta forma de sulfuro, es decir, en el intervalo de pH donde usualmente operan los digestores (Atlas et al., 2002). Este es considerado como micronutriente, pero es importante tener en consideración que en altas concentraciones podría provocar la intoxicación del sistema.

Tabla 2.2 Cantidad de micronutrientes necesaria en digestores anaerobios (Gerardi, 2003).

Micronutriente	Mínimo recomendado (% de DQO)
Azufre	0.2
Hierro	0.2
Cobalto	0.01
Níquel	0.001

Existen otros nutrientes como el bario (Ba), calcio (Ca), magnesio (Mg) y sodio (Na), con la incorporación de micronutrientes en los sistemas enzimáticos es necesaria para tener una buena degradación del sustrato, así como una eficiente operación del digestor (Atlas et al., 2002).

2.3 Caracterización de fracciones de la FORSU en Ciudad de México

Para la caracterización, se utilizó la FORSU de la Ciudad de México, considerando que los recortes de jardín y los desechos del mercado están permitidos como parte de la muestra (Figueroa-Escamilla et al., 2021). Los materiales inorgánicos y los plásticos se separaron a mano y se descartaron.

El autor explica la forma de muestreo y conservación de la FORSU, la cual se realizó en un día en el que se recogen los residuos orgánicos clasificados en origen. Considerando que entre 380 y 450 camiones descargan diariamente residuos sólidos en la estación de transferencia de Coyoacán, se seleccionaron aleatoriamente once camiones y, de cada uno, se separaron y mezclaron minuciosamente aproximadamente 100 kg; de la cantidad resultante, se apartaron 200 kg siguiendo el método (Figueroa-Escamilla et al., 2021).

2.3.1 Método de caracterización

El método empleado fue el ASTM D5231-92, 2016: Método de prueba estándar para la determinación de la composición de los residuos sólidos urbanos no procesados. Este método describe el procedimiento para medir la composición de los RSU que no fueron procesados por medio de la clasificación manual. Este método de prueba se aplica a la determinación de la composición media de los RSU basada en la recogida y clasificación manual de una serie de muestras de residuos durante un período de tiempo seleccionado que abarca un mínimo de una semana (ASTM, 2016).

El método ASTM requiere (Gidarakos et al., 2005):

- Se utilicen criterios estadísticos para determinar el número de muestras.
- El muestreo de vehículos sea aleatorio y se realice durante un período de 5 a 7 días.
- La muestra inicial pese aproximadamente cuatro veces la submuestra que se va a clasificar.

También, incluye procedimientos para la recolección de una muestra representativa de residuos no procesados, la clasificación manual de los residuos en componentes individuales, la reducción de datos y la comunicación de los resultados. Es aplicable para vertederos de residuos, instalaciones de conversión, de procesamiento y estaciones de transferencia (ASTM, 2016).

Las diferentes fracciones de FORSU del muestreo de Figueroa-Escamilla et al. (2021) se analizaron para la humedad, los sólidos totales (ST), los sólidos volátiles (VS), la demanda química de oxígeno (DQO), el nitrógeno Kjeldahl (KN), el nitrógeno amoniacal (NH₄-N), el fósforo total (TP) y el pH.

Las siguientes determinaciones de Figueroa-Escamilla et al. (2021) se realizaron acorde a la APHA (2005). Las proteínas, las grasas, los carbohidratos totales, la lignina, la celulosa y la hemicelulosa se determinaron según Van Soest (1963), Goering et al. (1970) y los Métodos Oficiales de Análisis de la AOAC International (AOAC, 2012):

Tabla 2.3 Caracterización de fracciones en FORSU (Figueroa-Escamilla et al., 2021).

	³ Humedad %	SV/ST	³ SV g/kg	³ Proteínas	² Lípidos	³ Carbohidratos totales	*Hemicelulosa	*Celulosa	*Lignina
Animal	55±0.6	0.70	320±2.6	373±45.6	390-396	70±7.5	3	4	39
Papel de cocina	69±0.1	0.86	265±1.3	62±2.4	202-204	970±44.3	20	207	32
Harina	56±0.4	0.87	380±3.5	123±5.3	119-122	406±16.1	232	53	32
Vegetales	78±0.4	0.84	192±2.8	121±5.5	95-97	464±25.8	63	102	65
Frutas	77±0.2	0.90	206±4.3	94±3.0	78-83	505±12.2	7	121	32
Ramas	45±0.1	0.86	475±4.9	44±2.3	93-100	451±14,5	155	37	401
Poda fresca	72±0.2	0.81	227±1.6	130±9.3	147-155	504±12.2	51	111	69
Hojas secas	64±0.2	0.84	306±2.4	89±5.9	156-176	394±13.6	49	98	68
Sin clasificar	⁵ 66±0.5	0.73	⁵ 252±4.0	131±4.3	170-189	294±18.6	62	33	165
FORSU	⁵ 71±1.1	0.78	⁵ 228±3.0	168±4.7	133-136	791±41.3	9	102	53

³Tres réplicas; ⁵Cinco réplicas; ²En lípidos solo dos réplicas; se reportan ambos valores; *Promedio de tres réplicas, desviación estándar no disponible.

2.3.2 Comparación de caracterización de FORSU de la Ciudad de México con la de otros países

Dado que la relación SV/ST es del interés de esta tesis, se consultaron las condiciones en las que se encuentra la FORSU respecto a este concepto. Campuzano et al. (2016) reportaron una relación SV/ST de 0.75 para otras muestras de FORSU en la Ciudad de México, mientras que le relación obtenida por Figueroa-Escamilla et al. (2021) fue de 0.78.

A continuación, se muestra la comparación de las diferentes fracciones de FORSU con los resultados de la investigación de los autores:

Tabla 2.4 Comparación de las características de la FORSU de la investigación de Figueroa-Escamilla et al. (2021) con otras ciudades del mundo.

Ciudad, País	TS g/kg	VS g/kg	VS/TS	kN g/kg	TP g/kg	COD g/kg	Fuente
Kerala, India.	187	169	0.91	1.04	-	-	Sajeena Beevi et al., 2015
Padua, Italia	305	281	0.92	7.7	1.16	575	Alibardi y Cossu, 2016
Verona, Italia	288	228	0.79	28.0	2.4	347	Bolzonella et al., 2005
Lisboa, Portugal	338	276	0.82	5.1	1.7	-	Valorgas, 2010
Luton, Reino Unido	237	218	0.91	7.4	1.2	-	Valorgas, 2010
Southampton, Reino Unido	277	244	0.88	8.9	1.9	-	Banks et al., 2008
Beirut, Líbano	186	172	0.93	-	0.7	-	Ghanimeh et al., 2012
Praga, República Checa	325	231	0.71	4.5	0.7	-	Hanc et al., 2011
Cádiz, España	172	74	0.43	26.0	-	140	Forster-Carneiro et al., 2008
Canton, China.	184	113	0.62	4.2	0.4	-	Dong et al., 2010
Karlsruhe, Alemania	255	225	0.88	7.8	-	350	Nayono et al., 2009
Copenhague, Dinamarca	283	250	0.88	7.4	1.4	-	Davidsson et al., 2007
Grindsted, Dinamarca	356	307	0.86	6.3	-	431	Hartmann et al., 2006
Ciudad de México, México	297	223	0.75	5.4	1.8	304	Campuzano et al., 2015
Investigación consultada	290	228	0.78	6.1	3.9	294	Figueroa-Escamilla et al., 2021

La recopilación de información muestra que las características generales de los FORSU de la Ciudad de México son similares a las de los residuos sólidos orgánicos de otros países (Figueroa-Escamilla et al. 2021).

Capítulo III

Diagrama de flujo de proceso

3.1 Digestato

Pasado el proceso de DA se tendrá al digestato como subproducto el cual podría encontrarse en estado líquido o sólido, en caso de que sea menos del 15% de ST será el primero y en caso de que sea mayor al 15%, será el segundo, dependerá de la tecnología que se haya empleado durante la digestión del tratamiento de la FORSU (Palm, 2008).

Las propiedades y componentes del digestato están determinadas esencialmente por los materiales utilizados como materia prima en el proceso de DA, así como del tiempo de retención del proceso, mientras mayor sea el tiempo de residencia del proceso, habrá una menor cantidad y calidad de materia orgánica en el digestato (Szücs et al., 2006). Debido a la eficiencia de los procesos ya mencionados, hay diferentes materiales orgánicos que podrían ser usados como único sustrato o en co-digestión.

3.2 Tratamiento de la FORSU

La composición de la FORSU estará dada en función de la región donde se generen los residuos. Dentro del manejo integral de los RSU, el tratamiento biológico estará dado para los residuos orgánicos, el objetivo de estos procesos será realizar la conversión biológica mediante la transformación de la materia orgánica (MO) de los residuos en un producto final estable (Durán et al., 2014).

La importancia de llevar a cabo una selección adecuada de los residuos es que se pueden obtener beneficios diversos como es la generación de energía mecánica ó eléctrica. La separación de la fracción húmeda de los residuos en el tratamiento reduciría la cantidad de lixiviado generado en los rellenos sanitarios comunes (SEMARNAT, 2002).

En la fermentación de la FORSU donde se trabajará la CO en ausencia de oxígeno se tendrán que controlar la temperatura, el contenido de humedad y el pH, es por ello que tendrá que diseñarse un tren de tratamiento que pueda cubrir los puntos mencionados durante el proceso, donde cada proceso cumplirá con su respectiva función.

Tabla 3.1 Tratamiento biológico de la FORSU (Montes, 2008).

Proceso de transformación	Medio de transformación	Descripción del proceso	Productos principales
Digestión anaerobia	Conversión biológica en ausencia de oxígeno	La porción biodegradable de la FORSU se puede convertir biológicamente bajo condiciones anaerobias, en etanol y lactato	Etanol, lactato, digestato, CO ₂ , NH ₃ , H ₂ S

3.3 Componentes de los reactores anaerobios

Los principales componentes de un digestor anaeróbico lo constituyen un reactor o contenedor de las materias primas a digerir; un contenedor de gas, con los accesorios para salida de biogás, entrada o carga de materias orgánicas primas y salida o descarga de materias orgánicas estabilizadas (Varnero, 2011):

- Reactor

Se refiere al dispositivo principal donde ocurre el proceso bioquímico de degradación de la materia orgánica. Los reactores de digestión pueden tener forma cilíndrica, cúbica, ovoide o rectangular, aunque la mayor parte de los tanques que se construyen en la actualidad son cilíndricos. En el manual del autor citado se recomienda que el suelo del reactor se encuentre inclinado, para que la arena, el material inorgánico sedimentable y la fracción pesada del influente puedan ser extraídos del tanque.

Los reactores modernos tienen cubiertas, fijas o flotantes, cuya misión es impedir que escapen olores, conservar la temperatura y evitar la entrada de oxígeno (Varnero, 2011).

- Entrada y salida del influente

Regularmente el influente entra por la parte superior del digestor y el sobrenadante se extrae por el lado contrario. En un reactor donde la cubierta está fija, pueden haber de 3 a 5 tubos de sobrenadante colocados a distintos niveles, o un único tubo con válvulas a distintos niveles, para la extracción de este. Por regla general, se elige aquel nivel que extraiga un efluente de mejor calidad, es decir, con la menor cantidad posible de sólidos (Varnero, 2011).

- Extracción de lodos

Estas tuberías suelen estar colocadas sobre bloques a lo largo del suelo inclinado del digestor. El lodo se extrae por el centro del reactor. Estas tuberías tienen, por lo general 15 cm de diámetro o van equipadas con válvulas tapón para evitar obstrucciones, y se utilizan para llevar periódicamente el lodo del reactor a este sistema (Varnero, 2011).

- Manómetros

Los manómetros se instalan en varios puntos del sistema para indicar la presión del gas en centímetros de columna de agua (Varnero, 2011).

- Quemador de gases excesivos

La antorcha o quemador de gases se utiliza para eliminar los gases en exceso del sistema de digestión. Se basa en una llama piloto de quemado continuo, para que cualquier exceso de gas que pase por el regulador se quemara (Varnero, 2011).

- Reguladores de presión

Estos reguladores suelen ser del tipo diafragma y controlan la presión en todo el sistema de gas del digestor. Se instalan, generalmente, antes y después del quemador de gases excesivos. Los reguladores de gas están también situados en otros puntos del sistema, para regular la presión de gas en las calderas, calentadores y motores (Varnero, 2011).

- Sistema de calentamiento del reactor

Los reactores modernos funcionan en un rango de temperaturas medias, entre 35 y 37°C, que corresponde a rango mesofílico (Rapport et al., 2008).

Se pueden calentar de diversos modos, existen reactores que se calientan por medio de la recirculación de lodos extraídos de mismo a través de un intercambiador exterior de agua caliente. El agua caliente se bombea desde la caldera al intercambiador de calor, donde cede su calor al lodo recirculante (Varnero, 2011).

- Almacenamiento de gas

El gas producido en la digestión anaerobia se puede almacenar en un gasómetro que está separado del digestor, o bien, en el mismo digestor en la parte superior de éste (Varnero, 2011).

- Medidores de gas

Los medidores de gas pueden ser de diversos tipos, como fuelles, diagramas de flujo en paralelo, molinetes y placas de orificios o de presión diferencial (Varnero, 2011).

- Purgadores de condensado

El gas del digestor está bastante húmedo, y en su recorrido desde el tanque caliente hasta zonas de temperatura más bajas el agua se condensa (Varnero, 2011), el autor explica que esta agua debe recogerse en los puntos bajos del sistema, ya que de lo contrario impedirá que el gas circule, causando daño en algunos equipos como los compresores, e interfiriendo en la posterior utilización del gas.

- Válvula de seguridad

La válvula de seguridad consta de un plato cargado con arandelas de peso calibrado. La combinación de estos pesos junto con el peso del plato debe igualar la presión de gas de proyecto del tanque. Si la presión de gas en el tanque excede de este límite, la válvula se abrirá y dejará escapar gas. Ello debe ocurrir antes de que se rompa el cierre de agua. El cierre de agua se puede romper cuando la alimentación del tanque sea excesiva o cuando la extracción del gas sea demasiado lenta (Varnero, 2011).

- Válvula rompedora de vacío

Esta válvula funciona de la misma forma que la de seguridad, la diferencia es que esta alivia las presiones negativas para evitar el colapso del tanque.

3.4 Digestores para tratamiento de FORSU

Los digestores utilizados para la DA pueden ser clasificados acorde a su forma de alimentación, el contenido de humedad o de ST e inclusive por el número de etapas por las que se encuentra conformado su proceso. Primero clasificaremos acorde a la frecuencia de su carga, es decir, en continuos, semicontinuos y discontinuos.

3.4.1 Reactores continuos

Como su nombre lo indica, su alimentación está dada continuamente, dado lo anterior, los lodos y biogás salen del digestor con un flujo continuo y constante. Dentro de este, el sustrato se mezcla mediante dispositivos mecánicos o por diferencia de presión, bombeando el material que ha cumplido con su tiempo de retención hidráulico (TRH) hacia el exterior (Deublein et al., 2008).

La ventaja más relevante de estos sistemas es que, en ellos, los nutrientes son liberados paulatinamente mediante ciertos procesos de descomposición y la nutrición al sistema, aunque es lenta, es continua, constante y predecible (Al Seadi et al., 2008).

Su desventaja es que el efluente de este proceso podría contener alguna fracción de materia prima añadida al final que podría causar alguna actividad microbiana, lo que podría disminuir la producción (Parawira, 2004). Usualmente son usados para tratar un bajo contenido de sólidos, aproximadamente en un intervalo entre el 2% hasta el 10% (Torres et al., 2009).

Estos digestores podrían ser verticales, horizontales o sistemas de tanques múltiples, cuando estos son completamente mezclados, son verticales, mientras que los de tipo flujo pistón son horizontales (Al Seadi et al., 2008).

Los digestores continuos en la mayoría de los casos son reactores de tipo continuo completamente mezclado (CSTR) ó de tipo flujo pistón (PFR), el primero, en la mayoría de los casos, es utilizado para cuando la DA se encuentra húmeda, el PFR se usa para cuando la DA se encuentra seca (Vandevivere et al., 2003).

En un CSTR idóneo, la concentración de bacterias y sustratos es la misma en todas las zonas de volumen útil del digestor (Endar, 2009). Estos digestores pueden tener varias configuraciones, una de ellas es el de contacto anaerobio (AC) en donde los lodos que salen pasan por un desgasificador donde son removidas las burbujas de biogás adheridas a las partículas del lodo, mejorando la sedimentación de los mismos evitando que flote sobre la superficie del tanque de decantación (Varnero, 2011) (ver figura 3.1).

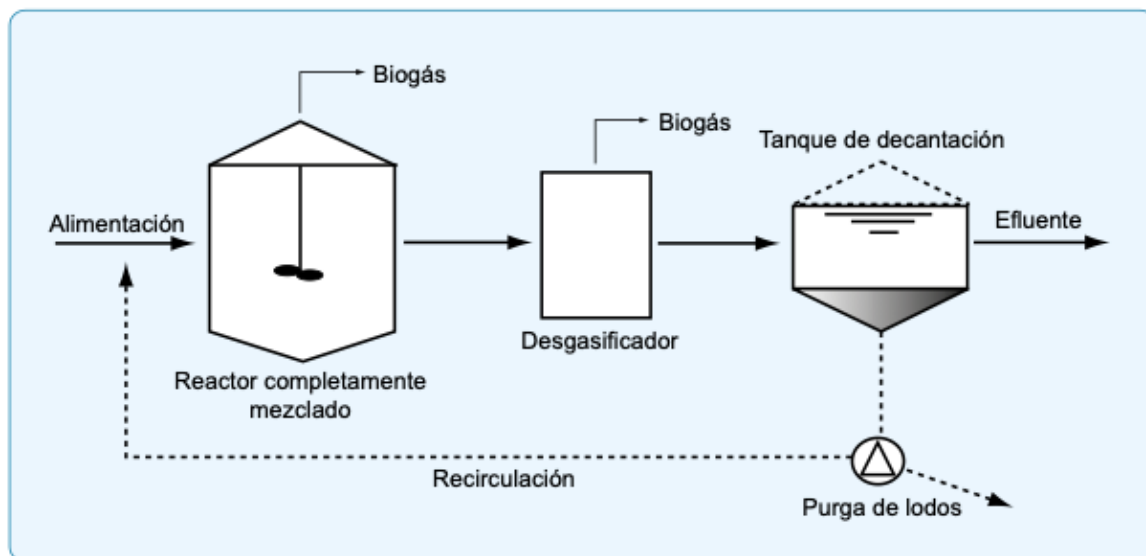


Figura 3.1 Esquema de un CSTR de contacto anaerobio (Varnero, 2011; De Mes et al., 2003).

