

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA**

**LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO**

**MAESTRÍA EN CIENCIAS AMBIENTALES**



**“POTENCIAL DE PRODUCCIÓN DE ÁCIDOS GRASOS  
VOLÁTILES EN LODOS DE PTAR, RESIDUOS URBANOS Y  
AGROINDUSTRIALES: ENFOQUE HACIA UNA ECONOMÍA  
CIRCULAR”**

**Presentada por:**

**JOSÉ MANUEL ALEJANDRO CERDÁN MORILLO**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE MAESTRO  
MAGISTER SCIENTIAE EN CIENCIAS AMBIENTALES**

**Lima - Perú  
2020**

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA  
LA MOLINA  
ESCUELA DE POSGRADO**

**MAESTRÍA EN CIENCIAS AMBIENTALES**

**“POTENCIAL DE PRODUCCIÓN DE ÁCIDOS GRASOS  
VOLÁTILES EN LODOS DE PTAR, RESIDUOS URBANOS Y  
AGROINDUSTRIALES: ENFOQUE HACIA UNA ECONOMÍA  
CIRCULAR”**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE  
MAESTRO MAGISTER SCIENTIAE**

**Presentada por:**

**JOSÉ MANUEL ALEJANDRO CERDÁN MORILLO**

**Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:**

Lic.Rer.Reg. Víctor Aguilar Vidangos  
**PRESIDENTE**

M.Sc. Gladys Monge Talavera  
**PATROCINADOR**

Dr. Víctor Meza Contreras  
**MIEMBRO**

Mg.Sc. Rosa María Miglio Toledo  
**MIEMBRO**

Vive antes de morir

**Anónimo.**

## **DEDICATORIA**

*Definitivamente esto es para ti papá, José Eliseo Cerdán Marín. Por ese último largo paseo que realizarás sin mí. Por demostrarme que hay vida antes de morir, por enseñarme a amar la vida y por luchar con todas tus fuerzas hasta el último aliento.*

*A ti luchador...*

*Nos vemos en mis pensamientos...*

## **AGRADECIMIENTO**

Existe una larga lista para agradecer a las personas que me apoyaron en todo momento a la culminación de esta investigación, pero resumiré y trataré de no dejar a nadie en esta lista. En primer lugar, agradezco de manera especial a la Mg. Sc. Gladys Monge Talavera, por sus enseñanzas, amistad y ser también mis ojos mientras escribía, además, al Arq. Victor Aguilar Vidangos por sus consejos y amistad inquebrantable.

Un agradecimiento a todos los investigadores del grupo de Aguas y Residuos del Centro Tecnológico Ceit-IK4 (España), en especial a la Dra. Myriam Esteban, el Dr. Enrique Aymerich y al Sr. Jaime González, por apoyarme en todo momento y darme la oportunidad de aprender en su equipo de investigación. Agradecer también al Programa Nacional de Innovación Agraria (PNIA) por apoyarme a culminar esta investigación.

A mi mamá, Priscila Morillo Araujo, por darme la confianza, la valentía y la oportunidad de apostar por mí, fuiste la principal razón al igual que mi papá para ser lo que ahora soy.

A mi hermana Milagritos Floricel Cerdán Morillo, por cada alegría y el orgullo que generas con tu presencia desde niños.

A mi hermana Edica Cerdán Marín, por la calidez de tu hogar cuando andaba por tierras lejanas.

A mi compañera eterna de viajes y aventuras, Tania Lisseth Santos Tucto, por tu apoyo incondicional en los momentos más difíciles.

A mi familia.

Muchas gracias a todos.

José

## RESUMEN

La presente investigación tuvo por objetivo general evaluar el potencial de producción de ácidos grasos volátiles (AGV) a partir de residuos de origen urbano y agroindustrial: lodos de plantas de tratamiento de aguas residuales o PTAR (LP), fracción orgánica de residuo sólido urbano (FORSU), residuos de alcachofa (AL), residuos de pulpa de manzana (PM) y biomasa microalgal (BM), en condiciones termofílicas (55°C) y régimen de operación discontinuo. Para este propósito, la producción de AGV a escala de laboratorio se realizó en condiciones de mono-fermentación y pH ácido (5,5), asimismo, en condiciones de co-fermentación (LP como co-sustrato) y pH alcalino (9). Además, se evaluó el proceso de co-fermentación de LP+PM (1:1) en una plataforma piloto automatizada de 15 L en modo discontinuo de operación. En general, los resultados indican que la mejor producción y rendimiento de AGV estuvo influenciado por la presencia de un co-sustrato y pH alcalino. Así, el mejor potencial de producción de AGV a escala de laboratorio se alcanzó a partir de la co-fermentación de LP + PM (1:1) hasta los 15,50 g de DQO L<sup>-1</sup> y un rendimiento de conversión acidogénica de 255,68 mgAGV g<sup>-1</sup> DQO<sub>sustrato</sub>, asimismo, la co-fermentación de LP + FORSU (4:1) con una producción de AGV de 11,12 g de DQO L<sup>-1</sup> y un rendimiento de conversión acidogénica de 269,26 mgAGV g<sup>-1</sup> DQO<sub>sustrato</sub>. El potencial de producción de AGV en la co-fermentación de LP+PM (1:1) a escala piloto alcanzó los 6,40 g de DQO L<sup>-1</sup> y un rendimiento de conversión acidogénica de 94,77 mgAGV g<sup>-1</sup> DQO<sub>sustrato</sub>. Es preciso señalar que durante la fermentación acidogénica a pH alcalino, los residuos evaluados presentaron como bioproducto principal el ácido acético seguido del ácido butírico, mientras que a pH ácido se obtuvo principalmente ácido butírico. Finalmente, los resultados también revelaron un potencial significativo de los residuos orgánicos para enriquecer un escenario de biorefinería, por ejemplo el ácido acético y ácido butírico, los cuales tienen mayor aplicabilidad industrial y potencial económico que el metano.

**Palabras clave:** Residuos orgánicos, co-fermentación, ácidos grasos volátiles, metano.

## ABSTRACT

This study evaluated the production potential of volatile fatty acids (VFA) from urban and agroindustrial waste: Sewage sludge (SS), organic fraction of urban solid waste (OFMSW), artichoke residues (ART), residues of apple pulp (APP) and microalgal biomass (MB), under thermophilic conditions and batch tests. The VFA production were carried out under conditions of mono-fermentation and acidic pH (5.5), and under conditions of co-fermentation (SS as co-substrate) and at alkaline pH (9). In addition, the process of co-fermentation of SS + APP (1:1) was evaluated on a 15 L automated pilot platform in discontinuous mode of operation. The results indicate that the production and yield of VFA was influenced by the presence of a co-substrate and alkaline pH. Thus, the high potential for laboratory-scale of VFA production was achieved from the co-fermentation of SS + APP (1:1) to 15.50 g of COD L<sup>-1</sup> and an acidogenic conversion yield of 255.68 mg VFA g<sup>-1</sup> COD, furthermore, co-fermentation of SS+ OFMSW (4:1) attained a VFA production of 11.12 g COD L<sup>-1</sup> and an acid conversion performance of 269.26 mgVFA g<sup>-1</sup> COD. The production potential of VFA in the co-fermentation of SS + APP (1:1) on a pilot scale reached up 6.40 g COD L<sup>-1</sup> and an acidogenic conversion yield of 94.77 mgVFA g<sup>-1</sup> COD. Acetic followed by butyric was obtained as the main bioproduct during the acidic fermentation at alkaline pH, whereas shifting to acidic pH was promoted butyric production. The results also revealed a significant potential of organic waste to enrich a biorefinery scenario, i.e, acetic acid and butyric acid, which have higher industrial applicability and economic potential than methane.

Keywords: Organic waste, co-fermentation, volatile fatty acid, methane.

# INDICE

## RESUMEN

<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
1.1. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN .....	2
1.2. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN .....	3
<b>II. REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....	4
2.1. ASPECTOS GENERALES .....	4
2.1.1. Generación de residuos del sector urbano y agroindustrial.....	4
2.1.2. Enfoque hacia una Economía Circular .....	4
2.1.3. De residuo a recurso .....	6
2.1.4. Biorefinería de residuos.....	7
2.2. FERMENTACIÓN ANAEROBIA: PRODUCCIÓN DE AGV .....	9
2.3. FACTORES QUE INFLUYEN EN LA PRODUCCIÓN DE AGV .....	10
2.3.1. pH .....	10
2.3.2. Temperatura.....	10
2.3.3. Tiempo de retención .....	10
2.3.4. Carga orgánica (OLR) .....	11
2.3.5. Sustrato .....	11
2.4. APLICACIONES Y MERCADO DE LOS AGV .....	12
2.5. ANTECEDENTES .....	13
2.5.1. Contexto internacional.....	13
2.5.2. Contexto nacional.....	17
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	18
3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN.....	18
3.2. RESIDUOS E INÓCULO .....	18
3.2.1. Residuo orgánico o sustrato.....	18
3.2.2. Inóculo.....	20

3.3.	CONDICIONES EXPERIMENTALES .....	20
3.3.1.	Pruebas de potencial metanogénico.....	20
3.3.2.	Pruebas de potencial acidogénico.....	21
3.4.	INSTALACIONES Y EQUIPOS .....	24
3.4.1.	Instalaciones .....	24
3.4.2.	Equipos .....	24
3.5.	EQUIPOS EXPERIMENTALES .....	25
3.5.1.	Reactores discontinuos a escala de laboratorio de 0,5 L y 2 L.....	25
3.5.2.	Plataforma piloto de fermentación de 15 L: Diseño y construcción de equipo de fermentación .....	26
3.6.	MÉTODOS ANALÍTICOS .....	27
3.6.1.	Procesamiento de las muestras .....	28
3.6.2.	Determinación de la cantidad y composición del biogás .....	29
3.6.3.	Determinación de la producción de metano .....	30
3.6.4.	Determinación de pH.....	32
3.6.5.	Determinación de los Sólidos Totales (ST) y Sólidos Volátiles (SV).....	32
3.6.6.	Determinación de la Demanda Química de Oxígeno (DQO <sub>total</sub> y DQO <sub>soluble</sub> ) .....	33
3.6.7.	Determinación de Alcalinidad Parcial (AP) y Total (AT).....	33
3.6.8.	Determinación del Nitrógeno Amoniacal Total (NAT) .....	34
3.6.9.	Determinación del Nitrógeno Total Kjeldahl (NTK) .....	34
3.6.10.	Determinación de la producción de ácidos grasos volátiles (AGV).....	35
3.6.11.	Análisis de la composición elemental (C, N, O y S) .....	35
3.7.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	35
<b>IV.</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>38</b>
4.1.	POTENCIAL METANOGÉNICO A PARTIR DE RESIDUOS GENERADOS EN EL ÁMBITO URBANO Y AGROINDUSTRIAL (TEST BMP).....	38
4.1.1.	Resultados del seguimiento analítico .....	38

4.1.2.	Producción de biogás y metano .....	42
4.2.	POTENCIAL ACIDOGÉNICO A PARTIR DE RESIDUOS GENERADOS EN EL ÁMBITO URBANO Y AGROINDUSTRIAL: PRODUCCIÓN DE ÁCIDOS GRASOS VOLÁTILES (AGV) A ESCALA DE LABORATORIO .....	46
4.2.1.	Resultados del seguimiento analítico .....	46
4.2.2.	Pruebas de mono-fermentación .....	52
4.2.3.	Pruebas de co-fermentación.....	57
4.2.4.	Evaluación del rendimiento del proceso de fermentación.....	61
4.3.	POTENCIAL ACIDOGÉNICO A PARTIR RESIDUOS DE PULPA DE MANZANA (PM): PRODUCCIÓN DE ÁCIDO GRASOS VOLÁTILES (AGV) A ESCALA PILOTO.....	65
4.3.1.	Resultados del seguimiento analítico .....	65
4.3.2.	Producción de AGV, distribución de los bioproductos y evaluación del rendimiento del proceso de fermentación .....	66
4.4.	POTENCIAL ECONÓMICO DE LA PRODUCCIÓN DE AGV A PARTIR DE RESIDUOS GENERADOS EN EL ÁMBITO URBANO Y AGROINDUSTRIAL: ENFOQUE HACIA UNA ECONOMÍA CIRCULAR.....	70
4.4.1.	Cantidad de residuos de origen urbano.....	70
4.4.2.	Cantidad de residuos de origen agroindustrial .....	70
4.4.3.	Valor económico de los residuos de origen urbano y agroindustrial .....	71
<b>V.</b>	<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>73</b>
<b>VI.</b>	<b>RECOMENDACIONES</b> .....	<b>75</b>
<b>VII.</b>	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>76</b>
<b>VIII.</b>	<b>ANEXOS</b> .....	<b>87</b>

## INDICE DE TABLAS

Tabla 1: Procesos de conversión de residuos energéticos y productos de valor agregado....	7
Tabla 2: Mercado de AGV, productos derivados y aplicaciones industriales.....	12
Tabla 3: Condiciones experimentales utilizadas en las pruebas de potencial metanogénico. .....	21
Tabla 4: Condiciones experimentales utilizadas para ensayos de mono-fermentación (o mono-sustrato).....	22
Tabla 5: Condiciones experimentales utilizadas para ensayos de co-fermentación (o co- sustrato). ....	22
Tabla 6: Condiciones experimentales utilizadas en las pruebas preliminares.....	23
Tabla 7: Condiciones experimentales utilizadas en las pruebas a escala piloto.....	24
Tabla 8: Caracterización de lodos digeridos de la PTAR de San Sebastián utilizados como inóculo en las pruebas de potencial metanogénico.....	39
Tabla 9: Caracterización de los distintos residuos utilizados en las pruebas de potencial metanogénico.....	39
Tabla 10: Valores de las mediciones analíticas para los ensayos de potencial metanogénico de los residuos orgánicos al inicio (I) y al final del experimento (F).....	41
Tabla 11: Resumen del rendimiento del potencial metanogénico de los distintos residuos evaluados. ....	45
Tabla 12: Caracterización de lodos digeridos de la PTAR de San Sebastián utilizados como inóculo en las pruebas de potencial acidogénico.....	46
Tabla 13: Caracterización de los distintos residuos utilizados en las pruebas de potencial acidogénico.....	48
Tabla 14: Valores de las mediciones analíticas para los ensayos de potencial acidogénico (mono-fermentación) de los residuos orgánicos al inicio (I) y al final del experimento (F). .....	50
Tabla 15: Valores de las mediciones analíticas para los ensayos de potencial acidogénico (co-fermentación) de los residuos orgánicos al inicio (I) y al final del experimento (F). ...	51
Tabla 16: Resumen de los principales resultados de la fermentación durante el potencial acidogénico.....	64
Tabla 17: Caracterización del inóculo y residuo utilizado en las pruebas de producción de AGV a escala piloto.....	65

Tabla 18: Valores de las mediciones analíticas para los ensayos de potencial acidogénico a escala piloto al inicio (I) y final del experimento (F). .....	66
Tabla 19: Resumen de los principales resultados de la fermentación durante el potencial acidogénico a escala laboratorio y piloto. ....	69
Tabla 20: Valor económico anual de los residuos de origen urbano y agroindustrial.....	72
Tabla 21: Resumen de los principales resultados de los ensayos preliminares.....	93
Tabla 22: Resumen de los principales resultados de las pruebas preliminares del potencial acidogénico (mono-fermentación y co-fermentación) de la pulpa de manzana (PM). ....	95

## INDICE DE FIGURAS

Figura 1: La Economía Circular: un sistema industrial que es restaurativo por diseño. ....	5
Figura 2: Clasificación de los biocombustibles en función de los tipos de materias primas. ....	8
Figura 3: Producción de ácidos grasos volátiles a partir de residuos. ....	9
Figura 4: Esquema de la plataforma industrial de la empresa holandesa Chaincraft. ....	14
Figura 5: Imagen del montaje de los bioreactores/fermentadores anaerobios de 2 L (imagen izquierda) y 0,5 L (imagen derecha) a escala de laboratorio. ....	25
Figura 6: Esquema de la plataforma de demostración de producción de acético (imagen superior) y detalle de la tapa y el fondo (imagen inferior). ....	26
Figura 7: Plataforma piloto de fermentación de 15 L (arriba izquierda), equipo de monitorización y automatización de plantas piloto (arriba derecha), y captura del SCADA (acrónimo de Supervisory Control And Data Acquisition) de visualización del reactor de fermentación a tiempo real (abajo). ....	27
Figura 8: Esquema del procesamiento para la caracterización de residuos e inóculo. ....	28
Figura 9: Producción bruta media de biogás (a) y metano (b) para los ensayos de mono-digestión (LP, FORSU, AL, PM y BM) y los blancos control (B11 y B12). ....	43
Figura 10: Producción media neta de biogás (a) y metano (b) de los test BMP de mono-digestión de LP, FORSU, AL, PM y BM. ....	44
Figura 11: Evolución del porcentaje de metano en el biogás. ....	44
Figura 12: (a) Evolución del perfil de producción de AGV, (b) composición de AGV y (c) evolución del pH para las pruebas de mono-fermentación de residuos. ....	53
Figura 13: Producción de AGV en condiciones ácidas (pH 5,5) y temperatura termofílica durante pruebas de mono-fermentación anaerobia: (a) LP, (b) FORSU, (c) AL, (d) PM y (e) BM. ....	55
Figura 14: Producción de biogás (mL STP) y contenido de metano (%) a partir de la mono-fermentación de: (a) LP, (b) FORSU, (c) AL, (d) PM y (e) BM a pH 5,5. ....	56
Figura 15: (a) Evolución del perfil de producción de AGV, (b) composición de AGV y (c) evolución del pH para las pruebas de co-fermentación de residuos. ....	58
Figura 16: Producción de AGV en condiciones alcalinas (pH 9) y temperatura termofílica durante pruebas de co-fermentación anaerobia: (a) LP+FORSU, (b) LP+AL, (c) LP+PM y (d) LP+BM. ....	59
Figura 17: Producción de biogás (mL STP) y contenido de metano (%) a partir de la co-fermentación de: (a) LP+FORSU, (b) LP+AL, (c) LP+PM y (d) LP+BM a pH 9. ....	60

Figura 18: (a) Perfil de distribución de AGV, (b) evolución del GA (%) y DQOs, (c) biogás y contenido de metano (%) y (d) evolución del pH durante la co-fermentación de LP+PM a escala piloto. ....	68
Figura 19: Imagen aérea del Centro Tecnológico Ceit- IK4 y el Campus de Ibaeta Tecnun (43°18'16.4"N 2°00'33.5"W). ....	87
Figura 20: Planta de tratamiento de Aguas residuales (PTAR) Loiola de San Sebastián, perteneciente al consorcio de Aguas de Añarbe S.A. ....	88
Figura 21: Toma de muestra del inóculo (lodo digerido) en los digestores de la PTAR Loiola. ....	88
Figura 22: Toma de muestra de lodos crudos (LP) en los espesadores de la PTAR Loiola. ....	89
Figura 23: Inóculo (lodo digerido) y lodo crudo (LP) utilizados en la investigación. ....	89
Figura 24: Fracción orgánica de residuos sólidos (FORSU) utilizada en la investigación. ....	90
Figura 25: Residuos de alcachofa (AL) utilizados en la investigación. ....	90
Figura 26: Lugar de recolección de los residuos de pulpa de manzana (PM). ....	91
Figura 27: Residuos de pulpa de manzana (PM) utilizados en la investigación. ....	91
Figura 28: Biomasa microalgal (BM) utilizada en la investigación. ....	92
Figura 29: (a) Producción de AGV en LP1 (pH 5,5) y (b) producción de AGV en LP2 (pH 9). ....	93
Figura 30: (a) Producción de AGV en PM1 a pH 5,5, (b) producción de AGV en PM2 a pH 5,5, (c) producción de AGV en LP+PM (1:1) a pH 9, (d) producción de AGV en LP+PM (4:1) a pH 9. ....	94
Figura 31: Instalaciones utilizadas en el Centro tecnológico Ceit- IK4 (Laboratorio analítico, laboratorio de ensayos y laboratorio instrumental). ....	96
Figura 32: Sensor de presión (IFM electronic, PN 20279) empleado en la cuantificación del biogás. ....	97
Figura 33: Jeringa de 1 mL utilizada en la toma de muestra para la composición del biogás en las pruebas de laboratorio. ....	97
Figura 34: Bolsa Tedlar de 5 L utilizada en la toma de muestra para la composición del biogás en la plataforma piloto. ....	97
Figura 35: Equipo de cromatografía de gases GC-TCD HP6890 (columna SUPELCO 60/80 Carboxen, Ref. 10001-2390-U). ....	98