Una parte de los lodos mencionados que salen del sedimentador se recircula para aumentar el TRS durante un periodo de 25 a 40 días, la OLR que se trabaja en este proceso oscila entre 0.5 y 10 kg DQO/m³·d (Varnero, 2011).

También existen los reactores de mezcla continua con recirculación, dado que, regulando la recirculación es posible conseguir tiempos de retención hidráulica más bajos que en un reactor simple de mezcla completa (ver figura 3.2).

Debido a que es necesaria la separación de microorganismos en el decantador, este sistema sólo es aplicable a aguas residuales de alta carga orgánica, para las que sea posible una separación de fases líquido-sólido, con la fracción sólida consistente básicamente en flóculos biológicos. Antes del decantador se debe disponer de un sistema de desgasificación, sin el cual la decantación se puede ver impedida (Varnero, 2011).

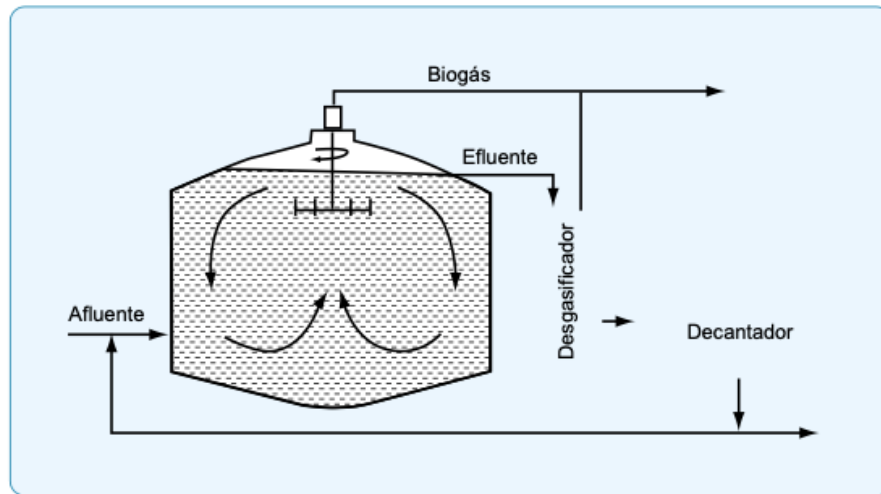


Figura 3.2 Reactor continuo completamente mezclado (CSTR) también llamado reactor de mezcla completa con recirculación (Varnero, 2011).

También podría presentarse el caso de un reactor de mezcla completa, pero sin recirculación (ver figura 3.3), en el que se mantiene una distribución uniforme de concentraciones, tanto de sustrato como de microorganismos. Esto se logra por medio un sistema de agitación que podría ser mecánica (agitador de hélice o palas, de eje vertical u horizontal) o neumática (recirculación a presión) que se realiza a baja velocidad.

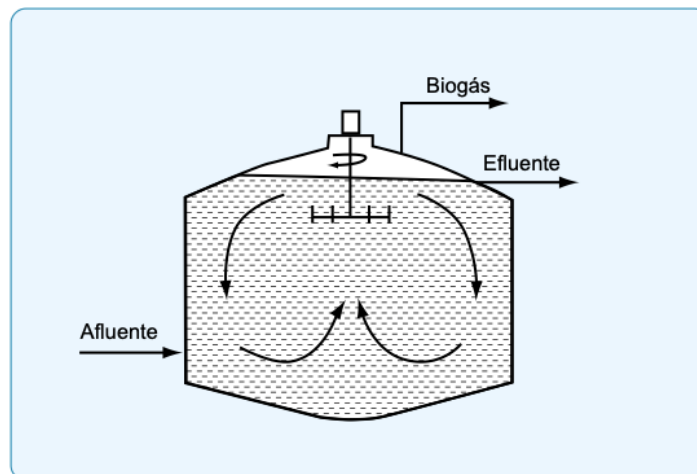


Figura 3.3 Reactor de mezcla completa sin recirculación (Varnero, 2011).

Este tipo de reactor no ofrece problemas de diseño y es el más utilizado para residuos, su tiempo de retención necesario es alto comparado por otros reactores debido a que la concentración de cualquier especie, que se mantiene en el reactor en régimen estacionario, es la misma que la que se pretende en el efluente. Si la velocidad de reacción depende de la concentración, como es el caso de los procesos biológicos, la velocidad será baja, y la forma de compensarla será aumentando el tiempo de reacción (Varnero, 2011).

3.4.2 Semicontinuos

Es usual emplear digestores semicontinuos cuando se trabaja a pequeña escala, son utilizados en el medio rural, cuando hablamos de sistemas para uso doméstico (Al Seadi et al., 2008). En este sistema, el sustrato es bombeado al digestor entre una y ocho veces al día (Pérez, 2010). Estos digestores se cargan con las materias primas en una sola carga o lote, después de un cierto periodo de fermentación, cuando el contenido de materias primas disminuye y el rendimiento de biogás decae a un bajo nivel, Se vacía una parte para retener inóculo (población activa) y se alimentan de nuevo dando inicio a un nuevo proceso de fermentación (Varnero, 2011).

3.4.3 Discontinuos

Estos digestores también se les nombra digestores por lotes o *batch*, su nombre indica que su alimentación no es continua. La configuración del *batch* permite que sea realizada la degradación del sustrato hasta que las reacciones se detengan o que se generen de manera más lenta, cuando se presenta este último caso, la operación se detiene para después remover los lodos del digestor para darles un tratamiento consecuente (Deublein, 2008).

Son utilizados cuando la materia que se pretende procesar se encuentra disponible en forma intermitente y preferentemente en forma seca (Lissens et al., 2001). Dada su facilidad de operación y manejo, resulta factible su aplicación a escala en el laboratorio cuando se busca evaluar los parámetros del proceso o el comportamiento de un residuo orgánico o mezcla de ellos (Hilkiah et al., 2008).

En los sistemas batch, los digestores se llenan una vez con residuos frescos, con o sin adición de lodos y se les permite pasar por todos los pasos de degradación de forma secuencial, ya sea en el modo seco, es decir, a un 30-40% de TS, o en el modo húmedo (15% de ST o menos). Aunque los sistemas batch pueden parecer un vertedero en una caja, en realidad consiguen un rendimiento entre 50 y 100 veces mayor (Lissens et al., 2001).

Para los digestores discontinuos, teóricamente, es posible alcanzar el 100% de eficiencia de digestión, es decir, dependerá de la degradabilidad del sustrato (Ostrem, 2004).

En cuanto al crecimiento de microorganismos, para lograr que se realice con rapidez, la alimentación se debe realizar con desechos frescos y lodos provenientes de lotes anteriores para garantizar la inoculación (Ostrem, 2004).

Para que se haga debidamente la inoculación, se recomienda que la carga a alimentar contenga 15% de lodos provenientes del proceso anterior (De Mes, 2003).

También, estos digestores demandan menos requerimientos en el pretratamiento del sustrato, además de que no requieren equipos complejos de agitación y mezclado, dado esto, se requiere una inversión menor en comparación con otros tipos de operación, además de que en estos digestores no se generan problemas relacionados con el lavado de bacterias (Verma, 2002), este problema se refiere a que la velocidad de salida de las bacterias podría ser mayor a la de entrada y reproducción, esto generaría que la población disminuya. En un digestor batch no se genera este problema dado que no hay salidas de los residuos durante el proceso de DA (Vandevivere, 2003).

Tabla 3.2 Ventajas y desventajas de digestores batch (Adaptado de Vandevivere et al., 2003).

Criterio	Ventajas	Desventajas
Técnico	<ul style="list-style-type: none"> - Diseño simple - Bajos costos de tecnología - Se pueden cargar residuos voluminosos 	<ul style="list-style-type: none"> - Riesgos de explosión durante la descarga del digestor - Formación de capas del digestato dentro del digestor si no se tiene mezclado
Biológico	<ul style="list-style-type: none"> - No hay lavado de bacterias 	<ul style="list-style-type: none"> - Baja OLR
Económico y ambiental	<ul style="list-style-type: none"> - Económico - Aplicable a países en desarrollo - El digestor es pequeño - Bajo consumo de agua 	<ul style="list-style-type: none"> - No presenta desventajas

Estos pueden operar con o sin agitación, también bajo condiciones húmedas o secas, dependerá del tipo de residuo que se vaya a tratar (Ostrem, 2004), si se busca que la producción sea constante, se deberán instalar varios digestores que operen en forma paralela con distintos días de carga para mantener fija la producción, debido a que en los primeros días se genera la mayor producción (Varnero, 2011).

Etapas del digestor tipo batch

Este sistema funciona por ciclos y no en flujo continuo, donde cada ciclo de operación se divide en cuatro etapas (Varnero, 2011):

- Alimentación: el influente es incorporado al reactor.
- Reacción: etapa de tiempo variable en donde ocurre, en mayor grado, la degradación de la materia orgánica.
- Sedimentación: se detiene la agitación y la biomasa decanta, separándose del efluente clarificado.
- Descarga: el efluente depurado (clarificado) es retirado del reactor.

Este tipo de reactor presenta ciertas características particulares que le dan ventajas frente a los sistemas convencionales continuos (Varnero, 2011):

- Presenta una gran flexibilidad de operación, pudiendo lograrse la adaptación de la biomasa a un determinado tipo de sustrato.
- Permite un mejor control del proceso y una mejor calidad del efluente, ya que la descarga puede ser llevada a cabo cuando el efluente presenta los estándares requeridos.
- La biomasa se encuentra en un estado dinámico de abundancia y escasez de sustrato, simulando de mejor manera el estado fisiológico natural de los microorganismos.
- La operación puede llevarse a cabo sin recirculación de sólidos ni de líquido, a menos que esta se utilice como agitación.
- La etapa de sedimentación se realiza dentro del mismo reactor por lo que no es necesario una unidad aparte.
- Se puede conseguir la eliminación de la etapa de sedimentación, con la consiguiente disminución del tiempo de cada ciclo, mediante la utilización de biomasa inmovilizada en soportes.

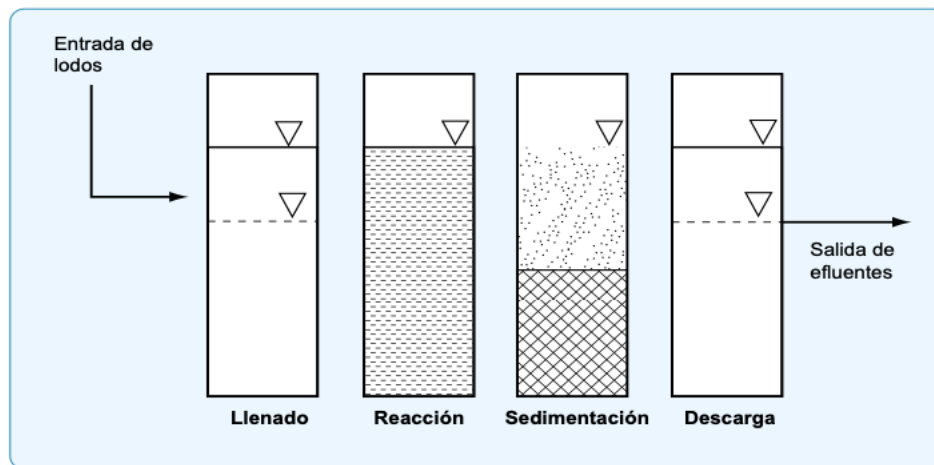


Figura 3.4 Etapas operacionales del reactor anaerobio tipo batch (Varnero, 2011).

3.5 Clasificación de digestores de una etapa por porcentaje de ST

En la mayoría de las ocasiones, los procesos de DA son realizados en una sola etapa, lo que implica que todas las fases se llevan a cabo en el mismo digestor, manteniéndose todas las relaciones de equilibrio entre sí, pero esto no quiere decir que así se presenten las condiciones más adecuadas para todos los microorganismos (Ostrem, 2004).

Los digestores pueden ser clasificados también acorde al contenido de sólidos, pueden ser sistemas secos de una etapa y sistemas húmedos de una etapa (Verma, 2002). También existen procesos de dos etapas o más donde las reacciones son llevadas a cabo en distintas etapas, lo que podría optimizar las condiciones esenciales para el desarrollo de las bacterias específicas para cada etapa, principalmente el pH (Rapport et al., 2008).

3.5.1 Digestores húmedos de una etapa para $ST < 15\%$

Los sistemas húmedos emplean agua o un co-sustrato para diluir el contenido de ST y alimentar de sustrato al digestor con una concentración de ST en un intervalo entre 4% y 15%, como ya se había mencionado anteriormente, con relación al tiempo de retención hidráulico, corresponderá acorde al sustrato en cuestión al igual que la temperatura, este tiempo regularmente se encuentra entre 10 y 20 días (De Mes et al., 2003).

Regularmente este tipo de digestor es empleado para DA húmeda, es de agitación continua CSTR, donde para asegurar un correcto mezclado, se alimenta continuamente (Verma, 2002). Al mismo tiempo, una corriente de lodos sale del proceso, generando que algunas partículas permanezcan poco tiempo, teniendo un rendimiento menor en cuanto a la

producción en comparación con otros digestores (Verma, 2002). Para poder aumentar este rendimiento, en algunas ocasiones se emplea una precámara dentro del digestor, la cual es alimentada por una corriente de recirculación proveniente del mismo digestor (Vandevivere et al., 2003).

3.5.2 Digestores secos de una etapa para ST>20%

Para estos sistemas, el contenido de ST se encuentra entre 20 y 40%, por ello no es requerido que los residuos sean diluidos en agua a menos de que se trate de un sustrato bastante seco, que sea mayor al 50% de ST (Vandevivere et al., 2003).

3.6 Reactores en la fermentación de lactato y etanol

El lactato y etanol generalmente se produce en modo discontinuo, pero también se puede usar el modo continuo (John et al., 2007):

- La fermentación en modo discontinuo tiene una conversión y un rendimiento superiores en comparación con la fermentación continua, pero la productividad volumétrica es menor.
- En un proceso batch, se usa todo el sustrato, mientras que, en un proceso continuo, hay una concentración de sustrato residual que siempre está presente. La mayor productividad posible para la fermentación continua se debe a la alta relación de dilución y la posibilidad de mantener el proceso durante un largo período de tiempo.

La elección del modo de operación depende de los costos del sustrato y la inversión de capital; si el sustrato es caro, el rendimiento se maximiza, ya sea por operación discontinua o semicontinua. Si los costos de inversión son altos, la productividad volumétrica se maximiza mediante la operación continua (John et al., 2007). Se logra una alta productividad volumétrica mediante un sistema de reciclaje de células, lo que da como resultado una alta densidad de células con una conversión de glucosa completa (Ohleyer et al. 1985).

La producción de otros ácidos orgánicos durante la fermentación del ácido láctico depende de la pureza y calidad del inóculo, la vía metabólica utilizada y las condiciones del proceso, que deben evitar la contaminación externa. Se pueden producir subproductos, como ácido acético, ácido fórmico, dióxido de carbono y etanol, pero para una producción eficiente de ácido láctico, se debe evitar o mantener al mínimo la formación de subproductos (Hofvendahl et al., 2000).

3.6.1 Fermentación de ácido láctico en el digestato

La fermentación del ácido láctico es una vía preferible en comparación con la síntesis química porque el método biológico tiene un bajo costo de sustratos, una baja temperatura de reacción y un bajo consumo de energía (Esteban et al., 2018). Por lo tanto, un pH bajo es beneficioso para la producción de ácido láctico (John et al., 2018). Las LAB contienen aproximadamente 20 géneros bacterianos, *Lactobacillus* es el género más grande, que comprende alrededor de 80 especies reconocidas. La mayoría de LAB favorecen la temperatura ambiental de 20 a 45 °C y el pH de 5 a 7 (Castillo et al., 2013).

Hay tres tipos de fermentación de ácido láctico con diferentes productos (Reddy et al., 2008). En la fermentación de ácido homoláctico, 1 mol de glucosa se convierte en 2 mol de ácido láctico, lo que genera un rendimiento neto de 2 mol de ATP, y el ácido láctico representa más del 85 % de los productos totales:



En la fermentación de ácido heteroláctico, 1 mol de glucosa se convierte en 1 mol de ácido láctico, 1 mol de etanol y 1 mol de CO₂ con una producción de 1 mol de ATP, y el ácido láctico es el 50 % del total:

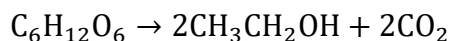


En la vía de bifidus, las bifidobacterias pueden producir 1.5 mol de acetato, 1 mol de ácido láctico y 2.5 mol de ATP a partir de 1 mol de glucosa (Wu et al., 2015):

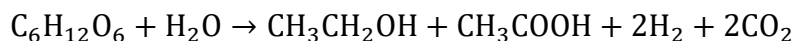


3.6.2 Fermentación de etanol

Para la fermentación etanólica se suelen utilizar levaduras o la bacteria *Zymomonas Mobilis* (Anwar Saeed et al., 2018). Durante el metabolismo del azúcar, la glucosa se descompone primero en piruvato, el piruvato se convierte en acetaldehído y CO₂ bajo la acción de la hidrogenasa, y finalmente el acetaldehído se reduce a etanol bajo la acción de la deshidrogenasa:



En esta fermentación, el porcentaje de etanol alcanza el 30% (calculado como DQO equivalente), y la suma de acetato y etanol es superior al 50% (Zheng et al., 2015). La glucosa se degrada a piruvato, luego el piruvato forma acetil-CoA bajo la acción de la hidrogenasa y la ferredoxina, liberando H₂ y CO₂ al mismo tiempo, posteriormente el acetil-CoA se convierte en acetaldehído por el acetaldehído hidrogenasa, y finalmente se produce etanol. En la conversión de la glucosa en etanol se consumen cuatro NADH y en el proceso de la glucosa a piruvato sólo se producen 2 NADH. Por lo tanto, este proceso se suele acoplar con la producción de ácido acético que genera NADH para asegurar el equilibrio de NADH/NAD⁺ de este sistema (Ren et al., 1997):



3.7 Integración del fermentador en la planta MBT

Una de las premisas de esta tesis es la implementación de un fermentador en una planta de tratamiento mecánico-biológico (MBT) de DA para producir lactato y etanol, será una tecnología innovadora para la ingeniería, siendo una opción interesante para mejorar y diversificar la economía de estos procesos, además de extender la sustentabilidad.

Los VFA tienen un valor de mercado potencialmente más alto y un rango de aplicación más amplio que el biogás, sin embargo, el nivel de preparación tecnológica (TRL) de las tecnologías que permiten añadir valor a los VFA todavía están en desarrollo. En el futuro, se espera que las plantas de MBT sean renovadas para incorporar la producción de VFA como un esquema de ingresos (Venkata Mohan et al., 2016).

3.8 Ubicación del tren de tratamiento

Es importante tomar la decisión de cómo se construirá el diagrama de proceso, para su determinación hay que considerar los siguientes factores:

- La topografía del sitio.
- La facilidad de transportar los materiales, así como el almacenamiento de estos.
- Elección de materiales accesibles.
- La fuente de agua debe satisfacer la carga requerida por el proceso.

La velocidad de la degradación de los residuos y producción de lactato y etanol dependerá de las características de los materiales elegidos, el tiempo de retención para el que se diseña, el porcentaje de sólidos totales y la temperatura con la que se lleva el proceso, por ello que se deben controlar estos aspectos en este punto.

La fracción sólida que no puede ser fermentada llegará al digestor anaerobio metanogénico, y conociendo las horas de almacenamiento se podría recuperar una cantidad considerable de ácido láctico en la fracción líquida (Fernández-Domínguez, et al. 2020).

Los rendimientos informados de VFA de FORSU (incluidos los desechos de alimentos, biorresiduos y similares) dependen de la composición/calidad de la materia prima de fermentación, así como las condiciones operativas de fermentación, incluida la temperatura, el pH y la concentración de nitrógeno amoniacal, tiempo de retención hidráulica, tasa de carga orgánica y comunidad microbiana (Strazzer et al., 2018).

Las plantas MBT son plantas de producción múltiple. Por lo tanto, para evitar la asignación de productos, se emplea el enfoque de "expansión del sistema" (Buttol et al., 2007). En otras palabras, se sigue un producto útil derivado del sistema de residuos hasta el punto en que puede ser utilizado. En esencia, la expansión del sistema implica recopilar más información (Miliūtė et al., 2010).

Las emisiones ambientales de la producción de la planta de MBT, también conocidas como cargas ambientales secundarias (McDougall et al., 2001), no están incluidas dentro de los límites del sistema actual.

Wittmaier et al. (2009) afirman que la experiencia ha demostrado que para las plantas de tratamiento de residuos que han estado en funcionamiento durante muchos años, los costos ambientales del procesamiento previo y posterior al material (es decir, los costos ambientales resultantes del equipo y la infraestructura) son de menor importancia en comparación con los costos ambientales de operación de la planta.

El diagrama de proceso (ver figura 3.5) inicia desde que los vehículos de transferencia llevan la FORSU, misma que se deja caer sobre una fosa cuyas bandas que salen de ella transportan el contenido sólido al tamiz y el lixiviado cae directamente a la trituradora, ya que no hay materia que deba separarse con los procesos consecuentes para los sólidos.

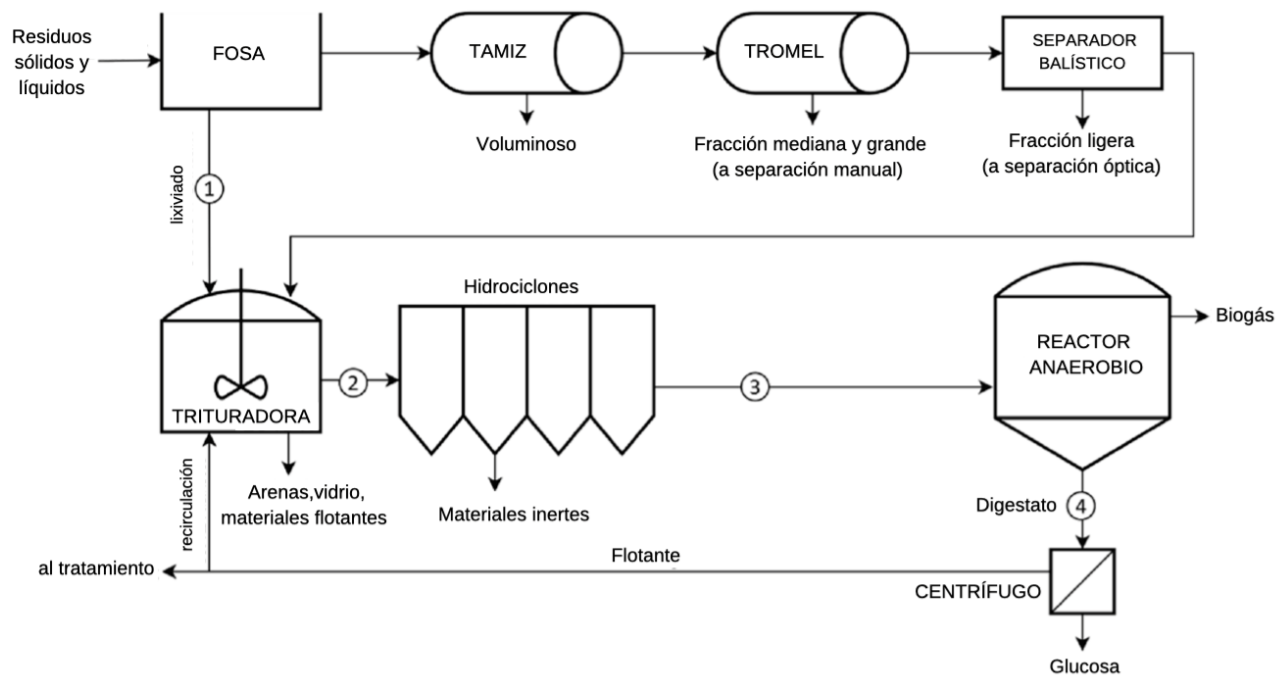


Figura 3.5 Diagrama esquemático de la planta de tratamiento mecánico-biológico en estudio (Fernández-Domínguez, et al. 2020).

El tamiz está compuesto por una malla que separa la parte líquida de la sólida que conforme avanza el proceso, es autolimpiable dado que cuenta con cepillos en la parte superior justo antes de pasar el tromel. Además de esta separación también cumple la función de encontrar los residuos que mayor volumen ocupan, los cuales podrían ser separados manualmente dependiendo de la composición de los mismos. El tamiz podrá contar con un sistema de lavado de agua a presión para garantizar una correcta separación y lavado del material tamizado (Chen et al., 2015).

Posteriormente, los sólidos extraídos de tamiz son transportados hasta la parte superior del equipo, donde son descargados al tromel. Este equipo se encontrará a cierta inclinación de manera que cuando el tambor gire, el material avance a lo largo de este. Las paredes de este tambor son de acero inoxidable electrosoldada con alto límite elástico, las revoluciones por minuto (rpm) del mismo, son controladas por el operador. El tromel pretende limpiar por cribado los materiales adheridos a plásticos (Romero-Guiza et al., 2014).

Una cinta transportadora, que estará acoplada al chasis del tromel, que llevará la materia al separador balístico, proceso donde la materia puede ser separada por su peso, dimensión y forma; es decir, se puede obtener la fracción ligera, que está comprendida por textiles, papel, cartón, materiales fibrosos y, también la fracción pesada como podrían ser rocas, plásticos pesados y metales (estos últimos son separados magnéticamente).

Pasado el tromel y los lixiviados de FORSU obtenidos de la fosa, la materia es vertida a la trituradora, la cual puede separar arenas, vidrio y materiales flotantes con el fin de preparar la materia al proceso de los hidrociclones, cuya función es preparar la materia a que lleve a cabo una buena hidrolización, con la finalidad de obtener la mayor cantidad de metabolitos en el menor tiempo posible.

El fin de este tren de tratamiento estará dado por el reactor anaerobio, mismo que conviene sea continuo dado el volumen de FORSU que se deberá procesar, cuyo diseño se realizará más adelante.

Capítulo IV

Cinética de la fermentación

4.1 Cinética sin inhibición

Se han desarrollado varios modelos para predecir el rendimiento de los reactores anaeróbicos en cuanto a la tasa de generación de biomasa, la utilización del sustrato, la reducción de los sólidos orgánicos y, por tanto, la estabilización de los residuos, así como la producción de biogás (Echiegu, 2015).

Los modelos se basan principalmente en la relación entre la concentración del sustrato limitante y la tasa de crecimiento (Monod, 1942). Aunque se han sugerido otras relaciones, la mayoría de los investigadores han considerado que la relación de Monod proporciona un ajuste razonable para los datos del cultivo continuo, incluso para los sistemas de cultivo mixto, como los utilizados en los procesos biológicos para el tratamiento de residuos. Sin embargo, la relación de Monod no puede ser válida para aquellos sustratos que limitan el crecimiento a bajas concentraciones y son inhibidores del organismo a concentraciones más altas (Powell, 1965).

4.1.1 Modelo cinético de Michaelis-Menten

La cinética de Michaelis-Menten describe la velocidad de reacción de muchas reacciones enzimáticas. Este modelo es válido cuando la concentración del sustrato es mayor que la concentración de la enzima, y para condiciones de estado estacionario, o sea que la concentración del complejo enzima-sustrato es constante (Nelson et al., 2000).

El comportamiento de las enzimas de Michaelis-Menten se describe mediante los parámetros cinéticos V_{max} (la velocidad máxima de reacción en las condiciones especificadas) y K_m (concentración de sustrato a la que la velocidad observada es la mitad de V_{max}) (Matthew, 2021).

Para determinar la velocidad máxima de una reacción enzimática, la concentración de sustrato $[S]$ se aumenta hasta alcanzar una velocidad constante de formación de producto. Esa es la velocidad máxima (V_{max}) de la enzima. En ese caso, los sitios activos de la enzima están saturados con sustrato (Matthew, 2021).

Esto fue propuesto en 1913 por Leonor Michaelis y Maud Menten. Dado que la concentración de sustrato en V_{max} no puede medirse con exactitud, las enzimas se caracterizan por la concentración de sustrato a la que la velocidad de reacción es la mitad de la máxima. Esta concentración de sustrato se denomina constante de Michaelis-Menten (K_m). Muchas enzimas obedecen a la cinética de Michaelis-Menten (Nelson et al., 2000).

La ecuación de Michaelis-Menten nos permite conocer la velocidad a la que se formará un producto a una concentración de enzima determinada (Bisswanger, 2017). La ecuación explica que la velocidad de una reacción es igual a la velocidad máxima multiplicada por la concentración del sustrato entre una constante K_m más la concentración del sustrato:

$$V_0 = \frac{V_{m\acute{a}x}[S]}{K_m + [S]}$$

V_{max} será la velocidad máxima de la reacción y K_m será la concentración del sustrato a la cual la reacción alcanza la mitad de su velocidad máxima (Bisswanger, 2017).

La dependencia de la velocidad de reacción v con respecto a la concentración de sustrato $[S]$ produce una curva de saturación hiperbólica (figura 4.1).

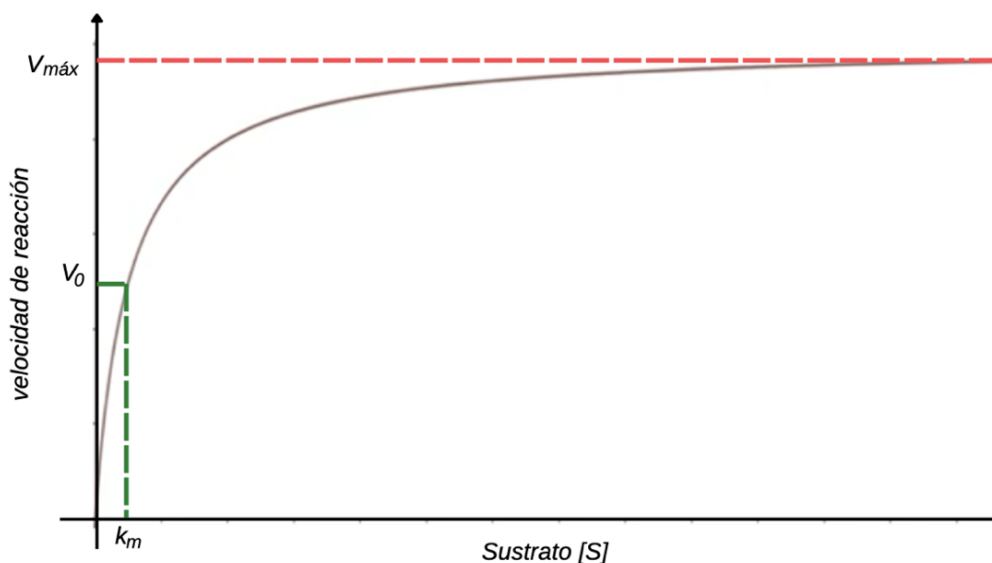


Figura 4.1 Representación gráfica de la ecuación de Michaelis-Menten (Adaptado de Bisswanger, 2017).

A medida que la concentración de sustrato es más grande, la velocidad de la reacción se incrementa, pero llega un punto donde no importa que se añada más sustrato, la velocidad no aumentará más. El parámetro $V_{m\acute{a}x}$ representará este límite de velocidad, ubicándolo en la gráfica como la asíntota horizontal de la función.

Para ubicar K_m en la gráfica primero tendremos que encontrar el valor que corresponde la mitad de $V_{m\acute{a}x}$, seguido de esto se tiene que verificar cual será la concentración de sustrato necesaria para llegar a este punto (Bisswanger, 2017).

Cuando la concentración del sustrato sea menor a K_m , el término en el denominador en la función podrá aproximarse a K_m , es decir, la velocidad de la reacción será directamente proporcional a la concentración del sustrato, siendo en este punto la velocidad la tendencia de una línea recta.

4.1.2 Ecuación de Lineweaver-Burk

Para poder interpretar de una mejor manera a la cinética, en lugar de utilizar la hipérbola rectangular mostrada en la representación gráfica de la ecuación de Michaelis-Menten, será más fácil realizar el análisis de una recta dado que esta tiene intersecciones para ambos ejes, el resultado de la intersección dará por resultado una pendiente, convirtiendo la ecuación de Michaelis-Menten en una ecuación de la recta, es decir, una linealización que es llamada también la ecuación de dobles recíprocos (Lineweaver-Burk, 1934).

La ecuación de Lineweaver-Burk, que está dada por el recíproco de Michaelis-Menten, es la siguiente:

$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_m + [S]}{V_{m\acute{a}x}[S]} = \frac{K_m}{V_{m\acute{a}x}[S]} + \frac{1}{V_{m\acute{a}x}}$$

La representación gráfica de Lineweaver-Burk (figura 4.2) permite identificar K_m y $V_{m\acute{a}x}$, el punto que intercepta con el eje de ordenadas es el equivalente a la inversa de $V_{m\acute{a}x}$, y el de abscisas es el valor de $-1/K_m$:

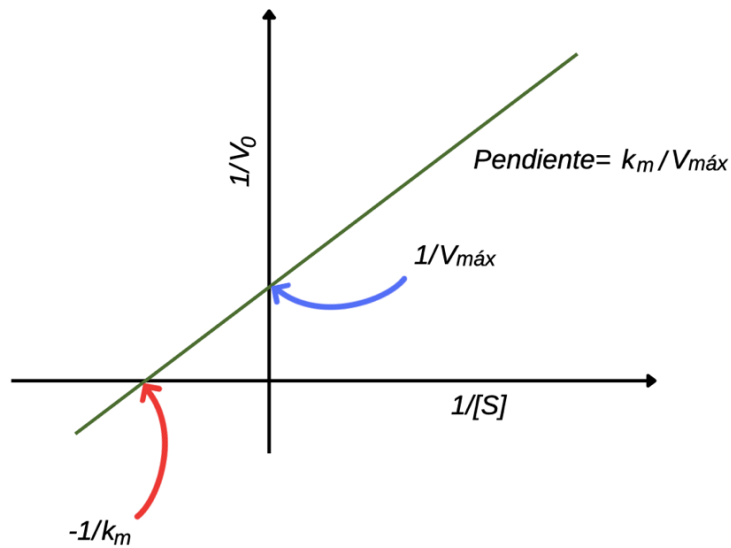


Figura 4.2 Representación gráfica de la ecuación de Lineweaver-Burk (Adaptado de Bisswanger, 2017).

4.2 Cinética con inhibición por sustrato

La característica del modelo es el uso de una función de inhibición para relacionar la concentración de sustrato y la tasa de crecimiento específica (Andrews, 1968). El autor menciona que estudios de simulación muestran que el principal resultado de la inhibición por sustrato en un cultivo batch es un aumento del tiempo de retardo, mientras que en el cultivo continuo la inhibición por sustrato puede provocar la inestabilidad del proceso.

El modelo será útil en las investigaciones sobre la estabilidad de los procesos biológicos utilizados para el tratamiento de ciertos residuos industriales que se sabe que al aumentar la concentración son inhibidores para muchos de los organismos que los metabolizan (Echiegu, 2015).

En esta tesis, el modelo elegido será útil para seleccionar los procedimientos de puesta en marcha adecuados para los procesos de obtención de lactato y etanol. El crecimiento de un cultivo bacteriano puro en un sistema batch medido por el aumento de la población bacteriana suele seguir un patrón similar a la curva de crecimiento (figura 4.3):

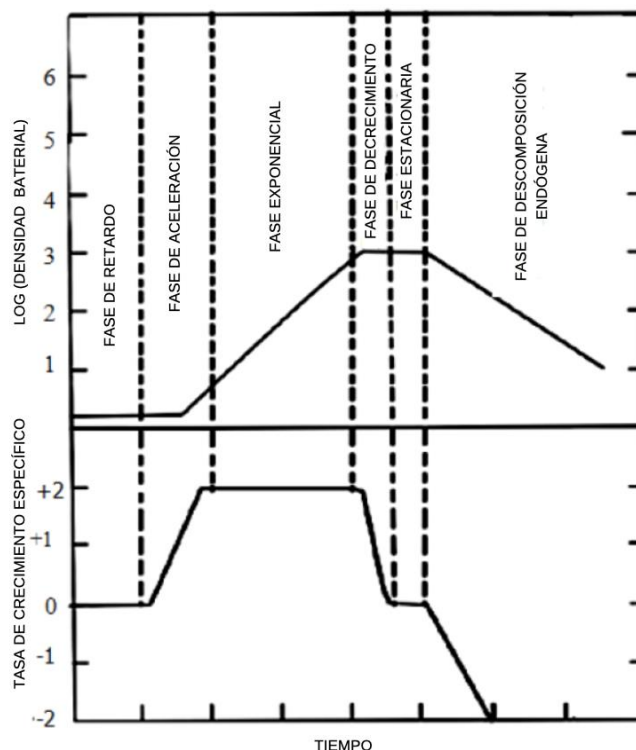


Figura 4.3 Curva de crecimiento característica del cultivo microbiano (Adaptado de Benefield et al., 1980).