Figura 36: Equipo de cromatografía de gases Agilent GC-6890, equipado con un FID (Flame Ionization Detector) y una columna capilar (DB-FFAP, 30m x 0,25 mm i.d., 0,25 µm film, Agilent J&W ref. 122 – 3232E), utilizado en la medición de AGV.....	98
Figura 37: pH-metro CRISON GLP 21+ sonda 5014T (izquierda) y pH-metro CRISON sonda portátil CRISON 5200T (derecha). .....	99
Figura 38: Equipo de centrifugación MEDITRONIC BL7001084. ....	99
Figura 39: Equipo de filtración y bomba de vacío. ....	99
Figura 40: (a) Baño termostático y (b) termostato de inmersión Tectron-Bio (Marca Selecta). .....	100
Figura 41: Equipo destilador por arrastre de vapor BÜCHI 315.....	100
Figura 42: Estufa Selecta Modelo 381 (izquierda) y horno mufla Hobersal (Modelo 12PR/300, serie 8B) (derecha).....	100
Figura 43: Analizador de elementales LECO CS-200 (izquierda) y LECO TC-400 (derecha). .....	101
Figura 44: Balanza autocalibrada METTLER TOLEDO serie AB104 y PB3002-S. ....	101
Figura 45: Unidad de digestión Selecta “Bloc-digest 12” utilizada en la digestión de las muestras para la DQO.....	101
Figura 46: Molino de análisis (tritador IKA A11). ....	102
Figura 47: Transmisor M300 (METTLER TOLEDO).....	102
Figura 48: Controlador de flujo másico (MFC, de sus siglas en inglés) modelo Bronkhorst ® F-221M. ....	102
Figura 49: Ejemplo de procesamiento de las muestras para la fermentación acidogénica a escala de laboratorio. ....	103
Figura 50: Procesamiento de las muestras (LP+PM) para la fermentación acidogénica a escala piloto. ....	103
Figura 51: Recta de calibración para la medición de AGV.....	104
Figura 52: Publicidad del proyecto PROAZETIK: Producción de acético a partir de RSU (residuos sólidos urbanos): avanzando hacia una Economía Circular. ....	107
Figura 53: Participación en el II Congreso Internacional de Residuos Sólidos (VIII Congreso Nacional de Residuos Sólidos en el Perú - UNALM).....	107
Figura 54: Certificado de pasantía en el Centro Tecnológico Ceit-IK4.....	108

## I. INTRODUCCIÓN

En los últimos años, la digestión anaerobia ha sido ampliamente utilizada como alternativa en la gestión de residuos orgánicos (lodos de depuradora, residuos agroindustriales y residuos sólidos de origen urbano) para la obtención del metano (He et al. 2019); contribuyendo, en gran medida con la disminución de la emisión de gases de efecto invernadero (GEI) y la contaminación atmosférica proveniente de la disposición final en rellenos sanitarios municipales o de la incineración de estos residuos.

La digestión anaerobia comprende una serie de procesos biológicos, en los cuales los microorganismos convierten la materia orgánica en biogás en ausencia de oxígeno, produciendo una mezcla de metano ( $\text{CH}_4$ ), dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) y otros gases presentes en pequeñas concentraciones; a partir de etapas como: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis (Tran 2017). La importancia de la digestión anaerobia no sólo se fundamenta en la generación de energía y calor, también existe la posibilidad de explorar otras vías que permitan aumentar y diversificar la valorización de los residuos orgánicos, asimismo facilitar la transición hacia una Economía Circular. Una estrategia viable es interrumpir la digestión anaerobia en la etapa acidogénica, para la producción de biocompuestos en forma de ácidos grasos volátiles (AGV) asimilables como materia prima para múltiples aplicaciones industriales (Lee et al. 2014).

En la actualidad, como ha señalado la literatura, los AGV continúan generándose a partir del esquema clásico de la refinería del petróleo (Zacharof y Lovitt 2013). Por lo tanto, la opción más sostenible con el ambiente es la producción de AGV y otros compuestos (fertilizantes, biometano) en una biorefinería integrada, donde los residuos orgánicos se reciclan y transforman en nuevos recursos.

Respecto a los alcances expuestos, esta investigación explora el potencial de obtención de un producto rico en ácido acético y otros bioproductos de la familia de los AGV, a partir de diferentes residuos generados en el ámbito urbano y agroindustrial: lodos de PTAR (LP), fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos (FORSU) y residuos agroindustriales tales como: residuos de alcachofa (AL), pulpa de manzana (PM) y biomasa microalgal (BM).

Los resultados de esta investigación contribuirán con la transición hacia una Economía Circular, concepto que considera que todo residuo es un recurso potencial, e incorporado en la nueva Ley de Gestión Integral de Residuos Sólidos (D.L 1278).

## **1.1. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN**

Según el reporte del MINAM (2018), el Perú sólo valoriza y recicla el 1,9% del total de residuos sólidos aprovechables. En contraste, la Unión Europea (UE) (Eurostat 2016) aprovecha, en promedio, el 47% de los residuos generados. Ante esta problemática la presente investigación plantea un nuevo enfoque basado en la Economía Circular, el cual busca transformar diferentes corrientes de residuos, en nuevos recursos con alto valor agregado.

En ese sentido, los aportes de esta investigación fueron los siguientes:

- Se valorizaron diferentes corrientes de residuos en distintos escenarios a escala de laboratorio: (1) gestión de lodos de PTAR individualmente, (2) gestión de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos (FORSU) individualmente, (3) gestión de los residuos agroindustriales individualmente y (4) gestión basada en la combinación con lodos de PTAR. Con estos escenarios se analizó exhaustivamente la diferencia entre las distintas corrientes de residuos y se generaron conclusiones y recomendaciones que ayudarán a optimizar la obtención de AGV.
- El escalado del proceso de fermentación para la transformación biológica de corrientes residuales en bioproductos se realizó a nivel de planta piloto. Debido a la poca literatura científica relacionada a este punto, el proyecto es novedoso no sólo por colocar a una escala mayor que la de un laboratorio, sino por la producción de ácido acético en un proceso similar al que se realizaría a nivel industrial.

Finalmente, a nivel socioambiental, el desarrollo de esta investigación permitirá que los actores involucrados en la gestión de residuos, tengan mayor conocimiento acerca de esta nueva tecnología y su alcance, lo cual contribuirá a reducir la eliminación de lodos y residuos al medio ambiente a través de su transformación en un nuevo valor agregado.

## 1.2. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

La presente investigación tuvo por objetivo general evaluar el potencial de producción de ácidos grasos volátiles (AGV) a partir de diferentes residuos generados en el ámbito urbano y agroindustrial: lodos de PTAR (LP), fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos (FORSU) y residuos agroindustriales tales como: alcachofa (AL), pulpa de manzana (PM) y biomasa microalgal (BM); en condiciones termofílicas (55°C) y régimen de operación discontinuo. Este objetivo se alcanzó a partir de los objetivos específicos que se mencionan a continuación:

- Determinar el potencial de producción de ácido acético y otros bioproductos de la familia de los AGV a través de la mono-fermentación de lodos de PTAR (LP), fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos (FORSU), residuos de alcachofa (AL), residuos de pulpa de manzana (PM) y biomasa microalgal (BM) a escala de laboratorio.
- Determinar el potencial de producción de ácido acético y otros bioproductos de la familia de los AGV mediante la co-fermentación de LP+FORSU, LP+AL, LP+PM y LP+BM a escala de laboratorio.
- Evaluar la viabilidad de la producción de ácido acético y otros bioproductos (AGV) para los escenarios de mono-fermentación y co-fermentación a escala de laboratorio.
- Determinar el potencial de producción de ácido acético y otros bioproductos de la familia de los AGV a escala de planta piloto de un residuo evaluado previamente a escala de laboratorio.

## **II. REVISIÓN DE LITERATURA**

### **2.1. ASPECTOS GENERALES**

#### **2.1.1. Generación de residuos del sector urbano y agroindustrial**

La sociedad se enfrenta desde hace décadas a una serie de retos económicos y ambientales relacionados con el cambio climático y la escasez de recursos. Para complicar más esta situación, la creciente población y sus hábitos de consumo han aumentado la generación per cápita de residuos en todo el mundo. La generación media anual de residuos sólidos del sector urbano y agroindustrial a nivel mundial reportan cifras de aproximadamente 1.300.000 y 6.500.000 x 10<sup>3</sup> toneladas (Moreno et al. 2015, Hoornweg y Bhada-Tata 2014, FAO 2013), respectivamente. Asimismo, dependiendo del nivel de ingresos de un país, se estima que la fracción orgánica presente en los residuos sólidos urbanos oscila entre un 30-50% de la masa total (Moreno et al. 2014), así en el Perú la fracción orgánica representa el 53,16% en peso (MINAM 2016), la mayoría de la cual continúan siendo dispuesto a botaderos y rellenos sanitarios sin tratamiento alguno, contribuyendo a la emisión de gases de efecto invernadero y a la contaminación atmosférica (Misi y Forster 2002).

Por otro lado, alrededor del 90% de las aguas residuales y lodos generados en el mundo, se descargan directamente en océanos, ríos y lagos sin tratamiento; causando impactos perjudiciales sobre el medio ambiente y la salud humana. Del mismo modo, las emisiones de óxido nitroso (N<sub>2</sub>O) y metano (CH<sub>4</sub>) tienen un impacto adverso sobre el clima, y se estima que sus niveles aumentarán en un 25 y 50% respectivamente para 2020 (Nizami et al. 2017). Por lo tanto, tratar las aguas residuales y los lodos generados en el proceso, con nuevas tecnologías para su aprovechamiento, es una necesidad para lograr la sostenibilidad, especialmente en los países en vías de desarrollo.

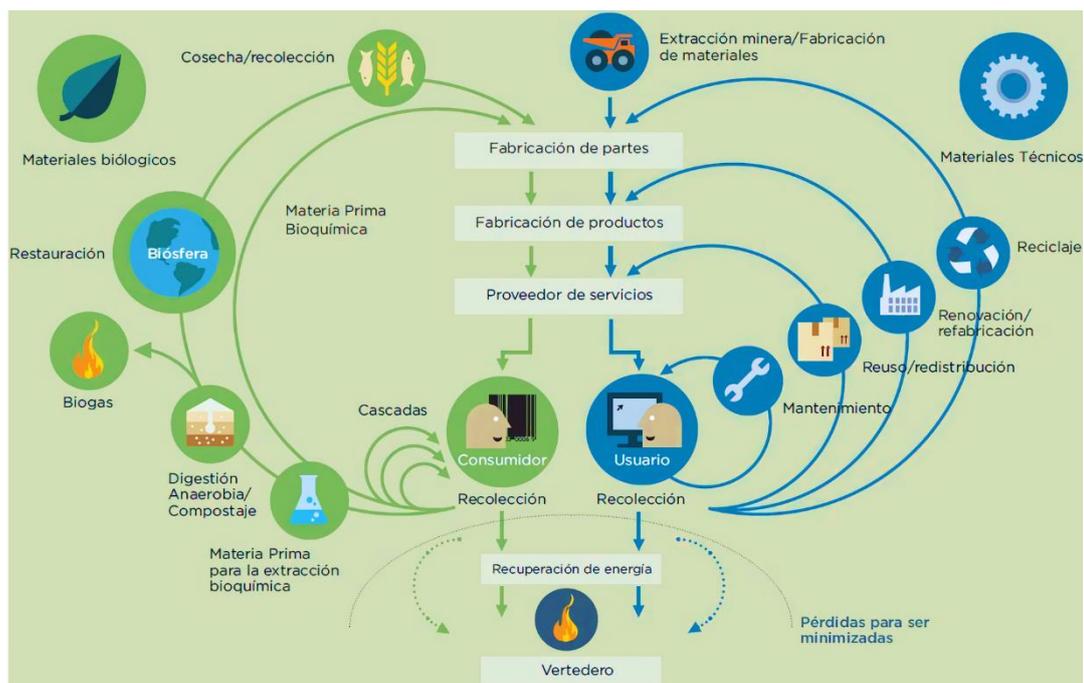
#### **2.1.2. Enfoque hacia una Economía Circular**

El enfoque de la economía lineal ligada a la extracción, producción, consumo y eliminación parece estar llegando a su fin. En la actualidad este sistema de despilfarro de recursos, está causando volatilidad de precios, incertidumbres y crisis económicas en todo el mundo (Ellen MacArthur Foundation 2013).

Además, el enfoque lineal hacia la producción y el consumo, deteriora la calidad de los ecosistemas naturales, a raíz de la problemática del cambio climático y la contaminación ambiental. En definitiva, el sistema actual no es sostenible ambientalmente ni proporciona condiciones de vida apropiadas para la población humana y las demás especies (Fischer y Pascucci 2017).

Una alternativa de solución para fomentar la sostenibilidad ambiental se puede encontrar en los principios de la economía circular (Ellen MacArthur Foundation 2013). La Economía Circular (EC) es un enfoque que apunta a una mayor sostenibilidad a través de la intención restaurativa y el eco-diseño. Uno de los principios fundamentales de la EC, es que todo “residuo es un recurso”, es decir, todos los materiales y productos que son usados, pueden ser devueltos al sistema como insumos para la producción de nuevos productos después de su ciclo de vida (Tukker 2015).

En la EC el concepto de *generar residuo* se elimina diseñando cuidadosamente los productos y procesos industriales, de tal manera que los materiales son nutrientes biológicos (biodegradables) o técnicos (no biodegradables) que fluyen perpetuamente y se manejan en ciclos cerrados (Figura 1). Estos ciclos también se definen como metabolismos industriales (Fischer y Pascucci 2017).



**Figura 1:** La Economía Circular: un sistema industrial que es restaurativo por diseño.

FUENTE: Adaptado de Ellen MacArthur Foundation (2013).

### 2.1.3. De residuo a recurso

A partir de la introducción del enfoque hacia una EC, se espera generar nuevas oportunidades en la investigación, producción de conocimiento, empleo y competitividad con resultados importantes en la reducción del impacto ambiental, producto de actividades asociadas a la explotación de recursos de la naturaleza finitos no renovables y renovables. En ese sentido, las nuevas oportunidades que se desarrollarán, también necesitarán la apertura y creación de nuevos modelos de negocio competitivo apoyado en la *simbiosis industrial* (Prieto-Sandoval et al. 2017), permitiendo de esta manera la valorización de los diferentes flujos de residuos como recursos potenciales de distinto origen o sector.

Conforme al principio de la EC establecido en la nueva Ley de Gestión Integral de Residuos Sólidos (D.L 1278) y de acuerdo al nuevo reglamento para el reaprovechamiento de lodos generados en las PTAR (D.S. N° 015-2017-VIVIENDA), los residuos deben ser gestionados con modelos innovadores orientados a recuperar recursos en forma de productos minerales, biosólidos y bioproductos, ya sean como biofertilizantes o compuestos orgánicos con diferentes aplicaciones.

El tratamiento de estos flujos de residuos mediante la fermentación anaerobia, para la producción de compuestos orgánicos en forma de ácido acético y otros bioproductos, con un eventual aprovechamiento en una biorefinería local (Moretto et al. 2020), reduciría de manera drástica la dependencia hacia combustibles fósiles y los impactos ambientales. Por ende, la introducción de la biorefinería de residuos (ver apartado 2.1.4) aportará a la Economía Circular la capacidad de transformar los residuos y biomasa, en diferentes productos finales de elevado valor añadido (bioproductos). Estos bioproductos se pueden aprovechar como insumos para usos concretos en diferentes sectores o actividades (Atasoy et al. 2018, Rodriguez-Perez et al. 2018, Luo et al. 2019), tales como:

- Sector de síntesis química: haciendo uso de los “Building blocks” para sintetizar otras moléculas (recuperación de bioetanol, ácidos grasos volátiles cortos o medios y biogás).
- Sector de biomateriales: producción de los biopolímeros (polihidroxialcanoatos de cadena corta y media). –

Sector de residuos: como fuente de carbono para la eliminación mediante procesos biológicos de nutrientes como el nitrógeno (N) y fósforo (P) provenientes de las PTAR o producción de biogás por biometanización.

-Sector de la cosmética: fabricación de aditivos con efecto antimicrobiano (bioetileno, productos bioquímicos derivados de microalgas).

#### 2.1.4. Biorefinería de residuos

Se menciona constantemente que la nueva minería de este siglo sería, la biorefinería de los residuos, debido a que provee soluciones rentables para dos importantes problemas ambientales: solución a demandas energéticas y valorización de residuos en países en vías de desarrollo.

La biorefinería de los residuos, se define como una plataforma industrial análoga a la refinería del petróleo; en la cual se integran procesos y tecnologías de conversión de biomasa para producir combustibles, energía y productos químicos (Venkata Mohan et al. 2016). En general, el principio de la tecnología de toda biorefinería está basado principalmente en 3 vías: Procesos termoquímicos, fisicoquímicos y bioquímicos (Tabla 1).

**Tabla 1: Procesos de conversión de residuos energéticos y productos de valor agregado.**

<b>Conversión biológica</b>	<b>Conversión termoquímica</b>	<b>Conversión química</b>	<b>Conversión física</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Digestión anaerobia</li> <li>- Fermentación</li> <li>- Enzimas</li> <li>- Digestión aerobia/compostaje</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Licuefacción</li> <li>- Pirólisis</li> <li>- Gasificación</li> <li>- Combustión</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Hidrólisis</li> <li>- Extracción con solventes</li> <li>- Conversión supercrítica</li> <li>- Transesterificación</li> <li>- Combustible derivado de residuos</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Extracción mecánica</li> <li>- Briquetas de biomasa</li> <li>- Destilación</li> </ul>

FUENTE: Adaptado de Ismail y Nizami (2016).

Respecto a la selección de las tecnologías más adecuadas para optimizar su valor energético, se considera que dependen mucho del tipo de residuo, costo de capital y operaciones, eficiencias tecnológicas, ubicación geográfica de las instalaciones en cada región en particular.

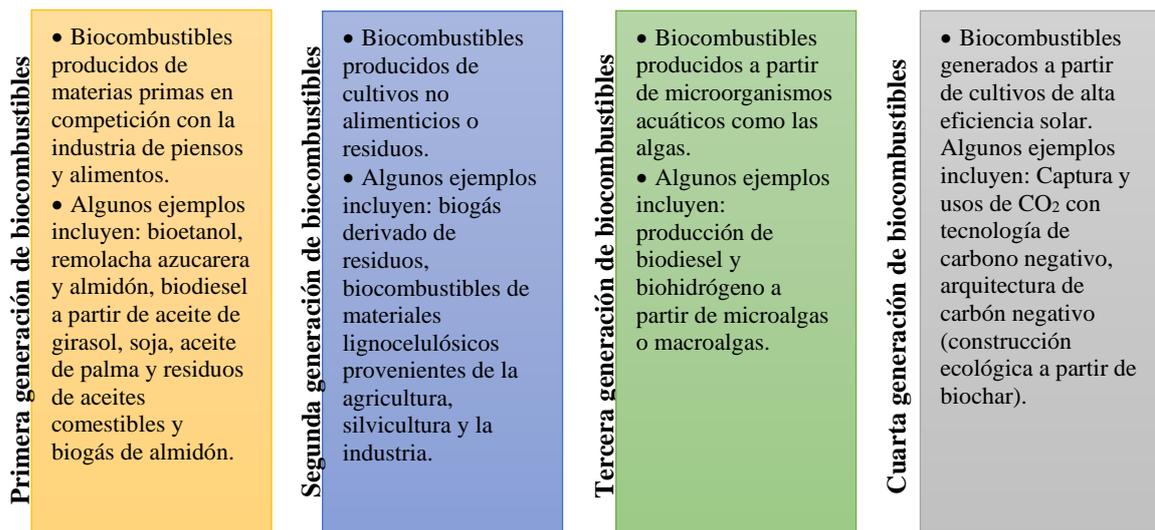
Para esto, varios autores recomiendan seguir algunos criterios que se mencionan a continuación:

- Composición y caracterización fisicoquímica de los residuos
- Tasas de generación de residuos para cada tipo de residuo.
- Contenido energético de cada tipo de residuo.