La curva se divide en seis fases bien definidas de la siguiente manera (Echiegu, 2015):

- Fase de retardo: Representa el tiempo que necesitan las bacterias para aclimatarse al nuevo entorno. Esta fase se caracteriza por un largo tiempo de generación, una tasa de crecimiento nula y una tasa máxima de actividad metabólica.
- Fase de aceleración: Representa el final del periodo de adaptación y el comienzo de la generación celular. Se caracteriza por un tiempo de generación decreciente y una tasa de crecimiento positiva.
- Fase exponencial: Se caracteriza por un tiempo de generación mínimo pero constante y una tasa máxima de utilización del sustrato (y de producción de biogás en el caso de la digestión anaerobia).
- Fase de decrecimiento: se produce como resultado de la disminución gradual de la concentración de sustrato, así como del aumento de la acumulación de metabolitos tóxicos. Esta fase se caracteriza por el aumento del tiempo de generación y la disminución de la tasa de crecimiento.

- Fase estacionaria: en la que la población microbiana se mantiene constante, generalmente como resultado del agotamiento de sustrato, máxima aglomeración física, mayor concentración de metabolitos tóxicos y/o equilibrio entre la tasa de crecimiento y muerte de las células biológicas
- Fase de descomposición endógena: en el que la tasa de mortalidad supera la tasa de crecimiento. Esta fase se caracteriza por el metabolismo endógeno y suele ser la inversa de la fase de crecimiento exponencial.

Entre los parámetros que se consideran en el diseño de reactores enzimáticos, se encuentran: la difusión, coeficientes y velocidad de transferencia de masa interna y externa, volumen y área superficial de las partículas, coeficiente de partición, conversión del reactante límite, concentración de los compuestos, sustancias o elementos involucrados en la reacción (necesarios para el cálculo de los coeficientes de transferencia de masa) y sus concentraciones iniciales (Narayanan et al., 2017).

Para el diseño se considera la ecuación de velocidad de reacción (cinética de Monod), que depende del tipo de mecanismo en estudio, la velocidad de reacción máxima directa e indirecta y constantes como la de Michaelis-Menten, inhibición y equilibrio de reacción (Ismail et al., 2017).

La ecuación de Monod es la siguiente:

$$\mu = \frac{\mu_{m\acute{a}x} [S]}{K_s + [S]}$$

Donde:

μ : Tasa de crecimiento específica

$\mu_{m\acute{a}x}$: Tasa de crecimiento específica máxima

$[S]$: Concentración del sustrato limitante

K_s : Constante media de velocidad

Los parámetros cinéticos de la ecuación de Monod $\mu_{m\acute{a}x}$ y k_s no pueden estimarse con la misma facilidad que los correspondientes al modelo de Michaelis-Menten en una reacción enzimática. Para una reacción enzimática, se deberá considerar la velocidad inicial de reacción medida en función de la concentración de sustrato, la velocidad inicial de reacción deberá ser cero por la necesidad de una fase previa de adaptación durante la cual no se aplica la ecuación de Monod (Ismail et al., 2017).

4.2.1 Teoría de Haldane

Se dispone de poca información sobre la relación funcional entre un sustrato inhibidor y la tasa de crecimiento específica de un organismo que utiliza dicho sustrato. Con el fin de explicar el comportamiento dinámico de los microorganismos que utilizan un sustrato inhibidor se utilizará una función como la propuesta por Haldane para la inhibición de enzimas por una alta concentración de sustrato.

Aunque no existe una base teórica para el uso de esta función para los microorganismos, cabe señalar que la relación de Monod, que es empírica, es similar en su forma a la expresión de Michaelis-Menten en la que se basa la función de Haldane (Andrews, 1968).

La ecuación de Haldane es una expresión matemática que se ha utilizado ampliamente en la cinética del crecimiento para dar un ajuste adecuado a los datos experimentales en caso de inhibición del sustrato durante los procesos enzimáticos. Determina la tasa de crecimiento específica de un microorganismo en función de la concentración de sustrato, la constante de media saturación, la constante de inhibición y la tasa de crecimiento máxima alcanzable (Ouchtout et al., 2020).

Sin embargo, a efectos prácticos y de diseño experimental es importante describir la ecuación de Haldane en función de la concentración inicial de sustrato, ya que esta información es necesaria para conocer la cantidad adecuada de sustrato inicial a utilizar.

El modelo de Haldane es una extensión del modelo de Monod que explica la inhibición de un sustrato introduciendo un parámetro de inhibición (Andrews, 1968) (ver figuras 4.4 y 4.5).

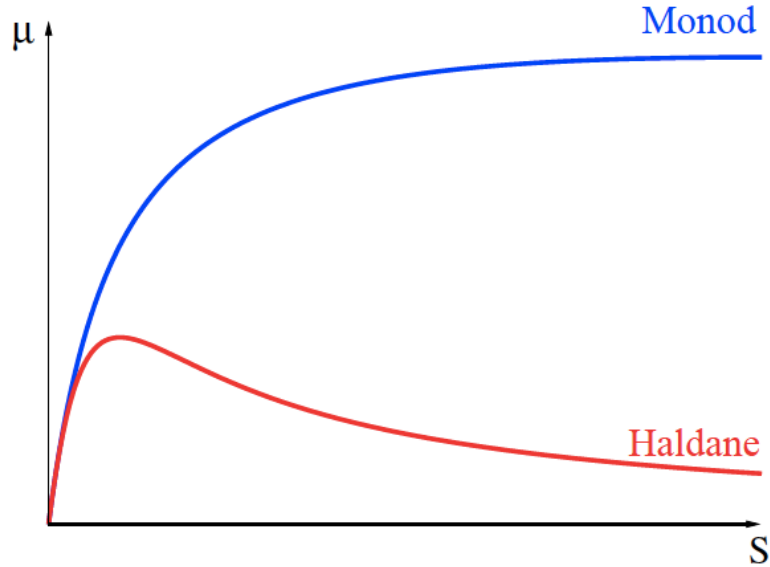


Figura 4.4 Gráficas de las funciones de Monod y Haldane (Ouchtout et al., 2020).

En el punto más alto de la curva para la función de Haldane se encontrará la cantidad de sustrato óptima. Esta función de inhibición se expresa como:

$$\mu = \frac{\hat{\mu}}{1 + \frac{k_s}{[S]} + \frac{[S]}{k_i}}$$

Donde:

μ : Tasa de crecimiento específica

$\hat{\mu}$: Tasa máxima de crecimiento específico en la ausencia de inhibición

k_s : Constante de saturación

$[S]$: Concentración del sustrato limitante

k_i : Constante de inhibición

La concentración de sustrato a la tasa de crecimiento máxima con inhibición está dada por la expresión:

$$S_m = \sqrt{(K_s \cdot K_i)}$$

Hay que recordar que la constante de saturación para Haldane produce una tasa de crecimiento específico igual a la mitad del crecimiento específico máximo en la ausencia de inhibición (Papacek et al., 2007).

En esta tesis se pretende integrar la expresión del factor de rendimiento y la definición de la tasa de crecimiento específico de la ecuación de Haldane y resolver analíticamente las ecuaciones matemáticas para obtener una expresión final que correlacione la tasa de crecimiento máxima, la concentración del sustrato limitante a la que el crecimiento específico es la mitad de su valor máximo, la constante de inhibición, la concentración inicial de sustrato y la cantidad inicial de biomasa requerida en el tiempo. Para ello se utilizará el modelo de Stover y Kincannon que simplificará los cálculos, el cual se adaptará a la cinética de Haldane.

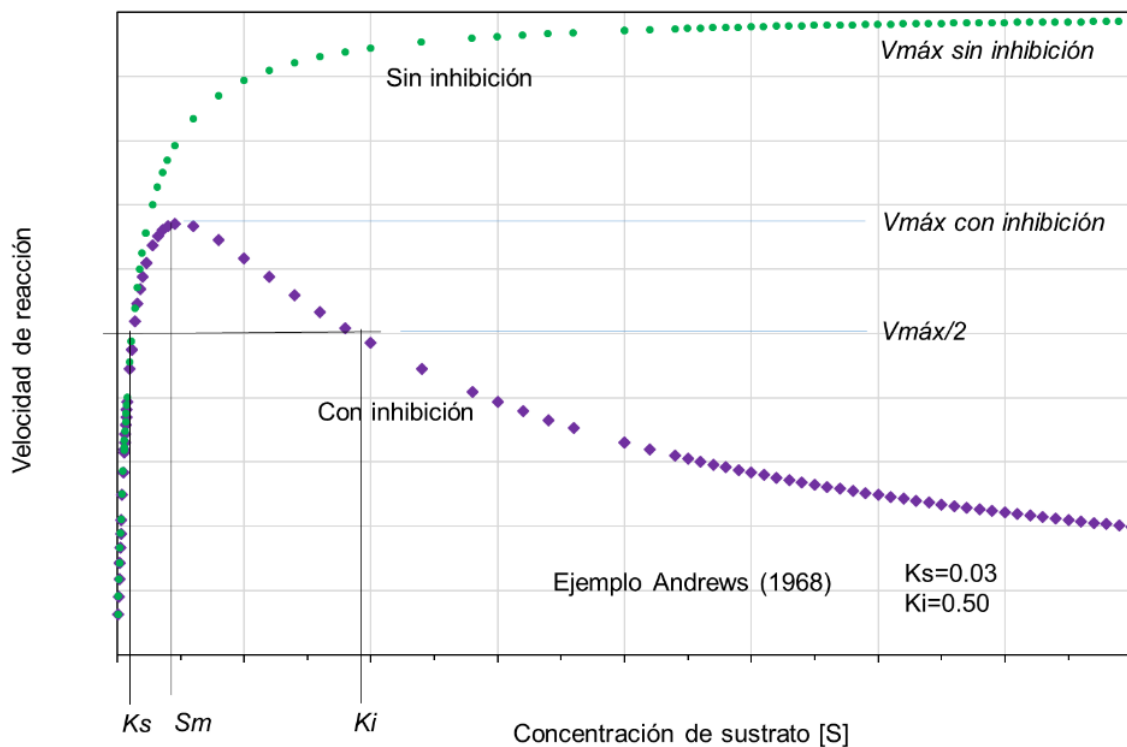


Figura 4.5 Representación gráfica de la ecuación de Haldane comparando el comportamiento de la ecuación de Monod en función de la concentración del sustrato.

Capítulo V

Metodología

Se hará uso de la bibliografía existente sobre la cinética de la fermentación para comprender el comportamiento de las variables, así como la relación que tienen entre ellas para poder relacionarlas y adaptar un modelo para comprender los experimentos que realizaron otros autores para obtener lactato y etanol de la FORSU.

Dado que la información disponible en la literatura está referida al sustrato en vez de microorganismos, se adaptará el modelo cinético de Michaelis-Menten al modelo de Stover y Kincannon. De esta forma se podrá graficar el comportamiento del rendimiento específico respecto a la velocidad de carga orgánica para los diferentes porcentajes de ST y encontrar el punto donde se genere la mayor tasa de producción específica de producción tanto para el lactato como para el etanol.

Inicialmente se utilizarán experimentos de otros autores con lactato al natural, sin levaduras que aceleren el crecimiento del metabolito y así determinar para que concentraciones de sólidos totales se produce en mayor cantidad el ácido láctico. Por medio de gráficas se visualizará la relación de la carga orgánica respecto a su producción específica e inclusive hacer uso de la ecuación de Lineweaver-Burk para determinar la producción específica máxima únicamente para los datos resultantes de experimentos y encontrar su respectivo coeficiente cinético.

Utilizando los resultados de otros autores se procederá a determinar la cantidad específica de levadura que produzca el rendimiento óptimo con mayor producción para ambos metabolitos:

- Se determinarán las cargas orgánicas aplicadas para los experimentos utilizando los porcentajes de ST y concentraciones de *Saccharomyces cerevisiae* para la obtención de lactato y etanol.
- Dado que en tesis reportadas se ha encontrado que la mayor producción se genera a las 9 horas, será este mismo el tiempo en el cual estará basada la carga orgánica.
- Se calculará el dato de la relación entre la DQO en gramos y la FORSU en kilogramos. Obtenido lo anterior, será posible conocer la relación de DQO respecto a los ST y SV.

- Para el caso sin levadura, la OLR se obtendrá en $\text{kgSV-FORSU/m}^3\cdot\text{d}$, para los experimentos de los metabolitos con adición de levadura se obtendrá la OLR en $\text{gSV-FORSU/gSacch}\cdot\text{d}$.
- Se obtendrán los rendimientos de la DQO en gramos de los metabolitos con relación a la cantidad de ST y SV de FORSU para posteriormente, obtener la relación de DQO de cada metabolito respecto a las cantidades de ST y SV de FORSU en gramos por cada día transcurrido.
- Al contar con la cantidad de materia orgánica y producción específica, será posible tener el recíproco de cada uno para conocer el comportamiento de los experimentos y determinar la tasa de producción específica máxima.
- Obtener la producción específica, sustituyendo a las ecuaciones de los modelos mencionados anteriormente, es decir, considerando que se presenta la inhibición y el caso sin ella. Teniendo estos valores, será posible determinar el error entre la producción específica determinada experimentalmente y describir la cercanía que tiene el modelo con la realidad, todo esto graficando la producción para cada caso y explicar el comportamiento de la inhibición.
- De las gráficas se podrá hacer una comparativa de la relación entre los modelos y la producción dada en el experimento, así como integrar los datos de estos conociendo el error que tiene cada uno con la realidad.
- Finalmente será posible determinar las máximas producciones para determinada OLR y así relacionar los parámetros más convenientes para generar la mayor producción de los metabolitos en cuestión.

Capítulo VI

Resultados

6.1 Adaptación de modelo de Stover y Kincannon a cinética de Haldane

Un modelo ampliamente aplicable para estimar las constantes cinéticas de un reactor de sistema anaerobio estable es el modelo Stover-Kincannon (Sandhya et al., 2006).

En la aplicación de este modelo en particular, la tasa de utilización del sustrato puede ser representada en términos de la tasa de carga orgánica (OLR) usando la suposición cinética monomolecular (una molécula de espesor) para reactores de biopelícula, por ejemplo, mezcladores de contacto y biofiltros (Buyukkamaci et al., 2002).

El modelo Stover-Kincannon considera la tasa de eliminación de sustancias orgánicas en función de la tasa de carga orgánica:

$$\frac{dS}{dt} = \frac{Q}{V}(S_0 - S_e)$$

Donde:

$\frac{dS}{dt}$: Tasa de eliminación del sustrato, $\text{mg L}^{-1}\text{d}^{-1}$

Q : Caudal, L d^{-1}

V : Volumen del líquido del reactor, L

S_0 : Concentración de sustrato influente, mg L^{-1}

S_e : Concentración de sustrato efluente, mg L^{-1}

El modelo original diseñado en 1982 por Stover-Kincannon para un reactor de biopelícula giratorio (Ahmadi et al., 2017) está dado por la siguiente expresión:

$$\frac{dS}{dt} = \frac{Q(S_0 - S_e)}{V} = \frac{U_{m\acute{a}x} \left(\frac{QS_0}{A} \right)}{K_S + \left(\frac{QS_0}{A} \right)}$$

Donde:

A : Superficie del medio de soporte, m^2

$U_{m\acute{a}x}$: Tasa máxima de eliminación de sustrato, $mg L^{-1}d^{-1}$

K_S : Constante de saturación, $g m^{-2}d^{-1}$

$\frac{QS_0}{A}$: Carga orgánica aplicada, $g m^{-2}d^{-1}$

De esta forma, Stover y Kincannon presentan la tasa de cambio del sustrato como una adaptación de los modelos de Michaelis-Menten y de Monod en función de la carga orgánica, quienes lo hacen con respecto a la concentración del sustrato.

En esta tesis para reactor de fermentación con sólidos en suspensión la modificación del modelo original de Stover-Kincannon es la introducción de la OLR. Haciendo la siguiente igualdad:

$$OLR = \frac{QS_0}{V}$$

Reemplazando en el modelo original de Stover-Kincannon resulta:

$$\frac{dS}{dt} = \frac{U_{m\acute{a}x} \left(\frac{QS_0}{V} \right)}{K_S + \left(\frac{QS_0}{V} \right)}$$

Sustituyendo:

$$\frac{dS}{dt} = \frac{U_{m\acute{a}x}(OLR)}{K_S + (OLR)}$$

Haciendo la adaptación de Stover y Kincannon a la ecuación de Haldane se obtiene:

$$U = \frac{\hat{U}}{1 + \frac{K_S}{OLR} + \frac{OLR}{k_i}}$$

Donde:

U : Velocidad de reacción de eliminación de sustrato para una OLR, $\text{mg L}^{-1}\text{d}^{-1}$

\hat{U} : Velocidad de reacción máxima en la ausencia de inhibición, $\text{mg L}^{-1}\text{d}^{-1}$

K_s : Constante de saturación, $\text{kgSV}_{\text{FORSU}}/\text{m}^3 \cdot \text{d}$

k_i : Constante de inhibición, $\text{kgSV}_{\text{FORSU}}/\text{m}^3 \cdot \text{d}$

OLR : Carga orgánica aplicada, $\text{kgSV}_{\text{FORSU}}/\text{m}^3 \cdot \text{d}$

La ecuación para concentración en que se obtiene máxima tasa de reacción (teoría de Haldane, Capítulo 4.2.1) se adapta a carga orgánica OLR.

$$K_s = \frac{OLR_m^2}{K_i}$$

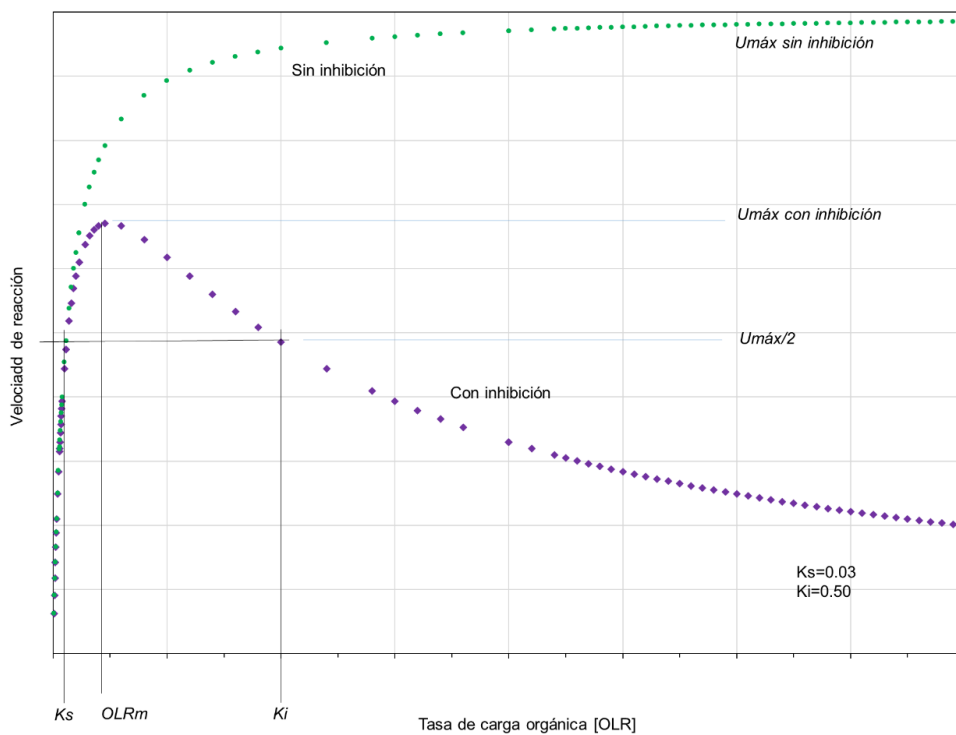


Figura 6.1 Representación gráfica de la adaptación de Stover-Kincannon a la cinética de Haldane, comparando con Monod en función de la tasa de carga orgánica.

Se utilizaron resultados de experimentos mencionados en la metodología para la determinación de la menor carga orgánica (OLR_m en figura 6.1) para la mayor producción tanto para lactato como para etanol.

Los coeficientes K_s y K_i para determinar la OLR óptima serán valores que se ingresarán y calibrarán en los cálculos en función del comportamiento de las gráficas y haciendo los despejes correspondientes, es decir, obteniendo el valor de U_{max} considerando la inhibición ubicándolo en la gráfica y teniendo U_{max} sin inhibición será posible obtener K_i y teniendo la carga orgánica óptima, podremos despejar el valor de K_s .

6.1.1 Producción de lactato sin adición de *Saccharomyces cerevisiae*

A continuación, se muestran los resultados para el experimento de lactato a diferentes concentraciones de ST de la tesis de Mosquera Toscano (2022):

Tabla 6.1 Caracterización de la FORSU experimental (Mosquera, 2022).

Datos	
kgST/kgFORSU	0.292
kgSV/kgST	0.74
gDQO/kgFORSU	280
gDQO/kgST	958.904
gDQO/kgSV	1295.816

Para el experimento de Mosquera (2022) que fermenta la FORSU en botellas cerradas de 2L, a 35°C por 24 horas para tres porcentajes de ST y sus respectivo %SV (ver tabla 6.2), en la presente tesis se calcularon las correspondientes OLR aplicadas y tasa específica de producción de lactato (como DQO equivalente).

En la Tabla 6.2 se observa que al aumentar OLR el rendimiento de lactato sufrió una disminución para OLR máxima. Esto indica que no es aplicable la teoría de Michaelis-Menten (sin inhibición), y debe aplicarse teoría de Haldane, que se resolvió adaptando el modelo de Stover-Kincannon.

Tabla 6.2 Resultados de OLR y sus rendimientos específicos de lactato para fermentaciones de 24 horas solamente con población presente en FORSU a diferentes concentraciones de ST.

Producción de Lactato sin <i>Saccharomyces cerevisiae</i> en frascos de 2 L							
%ST*	%SV*	Tiempo* (h)	Rendimiento de lactato* (gDQO _{eq} /kgST _{FORSU})	OLR (kgSV _{FORSU} /m ³ ·d)	Tasa específica (gDQO _{lactato} /kgSV _{FORSU} ·d)		Error (%)
					Reporte de laboratorio*	Por Stover-Kincannon	
10.0	7.40	24	130	74.00	175.68	216.69	23.3
20.0	14.80	24	254	148.00	343.24	286.16	-16.6
29.2	21.61	24	205	216.08	277.03	299.93	8.26

*Datos de tesis de Mosquera, 2022.

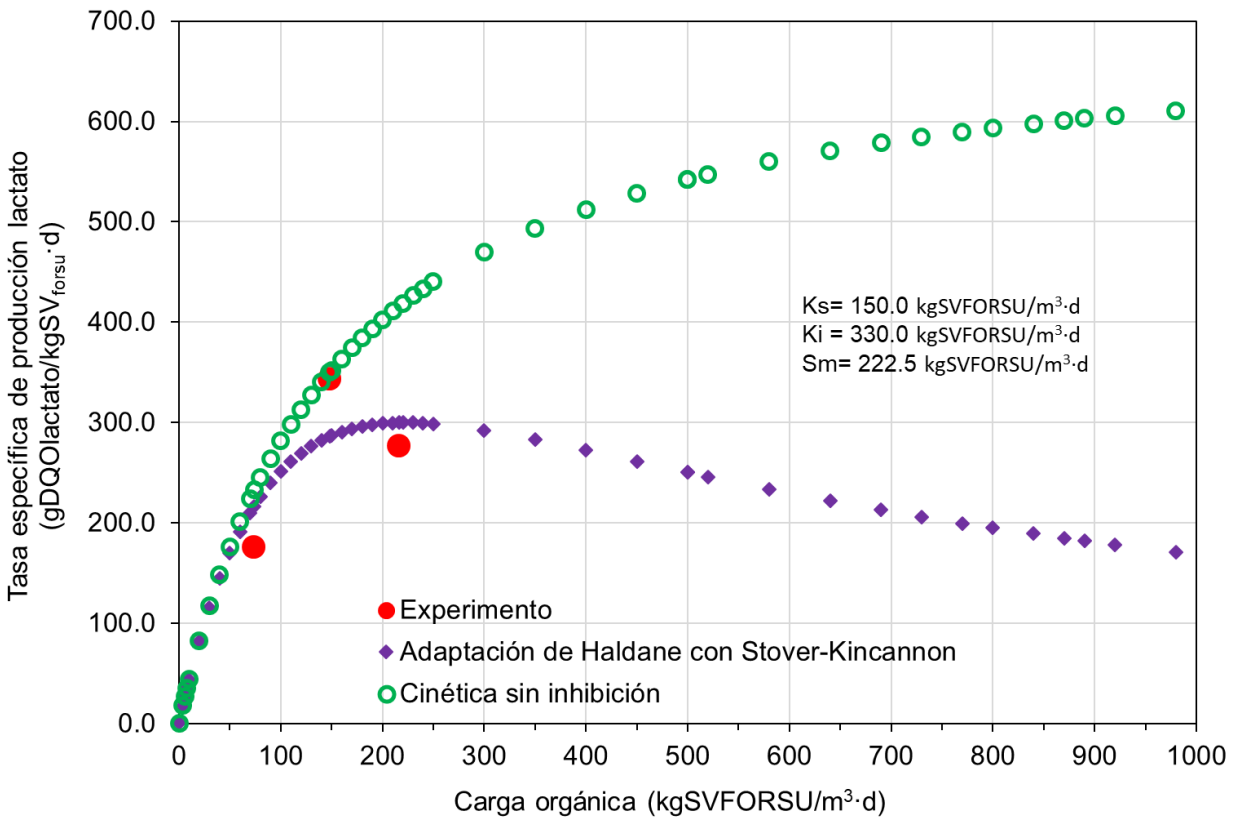


Figura 6.2 Resultados de experimento para rendimiento específico con relación a la carga orgánica para lactato sin adición de *Saccharomyces cerevisiae*.

6.1.2 Producción de metabolitos con adición de *Saccharomyces cerevisiae*

Se busca la mayor producción específica de metabolitos con la menor OLR y dados los resultados anteriores, como antecedente Mosquera (2022) reporta un segundo experimento con 10% y 20% de ST con adición de *Saccharomyces cerevisiae* a diferentes concentraciones: 6, 12 y 24 gSacc/kgFORSU. Cuyos resultados se interpretarán en esta tesis conforme a teoría de inhibición de Haldane.

En la tabla 6.1 se tienen los datos de interés para la FORSU (Mosquera, 2022) con respecto a 9 horas de reacción.

El análisis para la producción del metabolito lactato se resume en tabla 6.3. Donde se muestran las OLR aplicadas como kgSV de FORSU por metro cúbico y por día. Se puede observar que el aumento de carga orgánica no necesariamente produce aumentos en la tasa específica de producción de lactato, que se esperaría de un proceso biológico sin inhibición. Al final de la tabla se muestran las estimaciones realizadas utilizando modelo de Stover-Kincannon para resolver inhibición de Haldane.

Tabla 6.3 OLR con respecto a *Saccharomyces cerevisiae* agregada y tasa específica de producción de lactato a 9 horas de reacción con diferentes concentraciones de *Saccharomyces cerevisiae* y porcentaje de sólidos totales.

Producción de Lactato con <i>Saccharomyces cerevisiae</i> en frascos de 2 L							
%ST*	%SV*	gSacc/ kgFORSU*	Rendimiento de lactato* (gDQO _{eq} / kgST _{FORSU})	OLR (gSV _{FORSU} / gSV _{Sacch} ·d)	Tasa específica (gDQO _{lactato} /kgSV _{FORSU} ·d)		Error (%)
					Reporte de laboratorio*	Por Stover- Kincannon	
10	7.4	24	55	24.009	198.20	198.26	0.03
10	7.4	12	40	48.018	144.14	230.00	59.60
10	7.4	6	48	96.036	173.00	197.62	14.25
20	14.8	24	28	24.009	100.90	198.26	96.49
20	14.8	12	65	48.018	234.23	230.00	-1.81
20	14.8	6	33	96.036	118.92	197.62	66.18

*Datos de tesis de Mosquera, 2022.

Si bien es cierto que el error de estimación es significativamente alto, esta primera investigación abre el camino para realizar experimentos en la zona crítica que se muestra en figura 6.3. En donde se aprecia la necesidad de profundizar la investigación en el intervalo de carga orgánica de 0.015 a 0.06 gSV_{FORSU}/gSacch·d).

Otra observación es que, aun cuando los rendimientos máximos de lactato disminuyen 75% (de 254 a 65 gDQO_{eq}/kgST_{FORSU}, ver tablas 6.2 y 6.3), las tasas específicas de producción de lactato solo disminuyen 31%, de 343 a 234 gDQO_{lactato}/kgSV_{FORSU}·d. Esto último porque el periodo de reacción se recorta de 24 a 9 horas.

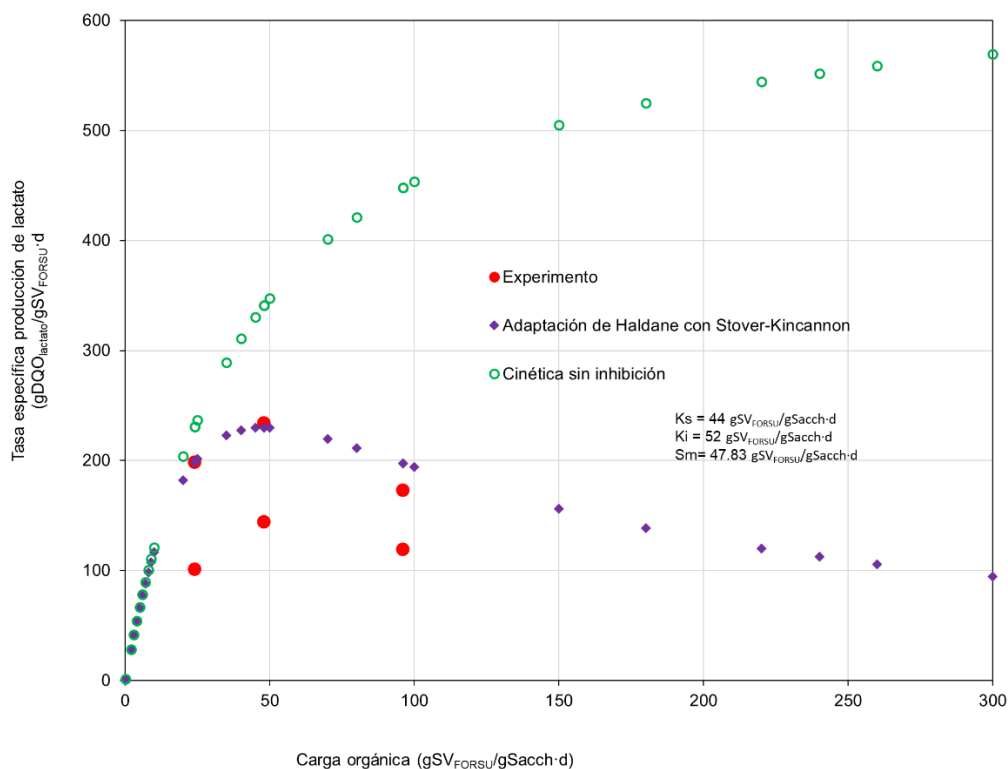


Figura 6.3 Interpretación de inhibición con resultados de Mosquera (2022) mediante modelo de Stover-Kincannon que relaciona la carga orgánica para lactato con adición de *Saccharomyces cerevisiae*.

El análisis para la producción del metabolito etanol cuando se agrega *Saccharomyces cerevisiae* se resume en tabla 6.4. Igual que para lactato, el aumento de carga orgánica no necesariamente produjo aumentos en la tasa específica de producción de etanol como se esperaría de un proceso biológico sin inhibición. Al final de la tabla se muestran las estimaciones realizadas utilizando modelo de Stover-Kincannon para resolver inhibición de Haldane.

Tabla 6.4 OLR con respecto a *Saccharomyce cerevisiae* agregada y tasa específica de producción de etanol a 9 horas de reacción con diferentes concentraciones de *Saccharomyces cerevisiae* y porcentaje de sólidos totales.

Producción de Etanol con FORSU más <i>Saccharomyces cerevisiae</i> en frascos de 2 L							
%ST*	%SV*	gSacc/ kgFORSU*	Rendimiento de etanol* (gDQO _{eq} / kgST _{FORSU})	OLR (gSV _{FORSU} / gSV _{Sacch} ·d)	Tasa específica (gDQO _{etanol} /kgSV _{FORSU} ·d)		Error (%)
					Reporte de laboratorio*	Por Stover- Kincannon	
10	0.074	24	150	24.009	540.54	1123.07	107.8
10	0.074	12	250	48.018	900.90	1109.31	23.13
10	0.074	6	115	96.036	414.41	874.61	111.0
20	0.148	24	320	24.009	1153.15	1123.07	-2.61
20	0.148	12	305	48.018	1099.10	1109.31	0.93
20	0.148	6	270	96.036	972.97	874.61	-10.11

El error de estimación es significativamente alto, no obstante, esta primera investigación abre el camino para realizar experimentos en la zona crítica que se muestra en figura 6.4. En donde se aprecia la necesidad de profundizar la investigación en el intervalo de carga orgánica de 0.01 a 0.06 gSV_{FORSU}/gSacch·d). Otra observación es que, la suma de los máximos rendimientos como DQO equivalente de lactato y etanol (65 +305 gDQO_{eq}/ kgST_{FORSU}), en 9 h, superan 254 gDQO_{eq}/ kgST_{FORSU} obtenido para la fermentación natural de FORSU, en 24 horas, sin agregar levaduras.

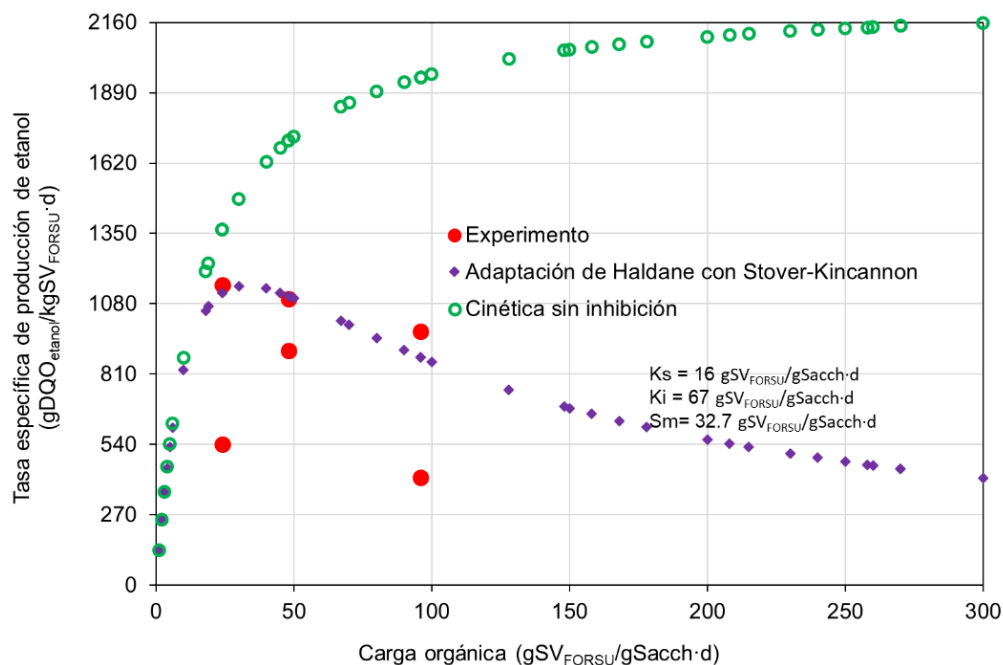


Figura 6.4 Interpretación de inhibición en resultados de Mosquera (2022) mediante modelo de Stover-Kincannon que relaciona la carga orgánica para etanol con adición de *Saccharomyces cerevisiae*.

El análisis para la producción del metabolito acetato cuando se agrega *Saccharomyces cerevisiae* se resume en tabla 6.5. Igual que para lactato y etanol, el aumento de carga orgánica no necesariamente produjo aumentos en la tasa específica de producción de acetato. Como se esperaba de un proceso biológico sin inhibición. Al final de la tabla se muestran las estimaciones realizadas utilizando modelo de Stover-Kincannon para resolver inhibición de Haldane.

Tabla 6.5 OLR con respecto a *Saccharomyce cerevisiae* agregada y tasa específica de producción de acetato a 9 horas de reacción con diferentes concentraciones de *Saccharomyces cerevisiae* y porcentaje de sólidos totales.

Producción de Acetato con FORSU más <i>Saccharomyces cerevisiae</i> en frascos de 2 L							
%ST*	%SV*	gSacc/ kgFORSU*	Rendimiento de acetato* (gDQO _{eq} / kgST _{FORSU})	OLR (gSV _{FORSU} / gSV _{Sacch} ·d)	Tasa específica (gDQO _{acetato} /kgSV _{FORSU} ·d)		Error (%)
					Reporte de laboratorio*	Por Stover- Kincannon	
10	0.074	24	20	24.009	72.1	64.0	-11.3
10	0.074	12	15	48.018	54.1	60.5	12.01
10	0.074	6	6	96.036	21.6	43.52	101.3
20	0.148	24	10	24.009	36.0	64.0	77.5
20	0.148	12	18	48.018	64.9	60.6	-6.6
20	0.148	6	8	96.036	28.8	43.5	51.0

El rendimiento máximo 18 gDQO_{eq}/ kgST_{FORSU} correspondiente a 20% de ST y 12 gSacc/kgFORSU* es significativamente inferior a los de etanol y lactato (65 y 305 gDQO_{eq}/kgST_{FORSU}, respectivamente). Como se mencionó al inicio de la tesis, el acetato es un producto complementario en la fermentación heteroláctica.