- Beneficios técnico-económicos de cada tecnología de biorefinería para una particular región.
- Ventajas y limitaciones de cada tecnología de biorefinería para una particular región.
- Análisis del ciclo de vida (ACV) de la tecnología de biorefinería a utilizar, incluyendo la evaluación técnico-económica así como ambiental.

Los tipos de biorefinerías de residuos, dependen principalmente de la naturaleza y origen de la materia prima (biomasa o residuo). Según Ismail y Nizami (2016) existen diferentes tipos de biorefinerías que se encuentran aún en desarrollo, por ejemplo la biorefinería agrícola, biorefinería forestal, biorefinería de cultivos completos, la biorefinería de residuos de naturaleza industrial o urbano, también llamado como “biofactorias” .

En términos generales, para una mejor comprensión, Baskar et al. (2012) los ha clasificado teniendo en cuenta el desarrollo y la complejidad del procesamiento de la materia prima, es decir en primera, segunda, tercera y cuarta generación de biorefinería. En la Figura 2 se resumen las distintas generaciones de biocombustibles que se han dado en el tiempo.

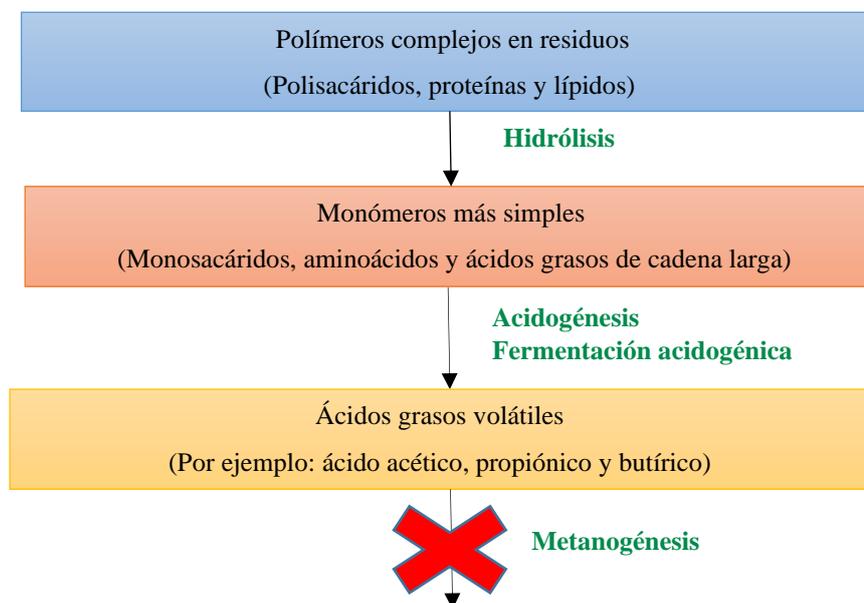


**Figura 2:** Clasificación de los biocombustibles en función de los tipos de materias primas.

FUENTE: Adaptado de Nizami et al. (2017) y Baskar et al.(2012).

## 2.2. FERMENTACIÓN ANAEROBIA: PRODUCCIÓN DE AGV

En el proceso de digestión anaerobia de la materia orgánica, los ácidos grasos volátiles son sintetizados como productos intermedios en la etapa de la fermentación acidogénica (Figura 3).



**Figura 3:** Producción de ácidos grasos volátiles a partir de residuos.

FUENTE: Adaptado de Lee et al. (2014).

Es decir, durante la etapa de la fermentación acidogénica, una gran variedad de compuestos orgánicos (lípidos, proteínas e hidratos de carbono) se descomponen en moléculas simples, y el efluente formado consiste en una mezcla de ácidos carboxílicos volátiles de cadena corta y media, tales como: el ácido acético, propiónico, butírico y valérico o ácido caproico (Jankowska et al. 2018), y otros productos de fermentación en menor proporción como el ácido láctico, etanol o succinato (García-Aguirre et al. 2020). En este proceso participan muchos microorganismos competidores, biocinéticos, catalizadores y reacciones sintróficas intermedias (Arslan et al. 2016).

Por otra parte, para mejorar la producción de los AGV, la hidrólisis y acidogénesis debe ser potenciada y al mismo tiempo la metanogénesis debe ser inhibida para prevenir el consumo de los AGV por parte de las bacterias metanogénicas. En relación a ello, algunas estrategias que se están utilizando para promover la producción de AGV son: Pretratamiento, optimización de parámetros clave del proceso y/o adición de inhibidores de la metanogénesis (Liu et al. 2018).

Finalmente, el aspecto crucial en la producción de AGV durante el proceso de la fermentación es la relación entre la variedad de AGV generados, los parámetros del proceso de operación y la estructura de la comunidad mixta microbiana.

### **2.3. FACTORES QUE INFLUYEN EN LA PRODUCCIÓN DE AGV**

Los factores operacionales que tienen grandes efectos en la concentración, el rendimiento y la composición de AGV producido a partir de residuos son: el pH, la temperatura, el tiempo de retención, la tasa de carga orgánica, así como el sustrato (Lee et al. 2014, Zhou et al. 2018). En las siguientes líneas se explicará detalladamente su implicancia en la producción de AGV:

#### **2.3.1. pH**

El control del pH es importante en la producción de AGV, debido a que la mayoría de los microorganismos acidogénicos no sobreviven en condiciones extremadamente ácidas (pH 3) o alcalinas (pH 12). Los valores óptimos de pH dependen en general del tipo de residuo utilizado en la investigación; sin embargo, en general se encuentran en el rango de 5,25-11 (Liu et al. 2012).

Con respecto a esto, Lee et al. (2014) concluye que las condiciones alcalinas del medio favorecen la producción de AGV a partir de lodos de PTAR. Por el contrario, las condiciones neutras y ácidas fomentan la producción de AGV a partir de residuos de alimentos y aguas residuales respectivamente.

#### **2.3.2. Temperatura**

La producción de AGV también ha sido estudiado en diferentes condiciones de temperatura: psicrófila (4-20°C), mesófila (20-50°C), termófila (50-60°C) y extremotermófilas (60-80°C). Además, algunas investigaciones demostraron que el aumento de temperatura en ambientes psicrófilos y mesófilos podría tener alguna relación con el incremento de la concentración de AGV producidos (Yuan et al. 2011), la tasa de producción de AGV (Maharaj y Elefsiniotis 2001) y el rendimiento de AGV (Bouzas et al. 2002).

#### **2.3.3. Tiempo de retención**

El tiempo de retención es considerado como parámetro crítico operacional en el reactor anaerobio. La medición de este parámetro se expresa en tiempo de retención hidráulica

(TRH) y tiempo de retención de sólidos (TRS). Ambos son aplicados en condiciones de fases distintas entre el residuo y el inóculo utilizado en la fermentación (Lee et al. 2014).

Diversos estudios coinciden que empleando un largo TRH, mejoraría la producción de AGV en la fermentación, ya que los microorganismos tienen más tiempo para reaccionar con el sustrato (Bengtsson et al. 2008); no obstante no sucede con la misma magnitud en el TRS. Estudios realizados por Xiong et al. (2012) y Ferrer et al. (2010) encontraron que aplicando un corto TRS sería más beneficioso para la producción de AGV a partir de lodos de PTAR. Estos resultados se deben a que el TRS más bajo podría evitar la dominancia de metanogénicos en el reactor, ya que la tasa de crecimiento de los metanogénicos es menor a los acidogénicos (Ferrer et al. 2010).

#### **2.3.4. Carga orgánica (OLR)**

Con respecto al régimen de operación de un reactor anaerobio, otro de los parámetros que debe ser considerado es la carga orgánica con la que se trabaja. La carga orgánica, más conocida en terminología inglesa como OLR (Organic Loading Rate), indica la cantidad de materia orgánica presente en la fermentación, la cual puede ser expresada en términos de Demanda Química de Oxígeno (DQO), Sólidos Volátiles (SV), Sólidos Suspendidos Volátiles (SSV) o Carbono Orgánico Disuelto (COD). Teóricamente, la producción de AGV aumenta en la medida que la OLR aumente, debido a la creciente cantidad de sustrato; sin embargo, la influencia de la tasa de carga orgánica (OLR) en la producción de AGV parece inconsistente, por lo que cada sustrato presenta un comportamiento distinto con respecto a este punto. Adicional a ello, investigaciones relacionadas a la influencia de la OLR con la composición de los AGV señalan que valores bajos de OLR fueron útiles en la producción de ácido propiónico y butírico, mientras que el porcentaje de ácido acético y valérico incrementan cuando el OLR aumenta (Jiang et al. 2013).

#### **2.3.5. Sustrato**

Las características del sustrato también es uno de los factores más importantes que afectan la producción de AGV y la composición del bioproducto (Zhou et al. 2018). Algunos estudios revelan que la fermentación de un solo sustrato (**mono-fermentación**) no garantiza un rendimiento óptimo en el sistema, por lo que es necesario la **co-fermentación** de sustratos (co-sustratos), que complementen los nutrientes y mejoren la relación de carbono-nitrógeno de los sustratos en la fermentación acidogénica (Zhu et al. 2008).

## 2.4. APLICACIONES Y MERCADO DE LOS AGV

Como se ha mencionado anteriormente, los AGV producidos a partir de la fermentación acidogénica son un sustrato valioso para múltiples aplicaciones industriales (Venkata Mohan et al. 2016). Sólo para tener una idea de la importancia de la producción de estos compuestos, la investigación presentada por Zacharof y Lovitt (2013) refleja que el mayor tamaño de mercado en relación a los AGV se distribuye primero en el ácido acético, seguido por el ácido propiónico y el ácido butírico, con una clara diferencia entre estos, en 3.500.000 t/año, 180.000 t/año y 30.000 t/año, respectivamente. Sin embargo, no presenta la misma sintonía con la tendencia del precio, ya que estos aumentan a mayor tamaño de la molécula, un ejemplo es el valor del acético en 800 \$/t y el butírico en 1.700 \$/t.

**Tabla 2: Mercado de AGV, productos derivados y aplicaciones industriales.**

MERCADO DE AGV	PRODUCTOS	APLICACIÓN INDUSTRIAL
<b>ÁCIDO ACÉTICO</b> ✓ Tamaño de mercado: 3.500.000 t/año ✓ Precio: \$ 800/ton ✓ Tamaño de crecimiento: 4,3 % anual	✓ Solventes ✓ Esteres ✓ Sales de acetato de calcio, potasio, magnesio ✓ Vinagre ✓ Acetato de vinilo	✓ Industria química: Producción de tintes, pinturas, adhesivos y revestimiento ✓ Deshielo en carreteras y fluidos de intercambio de calor. ✓ Industria alimentaria ✓ Producción de biopolímeros
<b>ÁCIDO PROPIONICO</b> ✓ Tamaño de mercado: 180.000 t/año ✓ Precio: \$ 2.500/ton ✓ Tamaño de crecimiento: 15,1 % anual	✓ Esteres ✓ Acetato-propionato de celulosa ✓ Sales ✓ Otros	✓ Cosméticos, farmacéuticos ✓ Producción de plásticos ✓ Conservantes de alimentos y granos, herbicidas. ✓ Industria química: tintas de impresión, barnices
<b>ÁCIDO BUTÍRICO</b> ✓ Tamaño de mercado: 30.000 t/año ✓ Precio: \$ 1.700/ton ✓ Tamaño de crecimiento: 2,7 % anual	✓ Esteres ✓ Sales ✓ Acetato-butirato de celulosa ✓ Otros	✓ Fragancias, cosméticos ✓ Síntesis de plásticos ✓ Industria farmacéutica - preparación de medicamentos ✓ Aditivo aromatizante para alimentación animal
<b>ÁCIDO VALÉRICO</b> ✓ Tamaño de mercado: 10.036 t/año ✓ Precio: \$ 2.600/ton ✓ Tamaño de crecimiento: 3,84 % anual	✓ Esteres	✓ Lubricantes ✓ Productos químicos agrícolas, plastificantes y estabilizadores de vinilo. ✓ Alimentación y cosmética: producción de saborizantes y perfumes.

FUENTE: Adaptado de Zacharof y Lovitt (2013) y Garcia-Aguirre (2019).

## 2.5. ANTECEDENTES

En este apartado se recogen los principales antecedentes relacionados a la situación actual de la investigación con respecto a la producción de AGV a partir de lodos de PTAR, FORSU y residuos agroindustriales, manteniendo el enfoque hacia la Economía Circular y la biorefinería de los residuos.

### 2.5.1. Contexto internacional

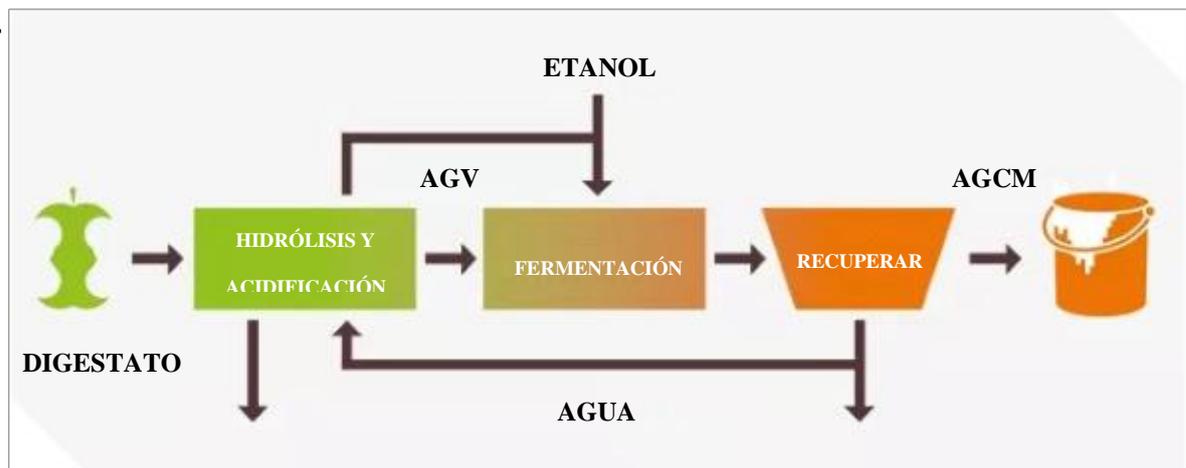
En el contexto internacional actual, la producción de AGV a partir de diferentes corrientes residuales se encuentra en fase experimental, con intenciones de llevarlo a una escala real. En los últimos años, la atención de la comunidad científica se debe principalmente a sus aplicaciones en la industria, mencionadas anteriormente, ya sea a partir de la mezcla de ácidos o individualmente.

Principalmente, los trabajos relacionados hacia la recuperación de estos compuestos se enfocan en investigar técnicas de separación de los AGV a partir de la mezcla inicial fermentada. La separación por métodos tradicionales, destilación o extracción por disolvente, ha dado lugar a nuevos métodos eficientes e innovadores, donde resalta la separación por membrana, con técnicas de microfiltración, ultrafiltración, nanofiltración y ósmosis inversa u otros métodos de separación iónica y adsorción (Atasoy et al. 2018).

Es importante señalar que a nivel internacional, la producción de AGV se encuentra más avanzada en la Unión Europea, ya que es respaldada por directivas europeas relacionadas a la transición hacia una Economía Circular. En ese sentido, los proyectos, programas o empresas europeas más resaltantes que han apoyado a esta iniciativa en los últimos años son las siguientes:

- **Proyecto FABES** (<http://www.biogas-network.de/>), periodo 2009-2012. Proyecto de origen alemán, que se ejecutó con el objetivo de aumentar la eficiencia general de la producción de metano y ácidos orgánicos a través de un módulo de biorefinería, lo cual permitió incrementar el rendimiento energético por unidad de área.
- **Proyecto SUPRABIO** ([www.suprabio.eu](http://www.suprabio.eu)), periodo 2010-2014. La recuperación de AGV a partir de residuos orgánicos formaba parte de un planteamiento hacia la formación de una biorefinería.

- **Programa H2020**, proyectos demostrativos como **RESURBIS** ([www.resurbis.eu](http://www.resurbis.eu)) y **URBIOFIN** ([www.urbiofin.eu](http://www.urbiofin.eu)) fueron apoyados en esta línea de investigación. El primero relacionado a la producción de PHA o bioplásticos, disolventes y fibras, y el segundo pretende demostrar la viabilidad técnica-económica y ambiental del concepto de biorefinería integrada.
- **Empresa Chaincraft** ([www.chaincraft.nl](http://www.chaincraft.nl)). Empresa de origen Holandés que centra sus actividades en la bioeconomía. Actualmente, cuenta con el funcionamiento de una plataforma industrial en la que produce ácidos grasos de cadena media (AGCM), asimilables a una industria química (Figura 4).



**Figura 4:** Esquema de la plataforma industrial de la empresa holandesa Chaincraft.

- Fuente: Adaptado de <http://www.chaincraft.nl/technology-en/>

Por lo tanto, se presentan los siguientes antecedentes más resaltantes obtenidos de trabajos de investigación relacionados a este proyecto:

**Aydin et al. (2018)**, investigaron la recuperación de AGV en soluciones de AGV sintéticas y residuos orgánicos fermentados a través de membranas de politetrafluoroetileno (PTFE) llenas de aire y de un extractor de amina terciaria por medio de contactores de membrana de presión de vapor (VPMC, acrónimo de Vapor Pressure Membrane Contactors). El ácido acético se recuperó con una eficiencia superior al 45% en todos los residuos fermentados. La recuperación de los ácidos propiónico, butírico, valérico y caproico a través de la membrana de PTFE cargada con trioctilamina fue superior al 86% y al 95% del lixiviado de vertedero y el caldo de fermentación de los residuos orgánicos digeridos de manera anaerobia, respectivamente. Este estudio reveló que la separación de AGV se pudo alcanzar

de manera efectiva a través de un sistema VPMC, el cual se puede acoplar a un proceso de fermentación para prevenir la inhibición y alcanzar la recuperación máxima de AGV.

**Bermúdez-Penabad et al. (2017)**, realizaron una investigación con el objetivo de estudiar el efecto de la variación del pH (5-10), y el porcentaje de sólidos totales en la digestión anaerobia de residuos de atún para la producción de AGV, tanto en ensayos discontinuos como continuos. La producción de AGV se vio más afectada en condiciones alcalinas, es decir en un pH de 8,0 la producción de VFA alcanzó 30,611 mg DQO L<sup>-1</sup>. El AGV producido consistió principalmente en ácido acético, propiónico, n-butírico e isovalérico. El ácido acético fue el producto principal en todos los pH probados. En términos de sólidos totales (ST), los mejores resultados se obtuvieron con 2,5% de sólidos totales, alcanzando 0,73 g DQO<sub>AGV</sub>/g DQO<sub>residuo</sub>. A concentraciones más altas de ST (5 y 8% de ST) se alcanzaron rendimientos menores probablemente debido a la inhibición a una concentración alta de AGV.

**Bolaji y Dionisi (2017)**, estudiaron los efectos de la aplicación de una solución tampón de pH y el tiempo de retención de sólidos (TRS) en la fermentación acidogénica de residuos de ensaladas y vegetales en reactores anaerobios tipo discontinuo y semicontinuo a 35° C. En los experimentos tipo discontinuo, el reactor con solución tampón de pH (pH ≥ 7) presentó un mayor rendimiento de producción de ácidos grasos volátiles (62%) frente a condiciones no tamponadas (27%) (DQO<sub>Producto total</sub> / DQO<sub>alimento</sub>). De igual manera, en los reactores semicontinuos, la remoción de sólidos suspendidos volátiles (SSV) fue mayor en condiciones alcalinas tamponadas (57%) comparado con las condiciones ácidas no tamponadas (39%). Por otro lado, se concluyó que aumentando lo necesario el TRS las concentraciones de AGV se incrementaron, con un producto máximo obtenido a los 30 días de la TRS (19,4 g DQO L<sup>-1</sup>).

**Bouzas et al. (2002)**, investigaron los rendimientos de la fermentación de dos lodos primarios provenientes de dos plantas de tratamientos de aguas residuales localizados en Valencia (Pinedo y Carraxeit) para la producción de AGV. Los resultados muestran que la degradabilidad de los sólidos parece determinar el potencial de AGV del lodo, a pesar de presentar ambos lodos las mismas condiciones de operación a 20 °C, el rendimiento de la PTAR “Carraxeit” fue aproximadamente el doble que la planta de “Pinedo”.