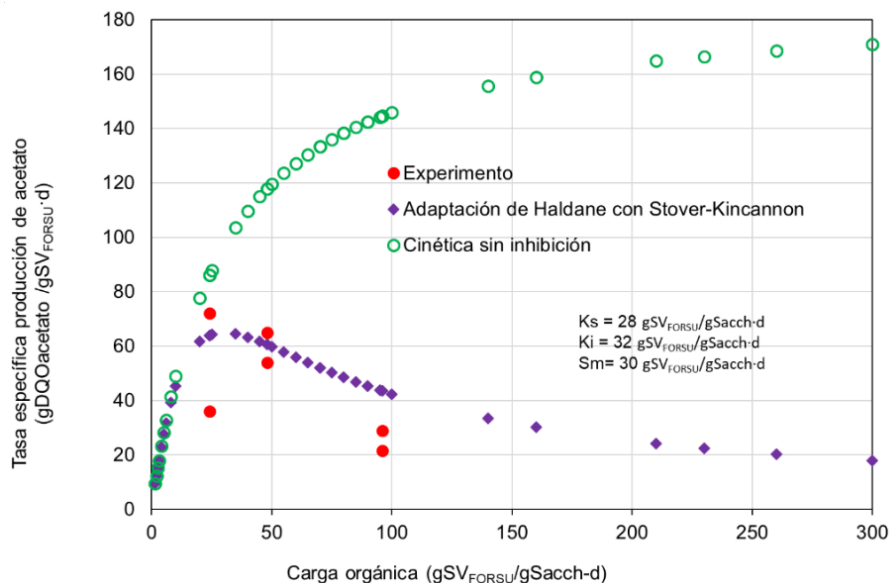


Figura 6.5 Interpretación de inhibición en resultados de Mosquera (2022) mediante modelo de Stover-Kincannon que relaciona la carga orgánica para acetato con adición de *Saccharomyces cerevisiae*.

De acuerdo con la figura 6.6 del esquema ilustrativo de Andrews (1968), en la tabla 6.6 se muestran las constantes cinéticas usando el modelo de Stover-Kincannon para resolver la cinética de inhibición de acuerdo con Haldane para las fermentaciones recopiladas en esta tesis.

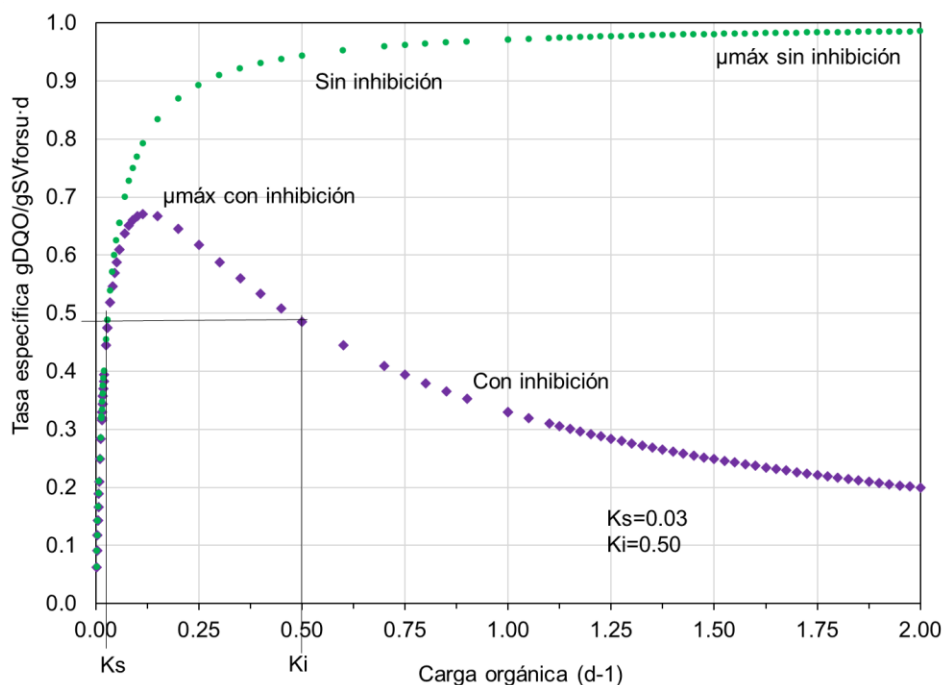


Figura 6.6 Representación gráfica de la adaptación de Stover-Kincannon a la cinética de Haldane, comparando con Monod que relaciona la carga orgánica por cada día.

Tabla 6.6 Constantes cinéticas calibradas con modelo de Stover y Kincannon para explicar cinética de Haldane en resultados experimentales para fermentaciones sin y con adición de *Saccharomyces cerevisiae*.

Metabolitos	Población	Cinética por adaptación de Stover-Kincannon a Haldane			
		Ks	Ki	Tasa específica máxima (gDQOeq/kgSV _{FORSU} ·d)	
				Sin inhibición	Con inhibición
Lactato	FORSU	150 (kgSVFORSU/m ³ ·d)	330 (kgSVFORSU/m ³ ·d)	704.52	300.00
Lactato	FORSU +	44 (gSV _{FORSU} /gSacch·d)	52 (gSV _{FORSU} /gSacch·d)	653.14	230.00
Etanol	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	16 (gSV _{FORSU} /gSacch·d)	67 (gSV _{FORSU} /gSacch·d)	2273.96	1150.00
Acetato		28 (gSV _{FORSU} /gSacch·d)	30 (gSV _{FORSU} /gSacch·d)	186.88	65.00

De la tabla 6.6 se observa que la fermentación de FORSU con su propia población logra una alta tasa específica de producción del metabolito lactato, pero al agregar levaduras se puede observar también que había sustrato biodegradable que no era aprovechado para producir etanol.

6.2 Diseño de reactor

6.2.1 Fermentación natural para obtención de ácido láctico

En tabla 6.2 y figura 6.3 se muestran los resultados de tasa de producción específica de ácido láctico, metabolito que predominó sobre etanol y acetato para la fermentación sin adición de levaduras.

La máxima tasa específica de producción de ácido láctico con la inhibición, por aumento de la carga orgánica de FORSU, es 300 gDQO_{lactato}/kg SV_{FORSU}·d (ver figura 3.2). De donde se obtiene en eje de OLR aplicada, el valor de OLR_m (carga orgánica en que se da la máxima tasa de producción con inhibición) igual a 222 kgSV_{FORSU}/m³·d (modelo de Stover-Kincanon aplicado a resultados de Mosquera, 2022).

Así, el volumen requerido de reactor fermentador, especializado en producción de ácido láctico, para una tonelada diaria de FORSU se resuelve usando la ecuación de carga orgánica

$$OLR = \frac{QS_0}{V}$$

Donde;

Q*So, corresponde al gasto másico diario suministrado, kg SV_{FORSU}/d,

V; es el volumen del reactor, m³.

- La relación SV/FORSU (masa/masa) es 0.21608 (Mosquera, 2022),
- Por lo tanto, una tonelada de FORSU contiene en promedio 216.08 kg de SV,
- Al sustituir en la ecuación de carga orgánica para despejar V correspondiente a OLR_m, para un tiempo de 24 h (Mosquera, 2022).

$$222 \frac{\text{kgSV}_{\text{FORSU}}}{\text{m}^3 \cdot \text{d}} = \frac{216.08 \text{kgSV} / \text{d}}{V}$$

Al despejar se obtiene el volumen del fermentador para una tonelada diaria de FORSU con máxima tasa específica de producción de ácido láctico:

$$V = \frac{216.08 \text{ kgSV} / \text{d}}{222 \frac{\text{kgSV}_{\text{FORSU}}}{\text{m}^3 \cdot \text{d}}}$$

$$V = 0.973 \text{ m}^3 = 973 \text{ L}$$

Para la fermentación natural de FORSU (a 35°C y sin adición de levaduras) para maximizar la producción de ácido láctico la relación masa suministrada de FORSU/volumen de reactor debe ser de 1/0.973.

6.2.2 Fermentación con adición de *Saccharomyces cerevisiae*

En la fermentación de FORSU con adición de *Saccharomyces cerevisiae* el metabolito que predomina es el etanol de forma considerable sobre ácidos láctico y acético (ver tablas 6.3, 6.4 y 6.5).

El volumen requerido de reactor para maximizar producción de etanol a partir de una tonelada diaria de FORSU, cuando se adiciona *Saccharomyces cerevisiae*, se resuelve a partir de la ecuación de carga orgánica con respecto a la masa de levadura, en vez de solo el volumen como fue el caso de fermentación natural.

$$OLR = \frac{QS_0}{V \cdot X}$$

Donde,

X; es la concentración de *Saccharomyces cerevisiae* en el reactor, kgSacch/m³,

V·X; equivale a la masa de levaduras en el reactor, kgSacch

En experimento de Mosquera (2022) para la relación de levadura/FORSU adicionada de 6 gSacch/kgFORSU y 20%ST, la FORSU agregada fue de 1369.86 g (296 gSV_{FORSU}) y de levadura, 8.219 g (estimado de Mosquera, 2022) en reactor aforado a 2 L.

De la ecuación de carga orgánica con base en biomasa X.

$$OLR = \frac{QS_0}{V \cdot X}$$

El gasto másico QSo aplicado para 20%ST fue de 0.296 kgSV_{FORSU} entre 9 h, igual a 0.789 kgSV_{FORSU}/d.

El producto $V \cdot X$ corresponde a la masa en el reactor (8.219 g Sacch) que al dividir entre el volumen V (L) produce una concentración X de levaduras de $4.1096 \text{ kgSacch/m}^3$.

De donde la carga orgánica aplicada para 9 h de fermentación.

$$OLR = \frac{0.789 \text{ kgSV}_{\text{FORSU}}/d}{0.008219 \text{ kgSacch}}$$

Se aplicó entonces una OLR de

$$OLR = 96 \text{ kgSV}_{\text{FORSU}}/\text{kgSacch} \cdot d$$

Al resolver con modificación de Stover-Kincanon para teoría de Haldane. La máxima tasa específica de producción de etanol es de $1150 \text{ gDQOetanol/gSV}_{\text{FORSU}} \cdot d$ dada la inhibición, la cual se obtendría para OLR_m (carga orgánica para máxima tasa de producción con inhibición) de $32.74 \text{ kgSV}_{\text{FORSU}}/\text{kgSacch} \cdot d$ (ver figura 6.4).

Resolviendo el volumen requerido para una tonelada de FORSU considerando 6 gSacch/kgFORSU y $20\%ST$ en el reactor. Recordsando que 1 tonelada de FORSU equivalen a 216.08 kgSV , al despejar y sustituir en ecuación de OLR

Al incluir concentración (X) de organismos en el denominador se puede despejar el volumen de reactor para los sólidos volátiles que contiene una tonelada de FORSU diaria.

$$32.74 \frac{\text{kgSV}_{\text{FORSU}}}{\text{kgSacch} \cdot d} = \frac{216.08 \text{ kgSV}_{\text{FORSU}}/d}{V \cdot 4.1096 \text{ kgSacch/m}^3}$$

VX es la masa de *Saccharomyces cerevisiae*

$$V \cdot X = \frac{216.08 \text{ kgSV}_{\text{FORSU}}/d}{32.74 \frac{\text{kgSV}_{\text{FORSU}}}{\text{kgSacch} \cdot d} \cdot 4.1096 \text{ kgSacch/m}^3}$$

$$V = 1.6 \text{ m}^3$$

De donde, el volumen para maximizar producción de etanol en fermentaciones de 9 horas resulta de 1.6 m^3 para una tonelada de FORSU diaria.

6.3 Propuesta del tren de tratamiento

En esta tesis se realizará la integración de la fermentación en la MBT de la FORSU del diagrama de proceso para la FORSU (ver figura 3.5), la cual se trabajará como un sustrato que requiere una vía metabólica para degradarse, ya que implica una de las reacciones metabólicas antes de la conversión final en metabolitos. Esto puede ser de importancia en el control efectivo de la puesta en marcha y operación de digestores anaerobios (Mata-Álvarez et al., 2000).

Este punto del proceso que se está proponiendo pasada la retención de los materiales inertes, incorpora un proceso viable para obtener los metabolitos, VFA, etanol y láctico siendo un fermentador heterofermentativo. Al pasar por los hidrociclones, llegaría al punto propuesto sin materiales inertes como lo son arenas y vidrios, además de todos los mencionados en cada proceso durante el capítulo referido a la ubicación del tren de tratamiento.

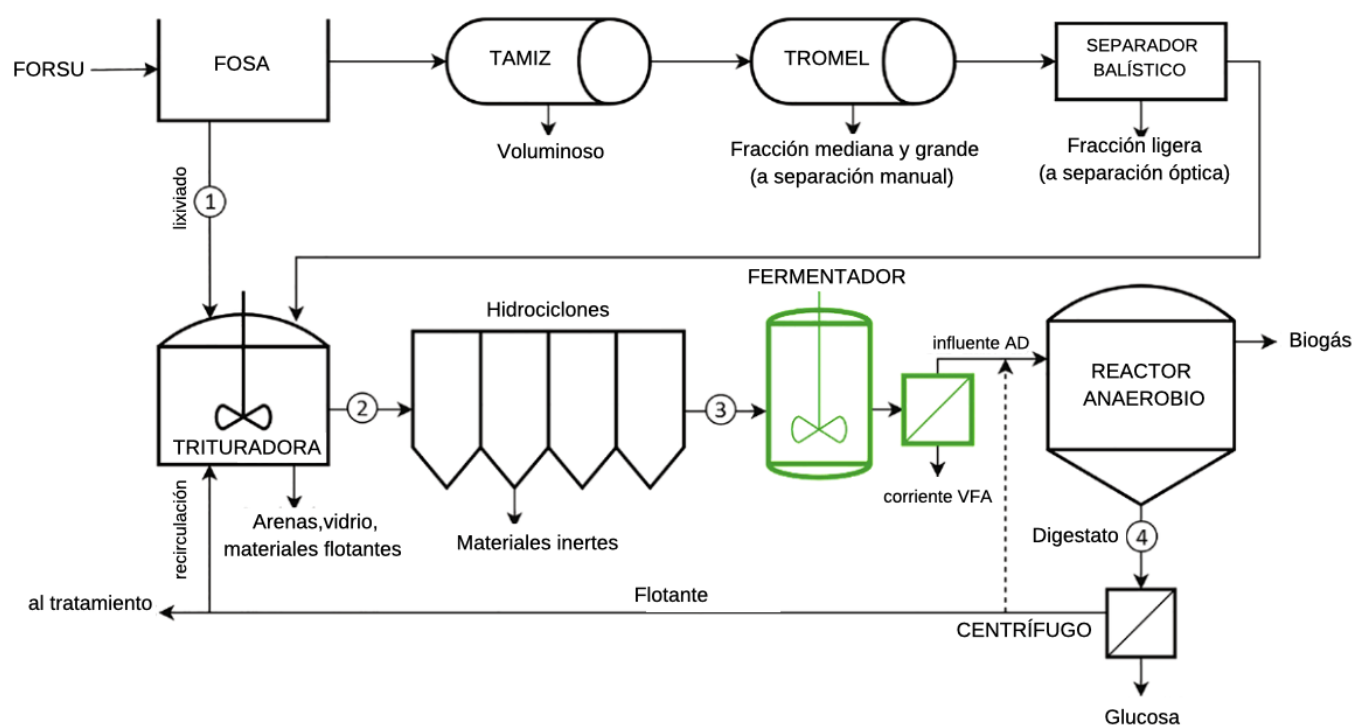


Figura 6.7 Propuesta de diagrama de proceso de la planta de tratamiento mecánico-biológico para producir y separar VFA de la FORSU (adaptado de Fernandez-Dominguez, et al., 2020).

Capítulo VII

Conclusiones

La presente tesis presenta una técnica para mitigar el impacto ambiental negativo generado en las últimas décadas por medio de la recuperación de una corriente residual que en este caso es la fracción orgánica de residuos sólidos urbanos. Se consultó la importancia de los metabolitos en cuestión a nivel industrial: el ácido láctico y etanol. Actualmente los usos más comunes para el lactato están orientados a la producción y conservación de diferentes tipos de alimentos a nivel mundial y para las industrias química, farmacéutica, textil e incluso en la agricultura. Para el caso del etanol se encontró que actualmente se le da uso a este metabolito para reemplazar combustibles fósiles, buscando mitigar el cambio climático de la mano con la sustentabilidad.

Se revisaron los parámetros que interfieren en la digestión anaerobia, siendo la temperatura de operación una de ellas y para la cual se consultaron los rangos de temperatura que toleran los microorganismos, eligiendo las condiciones para desarrollar una fermentación mesófila, es decir, procurando que el biorreactor se encuentre trabajando en un rango comprendido entre los 35°C y 45°C para generar los mejores rendimientos.

El parámetro más importante y sobre el cual se trabajó es la carga orgánica (OLR), dado que esta indica la cantidad de sólidos volátiles que ingresan al biorreactor para su fermentación.

Se realizó la adaptación del modelo de Stover y Kincannon a la cinética de Haldane, de forma de obtener la tasa específica de producción de metabolitos en función de la carga orgánica.

Se obtuvo la producción de lactato a 24 horas con diferentes concentraciones de sólidos totales eligiendo la concentración donde se generó el mayor rendimiento del metabolito, siendo de 20% ST dando una tasa específica de producción igual a 286.16 [gDQO_{lactato}/kgSV_{FORSU}·d].

Para el experimento de la producción de lactato con adición de *Saccharomyces cerevisiae* con 10 y 20% ST a diferentes concentraciones de levadura, siendo ahora el experimento a 9 horas, se obtuvo el mejor resultado con 20% ST a una concentración de 12 [gSacc/kg_{FORSU}] arrojando una tasa específica de producción igual a 230 [gDQO_{lactato}/kgSV_{FORSU}·d].

En el experimento de la producción de etanol con adición de *Saccharomyces cerevisiae* también a 9 horas, se obtuvo el mejor resultado con 20% ST a una concentración de 12

[gSacc/kg_{FORSU}], resultando que la tasa específica de producción es igual a 1109.31 [gDQO_{etnaol}/kgSV_{FORSU}·d]. En este experimento se obtuvo mayor producción a una concentración de 24 [gSacc/kg_{FORSU}] resultando 1123.07 [gDQO_{etnaol}/kgSV_{FORSU}·d] pero al buscar la mayor producción con menor cantidad de levadura, se eligió la primera.