**Esteban-Gutiérrez et al. (2018)**, evaluaron la evolución del ácido acético y otros bioproductos durante la fermentación a escala de laboratorio y escala piloto de lodos de

PTAR, aguas residuales vinícolas y harinas de carne y huesos, centrándose en el efecto del pH (5,5 y 10) y la temperatura (35 y 55 °C). A escala piloto el proceso de fermentación fue evaluado en un régimen de operación discontinua. Este último demostró que podría producirse AGV, dando una evolución individual similar a las pruebas a escala de laboratorio. El porcentaje de ácido acético varió entre 30-65% y aumentó hasta 5.900 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> durante la fermentación de lodos de PTAR a 55 °C y pH 9. Además, se alcanzó un 60% de ácido butírico durante la fermentación ácida de aguas residuales vinícolas a 55 °C, que correspondió a una concentración de 6.670 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> en el caldo de fermentación. Con respecto al ácido valérico, se alcanzó una proporción superior al 20% y 2.700 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> en la fermentación ácida de harinas de carne y huesos a 35 °C. Finalmente, el nivel máximo de ácido iso-valérico varió dentro del 15-17% en la fermentación alcalina de lodos cloacales a 55 °C, lo que representó una concentración cercana a 2.000 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>. La co-fermentación de residuos agroalimentarios y lodos de depuradora a temperatura termófila y pH alcalino, aumentó la concentración de AGV de 1,7-2 veces, lo que sugiere que la co-fermentación anaerobia de sustratos de naturaleza diferente podría dar resultados prometedores en la operación a gran escala. Las técnicas analíticas se midieron de acuerdo con lo establecido en el Standard Methods 21st Edition (APHA 2005).

**Garcia-Aguirre et al. (2017)**, exploraron el potencial de producción de AGV de siete corrientes de residuos de fuentes urbanas y agroindustriales. Para ese propósito, los ensayos, de régimen de operación discontinuo, se realizaron en condiciones ácidas (pH 5,5) y alcalinas (pH 10) a temperatura mesofílica (35 °C) y termófila (55 °C). Los resultados demostraron que el rendimiento de AGV fue influenciado por la temperatura, y estuvo afectado positivamente por el pH, que oscila entre 220 y 677 mg DQO g<sup>-1</sup> DQO<sub>alimentado</sub> para efluentes de residuos líquidos y entre 127 y 611 mg DQO g<sup>-1</sup> DQO<sub>alimentado</sub> para flujos de residuos sólidos y lodos. La mayor concentración de AGV y la mayor relación AGV/DQO<sub>s</sub> se obtuvo durante la fracción orgánica de la fermentación de residuos sólidos municipales, con 8.320 mg DQO L<sup>-1</sup> y 94% a pH alcalino y temperatura mesofílica. Los resultados de este estudio sugieren que la producción selectiva de AGV podría ser posible para una escala mayor con diferentes tipos de residuos, mediante el ajuste de los parámetros del proceso.

**Liu et al. (2012)**, estudiaron la producción y la vía de síntesis de AGV, así como la comunidad bacteriana en la fermentación acidogénica en lodos de aguas residuales con alta carga proteica bajo diferentes condiciones de pH. Los resultados indican que el pH alcalino mejoró la solubilización y biodegradación de las proteínas presentes en el lodo, lo cual no

sólo incrementó el rendimiento de la producción de AGV totales, sino también a nivel individual.

### **2.5.2. Contexto nacional**

Con la creación de la nueva ley de Gestión integral de Residuos Sólidos en el Perú (D.L N° 1278) y posteriormente la aprobación de su reglamento (D.S N° 014-2017-MINAM), se establecieron en el primero nuevos principios, lineamientos e instrumentos que dan a entender que se procurará, en la medida que sea posible, aplicar el principio de la Economía Circular y la valorización de los residuos, con la finalidad de maximizar la eficiencia en el uso de los materiales y asegurar la gestión y manejo de los residuos sólidos. Por lo tanto, actualmente se ha dado más impulso a este tema para que se inicie en nuestro país una transición gradual hacia el enfoque de la economía circular, prueba de ello es que recientemente también se ha considerado como objetivo prioritario (OP9) en el nuevo Plan de Competitividad y Productividad (D.S. 237-2019-EF) promover la sostenibilidad ambiental a través de iniciativas público-privadas para adoptar este enfoque y la suscripción de Acuerdos de Producción Limpia (APL).

En este contexto, si bien es cierto que existen antecedentes relacionados al aprovechamiento de los residuos en nuestro país a través de la digestión anaerobia para la producción de biogás y de biol como fuente energética y biofertilizante (Ferrer et al. 2008), y en menor alcance el compostaje, todavía el campo de investigación hacia la recuperación de compuestos orgánicos no ha sido estudiado en una plataforma experimental, por lo que la necesidad de investigar en este campo es fundamental para la transición hacia la Economía Circular, más aún cuando se pretende cumplir con los **Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) del Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD)**, en particular con las siguientes metas trazadas en el objetivo 12, relacionado a la producción y consumo responsable:

- De aquí a 2020, lograr la gestión ecológicamente racional de los productos químicos y de todos los desechos a lo largo de su ciclo de vida, de conformidad con los marcos internacionales convenidos, y reducir significativamente su liberación a la atmósfera, el agua y el suelo a fin de minimizar sus efectos adversos en la salud humana y el medio ambiente.
- De aquí a 2030, reducir considerablemente la generación de desechos mediante actividades de prevención, reducción, reciclado y reutilización.

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

En este capítulo se detalla la descripción del lugar de ejecución de la investigación, instalaciones, equipos, materiales y métodos utilizados en el laboratorio. Del mismo modo, se precisa el inóculo y los sustratos (residuos) empleados en los ensayos experimentales, entre otros materiales necesarios en la fase experimental.

#### **3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN**

La investigación se realizó en los laboratorios experimentales de la División de Agua y Salud del Centro Tecnológico Ceit-IK4, San Sebastián - España (Anexo 1).

Se designó esta institución debido a su experiencia en la realización de proyectos industriales de investigación aplicada en colaboración con los departamentos de I+D+i de empresas industriales en un entorno de Economía circular, financiados en gran medida por la Unión Europea (UE) y la Diputación Foral de Guipúzcoa (España).

#### **3.2. RESIDUOS E INÓCULO**

La elección de los residuos e inóculo utilizados en este estudio fue establecido por el grupo de investigación de Agua y Residuos del Centro Tecnológico Ceit-IK4 en el marco del proyecto co-financiado denominado **PROAZETIK**. Estos residuos e inóculo fueron seleccionados debido al escaso conocimiento sobre su potencialidad y representan un desafío de manejo a escala local, sin embargo, pueden ser extrapolables hacia cualquier contexto internacional. Los residuos e inóculo que se utilizaron en los diferentes ensayos son descritos a continuación y las imágenes se pueden visualizar en el Anexo 2.

##### **3.2.1. Residuo orgánico o sustrato**

El residuo orgánico, llamado también sustrato, constituye la fuente principal de la materia orgánica biodegradable en las mezclas iniciales de los ensayos de digestión anaerobia y fermentación anaerobia (mono-fermentación y co-fermentación). A efectos de este estudio, se emplearon los siguientes residuos:

#### **a. Lodo de PTAR Loiola - San Sebastián (LP)**

Parte de la experimentación se desarrolló con lodos provenientes de los espesadores de la PTAR Loiola (San Sebastián - España), con la que se alimentan digestores de 6.000 m<sup>3</sup> y se genera biogás en condiciones mesofílicas de temperatura. Actualmente, la PTAR cuenta con una capacidad de tratamiento de 628.000 habitantes equivalentes y un tratamiento biológico de alta carga orgánica.

#### **b. Fracción orgánica de residuos sólidos Urbanos (FORSU)**

La FORSU utilizada en esta investigación es proveniente de los restos de alimentos que fueron recogidos de manera selectiva en la cafetería del Campus de Tecnun-Ceit, donde los trabajadores del Ceit-IK4 y el alumnado de la escuela de colegios de ingenieros de la Universidad de Navarra (San Sebastián, España) consumen alimentos diariamente. Se recolectó una cantidad suficiente de residuo, aproximadamente de 10 kg, para realizar los ensayos.

#### **c. Residuos de Alcachofa (AL)**

Los residuos de alcachofa que se utilizaron pertenecen a la especie *Cynara scolymus* y fueron originarias de la planta de conservas Gutarra-Grupo Riberebro, ubicado en el municipio de Villafranca, perteneciente a la Comunidad Autónoma de Navarra (España). El peso total de muestra recolectada fue de aproximadamente de 10 kg.

#### **d. Residuos de pulpa de manzana (PM)**

Los residuos de pulpa de manzana (*Malus domestica*) que se utilizaron son procedentes de la fabricación de la sidra (bebida alcohólica). Estas muestras fueron donadas por la sidrería Zapiain, procedente de Astigarra (España). El peso total de muestra recolectada fue de aproximadamente 37 kg.

#### **e. Biomasa microalgal (BM)**

La biomasa microalgal fue donada por la Universidad de Valladolid (España). Esta última se obtuvo de un estanque de algas de alta velocidad de 180 L (HRAP, acrónimo de High Rate Algae Pond), tratado con medio mineral y biogás como fuente de carbono. La caracterización de las microalgas mostró un predominio de especies tales como: *Mychonastes homosphaera* (59,5%), *Pseudoanabaena* sp. (39,5%), *Navicula* sp. (0,5%) y

*Scenedesmus* sp. (0,5%). Las microalgas fueron recolectadas utilizando un floculante **Chemifloc**<sup>®</sup>. El volumen muestreado para los ensayos fue de 1 L aproximadamente.

### **3.2.2. Inóculo**

El inóculo es un componente primordial para potenciar el arranque de la fermentación anaerobia, ya que constituye la biomasa acidogénica y metanogénica activa. En este estudio, se emplearon como fuente de biomasa, el lodo digerido procedente de un reactor mesófilo tipo **CSTR** de 6.000 m<sup>3</sup> de la PTAR Loiola de San Sebastián (mencionado anteriormente). La PTAR es perteneciente al consorcio de Aguas de Añarbe S.A. y opera con un tiempo de **retención hidráulica (TRH)** de 20-30 días.

## **3.3. CONDICIONES EXPERIMENTALES**

### **3.3.1. Pruebas de potencial metanogénico**

Las pruebas de potencial metanogénico se realizaron a partir de una serie de ensayos de mono-digestión o mono-sustrato por triplicado, en un régimen de operación discontinuo para residuos tales como: Lodos de PTAR (LP), fracción orgánica de residuos sólidos urbanos (FORSU), alcachofa (AL), pulpa de manzana (PM) y biomasa microalgal (BM). En esta prueba se utilizaron botellas Pyrex de volumen nominal de 500 mL y un volumen de trabajo de 350 mL, con una junta de goma que aseguraba el cierre hermético. Para evitar el descenso inicial de pH se añadió sal de bicarbonato en una concentración de 5 g NaHCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup> y se ajustó a la neutralidad (pH 7,0) en condiciones termofílicas (55 °C), las cuales se alcanzaron en un baño termostático regulado con un termostato de inmersión Tectron-Bio (Marca Selecta). Se trabajó a la temperatura señalada con la finalidad de ajustar condiciones similares a las definidas para las pruebas de potencial acidogénico.

Las cantidades de cada sustrato se ajustaron en los reactores a una concentración inicial de gSV (sólidos volátiles), de 5 g SV L<sup>-1</sup>, mientras que la concentración de inóculo se ajustó a 7,5 g SV L<sup>-1</sup>. La relación sustrato/inóculo (S/I) se ajustó de acuerdo con la metodología explicada por Esteban-Gutierrez (2014). Para todos los sustratos evaluados se han empleado las mismas condiciones experimentales (Tabla 3). En este estudio se utilizaron blancos control para calcular la producción neta de biogás y metano. En este caso los controles sólo contenían inóculo y agua destilada en reemplazo del sustrato.

Finalmente, para establecer las condiciones anaerobias óptimas en el ensayo, se insufló con N<sub>2</sub> (99%) antes de sellar el biorreactor.

**Tabla 3: Condiciones experimentales utilizadas en las pruebas de potencial metanogénico.**

<b>Componentes</b>	<b>Unidades</b>	<b>LP</b>	<b>FORSU</b>	<b>AL</b>	<b>PM</b>	<b>BM</b>
<b>Inóculo</b>	g SV L <sup>-1</sup>	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5
<b>Residuos/Sustratos</b>	g SV L <sup>-1</sup>	5	5	5	5	5
<b>Bicarbonato</b>	g L <sup>-1</sup>	5	5	5	5	5
<b>Ratio I/S (SV/ SV)</b>	-	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
<b>Temperatura</b>	°C	55	55	55	55	55
<b>pH</b>	-	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0
<b>Tiempo</b>	Días	20	20	20	20	20

### 3.3.2. Pruebas de potencial acidogénico

#### a. Pruebas de potencial acidogénico: escala de laboratorio

Las pruebas de potencial acidogénico (mono-fermentación y co-fermentación) se realizaron en gran parte de los experimentos por duplicado, en un régimen de operación discontinuo y por 10 días. Se utilizaron botellas Pyrex de 500 mL (volumen de trabajo de 350 mL); excepto para las pruebas de co-fermentación de LP + FORSU y LP + AL, las cuales se evaluaron en botellas de 2 L (volumen de trabajo de 1,8 L) y sin duplicados (Figura 5). Estas condiciones de trabajo fueron parte del planteamiento preliminar establecido por el grupo de investigación de Agua y Residuos del Centro Tecnológico Ceit-IK4.

Los ensayos de mono-fermentación y co-fermentación fueron acondicionados en ambientes ácidos (pH 5,5) y alcalinos (pH 9), respectivamente; y a temperatura termofílica. La elección del pH alcalino en los ensayos de co-fermentación fue establecida a partir de ensayos preliminares (Anexo 3). El volumen (v) de sustrato e inóculo se ajustó a un ratio de 1:1 (v/v) en los reactores (Tabla 4), mientras que el co-sustrato, es decir LP, representó el 80% del volumen total del sustrato (Tabla 5). Estas concentraciones se han adaptado según las pruebas de fermentación a escala piloto realizadas por Esteban-Gutiérrez et al. (2018) y García-Aguirre et al. (2019).

Se estableció una relación de sustrato/inóculo (S/I) mayor que el potencial metanogénico con la finalidad de asegurar la presencia de suficiente fracción digerible e inhibir el desarrollo de bacterias metanogénicas (Van-Aarle et al. 2015, Perimenis et al. 2018). El pH se controló diariamente y se ajustó manualmente, dosificando HCl 4N y NaOH 4N, para mantener un rango óptimo durante las pruebas de fermentación.

De la misma manera que las pruebas de potencial metanogénico, se realizaron test de control por duplicado para calcular la producción neta de AGV de los distintos residuos, los cuales contenían inóculo y agua destilada en lugar de sustrato, asimismo, las condiciones anaerobias óptimas se alcanzaron con insuflar N<sub>2</sub> (99%), al menos un minuto, antes de sellar el biorreactor.

**Tabla 4: Condiciones experimentales utilizadas para ensayos de mono-fermentación (o mono-sustrato).**

Componente	Unidades	LP	FORSU	AL	PM	BM
Inóculo	mL	175	175	175	175	175
Residuo	mL	175	175	175	175	175
Densidad	g/L	1000	852	800	420	1000
Ratio I/S (v/v)	-	1	1	1	1	1
Temperatura	°C	55	55	55	55	55
pH	-	5,5	5,5	5,5	5,5	5,5
Tiempo	Días	10	10	10	10	10

**Tabla 5: Condiciones experimentales utilizadas para ensayos de co-fermentación (o co-sustrato).**

Componente	Unidades	LP+FORSU (4:1)	LP +AL (4:1)	LP + PM (4:1)	LP + BM (4:1)
Inóculo	mL	900	900	175	175
LP	mL	720	720	140	140
Residuo	mL	180	180	35	35
Ratio I/S (v/v)	-	1	1	1	1
Temperatura	°C	55	55	55	55
pH	-	9,0	9,0	9,0	9,0
Tiempo	Días	10	10	10	10

## **b. Pruebas de potencial acidogénico: escala piloto**

### **- Pruebas preliminares:**

De acuerdo con los resultados obtenidos (**apartado 4.2**) y la disponibilidad del residuo, se consideró que un buen sustrato para escalar son los residuos de PM, por lo que se realizaron pruebas preliminares de potencial acidogénico (Anexo 4), a escala laboratorio (mono y co-fermentación) para este residuo, con la finalidad de elegir las condiciones experimentales más idóneas para realizar las pruebas de producción de ácidos grasos volátiles (AGV) a escala piloto. En la Tabla 6, se detallan las condiciones experimentales utilizadas en las pruebas preliminares.

**Tabla 6: Condiciones experimentales utilizadas en las pruebas preliminares.**

<b>Componente</b>	<b>Unidades</b>	<b>PM1</b>	<b>PM2</b>	<b>LP+PM (1:1)</b>	<b>LP+PM (4:1)</b>
Inóculo	mL	175	262,5	175	175
LP	mL	-	-	87,5	140
PM	mL	175	87,5	87,5	35
Ratio I/S (v/v)	-	1	3	1	1
Temperatura	°C	55	55	55	55
pH	-	5,5	5,5	9,0	9,0
Tiempo	Días	10	10	10	10

### **- Pruebas a escala piloto**

Para la producción de ácidos grasos volátiles (AGV) a escala piloto se utilizó un reactor automatizado de acero inoxidable de 15 L (volumen útil 10 L), equipado con un software SCADA que permitía su automatización para la medición del pH y cuantificación del biogás en mL min<sup>-1</sup> (Figura 6 y 7). Además, se empleó NaOH 8M y HCL 4M como agentes de dosificación para ajustar el pH durante las pruebas de fermentación, las cuales duraron aproximadamente 12 días. La plataforma piloto estuvo equipada con una sonda de temperatura PT100 y una resistencia eléctrica que permitía mantener la temperatura del proceso en el rango deseado, es decir, en condiciones termofílicas (55° C). Además, se usó un medidor de flujo de biogás (Bronkhorst ® F-221M) para controlar la producción diaria de biogás, mientras que el metano se cuantificó mediante un cromatógrafo de gases. Es importante resaltar que durante todo el ensayo la plataforma piloto se encontró en constante agitación para contrarrestar la heterogeneidad del sustrato y co-sustrato.

Según la evaluación de las pruebas preliminares (Anexo 4), la co-fermentación de LP+PM en un ratio I/S (v/v) de 1:1 obtuvo la mejor producción y rendimiento de AGV, por lo que la relación sustrato/inóculo (S/I) se ajustó teniendo en cuenta estos resultados (Tabla 7), es decir los LP representaron el 50% del volumen total del sustrato. A continuación, se detallan las condiciones del ensayo en las pruebas a escala piloto:

**Tabla 7: Condiciones experimentales utilizadas en las pruebas a escala piloto.**

<b>Componente</b>	<b>Unidades</b>	<b>LP+PM (1:1)</b>
Inóculo	L	5
LP	L	2,5
PM	L	2,5
Ratio I/S (v/v)	-	1
Temperatura	°C	55
pH	-	9,0
Tiempo	Días	≈12

### 3.4. INSTALACIONES Y EQUIPOS

Se enumeran a continuación las instalaciones y equipos (Anexo 5 y 6) que se utilizaron durante el desarrollo de la investigación:

#### 3.4.1. Instalaciones

- Laboratorio analítico: Este laboratorio se encuentra dotado del equipamiento convencional para las analíticas correspondientes a la caracterización de los diferentes parámetros de las muestras obtenidas de los ensayos tanto a escala laboratorio como escala piloto.
- Laboratorio de ensayos: Para completar los ensayos de fermentación anaerobia para la producción de ácido acético y otros AGV a escala piloto.
- Laboratorio instrumental: Laboratorio compuesto por equipamiento no convencional para determinaciones específicas (Ej.: biogás, AGV y otros).

#### 3.4.2. Equipos

- Sensor de presión (IFM electronic, PN 20279)
- Equipo de cromatografía de gases GC-TCD HP6890 (columna SUPELCO 60/80 Carboxen, Ref. 10001-2390-U)

- Equipo de cromatografía de gases Agilent GC-6890, equipado con un FID (Flame Ionization Detector) y una columna capilar (DB-FFAP, 30m x 0,25 mm i.d., 0,25  $\mu\text{m}$  film, Agilent J&W ref. 122 – 3232E)
- pH-metro CRISON GLP 21+ que contiene una sonda 5014T
- Sonda portátil CRISON (5200T)
- Equipo de centrifugación MEDITRONIC BL7001084
- Equipo de filtración y bomba de vacío
- Baño termostático
- Termostato de inmersión Tectron-Bio (Marca Selecta)
- Equipo destilador por arrastre de vapor BÜCHI 315
- Estufa Selecta Modelo 381
- Horno mufla Hobersal (Modelo 12PR/300, serie 8B)
- Analizador de elementales LECO CS-200 y LECO TC-400
- Balanza autocalibrada METTLER TOLEDO serie AB104 y PB3002-S
- Unidad de digestión Selecta “Bloc-digest 12”
- Molino de análisis (tritador IKA A11)
- Transmisor M300 (METTLER TOLEDO)
- Controlador de flujo másico (MFC, acrónimo de Mass Flow Controller) modelo Bronkhorst ® F-221M

### 3.5. EQUIPOS EXPERIMENTALES

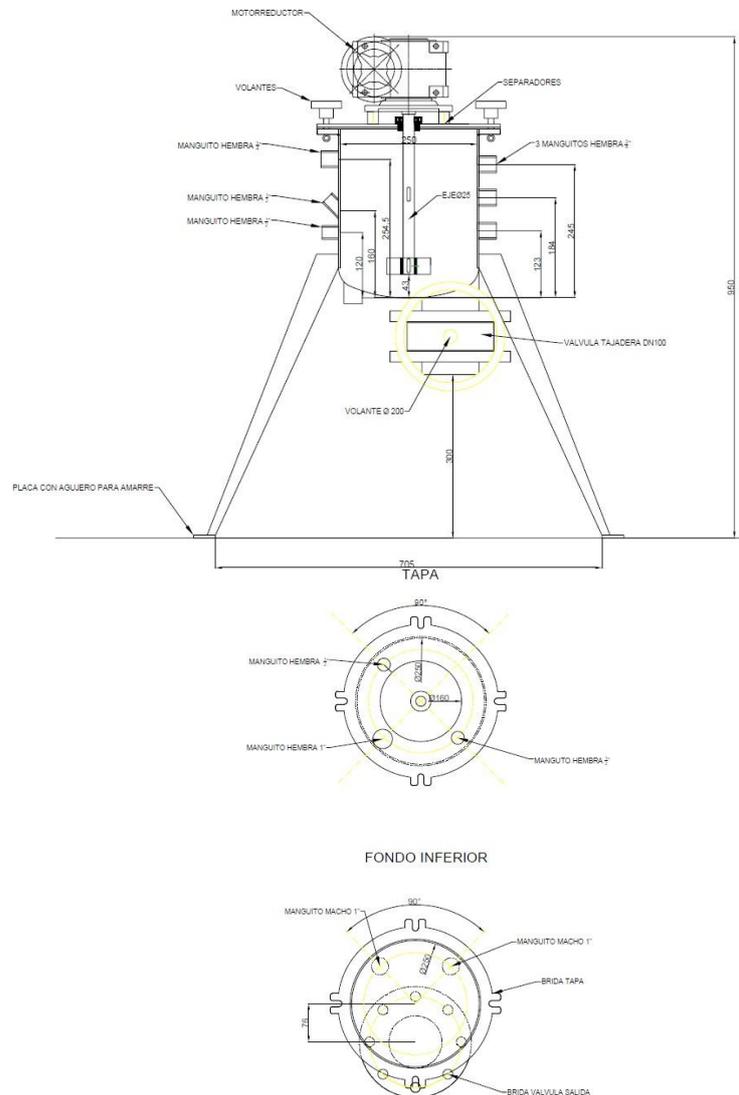
#### 3.5.1. Reactores discontinuos a escala de laboratorio de 0,5 L y 2 L



**Figura 5:** Imagen del montaje de los bioreactores/fermentadores anaerobios de 2 L (imagen izquierda) y 0,5 L (imagen derecha) a escala de laboratorio.

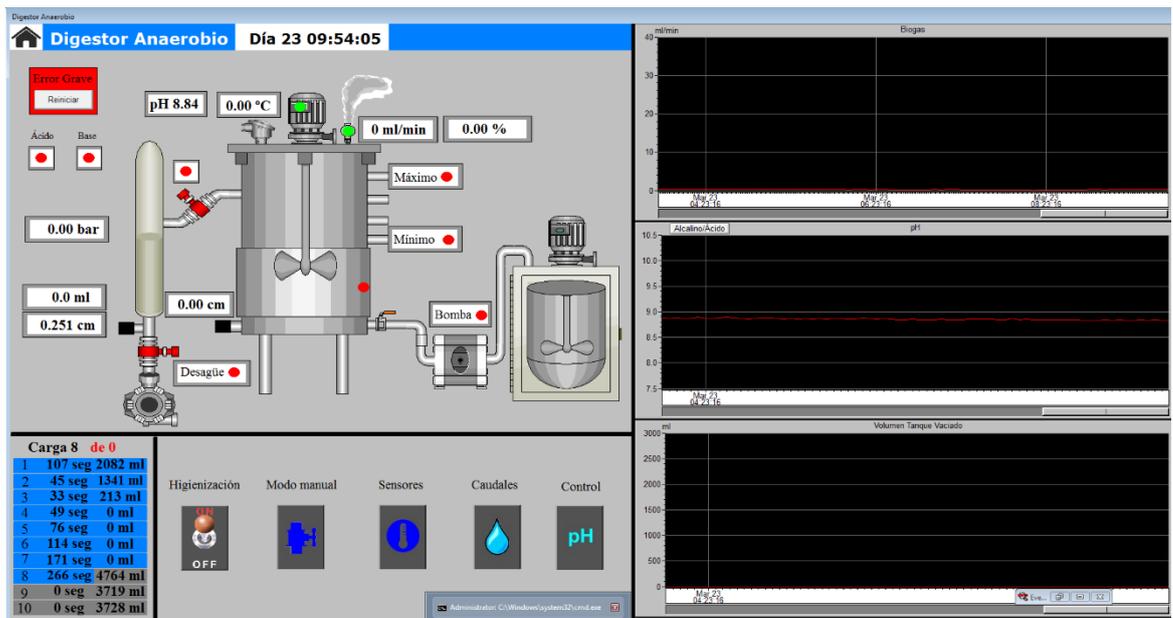
### 3.5.2. Plataforma piloto de fermentación de 15 L: Diseño y construcción de equipo de fermentación

El diseño y construcción del equipo de fermentación se elaboró en coordinación con el grupo de investigación de aguas y residuos del Ceit-IK4 y la Diputación de Guipúzcoa (España), los cuales formaron parte del proyecto co-financiado denominado **PROAZETIK**. Sin embargo, las modificaciones y condiciones del funcionamiento de la planta piloto estuvieron a cargo del investigador.



**Figura 6:** Esquema de la plataforma de demostración de producción de acético (imagen superior) y detalle de la tapa y el fondo (imagen inferior).

FUENTE: Adaptado de Esteban-Gutierrez (2018)



**Figura 7:** Plataforma piloto de fermentación de 15 L (arriba izquierda), equipo de monitorización y automatización de plantas piloto (arriba derecha), y captura del SCADA (acrónimo de Supervisory Control And Data Acquisition) de visualización del reactor de fermentación a tiempo real (abajo).

### 3.6. MÉTODOS ANALÍTICOS

En esta sección se describe los métodos analíticos utilizados en las pruebas de potencial metanogénico y acidogénico. Además, se precisa el tipo de procesamiento de las muestras tratadas, según la naturaleza líquida o sólida del residuo estudiado.

### 3.6.1. Procesamiento de las muestras

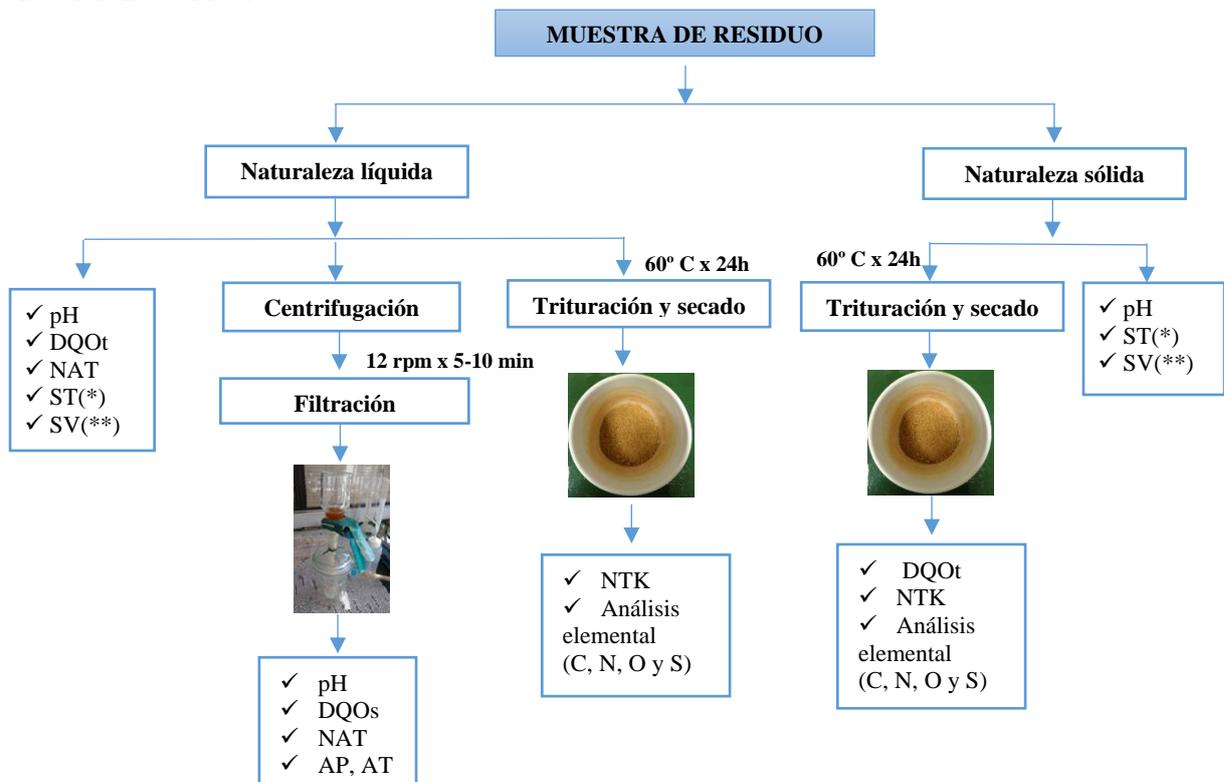
#### a. Caracterización de las muestras de los residuos e inóculo

Con la finalidad de obtener resultados fiables en la caracterización de los residuos, se procedió a tratar la muestra dependiendo del tipo de la naturaleza del sustrato e inóculo.

En el caso de los residuos de naturaleza sólida (FORSU, AL, PM y BM), se ha empleado una cantidad de muestra previamente secada en una estufa a 60 °C por 24 h, y posteriormente triturada en un molino de análisis (**triturador IKA A11**), para analíticas como el DQOt (demanda de oxígeno total), NTK (nitrógeno total kjeldahl) y análisis de elementales (C, N, O y S), mientras que la DQOt del inóculo y LP se realizó sobre el total de la muestra.

Los parámetros en los que se utilizó la **materia orgánica soluble** de los residuos, se determinaron a partir de una muestra centrifugada a 12.000 rpm de 5 a 10 min, y posteriormente filtrada (filtros Millipore de 0,7 µm) hasta obtener un sobrenadante. Las analíticas que se evaluaron fueron pH, DQOs (demanda química de oxígeno soluble), NAT (nitrógeno amoniacal total), alcalinidad parcial (AP) y alcalinidad total (AT).

En la siguiente figura se esquematiza el procesamiento de las muestras según el tipo de naturaleza del residuo:



(\*) 24 h, 105°C

(\*\*) 2-5 h, 550°C

**Figura 8:** Esquema del procesamiento para la caracterización de residuos e inóculo.

## **b. Caracterización de las muestras para pruebas de potencial metanogénico y acidogénico**

El procesamiento de la mezcla inicial (inóculo + sustrato) en los ensayos de potencial metanogénico y acidogénico consistió en preparar una masa homogénea (Anexo 7), utilizando medios físicos como la trituración y/o agitación hasta obtener una muestra representativa, teniendo en cuenta el tipo de análisis a medir en las que se emplea la muestra total, es decir la fracción sólida y la fracción líquida.

Los análisis de pH, ST y SV se realizaron directamente sobre la muestra. Por otra parte, para la medición de AGV, DQOs, NAT, AT, y AP, se utilizó la mezcla inicial previamente centrifugada a 12.000 rpm de 5 a 10 min, y posteriormente filtrada (filtros Millipore de 0,7  $\mu\text{m}$ ) hasta obtener un sobrenadante.

Finalmente, en los ensayos de potencial metanogénico, las mediciones analíticas sólo se realizaron al inicio y final de las pruebas, mientras que en los ensayos de potencial acidogénico, la medición fue llevada a cabo de manera interdiaria.

### **3.6.2. Determinación de la cantidad y composición del biogás**

Se analizó la cantidad y composición del biogás formado en los bioreactores, tanto en las pruebas de potencial metanogénico como el potencial acidogénico para los diferentes residuos evaluados.

La producción de biogás se cuantificó manualmente utilizando un sensor de presión (IFM electronic, PN 20279). La presión del biogás se convirtió en volumen, en condiciones estándar de temperatura y presión (STP, acrónimo de Standard conditions for Temperature and Pressure), como lo sugieren Angelidaki et al. (2009), es decir, a 0 ° C y 1 atm. La composición del biogás ( $\text{N}_2$ ,  $\text{O}_2$ ,  $\text{CH}_4$  y  $\text{CO}_2$ ) se midió utilizando un equipo de cromatografía de gases GC-TCD HP6890 (columna SUPELCO 60/80 Carboxen, Ref. 10001-2390-U), después de haber sido recolectado la muestra de biogás en una jeringa de 1mL.

En los ensayos a escala piloto, como se mencionó anteriormente, la cantidad del biogás fue analizada de manera automática por un controlador de flujo másico (MFC, de sus siglas en inglés) modelo Bronkhorst ® F-221M y registrado a tiempo real en el software **SCADA**. La composición del biogás fue determinada por un cromatógrafo de gases GC-TCD HP6890 después de haber sido recolectado en una bolsa Tedlar de 5 L.

### 3.6.3. Determinación de la producción de metano

El cálculo del contenido de metano se obtuvo a partir de las medidas de presión y la composición de biogás (%). Posteriormente, los resultados de las mediciones de presión fueron convertidos a volumen ( $V_{CH_4}$ ) a partir de la aplicación de la ecuación de los gases ideales. A continuación se detallan los pasos que se siguieron para la transformación a  $V_{CH_4}$  (Esteban-Gutierrez 2014):

1<sup>er</sup> paso: Se realizó la transformación de unidades, con la finalidad de convertir los datos de presión de biogás a atmósferas (atm):

$$P_1 \text{ (atm)} = \text{dato}_{\text{sensor}} \text{ (P)} / 1013,25$$

Donde,

1013,25 es el factor de conversión de mmbar a atm.

2<sup>do</sup> paso: El dato de presión de biogás fue transformado a volumen según la ecuación de los gases ideales:

Partiendo de la siguiente ecuación:

$$P_1 V_1 = nRT_1$$

En donde:

$P_1$  = Presión (atm) medida en el sensor

$V_1$  = volumen del espacio libre de la cabeza de la botella

$n$  = número de moles (cantidad de biogás)

$T_1$  = Temperatura de ensayo, es decir a 55°C (328 K)

$R$  = Constante universal de los gases ideales (0,082 atm.L (mol.K)<sup>-1</sup>)

Para ensayos de biodegradabilidad anaerobia, el volumen del biogás se expresó en condiciones estándar de temperatura (T) y presión (P), 1 atm y 0°C (273 K). De modo que corresponde a condiciones de temperatura y presión distintas, sin embargo la cantidad de biogás (n) se mantiene constante, para lo cual se cumple con la siguiente ecuación:

$$\frac{P_1 V_1}{T_1} = \frac{P_2 V_2}{T_2}$$

De esta manera fue posible estimar el volumen que ocupará una cantidad de masa de biogás en diferentes condiciones de T y P.

$$V_2 = \frac{T_2 P_1 V_1}{T_1 P_2}$$

Por lo tanto, se aplicó dos expresiones distintas en función del volumen del espacio vacío de los bioreactores del ensayo:

- Botellas Pyrex 2 L:

$$V_2 = \frac{273 \cdot P_1 \cdot 1170}{328}$$

- Botellas Pyrex 0,5 L:

$$V_2 = \frac{273 \cdot P_1 \cdot 195,15}{328}$$

3<sup>er</sup> paso: Para realizar la conversión de biogás a metano (CH<sub>4</sub>) generado diariamente, se consideró el porcentaje de metano (% CH<sub>4</sub>) obtenido de la cromatografía de gases, según la siguiente ecuación:

$$V_{CH_4}(\text{mL STP}) = \frac{V_{\text{biogás}} \%_{CH_4}}{100}$$

En donde:

$V_{CH_4}$  = Volumen de metano, expresado en mL STP

$V_{\text{biogás}}$  =  $V_2$  (mL STP)

$\%_{CH_4}$  = Porcentaje de metano estimado en el cromatógrafo de gases

Con respecto a la cantidad de metano total o acumulado, fue necesario utilizar la siguiente ecuación:

$$V_{CH_4,t}(mL\ STP) = V_{CH_4,t-1} + \frac{V_{biogás,t}\ \%CH_4,t}{100}$$

$V_{CH_4,t}$  = Volumen de metano correspondiente al día  $t$  (mL STP)

$V_{CH_4,t-1}$  = Volumen de la medición anterior ( $t$ ) correspondiente al día  $t-1$

$V_{biogás,t}$  = Volumen de biogás (mL STP) tomada en el día  $t$

$\%CH_4,t$  = Porcentaje de metano estimado en el día  $t$

### 3.6.4. Determinación de pH

La medición del pH se determinó utilizando un pH-metro de sobremesa de marca CRISON GLP 21+ (sonda 5014T) y una sonda portátil CRISON (5200T). Para analizar las muestras se siguieron las indicaciones del método 4500-H+ B (APHA 2005). El equipo se calibró cada 7 días con un sistema de reconocimiento de soluciones patrones de pH (4,01, 7,00 y 9,21).

Para la determinación del pH a tiempo real en el reactor piloto de 15 L se utilizó un transmisor M300 (METTLER TOLEDO) y los datos fueron registrados en el software SCADA.

### 3.6.5. Determinación de los Sólidos Totales (ST) y Sólidos Volátiles (SV)

La determinación del contenido de sólidos totales (ST) y sólidos volátiles (SV) se realizó según los métodos 2540B y 2540E de la 21ª edición de Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA 2005), respectivamente. El método consistió en pesar en un crisol una cierta cantidad de muestra, utilizando una balanza autocalibrada (METTLER TOLEDO AB104), y secar a 105 °C (estufa Selecta Modelo 381), hasta peso constante durante 24 horas. Una vez determinado el valor de los ST, se procedió a volatilizar la muestra a 550 °C en un horno mufla Hobersal (Modelo 12PR/300, serie 8B) por 2 horas como mínimo para determinar los SV. Para el cálculo de los ST y SV se utilizaron las siguientes fórmulas:

$$ST (\%) = \frac{(A - B)100}{C}$$

$$SV (\%) = \frac{(A - D)100}{C}$$

En donde:

A= Peso seco del residuo a 105°C + peso del crisol

B= Peso del crisol

C= Peso de la muestra húmeda

D= Peso del residuo calcinado a 550°C + peso del crisol

### **3.6.6. Determinación de la Demanda Química de Oxígeno (DQO<sub>total</sub> y DQO<sub>soluble</sub>)**

La determinación de la Demanda Química de Oxígeno (DQO) se realizó a partir de la adaptación del método 5220B (APHA 2005) para reflujo abierto. Debido a la presencia de una alta carga orgánica en la muestra, fue necesario diluirla hasta alcanzar los rangos deseables para una valorización correcta.