Experimentando finalmente la producción de acetato con adición de *Saccharomyces cerevisiae*, el mejor resultado óptimamente hablando fue con adición de 12 [gSacc/kg_{FORSU}] produciendo 64.0 [gDQO_{acetato}/kgSV_{FORSU}·d].

Los resultados fueron favorables siendo que el error entre lo obtenido de laboratorio y lo resultante por medio del modelo adaptado de Stover y Kincannon, es mínimo. En los resultados se mostraron las constantes cinéticas para los metabolitos acorde a su población, es decir, con levadura en la FORSU o sin ella.

De la presente investigación se obtuvo la clasificación de los tipos de fermentación que suceden en el camino anaerobio de los productos de la FORSU.

Se diseñó el diagrama de proceso de la FORSU acorde a los requerimientos industriales, leyes ambientales que rigen al país y a la caracterización de los residuos en promedio que se generan específicamente en la Ciudad de México.

Finalmente, fue determinado el volumen para diseñar del biorreactorreactor de fermentación anaerobia, obteniendo que para una producción de una tonelada de FORSU por día se requiere que el biorreactor tenga un volumen 0.973 m³, considerando una fermentación natural a 35°C sin adición de levaduras. Para el caso de la adición de *Saccharomyces cerevisiae*, el volumen del biorreactor para maximizar la producción para una fermentación a 9 horas es de 1.6 m³.

Referencias

- Abdel-Rahman, M., Tashiro, Y., Sonomoto, K. (2011). Lactic acid production from lignocellulose-derived sugars using lactic acid bacteria: Overview and limits, *J. Biotechnol.* 156(4), pp. 286-301.
- Adachi, O., Toyama, H., Matsushita, K. (2007). Biooxidation with PQQ- and FAD-dependent dehydrogenases. In: Schmid RD, Urlacher VB, editors. *Modern biooxidation: Enzymes, reactions and applications*. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
- Agbor, V., Cicek, N., Sparling, R., Berlin, A., Levin, D. (2011). Biomass pretreatment: fundamentals toward application *Biotechnol. Adv.* 29, pp. 675-685.
- Agler, M., Wrenn, B., Zinder, S., Angenent, L. (2011). Waste to bioproduct conversion with undefined mixed cultures: the carboxylate platform. *Trends Biotechnol.* 29, pp. 70–78.
- Akerberg, C., Hofvendahl, K., Zacchi, G. (1998). Modelling the influence of pH, temperature, glucose and lactic acid concentrations on the kinetics of lactic acid production by *Lactococcus lactis* ss *lactis* ATCC 19435 in whole-wheat flour. *Applied Microbiology and Biotechnology* 49, pp. 682-690.
- Aksu, Z., Kutsal, T. (1986) Lactic acid production from molasses utilizing *Lactobacillus delbrueckii* and invertase together. *Biotechnol Lett* 8, pp. 157-160.
- Al Seadi, T., Rutz, D., Prassl, H., Köttner, M., Finsterwalder, T., Volk, S., Janssen, R. (2008). *Biogas Handbook*. Esbjerg, Denmark, University of Southern Denmark.
- Alibardi, L., Cossu, R. (2016). Effects of carbohydrate, protein and lipid content of organic waste fraction and fermentation products. *Waste Manage.* 47 Part A, pp. 69-77.
- Andrews, J. (1968). Mathematical Model for the Continuous Culture of Microorganisms Utilizing Inhibitory Substrates. Environmental Systems Engineering, Clemson University, Clemson, South Carolina. *Biotechnology and Bioengineering* Vol. X, pp 707-723.
- Angenent L., Karim K., Al-Dahhan M., Wrenn B., Domínguez-Espinosa R. (2004). Production of bioenergy and biochemicals from industrial and agricultural wastewater. *Trends Biotechnol* 22: pp. 477-485.
- Anwar, M., Ma, H., Yue, S., Wang, Q., Tu, M. (2018). Concise review on ethanol production from food waste: development and sustainability. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 25, pp. 28851-28863.

- AOAC. (2012). *Official Methods of Analysis*, 19th edition. Association of Official Analytical Chemists, USA.
- APHA. (2005). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 21st ed. American Public Health Association, American Water Works Association and Water Pollution Control Federation. Washington D.C., USA.
- ASTM (2016) *Standard test method for determination of the composition of unprocessed municipal solid waste*: ASTM D5231-92, 2016. ASTM International, West Conshohocken.
- Atlas, R., Bartha, R. (2002). *Ecología microbiana y Microbiología ambiental*. 4^a Ed. Madrid. Pearson.
- Benefield, L., Randall, C. (1980). *Biological Process Design for Wastewater Treatment*. 1st Edition, Prentice-Hall, Englewood Cliffs, p. 526.
- Bakoyianis V., Koutinas A., Agelopoulos, K., Kanellaki, M. (1997). Comparative study of kissiris, γ -alumina, and calcium alginate as supports of cells for batch and continuous wine-making at low temperatures. *Agric Food Chem* 45: pp. 4884-4888.
- Banks, C., Chesshire, M., Stringfellow, A. (2008). A pilot-scale comparison of mesophilic and thermophilic digestion of source segregated domestic food waste. *Water Sci. Technol.* 58, pp. 1475-1481.
- Battista, F., Frison, N., Pavan, P., Cavinato, C., Gottardo, M., Fatone, F., Eusebi, A., Majone, M., Zeppilli, M., Valentino, F., Fino, D., Tommasi, T., Bolzonella, D. (2020). Food wastes and sewage sludge as feedstock for an urban biorefinery producing biofuels and added-value bioproducts. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 95, pp. 328-338.
- Batstone D., Keller J., Angelidaki I., Kalyuzhnyi S., Pavlostathis S., Rozzi A, Sanders W., Siegrist H., Vavilin V. (2002). *Anaerobic digestion model*, IWA Task Group for mathematical modelling of anaerobic digestion processes. London, IWA Publishing.
- Batstone, D., Keller, J., Newell, R., Newland, M. (2000). Modelling anaerobic degradation of complex wastewater: Model development. *Bioresource Technology*, 75: 67-74.
- Beijerinck M. (1898). *About the types of acetic acid bacteria*. Zentralbl Bakteriol Parasitenkd Infektionskr Hyg Abt II. 4:209–16.
- Bender, D. (2003). *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*, Second Edition, pp. 2904-2908.

Bisswanger, H. (2017). *Enzyme Kinetics: Principles and Methods*, Wiley-VCH, Weinheim Germany, pp. 58-79.

Bolzonella, D., Fatone, F., Pavan, P., Cecchi, F. (2005). Anaerobic fermentation of organic municipal solid wastes for the production of soluble organic compounds. *Ind. Eng. Chem. Res.* 44 (10), pp. 3412-3418.

Bolzonella, D., Pavan, P., Battistoni, P., Cecchi, F. (2005). Mesophilic anaerobic digestion of waste activated sludge: influence of the solid retention time in the wastewater treatment process. *Process Biochem.* 40, pp. 1453–1460.

Boonmee, M., Leksawasdi, N., Bridge, W., Rogers, L. (2003). Batch and continuous culture of *Lactococcus lactis* NZ133: experimental data and model development. *Biochemical Engineering Journal* 14, pp. 127-135.

Burke, P. (2001). *Dairy Waste Anaerobic Digestion Handbook*. Olympia, WA. Environmental Energy Company.

Buttol, P., Masoni, P., Bonoli, A., Goldoni, S., Belladonna, V., Cavazzuti, C. (2007). LCA of integrated MSW management systems: case study of the Bologna District. *Waste Management* 27, pp. 1059-1070.

Buyukkamaci, N., Filibeli, A. (2002). Determination of kinetic constants of an anaerobic hybrid reactor. *Proc. Biochem.* 38, pp. 73-79.

Bücher, C., Burtscher, J., Domig, K. (2021). Propionic acid bacteria in the food industry: An update on essential traits and detection methods. Institute of Food Science, University of Natural Resources and Life Sciences Vienna, Austria. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*; Vol. 20 (5), pp. 4299-4323.

Campos, P. (2001). *Optimización de la digestión anaerobia de purines de cerdo mediante codigestión con residuos orgánicos de la industria agroalimentaria*. Tesis doctoral, Escola técnica superior d'Enginyeria Agrària, Universitat de Lleida, España.

Campuzano, R., González-Martínez, S. (2016). Characteristics of the organic fraction of municipal solid waste and methane production: a review. *Waste Manage.* 54, pp. 3-12.

Capson-Tojo, G., Marion, R., Steyer, C., Escudie, (2016). Food waste valorization via anaerobic processes: a review. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* 15, pp. 499-547.

Castillo Martinez, F., Balciunas, E., Salgado, J., González, J., Converti A., Oliveira, R. (2013). Lactic acid properties, applications and production: A review. *Trends Food Sci. Tech.* 30(1), pp. 70-83.

- Cecchi, F., Traverso, P., Mata-Alvarez, J., Clancy, J., Zaror, C. (1988) State of the art of R&D in the anaerobic digestion process of municipal solid waste in Europe *Biomass*, 16, pp. 257-284-
- Cerda, A., Artola, A., Barrena, R., Font, X., Gea, T., Sánchez, A. (2019). Innovative production of bioproducts from organic waste through solid-state fermentation. *Front. Sustain. Food Syst.* 3, pp. 1-6.
- Chang, D., Jung, H., Rhee, J., Pan, J. (1999). Homofermentative Production of D- or L-Lactate in Metabolically Engineered *Escherichia coli* RR1. *Applied and Environmental Microbiology* 65(4), pp. 1384-1389.
- Chan-Blanco, Y., Bonilla, A., Velásquez, A. (2003). Using banana to generate lactic acid through batch process fermentation. *Applied Microbiology and Biotechnology* 63, pp. 147-152.
- Cheah, Y., Vidal-Antich, C., Dosta, J., Mata-Alvarez, J., (2019). Volatile fatty acid production from mesophilic acidogenic fermentation of organic fraction of municipal solid waste and food waste under acidic and alkaline pH. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 26, pp. 35509-35522.
- Chen, D., Yin, L., Wang, H., He, P. (2015) Reprint of: Pyrolysis technologies for municipal solid waste: A review, *Waste Management* 37, pp. 116-136.
- Chen, H., Meng, H., Nie, Z., Zhang, M., (2013). Polyhydroxyalkanoate production from fermented volatile fatty acids: effect of pH and feeding regimes. *Bioresour. Technol.* 128, pp. 533-538.
- Chen, Y., Li, X., Zheng, X., Wang, D. (2013). Enhancement of propionic acid fraction in volatile fatty acids produced from sludge fermentation by the use of food waste and *Propionibacterium acidipropionici*. *Water Res.* 47 (2), pp. 615–622.
- Chopin, A. (1993). Organization and regulation of genes for amino acid biosynthesis in lactic acid bacteria. *Microbiology* 12, pp. 31-38.
- Chynoweth, D. (1996). Environmental impact of biomethanogenesis. *Environ Monit. Assess.* 42, pp. 3-18.
- Ciani, M., Comitini, F., Mannazzu, I. (2008). Encyclopedia of Ecology. *Fermentation*, pp. 1548-1557.
- Dahiya, S., Sarkar, O., Swamy, Y., Venkata, S., (2015) Acidogenic fermentation of food waste for volatile fatty acid production with cogeneration of biohydrogen. *Bioresour Technol* 182, pp. 103-113.

- Dahiya, S., Kumar, A., Shanthi, J., Chatterjee, S., Sarkar, O., Mohan, S., (2018). Food waste biorefinery: sustainable strategy for circular bioeconomy. *Bioresour. Technol.* 248, pp. 2-12.
- Datta, R., Tsai, S., Patrick, B., Moon, S., Frank, J. (1993). Technological and economic potential of poly lactic acid and lactic acid derivatives. International Congress on Chemistry from Biotechnology, Hannover, Germany, pp. 1-18.
- Datta, R. (2006). Lactic acid: Recent advances in products, processes and technologies. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology.*
- Davidsson, A., Gruvberger, C., Christensen, T., Hansen, T., Jansen, J. (2007). Methane yield in source-sorted organic fraction of municipal solid waste. *Waste Manage* 27, pp. 406-414.
- De Baere, L. (2006). Will anaerobic digestion of solid waste survive in the future? *Water Sci. Technol.*, 53 (8), pp. 187-194.
- De Mes D., Stams, A., Reith, J., Zeeman, G. (2003). *Methane production by anaerobic digestion of wastewater and solid wastes*. En Reith, H., Wijffels, H., Barten, H. (eds.) Bio-methane & Bio-hydrogen, status and perspectives of biological methane and hydrogen production. Netherlands, Ed. Dutch Biological Hydrogen Foundation, pp. 58-102.
- Demirbas, A. (2009). Biofuels securing the planet's future energy needs, *Energy Conversion and Management*, Vol 50, pp. 2239-2249.
- Den Boer, E., Lukaszewska, A., Kluczkiewicz, W., Lewandowska, D., King, K., Reijonen, T., Kuhmonen, T., Suhonen, A., Jaaskelainen, A., Heitto, A., Laatikainen, R., Hakalehto, E. (2016). Volatile fatty acids as an added value from biowaste. *Waste Manage.* 58, 62-69.
- Deublein, D., Steinhauser, A. (2008). Biogas from Waste and Renewable Resources, And Introduction. Germany, Wiley-VHC Verlag GmbH and Co kGaA.
- Dong, L., Zhenhong, Y., Yongming, S. 2010. Semi-dry mesophilic anaerobic digestion of water sorted organic fraction of municipal solid waste. *Bioresource Technology* 101, pp. 2722-2728.
- Durán, A., Casas, D., Zamora, U., Cuevas, G., Luna, M., Alcántara, R. (2014). *Fundamentos de digestión anaerobia de los residuos sólidos urbanos*. UNAM, México, D.F.
- Eathington, L., & Swenson, D. (2007). Constraints on the location of ethanol production in the corn belt. *Paper prepared for the 46th annual meeting of the Southern Regional Science Association*. Charleston, SC, pp. 29-31.
- Ebert, J. (2008) Biobutanol: the next big biofuel, *Biomass Magazine*.

- Echiegu, E. (2015). Kinetic Models for Anaerobic Fermentation Processes: A Review. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 11(3), pp. 132-148.
- Edelmann, W. (2003). *Biomethanization of the Organic Fraction of Municipal Solid Wastes*. IWA Publishing, London, pp. 265-301.
- El-Mansi E., Bryce C., Demain A., Allman A. (2006). *Fermentation microbiology and biotechnology*, Second Edition Boca Raton, FL: CRC Press.
- Endar, N. (2009). *Anaerobic Digestion of Organic Solid Waste for Energy Production*. Germany, Karlsruher Institut für Technologie (KIT) Scientific Publishing.
- Esteban, J., Ladero, M. (2018) Food waste as a source of value-added chemicals and materials: a biorefinery perspective. *Int. J. Food Sci. Technol.* 2018, 53, pp. 1095-1108.
- Fei, Q., Chang, H., Shang, L., Choi, J., Kim, N., Kang, J. (2011). The effect of volatile fatty acids as a sole carbon source on lipid accumulation by *Cryptococcus albidus* for biodiesel production. *Bioresour. Technol.* 102 (3), pp. 2695-2701.
- Fernández-Domínguez, D., Astals, S., Peces, M., Frison, N., Bolzonella, D., Mata-Alvarez, J., Dosta, J. (2020). Volatile fatty acids production from biowaste at mechanical-biological treatment plants: Focusing on fermentation temperature. *Bioresource Technology* 314: 123729.
- Figuroa-Escamilla, L., Gonzalez-Martinez, S., Campuzano, R., Valdez-Vazquez, I. (2021). Methane production and bromatological characteristics of the different fractions of organic municipal solid waste, 15, pp. 13-23.
- Forster-Carneiro, T., Pérez, M., Romero, L. (2008). Influence of total solid and inoculum contents on performance of anaerobic reactors treating food waste. *Bioresour. Technol.* 99, pp. 6994-7002.
- Fuller, R. (1989). *Probiotics in man and animals*. *J. Appl. Bacteriol.*, 66, pp. 365-378.
- Galanakis C., Kordulis C., Kanellaki M., Koutinas A., Bekatorou A., Lycourghiotis, A. (2012). Effect of pressure and temperature on alcoholic fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* immobilized on γ -alumina pellets. *Bioresour Technol* 114, pp. 492-498.
- Garcia-Aguirre, J., Aymerich, E., Goñi, J., Esteban-Gutiérrez, M. (2017). Selective VFA production potential from organic waste streams: assessing temperature and pH influence. *Bioresour. Technol.* 244, pp. 1081-1088.

- Georgacakis, D., Sievers, D. (1982). Buffer stability in manure digesters. *Agricultural wastes* 4, pp. 427-441.
- Gerardi, M. (2003). *The microbiology of Anaerobic Digesters*, Hoboken, New Jersey, Wiley-Interscience.
- Ghanimeh, S., El Fadel, M., Saikaly, P. (2012). Mixing effect on thermophilic anaerobic digestion of source-sorted organic fraction of municipal solid waste. *Bioresource Technology*. 117, pp. 63-71.
- Gidaracos, E., Havas, G., Ntzamilis, P. (2005). Municipal solid waste composition determination supporting the integrated solid waste management system in the island of Crete. *Waste Manage* 22, pp. 1-12.
- Goering, H., Van Soest, P. (1970). Forage Fiber Analyses: Apparatus, Reagents, Procedures, and Some Applications. Volume 379, Agriculture handbook. U.S.D.A. *Agricultural Research Service*. USA.
- Guo, X., Trably, E., Latrille, E., Carrère, H., Steyer, J. (2010). Hydrogen production from agricultural waste by dark fermentation: a review. *Int. J. Hydrogen Energy* 35 (19), 10660-10673.
- Hanc, A., Novak, P., Dvorak, M., Habart, J., Svehla, P. (2011). Composition and parameters of household bio-waste in four seasons. *Waste Management*. 31, pp. 1450-1460.
- Hartmann, H., Ahring, B. (2006). Strategies for the anaerobic digestion of the organic fraction of municipal solid waste: an overview. *Water Science and Technology*. 53 (8) pp. 7-22.
- He, M., Sun, Y., Zou, D., Yuan, H., Zhu, B., Li, X., Pang, Y. (2012). Influence of temperature on hydrolysis acidification of food waste. *Procedia Environ. Sci.* 16, pp. 85-94.
- Herrmann, C., Heiermann, M., Idler, C., Prochnow, A. (2012). Particle size reduction during harvesting of crop feedstock for biogas production I: effects on ensiling process and methane yields *Bioenergy Res.* 5, pp. 926-936.
- Hettinga, D., Reinbold, G. (1972). The propionic acid bacteria. A review: I. Growth. *Journal of Milk and Food Technology*, 35(5), pp. 295-301.
- Hilkiah, I., Ayotamuno, M., Eze, L., Ogaji, T., Probert, D. (2008). Designs of anaerobic digesters for producing biogas from municipal solid-waste. *Applied Energy* 85, pp. 430-438.
- Hoelzle, R., Viridis, B., Batstone, D. (2014). Regulation mechanisms in mixed and pure culture microbial fermentation. *Biotechnol. Bioeng.* 111, pp. 2139-2154.