La metodología empleada se fundamenta en la oxidación de la materia orgánica a partir de una disolución de dicromato de potasio ( $H_2Cr_2O_7$ ) y posterior digestión por 2 horas a 150 °C (Unidad de digestión Selecta “Bloc-digest 12”). La valorización de la DQO se realizó con sulfato ferroso amónico ( $(NH_4)_2Fe(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$ ).

La DQO<sub>total</sub> (DQOt) se obtuvo directamente de la muestra y la DQO<sub>soluble</sub> (DQOs) a partir de la muestra filtrada en una membrana de fibra de vidrio (Millipore AP-40, 0,7 µm de diámetro). Los residuos de naturaleza sólida, presentan un protocolo distinto a las muestras líquidas (descritos en el apartado 4.5.1), en este caso fue necesario secar una cierta cantidad de muestra (60°C, 24 h) y triturar en un molino de análisis (tritador IKA A11) para analizar este parámetro.

### **3.6.7. Determinación de Alcalinidad Parcial (AP) y Total (AT)**

La determinación de la alcalinidad parcial (AP) y total (AT) se realizó mediante una modificación del método 2320-B (APHA 2005). El método consistió en valorar una muestra filtrada con una disolución estándar de ácido diluido (0,02 N  $H_2SO_4$  o 0,05 N HCl) hasta alcanzar un pH inicial de 5,75, correspondiente a la estimación de la alcalinidad parcial (AP), la cual se relaciona con la presencia de bicarbonatos. Posteriormente, se valora hasta un pH

de 4,3, valor que se asocia a la estimación de la alcalinidad total (AT). La medición de la alcalinidad se calculó empleando la siguiente fórmula:

$$\text{Alcalinidad (mg CaCO}_3\text{ L}^{-1}) = \frac{A \cdot N \cdot 50000}{V}$$

En donde,

A= Volumen de disolución del ácido estándar gastado en la valoración

N= Normalidad del ácido estándar utilizado

V= Volumen de muestra utilizado (mL)

### **3.6.8. Determinación del Nitrógeno Amoniacal Total (NAT)**

La cuantificación del nitrógeno amoniacal (NAT) consiste en la sumatoria de especies de  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{NH}_3$ , mediante el método 4500-NH<sub>3</sub> (APHA 2005). Esta metodología se ha llevado a cabo utilizando un destilador por arrastre de vapor (BÜCHI 315), el cual consiste en una técnica volumétrica por retrovaloración con ácido sulfúrico 0,2N o 0,02N del exceso de sosa añadido a la muestra digerida y posteriormente destilada y recogida sobre ácido bórico.

### **3.6.9. Determinación del Nitrógeno Total Kjeldahl (NTK)**

La cantidad de nitrógeno orgánico y nitrógeno amoniacal de una muestra corresponde al NTK. La metodología adaptada para este tipo de muestras es el método 4500 Norg-B (APHA 2005). El método se fundamenta en la mineralización del nitrógeno orgánico presente en la muestra a partir de ácido sulfúrico y en presencia de un catalizador (Cu-Se). El ión amonio formado junto con el existente en el medio se valora utilizando el método de NAT. Para calcular el valor del Nitrógeno Total Kjeldahl (NTK) fue necesario aplicar la siguiente fórmula:

$$\text{NTK (mg NL}^{-1}) = \frac{V_G \cdot N \cdot 14000}{V_M}$$

En donde:

$V_G$ = Volumen del ácido sulfúrico gastado en la valoración de la muestra

N= Normalidad de la disolución de ácido sulfúrico

$V_M$ = Volumen de muestra utilizado

### **3.6.10. Determinación de la producción de ácidos grasos volátiles (AGV)**

Para las pruebas de potencial acidogénico, se analizaron la concentración y composición de ácidos grasos volátiles (AGV) de los ensayos, es decir, ácido acético (HAc), ácido propiónico (HPr), ácido butírico (HBut), ácido isobutírico (Iso-But), ácido valérico (HVal) y ácido isovalérico (Iso-Val) con un cromatógrafo de gases (gas Agilent GC-6890) equipado con un FID (detector de ionización de llama), una columna capilar (DB-FFAP, 30m x 0,25 mm id, película de 0,25  $\mu\text{m}$ , Agilent J&W ref. 122 - 3232E) y Helio como gas portador (Esteban-Gutierrez 2014).

El método analítico consistió en tratar la fracción filtrada a través del disolvente orgánico TBME (terc-butil-metil-éter), concretamente con 3,9 mL por cada mililitro de muestra filtrada. Posteriormente, se añadió 0,1 mL de una disolución de 2mg L<sup>-1</sup> de ácido píválico (solución estándar interna), asimismo 1 mL de una disolución 1N de HCl hasta completar un volumen de 5 mL. Las concentraciones de los distintos AGV se calcularon a partir de una recta patrón corregida con respecto al porcentaje de extracción (Anexo 8).

### **3.6.11. Análisis de la composición elemental (C, N, O y S)**

El análisis de la composición elemental (C, N, O y S) fue realizado a partir del secado de una cantidad de muestra a 60°C por 24 horas (ver apartado 3.6.1) y triturada en un molino de análisis (tritador IKA A11) para la cuantificación del contenido total de cada elemento en los equipos analizadores (Esteban-Gutierrez 2014). La cantidad de nitrógeno (N) y oxígeno (O) presente en el material fundido mediante un electrodo se cuantificó en un equipo analizador LECO TC-400. Por otra parte, la medición de carbono (C) y azufre (S) se determinó en un equipo analizador LECO CS-200.

Por consiguiente, a través de estas mediciones fue posible estimar la composición elemental de cada residuo evaluado y establecer la relación de C/N (carbono total y nitrógeno total).

## **3.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Los datos resultantes del seguimiento de las analíticas en los ensayos de potencial metanogénico y acidogénico han sido organizados y tratados en el programa Microsoft Excel 2013, en el cual se han realizado los cálculos y gráficas necesarias para el análisis descriptivo y estadístico de la presente investigación.

Para el análisis estadístico inferencial en las pruebas de potencial metanogénico (Test BMP) se empleó el diseño experimental completamente al azar (DCA) y se aplicó la prueba estadística de análisis de varianza (ANOVA) a un nivel de confianza del 95% y un nivel de significancia del 5% ( $\alpha=0,05$ ), utilizando el programa MINITAB 16, el cual es un software estadístico que ejecuta análisis a nivel básico y avanzado. La variable dependiente fue el potencial metanogénico (mLCH<sub>4</sub>/gSV) y el factor fue el tipo de residuo o sustrato evaluado, asimismo, las unidades experimentales fueron constituidas por los reactores anaerobios. Luego de aplicar el estadístico de contraste (ANOVA) y definir bajo la regla de decisión si existen diferencias estadísticas significativas entre los grupos, se aplicó la prueba de comparaciones múltiples o post hoc HSD (Honestly-significant-difference, de sus siglas en inglés) de Tukey, para verificar entre qué par de grupos existen estas diferencias (Anexo 9).

Modelo estadístico ANOVA:

$$Y_{ij} = u + T_i + E_{ij}$$

$Y_{ij}$  = Observación *j-ésima* del potencial metanogénico (mLCH<sub>4</sub>/gSV) en el grupo *i-ésimo* del factor (residuo o sustrato evaluado)

$u$  = Potencial metanogénico (mLCH<sub>4</sub>/gSV)

$T_i$  = Efecto del grupo *i-ésimo* (residuo o sustrato evaluado)

$E_{ij}$  = Error experimental obtenido del grupo *i-ésimo* (residuo o sustrato evaluado)

Análisis de varianza:

$H_0$ : las medias del potencial metanogénico (Test BMP) de cada grupo son iguales

$H_1$ : al menos una media de uno de los grupos es diferente

Por otra parte, para valorar el rendimiento de la fermentación en las pruebas de potencial acidogénico se aplicaron las siguientes fórmulas estadísticas descriptivas:

#### a. Distribución de los bioproductos (%)

Este rendimiento representa la cantidad de un bioproducto formado en la fermentación en términos relativos (%) y en base a materia orgánica (DQO equivalente). El cálculo se realizó mediante la siguiente fórmula:

(1)

$$Proporción (\%) = \frac{[Bioproducto] (mg DQOL^{-1}) \cdot 100}{[Bioproductos]_{TOTAL} (mg DQOL^{-1})}$$

## b. Grado de acidificación

Una forma de medir la relación entre los ácidos grasos formados (AGV) y la materia orgánica solubilizada es a través del grado de acidificación, el cual representa los bioproductos formados en la fracción soluble de la mezcla final del ensayo (DQOs), como se muestra en la fórmula:

(2)

$$GA (\%) = \frac{[Bioproducto]_{FINAL} (mg DQOL^{-1}) \cdot 100}{DQO_{s,TOTAL} (mg DQOL^{-1})}$$

## c. Rendimiento de conversión acidogénica

Con respecto al rendimiento de conversión acidogénica o AGV, se expresó como la producción total de AGV (equivalentes de DQO) por gramo de DQO alimentado al reactor. La estimación se ha realizado según la siguiente fórmula:

(3)

$$Rendimiento AGV (mg AGV g^{-1} DQO_{sustrato}) = \frac{DQO_{AGV}}{g DQO_t}$$

La  $DQO_{AGV}$  en las fórmulas (1), (2) y (3) fue calculada según la DQO equivalente de la mezcla final. Para ello se utilizaron los siguientes coeficientes estequiométricos: 1,07 gDQO  $g^{-1}$  acetato, 1,51 gDQO  $g^{-1}$  propionato, 1,81 gDQO  $g^{-1}$  butirato y 2,04 gDQO  $g^{-1}$  valerato (Eastman y Ferguson 1981).

## **IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **4.1. POTENCIAL METANOGÉNICO A PARTIR DE RESIDUOS GENERADOS EN EL ÁMBITO URBANO Y AGROINDUSTRIAL (TEST BMP)**

En esta investigación se utilizó la prueba de potencial metanogénico o más conocido como test de BMP (Biochemical Methane Potential, de sus siglas en inglés), con el propósito de determinar la capacidad de un residuo de naturaleza sólida o líquida para producir metano en condiciones óptimas de metanogénesis. En los siguientes apartados se explicarán a detalle los resultados del seguimiento analítico, la producción de biogás y metano obtenido en la investigación.

#### **4.1.1. Resultados del seguimiento analítico**

En este apartado se exponen los resultados correspondientes a las mediciones analíticas de residuos e inóculo, asimismo, los valores iniciales y finales obtenidos en los ensayos de potencial metanogénico.

##### **a. Inóculo(s)**

Se utilizaron dos muestras distintas de lodos digeridos de PTAR como inóculos (Inóculo 1 e Inóculo 2) debido a la estacionalidad y variabilidad en el muestreo, cuya caracterización se visualiza en la Tabla 8.

El inóculo 1 se empleó para cuatro ensayos en mono-sustratos: Lodos de PTAR (LP), fracción orgánica de residuos sólidos urbanos (FORSU), alcachofa (AL) y pulpa de manzana (PM). El inóculo 2 sólo para el ensayo de biomasa microalgal (BM).

**Tabla 8: Caracterización de lodos digeridos de la PTAR de San Sebastián utilizados como inóculo en las pruebas de potencial metanogénico.**

Parámetros	Unidades	Inóculo 1	Inóculo 2
ST	(%)	2,93	3,99
SV	(%)	1,85	2,12
SV/ST	(%)	63,06	53,14
pH	-	7,43	6,98
DQOt	mg O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup>	29.206,72	24.815,71
DQOs	mg O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup>	1.140,22	1.057,16
NAT	mg N L <sup>-1</sup>	n.d.	2072
AP	mg CaCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup>	n.d.	5650
AT	mg CaCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup>	n.d.	6850

n.d.: no determinado

#### **b. Residuos**

En la Tabla 9 se muestran los resultados de la caracterización analítica de los residuos utilizados en el presente estudio. Es notable la diferencia significativa en el contenido de ST debido a la naturaleza del residuo, es decir, el contenido de agua de cristalización y agua ocluida, así como restos de aceites y grasas presentes en el residuo (Rojas Martínez et al. 2014). Por otra parte, la relación de SV/ST para la FORSU, AL y PM es similar y cercano al 100%, lo cual es favorable para la conversión de estos sustratos en biogás. Además, que el valor del pH entre estos residuos se encontró en un rango ácido, entre 4 a 5.

**Tabla 9: Caracterización de los distintos residuos utilizados en las pruebas de potencial metanogénico.**

Parámetros	Unidades	LP	FORSU	AL	PM	BM
ST	(%)	3,53	19,51	13,57	25,79	6,56
SV	(%)	2,74	18,18	12,88	25,37	5,12
SV/ST	(%)	77,69	93,20	94,87	98,37	77,98
pH	-	6,36	5,07	4,5	4,5	7,24
DQOt	mg O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup>	33.659,61	n.d.	n.d.	n.d.	1.116,06 <sup>a</sup>
DQOs	mg O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup>	1.107,96	n.d.	n.d.	n.d.	8.614,55
NAT	mg N L <sup>-1</sup>	246	n.d.	n.d.	n.d.	370
AP	mg CaCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup>	400	n.d.	n.d.	n.d.	5200
AT	mg CaCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup>	900	n.d.	n.d.	n.d.	7340

n.d.: no determinado

<sup>a</sup>Dato expresado en mg O<sub>2</sub> g ST<sup>-1</sup>, por presentar fracciones orgánicas de naturaleza sólida.

### **c. Ensayos de potencial metanogénico**

En la Tabla 10, se detallan los resultados de las analíticas iniciales y finales monitoreados en los bioreactores. En términos generales, se destaca la remoción del contenido de la materia seca y orgánica expresados en ST y SV, respectivamente, situándose en la mayoría de los casos por debajo del 50% (Tabla 11). Este porcentaje es probablemente debido a la naturaleza del inóculo o lodo digerido, el cual está compuesto por materia orgánica de lenta degradación o no biodegradable que interfiere en el proceso de la metanogénesis.

Por otro lado, se aprecia un ligero aumento del NAT y la DQOs en todos los casos evaluados. El primero se puede interpretar como indicador de la solubilización e hidrólisis de sustancias de naturaleza proteica, mientras que el incremento del segundo puede estar en función de la presencia de materia orgánica solubilizada no utilizada en la conversión a CH<sub>4</sub>. En esa misma tendencia, se observa un ligero incremento del pH para todos los ensayos, en rangos de 0,48 y 0,67, del mismo modo la alcalinidad (AP y AT). Estos resultados son debido a la interferencia del NAT liberado en la metanogénesis para el equilibrio del pH, modificando su valor a un rango alcalino o básico muy cercano a pH 8.

**Tabla 10: Valores de las mediciones analíticas para los ensayos de potencial metanogénico de los residuos orgánicos al inicio (I) y al final del experimento (F).**

<b>Parámetros</b>	<b>Unidades</b>	<b>LP<sub>I</sub></b>	<b>LP<sub>F</sub></b>	<b>FORSU<sub>I</sub></b>	<b>FORSU<sub>F</sub></b>	<b>AL<sub>I</sub></b>	<b>AL<sub>F</sub></b>	<b>PM<sub>I</sub></b>	<b>PM<sub>F</sub></b>	<b>BM<sub>I</sub></b>	<b>BM<sub>F</sub></b>
<b>ST</b>	<b>(%)</b>	1,83	1,65	1,49	1,28	1,60	1,51	2,01	1,44	2,05	1,79
<b>SV</b>	<b>(%)</b>	1,24	0,80	1,16	0,56	1,14	0,68	1,56	0,69	1,25	0,81
<b>SV/ST</b>	<b>(%)</b>	67,42	48,42	77,72	43,83	71,23	44,83	77,42	47,70	60,98	45,05
<b>pH</b>	<b>-</b>	7,02	7,60	7,00	7,60	7,00	7,57	7,00	7,48	7,05	7,67
<b>DQOt</b>	<b>mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup></b>	16.924,65	11.747,28	10.814,92	8.205,66	12.520	10.046,19	71.165,64	9.356	15.933,29	12.242,61
<b>DQOs</b>	<b>mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup></b>	632,04	2.949,02	1.653,84	1.735,95	1.574	1.715,03	1.467,74	1.533,77	850,18	895,80
<b>NAT</b>	<b>mg N L<sup>-1</sup></b>	884,80	1596	963,20	1.327,2	968,80	1.002,4	800,80	862,40	796,30	1.316
<b>AP</b>	<b>mg CaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup></b>	3.950	4.950	3.450	4.250	3.900	4.450	3.250	4.100	3.250	4.750
<b>AT</b>	<b>mg CaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup></b>	5.550	5.750	4.500	5.000	4.750	5.350	4.800	4.950	4.900	6.350

#### **4.1.2. Producción de biogás y metano**

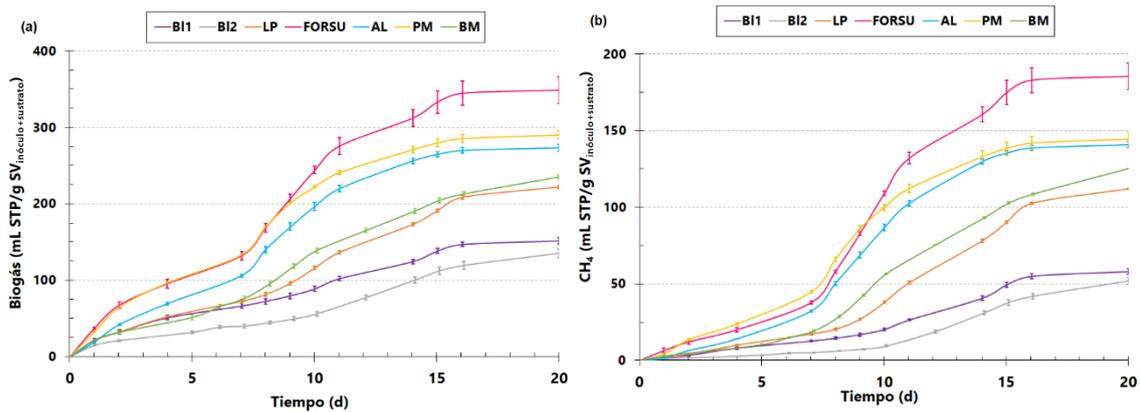
La cuantificación del volumen de biogás alcanzado en la pruebas de potencial metanogénico se estableció con un sensor de presión (IFM electronic, PN 20279). Asimismo, el cálculo de la producción de metano se realizó a partir de los valores de porcentaje obtenido en el cromatógrafo de gases y, según el protocolo de Angelidaki et al. (2009), los valores del potencial metanogénico deben de expresarse en condiciones estándares de temperatura y presión; es decir a 0°C y 1 atm (ver apartado 3.6.3).

Además, con la finalidad de realizar las comparaciones entre diferentes residuos, la producción específica se expresó en unidades de volumen por gramo de  $SV_{\text{sustrato}}$ , refiriéndose a la cantidad de SV añadida al inicio de los ensayos.

##### **a. Producción bruta de biogás y metano**

En la Figura 9 se grafican las curvas de producción bruta media de metano, de cada ensayo y del blanco control con su correspondiente desviación estándar. El blanco 1 y 2 difieren levemente en la producción de biogás y metano a pesar que el origen del inóculo es el mismo en ambos casos, probablemente debido a la presencia de trazas de materia orgánica de lenta biodegradabilidad. Asimismo, la escasez de materia orgánica biodegradable presente en el lodo digerido ralentiza la actividad metanogénica. Esto es debido a que la mayor parte de la materia orgánica fácilmente biodegradable ha sido consumida en los digestores de la PTAR.

Por otro lado, la materia orgánica fácilmente biodegradable presente en el residuo evaluado influye de manera significativa durante los primeros 5-10 días en la producción de biogás y metano, generando una pronunciada pendiente de la curva, a diferencia de los blancos control.



**Figura 9:** Producción bruta media de biogás (a) y metano (b) para los ensayos de monodigestión (LP, FORSU, AL, PM y BM) y los blancos control (B11 y B12).