- Hofvendahl, K., Hagerdal, H. (2000). Factors affecting the fermentative lactic acid production from renewable resources. *Enzyme and Microbial Technology* 26, pp. 87-107.
- Ismail, I., Oluleye, G., Oluwafemi, I., Omofuma, O., Olufemi, A. (2017). Mathematical modelling of an enzyme-based biosensor. *International Journal of Biosensors and Bioelectronics* 3(2), pp. 265-268.
- Jiang, J., Zhang, Y., Li, K., Wang, Q., Gong, C., Li, M. (2013). Volatile fatty acids production from food waste: effects of pH, temperature, and organic loading rate. *Bioresour. Technol.* 143, pp. 525-530.
- John, R., Nampoothiri, M., Pandey, A. (2007). Fermentative production of lactic acid from biomass: An overview on process developments and future perspectives. *Appl. Microbiol. Biot.* 74(3), pp. 524-534.
- John, R., Nampoothiri, M., Pandey, A. (2009). Direct lactic acid fermentation: Focus on simultaneous saccharification and lactic acid production. *Biotechnol. Adv* 27, pp. 145-152.
- Juven, B., Meinersmann, R. J., Stern, N. (1991). Antagonistic effects of lactobacilli and pediococci to control intestinal colonization by human enteropathogens live poultry. *J. Appl. Bacteriol.*, 70, pp. 95-103.
- Keng, S., Onal, H., Ouyang, Y., Scheffran, J., Tursun, U. D. (2010). *Optimizing the biofuels infrastructure: Transportation networks and biorefinery locations in Illinois*, Chapter 10. Handbook of bioenergy economics and policy. Natural resource management and policy, 33, pp. 151-173.
- Kiely, G. (1998). *Environmental Engineering. International*, Ed. Boston: Irwin, McGraw-Hill, p. 979.
- Kim, M., Gomec, C., Ahn, Y., Speece, R. (2003). Hydrolysis and acidogenesis of particulate organic material in mesophilic and thermophilic anaerobic digestion. *Environ. Technol.* 24 (9), pp. 1183-1190.
- Kim, D., Kim, S., Jung, K., Kim, M., Shin, H., (2011). Effect of initial pH independent of operational pH on hydrogen fermentation of food waste. *Bioresour. Technol.* 102 (18), pp. 8646-8652.
- Komemoto, K., Lim, Y., Nagao, N., Onoue, Y., Niwa, C., Toda, T. (2009). Effect of temperature on VFA's and biogas production in anaerobic solubilization of food waste. *Waste Management.*, 29, pp. 2950-2955,

Koolman, J., Röhm, K. (2004) *Color Atlas of Biochemistry*, Second edition. New York, Thieme.

Kourkoutas, Y., Xolias, V., Kallis, M., Bezirtzoglou, E., Kanellaki, M. (2005) Lactobacillus casei cell immobilization on fruit pieces for probiotic additive, fermented milk and lactic acid production. *Process Biochemistry* 40(1), pp. 411-416.

Lagrange, B. (1979). Biomethane, Principes, Techniques, Utilisation. Vol. 2. Edisual, *Energies Alternatives* p. 249.

Lee, W., Chua, A., Yeoh, H.K., Ngoh, G. (2014). A review of the production and applications of waste-derived volatile fatty acids. *Chem. Eng. J.* 235, pp. 83-99.

Ley General de Prevención y Gestión Integral de los Residuos (2021). *Diario Oficial de la Federación*. Última reforma publicada DOF 18-01-2021, México, D.F.

Lim, S., Ahn, Y., Kim, E., Chang, H. (2006). Nitrate removal in a packed bed reactor using volatile fatty acids from anaerobic acidogenesis of food wastes. *Biotechnol. Bioprocess. Eng.* 11 (6), pp. 538-543.

Lim, S., Kim, B., Jeong, C., Choi, J., Ahn, Y., Chang, H. (2008). Anaerobic organic acid production of food waste in once-a-day feeding and drawing-off bioreactor. *Bioresour. Technol.* 99, pp. 7866-7874.

Lineweaver, H., Burk, D. (1934). The Determination of Enzyme Dissociation Constants. *Journal of the American Chemical Society*. Vol. 56, pp. 658-666.

Lipinsky, E., Sinclair, R. (1986). Is lactic acid a commodity chem? *Chemical Engineering* 82, pp. 26-32.

Liu, C., Lin, Y., Bai, F. (2011). Development of redox potential-controlled schemes for very high gravity ethanol fermentation. *Biotechnol* 153, pp, 42-7.

Lissens, G. Vendevivere, P., De Baere L., Biey, M., Verstraete, W. (2002). Solid waste digestors: process performance and practice for municipal solid waste digestion, *Water Science and Technology* 44, pp. 91-102.

Litchfield, J. (1996). Microbial production of lactic acid. *Applied Microbiology*. 42, pp. 45-95.

Makádi, M., Tomócsik, A., Orosz, V. (2012). *Digestate: A New Nutrient Source Review*. Biogas. InTech, pp. 295-310.

Mata-Alvarez, J., Mac, S., Llabres, P. (2000). Anaerobic digestion of organic solid wastes. An overview of research achievements and perspectives. *Bioresour. Technol* 74, pp. 3-16.

- Mattocks, R. (1984). *Understanding biogas generation*, Technical Paper No. 4. Volunteers in Technical Assistance. Virginia, USA.
- Matthew D. Lloyd (2021). *Steady-state enzyme kinetics*. *Biochem (Lond)* 43 (3), pp. 40-45.
- McDougall, F., White, P., Franke, M., Hindle, P. (2001). *Integrated Waste Management: A Life Cycle Inventory*, second ed. Blackwell Science, Oxford, UK.
- Miliūtė, J., Staniškis, J. (2010). Application of life-cycle assessment in optimization of municipal waste management systems: the case of Lithuania. *Waste Management and Research* 28, pp. 298-308.
- Monod, J. (1942). *Recherches sur la croissance des cultures bactériennes*, Hermann et Cie, Paris.
- Montejo, C., Tonini, D., del Márquez, M., Fruergaard, T. (2013). Mechanical–biological treatment: performance and potentials. An LCA of 8 MBT plants including waste characterization. *J. Environ. Manage.* 128, pp. 661-673
- Moretto, G., Valentino, F., Pavan, P., Majone, M., Bolzonella, D. (2019). Optimization of urban waste fermentation for volatile fatty acids production. *Waste Manag.* 92, pp. 21-29.
- Mosquera, H. (2022) Producción de etanol y metano a partir de fracción orgánica de residuos sólidos urbanos (FORSU) en un proceso en dos etapas. Tesis de Maestría, UNAM.
- Muck, R. (1988). Factors influencing silage quality and their implications for management. *J. Dairy Sci.*, 71, pp. 2992-3002.
- Naitove, M. (1998). Se prevé una bonanza de los biopolímeros más allá de los degradables. *Tecnología de Plásticos*. pp. 27-34.
- Narayanan, K., Meena, V., Rajendran, L., Gao, J., Subbiah, S. (2017). Mathematical analysis of diffusion and kinetics of immobilized enzyme systems that follow the Michaelis-Menten mechanism. *Applied and Computational Mathematics*, Vol. 6, No. 3, pp. 143-160.
- Nelson, D., Cox, M. (2000). *Lehninger Principles of Biochemistry*, 3rd Ed., Worth Publishers, USA.
- Niel, E., Hahn-Hägerdal, B. (1999). Nutrient requirements of lactococci in defined growth media. *Applied Microbiology and Biotechnology* 52, pp. 617-627.
- Niphadkar, S., Bagade, P., Ahmed, S. (2018). Bioethanol production: insight into past, present and future perspectives. *Biofuels* 9, pp. 229-238.

- Ohleyer, E., Blanch, H., Wilke, C. (1985). Continuous production of lactic acid in a cell recycle reactor. *Appl. Biochem. Biotech.* 11(4), pp. 317-332.
- Okumura, H., Uozumi, T., Beppu, T. (1985). Biochemical characteristics of spontaneous mutants of *Acetobacter aceti* deficient in ethanol oxidation. *Agric Biol Chem.* 49(8), p. 2485.
- Olszewka-Widdrat A., Alexandri M., López-Gómez J., Schneider R., Mandl M., Venus J. (2019). Production and purification of L-lactic acid in lab and pilot scales using sweet sorghum juice. *Fermentation* 5, p. 36.
- Ostrem, K. (2004). *Greening Waste: Anaerobic Digestion for Treating the Organic Fraction of Municipal Solid Wastes*. Department of Earth and Environmental Engineering, Columbia University, USA.
- Ouchtout, S., Mghazli, Z., Harmand, J., Rapaport, A., Belhachmi, Z. (2020). Analysis of an anaerobic digestion model in landfill with mortality term. *Communications in Pure and Applied Analysis*, 19 (4), pp. 2333-2346.
- Palm, O. (2008). *The Quality of Liquid and Solid Digestate from Biogas Plants and its Application in Agriculture*, The future for anaerobic digestion of organic waste in Europe, European Compost Network, Germany.
- Papacek, S., Celikovský, S. Stys, D., Ruiz-Leon, J. (2007). Bilinear system as a modelling framework for analysis of microalgal growth. *Kybernetika* 1.
- Parawira, W. (2004). *Anaerobic Treatment of Agricultural Residues and Wastewater. Application of High-Rate Reactors*, Tesis doctoral, Department of Biotechnology Lund University, Sweden.
- Parés, R., Juárez, A. (1997). *Bioquímica de los microorganismos*. Reverté S.A., Barcelona, España.
- Peces, M., Pozo, G., Koch, K., Dosta, J., Astals, S. (2020). Exploring the potential of cofermenting sewage sludge and lipids in a resource recovery scenario. *Bioresour. Technol.* 300, 122561.
- Peluso, T., Baker, L., Thomassin, P. (1998). The siting of ethanol plants in Quebec. *Canadian Journal of Regional Science*, 21(1), pp. 73–88.
- Pérez, J. (2010). *Estudio y diseño de un biodigestor para aplicación para pequeños ganaderos y lecheros*, Tesis Profesional, Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas. Universidad de Chile.

- Powell, E. (1965). *Theory of the chernostat*, Lab. Practice 14, pp. 1145-1158.
- Puyol, D., Batstone, D., Hülsen, T., Astals, S. (2017). Resource Recovery from Wastewater by Biological Technologies: Opportunities, Challenges, and Prospects.
- Rapport, J., Zhang, R., Jenkins, B., Williams, R. (2008). *Current Anaerobic Digestion Technologies Used for Treatment of Municipal Organic Solid Waste*. University of California, Davis, Contractor Report to the California Integrated Waste Management Board.
- Ren, N., Wang, B., Huang, J. (1997). *Ethanol-type fermentation from carbohydrate in high rate acidogenic reactor*. Biotechnol. Bioeng. 54, pp. 428-433.
- Rivera, S. (2005). *Diagnóstico de la problemática de los residuos sólidos urbanos en el municipio de Ciudad Ixtepec, Oaxaca*. Tesis profesional, Universidad del Mar, Puerto Ángel, Oaxaca.
- Romero-Guiza, M., Peces, M., Astals, S., Benavent, J., Valls, J., Mata-Alvarez, J. (2014). Implementation of a Prototypal Optical sorter as core of the new pretreatment configuration of a mechanical-biological treatment plant treating OFMSW through anaerobic digestion. *Appl. Energy* 135, pp. 63-70.
- Sajeena Beevi, B., Madhu, G., Deepak, S. (2015). Performance and kinetic study of semi-dry thermophilic anaerobic digestion of organic fraction of municipal solid waste. *Waste Management*. 36, pp. 93-97.
- Salminen, S. (1993). *Lactic Acid Bacteria*. Marcel Dekker, New York.
- Sandhya, S., Swaminathan, K. (2006) Kinetic analysis of treatment of textile wastewater in hybrid column upflow anaerobic fixed bed reactor. *Chem. Eng. J.* 122, pp. 87-92.
- Schnürer, A., Jarvis, A. (2010). *Microbiological Handbook for Biogas Plants*, Malmö: Svenskt Gastekniskt Centre AB.
- Silveira, M. (2009). *Utilização do Suco de Caju Clarificado para Produção de Ácido Lático pelo Lactobacillus casei B-442*, MSc Thesis, Universidade Federal do Ceará, Ceará, Brazil.
- Speece, R. (1996). *Anaerobic biotechnology for industrial wastewater treatments*. Archae Press, Nashville, TN, USA.
- Stackebrandt, E., Cummins, C., Johnson, J. (2006). *Family Propionibacteriaceae: The Genus Propionibacterium*. In M. Dworkin & S. Falkow (Eds). *The prokaryotes: A handbook on the biology of bacteria*. Archaea. Bacteria: Firmicutes, Actinomycetes, 3. New York.

- Strazzera, G., Battista, F., Garcia, N.H., Frison, N., Bolzonella, D. (2018). Volatile fatty acids production from food wastes for biorefinery platforms: a review. *J. Environ. Manage.* 226, pp. 278–288.
- Suriderp, C. (1995). *Ullman's encyclopedia of industrial chemistry: Lactic acid*. 5 edition. De Barbara Elvers, pp. 97-104.
- Szücs, B., Simon, M., Füleky, G. (2006). Anaerobic pre-treatment effects on the aerobic degradability of waste water sludge. *Proceedings of the International Conference ORBIT*, Part 2, pp. 425-434.
- Taylor, R., Koo, W. (2010). *Optimizing ethanol production in North Dakota*. Center for Agricultural Policy and Trade Studies, Department of Agribusiness and Applied Economics, North Dakota State University.
- Teixeira F., Buffiere P., Bayard R. (2016). Ensiling for biogas production: critical parameters. A review. *Biomass Bioenergy* 84, pp. 94-104.
- Temudo MF, Kleerebezem R, van Loosdrecht M. (2007). Influence of the pH on (open) mixed culture fermentation of glucose: A chemostat study. *Biotechnol Bioenergy* 98: pp. 69-79.
- Tchobanoglous, G. (1994). *Integrated Solid Waste Management. Engineering Principles and Management Issues*, New York, McGraw-Hill.
- Tchobanoglous G, Burton, F., Stensel, H. (2003). *Waste-water Engineering: treatment and reuse*. Fourth ed. New Delhi: Tata McGraw-Hill Publishing Company Limited.
- Tchobanoglous, G., Kreith, F. (2002). *Handbook of Solid Waste Management*, New York, McGraw-Hill.
- Thierry, A., Deutsch, S., Falentin, H., Dalmaso, M., Cousin, F., Jan, G. (2011). New insights into physiology and metabolism of *Propionibacterium freudenreichii*. *International Journal of Food Microbiology*, 149(1), pp. 19-27.
- Torres, G., Arteaga, C. (2009). *Desarrollo de un sistema de biodigestores y energías limpias*. Trabajo final PAET Biodigestores. Laboratorio de Computación Distribuida, Altas Energías y Energías Alternativas. Universidad Nacional de Energía. Lima.
- United States Department of Agriculture, Foreign Agricultural Service (2013). *Global agricultural information network (GAIN) report Canada biofuels annual 2013*. GAIN Report Number CA13034, USDA, Washington, D.C.

- Valorgas. (2010). *Compositional analysis of food waste from study sites in geographically distinct regions of Europe*. MTT Agrifood Research Finland. Valorgas Project.
- Van Leeuwenhoek, A. (1983). *Lactic acid fermentation in the production of foods from vegetables, cereals and legumes*, pp. 337-348.
- Van Soest, P. (1963). Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. A rapid method for the determination of fiber and lignin. *Journal of the Association of Official Agricultural Chemists*. 46, pp. 829-835.
- Vandevivere, P., De Baere, L., Verstraete, W. (2003). *Types of anaerobic digesters for solid wastes*. Biomethanization of Organic fraction of municipal solid wastes. London, IWA Publishing Company, pp. 111-140.
- Varnero, M. (2011) *Manual de biogas*. Proyecto CHI/00/G32 Remoción de Barreras para la Electrificación Rural con Energías Renovables, Santiago de Chile.
- Venkata Mohan, S., Nikhil, G., Chiranjeevi, P., Nagendranatha Reddy, C., Rohit, M., Kumar, A., Sarkar, O. (2016). Waste biorefinery models towards sustainable circular bioeconomy: critical review and future perspectives. *Bioresour. Technol.* 215, pp. 2-12.
- Verma, S. (2002). *Anaerobic Digestion of Biodegradable Organics in Municipal Solids Wastes*. Department of Earth and Environmental Engineering, Columbia University.
- Wang, K., Yin, J., Shen, D., Li, N. (2014). Anaerobic digestion of food waste for volatile fatty acids (VFAs) production with different types of inoculum: effect of pH. *Bioresour Technol* 161, pp. 395-401.
- Wang, Q., Li, H., Feng, K., Liu, J. (2020). Oriented Fermentation of Food Waste towards High-Value Products: A Review. *Energies*, 13, 5638.
- Wang, X., Lim, M., Ouyang, Y. (2015). *Infrastructure deployment under uncertainties and competition: The biofuel industry case*. Transportation Research Part B: Methodological, 78, pp. 1-15.
- Ward, A., Hobbs, P., Holliman, P., Jones, D. (2008). Optimization of the Anaerobic Digestion of Agricultural Resources. *Bioresour. Technol.* 99, pp. 7928-7940.
- Weiland, P. (2010). Biogas production: current state and perspectives. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 85, pp. 849-860.
- Wilson, B. (2009). *Modeling cellulosic ethanol plant location using GIS*. Master's Thesis, University of Tennessee.

Wittmaier, W., Langer, S., Sawilla, B. (2009). Possibilities and limitations of life cycle assessment (LCA) in the development of waste utilization systems, Applied examples for a region in Northern Germany. *Waste Management* 29, pp. 1732-1738.

Yetiman, A., Kesmen, Z. (2015). Identification of acetic acid bacteria in traditionally produced vinegar and mother of vinegar by using different molecular techniques. *Int. J. Food Microbiol.* 204, pp. 9-16.

Zheng, M., Zheng, M., Wu, Y., Ma, H., Wang, K. (2015). Effect of pH on types of acidogenic fermentation of fruit and vegetable wastes. *Biotechnol. Bioprocess Eng.* 20, pp. 298-303.

Zhou, M., Yan, B., Wong, J., Zhang, Y. (2018). Enhanced volatile fatty acids production from anaerobic fermentation of food waste: A mini review focusing on acidogenic metabolic pathways. *Bioresource Technology* 248, pp. 68-78.