### b. Producción neta de biogás y metano

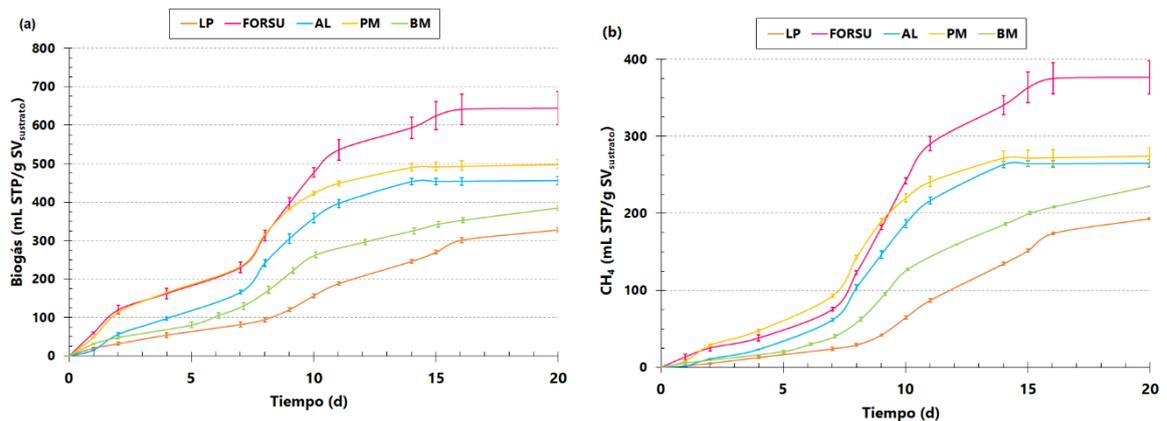
La producción neta de biogás y metano a partir de LP, FORSU, AL, PM y BM se visualiza en la Figura 10 y la Tabla 11. Los resultados expresados en  $\text{gSV}_{\text{sustrato}}$  demostraron que la FORSU es un buen sustrato para la producción de metano (Figura 10b), generando una producción máxima de  $376,79 \pm 21,38 \text{ mL STP/gSV}_{\text{sustrato}}$ . Este resultado está relacionado con la alta eliminación de SV (Tabla 11), hasta un 51,64%, en concordancia con los resultados obtenidos por Ponsá et al. (2011).

Los residuos de alcachofa (AL) y pulpa de manzana (PM) presentaron curvas de producción de metano ( $\text{mL STP/gSV}_{\text{sustrato}}$ ) muy similares con una inhibición parcial de la metanogénesis a partir del día 14, los cuales también fueron verificados estadísticamente ( $p < 0.05$ , ANOVA y prueba post-hoc de Tukey) (Anexo 9). Este comportamiento es debido a la presencia de fracciones de materia orgánica de degradación lenta, como los fragmentos de lignocelulosa, los cuales son resistentes a la acción enzimática microbiana, como fue sugerido por Zhang et al. (2017) en su trabajo de investigación.

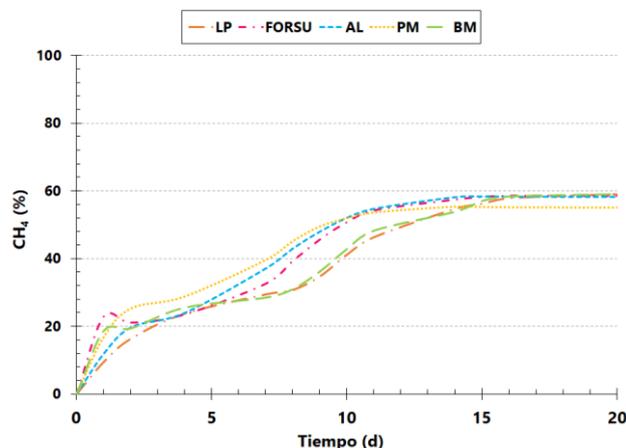
Por el contrario, los lodos de PTAR (LP) produjeron menos metano ( $193,15 \pm 1,47 \text{ mL STP/gSV}_{\text{sustrato}}$ ) en comparación con otros residuos, probablemente debido al incremento en el contenido de amonio al final de la prueba (80,38%), lo cual está relacionado con la disminución de la actividad metanogénica según lo reportado por Mata-Alvarez (2003). No obstante, el porcentaje más alto de metano obtenido en estas pruebas (Figura 11 y Tabla 11) fue alcanzado por la biomasa microalgal (BM), es decir hasta un 61,17%. Este

valor está en concordancia con los resultados presentados por Passos y Ferrer (2014), quienes obtuvieron un 62% de metano ( $\text{CH}_4$ ) durante la digestión anaerobia de microalgas. Si bien la BM mostró un significativo porcentaje de metano acumulado, el potencial metanogénico fue bajo ( $235,36 \pm 0,25 \text{ mL STP/ gSV}_{\text{sustrato}}$ ). Según Solé-Bundó et al. (2019), la digestión anaerobia (DA) de las microalgas están limitadas por la inhibición de nitrógeno asociado con un alto contenido de proteínas y una baja proporción de carbono a nitrógeno (C/N), por lo tanto, para una óptima DA se requiere un óptimo equilibrio de C/N, lo cual podría alcanzarse mediante la presencia de un co-sustrato rico en carbono.

Respecto a la cantidad de biogás (Figura 10a), se observa que las curvas de producción presentaron similitud con el metano acumulado, aunque con una pendiente más pronunciada en los primeros días del ensayo.



**Figura 10:** Producción media neta de biogás (a) y metano (b) de los test BMP de monodigestión de LP, FORSU, AL, PM y BM.



**Figura 11:** Evolución del porcentaje de metano en el biogás.

**Tabla 11: Resumen del rendimiento del potencial metanogénico de los distintos residuos evaluados.**

<b>Resultados</b>	<b>Unidades</b>	<b>LP</b>	<b>FORSU</b>	<b>AL</b>	<b>PM</b>	<b>BM</b>
<b>ST<sub>eliminado</sub></b>	<b>(%)</b>	9,87	14,25	5,42	28,37	12,56
<b>SV<sub>eliminado</sub></b>	<b>(%)</b>	35,27	51,64	40,47	55,86	35,31
<b>DQO<sub>eliminado</sub></b>	<b>(%)</b>	30,59	24,13	19,76	24,60	23,16
<b>Biogás</b>	<b>mL STP</b>	573,51±10,12	1.128,05±76,31	798,04±18,98	870,92±23,35	673,38±9,58
<b>CH<sub>4</sub></b>	<b>mL STP</b>	338,01± 2,57	659,39±37,41	463,98±8,56	480,10±18,76	411,88±0,45
<b>CH<sub>4</sub></b>	<b>(%)</b>	<b>58,94</b>	<b>58,45</b>	<b>58,14</b>	<b>55,13</b>	<b>61,17</b>
<b>Biogás/SV<sub>sustrato</sub></b>	<b>mL STP/g</b>	327,72 ±5,78	644,60 ±43,61	456,02±10,84	497,67±13,35	384,79±5,47
<b>CH<sub>4</sub>/SV<sub>sustrato</sub></b>	<b>mL STP/g</b>	193,15 ±1,47	376,79±21,38	265,13 ±4,89	274,34±10,72	235,36±0,25
<b>CH<sub>4</sub>/DQO<sub>sustrato</sub></b>	<b>mL STP/g</b>	157,37±1,20	295,70±16,78	220,89±4,07	236,6±9,24	164,45±0,18
<b>CH<sub>4</sub>/SV<sub>eliminado</sub></b>	<b>mL STP/g</b>	317,65	359,25	348,02	258,71	354,79
<b>Tiempo</b>	<b>(días)</b>	20	20	20	20	20

## 4.2. POTENCIAL ACIDOGÉNICO A PARTIR DE RESIDUOS GENERADOS EN EL ÁMBITO URBANO Y AGROINDUSTRIAL: PRODUCCIÓN DE ÁCIDOS GRASOS VOLÁTILES (AGV) A ESCALA DE LABORATORIO

La producción de AGV se evaluó a través de dos escenarios de operación a escala de laboratorio: mono-fermentación de LP, FORSU, AL, PM y BM y co-fermentación de LP+FORSU, LP+AL, LP+PM y LP+BM. En los siguientes apartados se explicarán a detalle los resultados del seguimiento analítico, las pruebas de mono-fermentación y co-fermentación y la evaluación del rendimiento del proceso de fermentación.

### 4.2.1. Resultados del seguimiento analítico

#### a. Inóculo(s)

En la Tabla 12, se muestran las diferentes características de los lodos digeridos de la PTAR utilizados como inóculo en la producción de AGV. Se observó que los resultados de las analíticas fueron muy similares. Así, el inóculo 1 se empleó para la pruebas de mono-fermentación de los residuos de LP, FORSU, AL, PM y BM y la co-fermentación de LP+PM y LP+BM, el inóculo 2 para la co-fermentación de LP+FORSU y el inóculo 3 para LP+AL.

En general, las condiciones iniciales del pH en todos los inóculos utilizados se encontraron en valores muy cercanos a la neutralidad (pH 7) y una buena capacidad tampón, asimismo, presentaron poca materia orgánica solubilizada (DQOs) que aporte a la fermentación.

**Tabla 12: Caracterización de lodos digeridos de la PTAR de San Sebastián utilizados como inóculo en las pruebas de potencial acidogénico.**

Parámetros	Unidades	Inóculo 1	Inóculo 2	Inóculo 3
ST	(%)	3,99	2,98	3,19
SV	(%)	2,12	1,76	2,08
SV/ST	(%)	53%	59%	65%
pH	-	7,40	7,36	7,45
DQOt	mg O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup>	24.815,71	24.107,42	26.911,35
DQOs	mg O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup>	1.057,16	805,32	1.067,50
NAT	mg N L <sup>-1</sup>	1.965,6	n.d.	n.d.
AT	mg CaCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup>	7.100	n.d.	n.d.

n.d.: no determinado

## **b. Residuos**

Los residuos utilizados en las pruebas de potencial acidogénico presentan el mismo origen que las pruebas de potencial metanogénico, por lo que los resultados de la caracterización (Tabla 13) son similares a lo mostrado en la Tabla 9. No obstante, se realizaron analíticas adicionales (ej.: NTK, C<sub>T</sub>, O<sub>T</sub>, N<sub>T</sub> y S<sub>T</sub>) para conocer el tipo de naturaleza orgánica presente en los residuos (glucídica, proteica y lipídica).

De acuerdo a la Tabla 13, se observa que los residuos de la FORSU y PM presentan un alto contenido de materia orgánica, expresado en SV. Además, en términos de contenido de nitrógeno asociado a las proteínas (NTK), destaca la cantidad presente en los LP con 2.968 mg N L<sup>-1</sup>, por encima de los otros residuos. Este comportamiento es a causa de la alta carga de nutrientes (amoníaco y amonio) presente en el agua residual doméstica (Horttanainen et al. 2017). En el caso del residuo vegetal (AL y PM), el valor del NTK es menor debido a la naturaleza glucídica presente en los restos de lignina, pectina, hemicelulosa y celulosa (Campbell y Reece 2007). La BM presentó una alta cantidad proteica (80,48 mg N g ST<sup>-1</sup>) debido a las especies de microalgas presentes en el residuo (Hayes et al. 2017).

Respecto al cálculo de la relación de C/N de los residuos utilizados en las pruebas de potencial acidogénico, se destaca el valor alto de C/N presente en los residuos de PM (36,75%) seguido de la FORSU (22,81%) y AL (18,55%), sustratos potenciales para la digestión y fermentación anaerobia (Fang et al. 2019). Si bien no se disponen de datos del análisis elemental para LP, según la literatura (Cheng et al. 2016, Zhang et al. 2014, Fang et al. 2019) el ratio del C/N se tendría en valores más bajos de los deseados (6-9%).

**Tabla 13: Caracterización de los distintos residuos utilizados en las pruebas de potencial acidogénico.**

Parámetros	Unidades	LP	FORSU	AL	PM	BM
ST	(%)	4,14	25,13	11,12	26,70	6,56
SV	(%)	3,11	24,43	10,44	25,64	5,12
SV/ST	(%)	75,14%	94,43%	93,86%	95,96%	77,98%
pH	-	6,62	4,79	4,51	4,17	7,24
DQOt	mg O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup>	42.680,08	1.216,77 <sup>a</sup>	1.138,77 <sup>a</sup>	1.141,29 <sup>a</sup>	1.116,06 <sup>a</sup>
DQOs	mg O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup>	2.790,58	n.d.	n.d.	n.d.	8.614,55 <sup>a</sup>
NTK	mg N g ST <sup>-1</sup>	2.968 <sup>b</sup>	56,56	48,16	13,27	80,48
NAT	mg N L <sup>-1</sup>	347,20	n.d.	n.d.	n.d.	369,60
AT	mg CaCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup>	1.540,00	n.d.	n.d.	n.d.	7.340,00
C <sub>T</sub>	(%)	n.d.	46,30	42,3	46,30	44,10
O <sub>T</sub>	(%)	n.d.	53	53,34	54,45	52,22
N <sub>T</sub>	(%)	n.d.	2,03	2,28	1,26	6,22
S <sub>T</sub>	(%)	n.d.	0,22	0,35	0,25	0,84
Ratio C/N	(%)	n.d.	22,81	18,55	36,75	7,09

<sup>a</sup> Dato expresado en mg O<sub>2</sub> g ST<sup>-1</sup>, por presentar fracciones orgánicas de naturaleza sólida.

<sup>b</sup> Dato expresado en mg N L<sup>-1</sup>, por presentar fracciones orgánicas de naturaleza líquida.

### c. Ensayos de potencial acidogénico

En las Tablas 14 y 15 se muestran los resultados de las mediciones analíticas (inicio y final) en las mezclas empleadas para las pruebas de mono-fermentación y co-fermentación, respectivamente.

Respecto a las **pruebas de mono-fermentación** (Tabla 14), la remoción de la materia seca (ST) alcanzó un rango del 6,19% – 29,79 % y la materia orgánica (SV) 3,13%-56,78%, lo cual significa que parte de la materia orgánica biodegradable se ha utilizado en la fermentación acidogénica. Del mismo modo, la cantidad de materia orgánica solubilizada (DQOs) aumentó en un rango de 1,31 a 3,13 veces al final del ensayo al igual que el contenido de amonio (NAT) de 25% al 68,54%. Ambos comportamientos son frecuentes en escenarios de fermentaciones acidogénicas (Garcia-Aguirre et al. 2019), lo cual evidencia la disponibilidad de materia orgánica de fácil conversión acidogénica.

Finalmente, **en las pruebas de co-fermentación** (Tabla 15) se observa una leve remoción de la materia seca (ST) en torno a valores de 5,35-10,68%, no obstante, la reducción de la materia orgánica (SV) estuvo en un rango moderado del 19,42-37,50% producto de la naturaleza orgánica de las mezclas de residuos. Ciertamente, en condiciones básicas (pH 9), se liberó mayor alcalinidad (AT) para los residuos de PM y BM que lo registrado en las pruebas de mono-fermentación (pH 5,5). Esta tendencia es resultado del amonio liberado en el sistema, lo cual genera mayor capacidad tampón al sistema (Dahiya y Mohan 2019).

**Tabla 14: Valores de las mediciones analíticas para los ensayos de potencial acidogénico (mono-fermentación) de los residuos orgánicos al inicio (I) y al final del experimento (F).**

Parámetros	Unidades	LP <sub>I</sub>	LP <sub>F</sub>	FORSU <sub>I</sub>	FORSU <sub>F</sub>	AL <sub>I</sub>	AL <sub>F</sub>	PM <sub>I</sub>	PM <sub>F</sub>	BM <sub>I</sub>	BM <sub>F</sub>
ST	(%)	4,17	3,91	15,17	13,08	7,93	5,57	11,46	8,80	5,28	4,00
SV	(%)	2,64	2,55	13,57	11,62	6,62	4,39	9,94	7,13	3,62	2,73
SV/ST	(%)	63,24	65,31	89,45	88,89	83,46	78,9	86,70	81,03	68,59	68,22
pH	-	5,89	5,73	5,26	5,50	5,67	5,53	5,64	5,50	5,75	5,70
DQOt	mg O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup>	32.511	42.405,96	n.d	1.240,56 <sup>a</sup>	n.d	925,45 <sup>a</sup>	n.d	1065,57 <sup>a</sup>	49.031,29	60.590,16
DQOs	mg O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup>	3.197,66	10.011,24	23.718,89	56.764,04	9.786,24	22.179,78	18.421,71	24.159,41	5.464,13	16.382,02
NAT	mg N L <sup>-1</sup>	1.523	2.240	997	1.680	1.288	1.848	1.120	1.400	2.318	2.940
AT	mg CaCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup>	900	2.600	900	3.350	2.200	4.900	120	2.800	4.800	3.340

n.d.: no determinado

<sup>a</sup> Dato expresado en mg O<sub>2</sub> g ST<sup>-1</sup>, por presentar fracciones orgánicas de naturaleza sólida.

**Tabla 15: Valores de las mediciones analíticas para los ensayos de potencial acidogénico (co-fermentación) de los residuos orgánicos al inicio (I) y al final del experimento (F).**

<b>Parámetros</b>	<b>Unidades</b>	<b>LP+FOR<sub>SU</sub><sub>I</sub></b>	<b>LP+FOR<sub>SU</sub><sub>F</sub></b>	<b>LP+AL<sub>I</sub></b>	<b>LP+AL<sub>F</sub></b>	<b>LP+PM<sub>I</sub></b>	<b>LP+PM<sub>F</sub></b>	<b>LP+BM<sub>I</sub></b>	<b>LP+BM<sub>F</sub></b>
<b>ST</b>	<b>(%)</b>	5,55	5,25	4,49	4,06	6,27	5,60	4,39	3,98
<b>SV</b>	<b>(%)</b>	4,38	2,76	3,04	2,45	4,71	2,95	2,83	1,87
<b>SV/ST</b>	<b>(%)</b>	78,95	52,55	67,88	60,38	75,17	52,61	64,52	46,97
<b>pH</b>	<b>-</b>	9,00	9,02	9,04	8,92	9,15	8,93	9,00	9,14
<b>DQOt</b>	<b>mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup></b>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	33.937,37	40.592,79	35.814,2	62.593,14
<b>DQOs</b>	<b>mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup></b>	6.726,73	26.209,14	5.165,79	18.815,14	5.611,69	21.538,01	6.325,04	17.224,72
<b>NAT</b>	<b>mg N L<sup>-1</sup></b>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	772,8	1.635,2	1.344	1.876
<b>AT</b>	<b>mg CaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup></b>	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	5.333	13.000	9.900	13.990

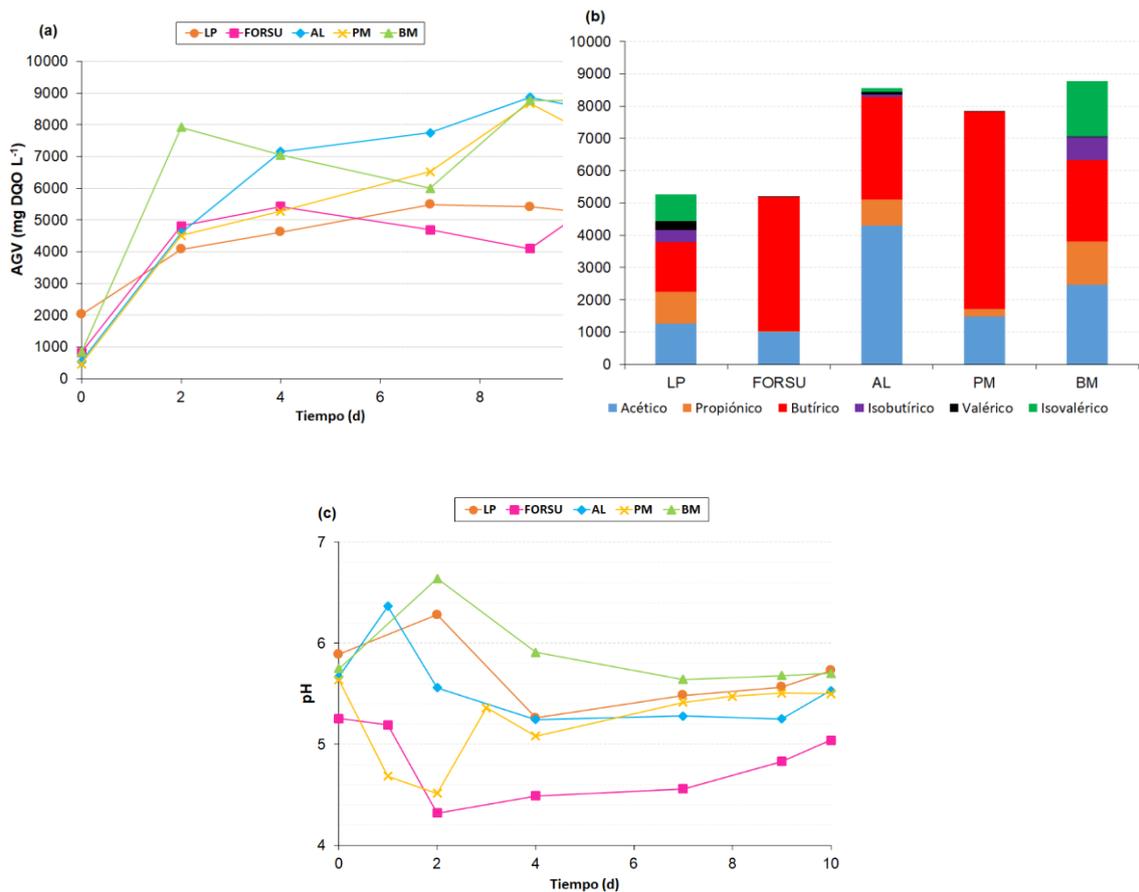
n.d.: no determinado

## 4.2.2. Pruebas de mono-fermentación

### a. Producción de AGV

En la Figura 12a se observa que los residuos agroindustriales de AL, PM y BM presentan los valores más altos de producción de AGV, llegando a 8.559, 7.853 y 8.769 mg DQO L<sup>-1</sup>, respectivamente. Sin embargo, el perfil de producción de AGV en la BM fue diferente, presentando una fase rápida de conversión acidogénica durante los primeros dos días, la cual representó el 90,34% de la producción final de AGV. Además, se observó una disminución considerable de la producción de AGV durante el período subsiguiente, desde el día 2 hasta el día 7. La acumulación excesiva de amonio (2.940 mg N L<sup>-1</sup>) habría afectado la etapa acidogénica (Magdalena et al. 2019) y podría haber limitado la producción de AGV. Este comportamiento también está relacionado con la repentina caída del pH de 6,64 a 5,64 durante estos días. De acuerdo con lo investigado por Jankowska et al. (2017), la fermentación en valores cercanos a la neutralidad (pH 7) funciona mejor para la biomasa microalgal, en comparación con las condiciones ácidas y alcalinas.

En el caso de los residuos de AL y PM los resultados indican una tendencia a aumentar la producción de AGV hasta el final de la prueba. Para la FORSU y LP se ilustra una cinética de producción de AGV mucho menor. Dicho de otra manera, la FORSU alcanzó una producción de apenas 5.206 mg DQO L<sup>-1</sup> y un incremento del 68,54% en el contenido de amonio (NAT). La producción final de AGV fue similar a los valores reportados por Garcia-Aguirre et al. (2017), hasta 4.981 mg DQO L<sup>-1</sup>. Por otro lado, los LP obtuvieron una producción final de AGV de hasta 5.263 mg DQO L<sup>-1</sup>, con una concentración máxima de AGV alcanzada el día 7. Estos resultados están en relación con los presentados por Moretto et al. (2019), quienes señalan que las condiciones óptimas para la producción de AGV a partir de FORSU y LP se dan a temperaturas mesofílicas y pH alcalino.



**Figura 12:** (a) Evolución del perfil de producción de AGV, (b) composición de AGV y (c) evolución del pH para las pruebas de mono-fermentación de residuos.

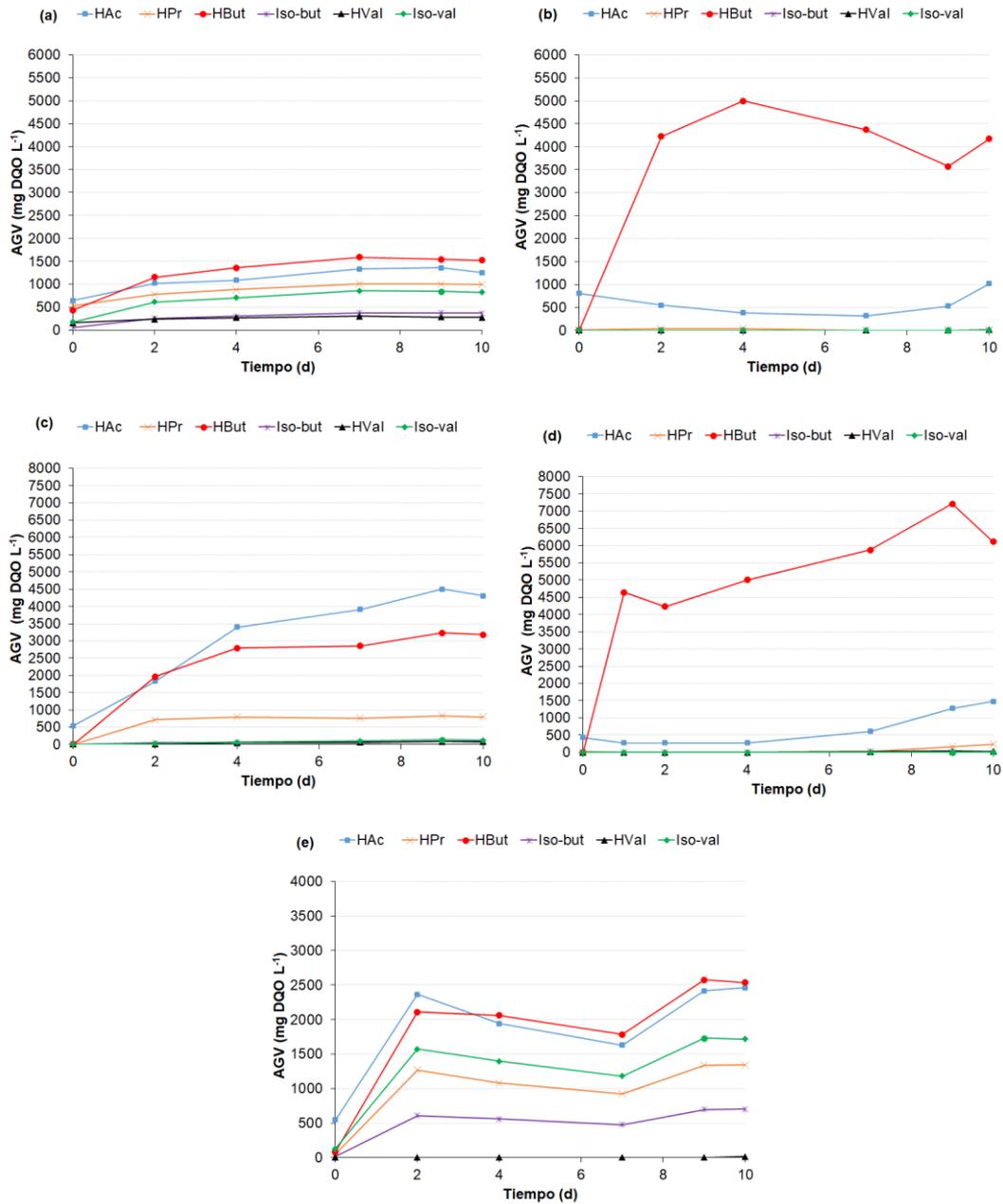
## b. Distribución de los bioproductos de AGV

De acuerdo a la literatura, la distribución de los bioproductos de AGV formados en los ensayos de mono-fermentación, dependen de diversos factores que afectan el proceso de fermentación acidogénica, tales como: tipo de microbiota presente en el inóculo, concentración y las características del sustrato, pH, potencial redox, entre otros (Riondet et al. 2000, Zhou et al. 2018, Feng et al. 2018). De acuerdo con la Figura 12b y Figura 13, se deduce que la distribución de los bioproductos fue principalmente afectada por el tipo de sustrato, co-sustrato y pH hasta el último día (día 10).

Es importante destacar que en condiciones de pH ácido y temperaturas termofílicas, los principales bioproductos sintetizados son el ácido butírico y el ácido acético. Además, se observa una baja proporción de ácido valérico, en concordancia con los resultados de Jiang et al. (2013), quienes explicaron que la temperatura termofílica también juega un papel importante en la distribución de los bioproductos. Una notable producción de ácido

butírico fue alcanzada en la FORSU y PM, contabilizado en 4.172 y 6.114 mg DQO L<sup>-1</sup>, respectivamente.

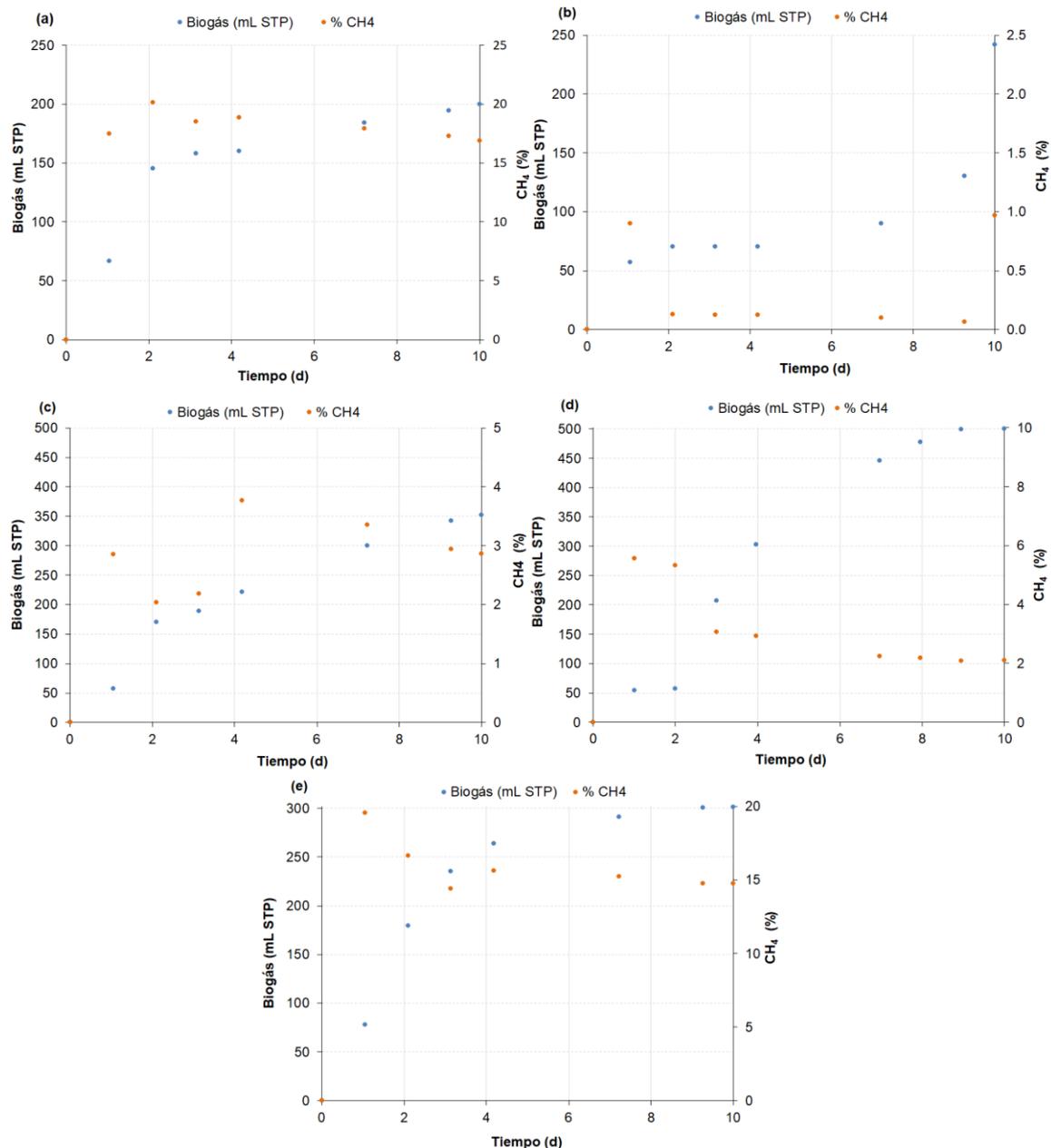
Por otro lado, los residuos de AL muestran una producción considerable de ácido acético, hasta el 50,26%, probablemente debido a la conversión del propionato, butirato, alcoholes y CO<sub>2</sub> hacia acetato adicional a través de la vía acetogénica reductora de protones u homoacetogénica (Zhou et al. 2018). En cuanto al resultado en general, estos valores se reproducen en otros estudios realizados por Feng et al. (2018), Dosta et al. (2018), Esteban-Gutiérrez et al. (2018) y Garcia-Aguirre et al. (2019), quienes concluyeron que la fermentación acidogénica de residuos ricos en carbohidratos está dominada por la vía metabólica del ácido butírico a pH ácido y temperatura termofílica.



**Figura 13:** Producción de AGV en condiciones ácidas (pH 5,5) y temperatura termofílica durante pruebas de mono-fermentación anaerobia: (a) LP, (b) FORSU, (c) AL, (d) PM y (e) BM.

### c. Evaluación de la inhibición del biogás y metano

Respecto al monitoreo del contenido de biogás (mL STP) y de metano (%) en los ensayos de mono-fermentación (Figura 14), se confirma que la actividad metanogénica fue reducida, evidenciando una alta actividad de microorganismos acidogénicos y la acumulación de biogás fluctúa entre los 199,74-500,95 mL STP y un contenido final de CH<sub>4</sub> en un rango de 1,0% - 16,90%. Este comportamiento puede estar relacionado por la variación del pH durante la fermentación, con una tendencia a disminuir cuando el valor es menor a 6,0.



**Figura 14:** Producción de biogás (mL STP) y contenido de metano (%) a partir de la mono-fermentación de: (a) LP, (b) FORSU, (c) AL, (d) PM y (e) BM a pH 5,5.

### 4.2.3. Pruebas de co-fermentación

#### a. Producción de AGV

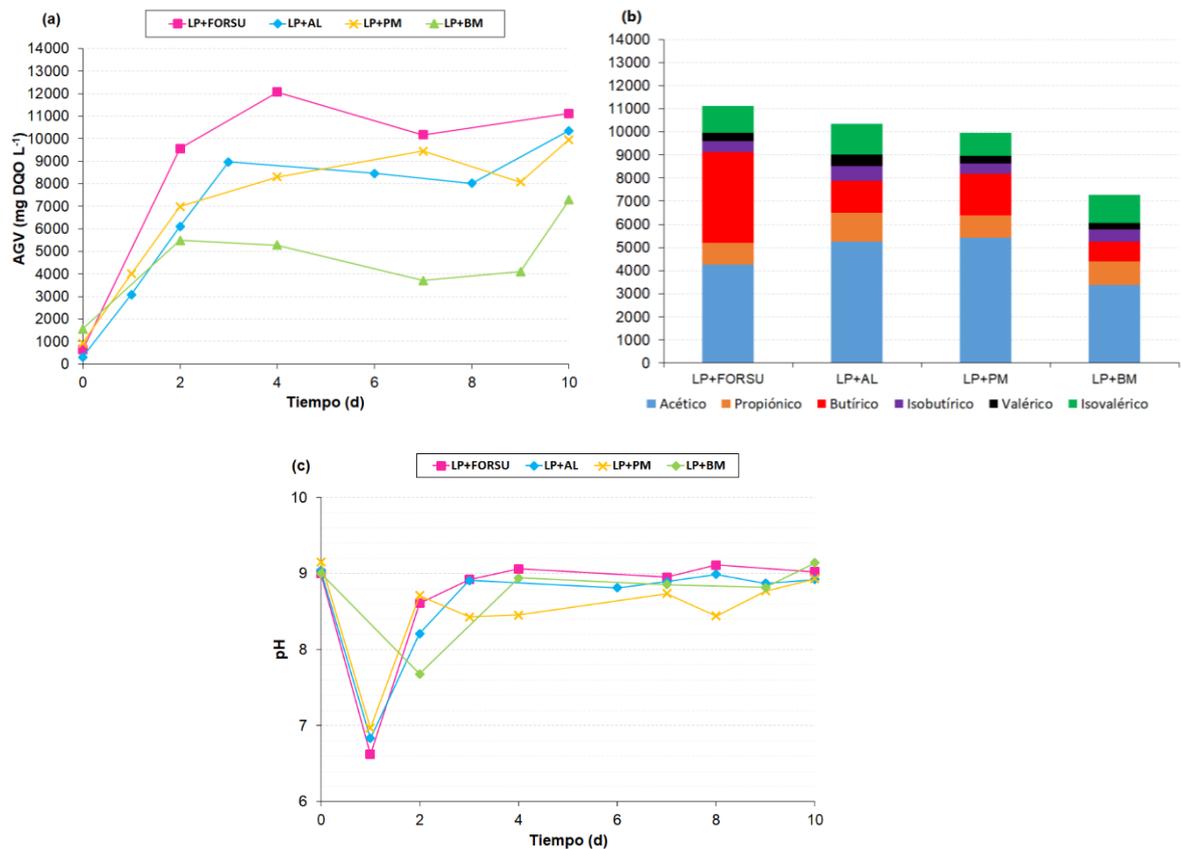
En la Figura 15 se observa que durante las pruebas de co-fermentación, la producción de AGV es mayor que las pruebas de mono-fermentación, a excepción de los residuos de la BM.

La producción de AGV más alta registrada al final de las co-fermentaciones estudiadas (Figura 15a), son la mezcla de LP + FORSU, alcanzando los 11,12 g DQO L<sup>-1</sup>; lo cual significa un aumento de la producción 2,14 veces más en comparación con la prueba de mono-fermentación de la FORSU. No obstante, el valor máximo de AGV en la mezcla de LP+FORSU se registró el día 4 (por encima de los 12 g DQO L<sup>-1</sup>), y disminuyó moderadamente los siguientes 3 días. Aparentemente, la contribución de un co-sustrato líquido en condiciones alcalinas generó una rápida hidrólisis y solubilización de la FORSU durante los primeros días, lo que contribuyó a una mayor concentración final de AGV en comparación con un solo sustrato. Una conclusión similar fue dada por Li et al. (2018), quienes reportaron que la co-digestión de LP con FORSU podría mejorar el contenido de hidrógeno y la producción de AGV. Coincidiendo con los resultados anteriores, la co-fermentación de residuos de LP+AL y LP+PM también mejoró la concentración final de AGV con valores de 10,36 y 10 g DQO L<sup>-1</sup>, respectivamente. Aparentemente, el ambiente alcalino mejoró la hidrólisis y la solubilización de carbohidratos y proteínas, con una mayor liberación de materia orgánica solubilizada fácilmente fermentable (Dahiya et al. 2015).

En contraste con los resultados expuestos anteriormente, la co-fermentación de LP+BM fue afectada por la presencia de un co-sustrato y las condiciones alcalinas del medio. En este ensayo, se obtuvo un alto incremento del NAT (40%), y una reducción del 17% de la concentración final de AGV en comparación con los resultados del apartado 4.2.2. Probablemente la alta liberación de amonio influyó en la inhibición parcial de la acidogénesis desde el día 2 hasta el 9. Estos resultados también podrían estar relacionados con el alto contenido de proteínas presentes en la mezcla de LP+BM, lo cual liberó altas cantidades de nitrógeno amoniacal (NH<sub>3</sub>), inhibiendo el metabolismo fisiológico de los microorganismos acidógenicos (Sun et al. 2018). Por el contrario, en condiciones ácidas,

el amoníaco permanece en la forma ionizada ( $\text{NH}_4^+$ ), que es menos tóxico, ya que el valor  $\text{pK}_a$  para el amoníaco a  $37^\circ\text{C}$  es 9,25 (Elbeshbishy et al. 2017).

Para todas las pruebas de co-fermentación de residuos se observa que la evolución del pH (Figura 15c) presenta una tendencia a disminuir los primeros dos días de iniciar el ensayo producto de la hidrólisis de la materia orgánica y a estabilizarse posteriormente en un rango alcalino debido a la alta capacidad tampón presente en el sistema.

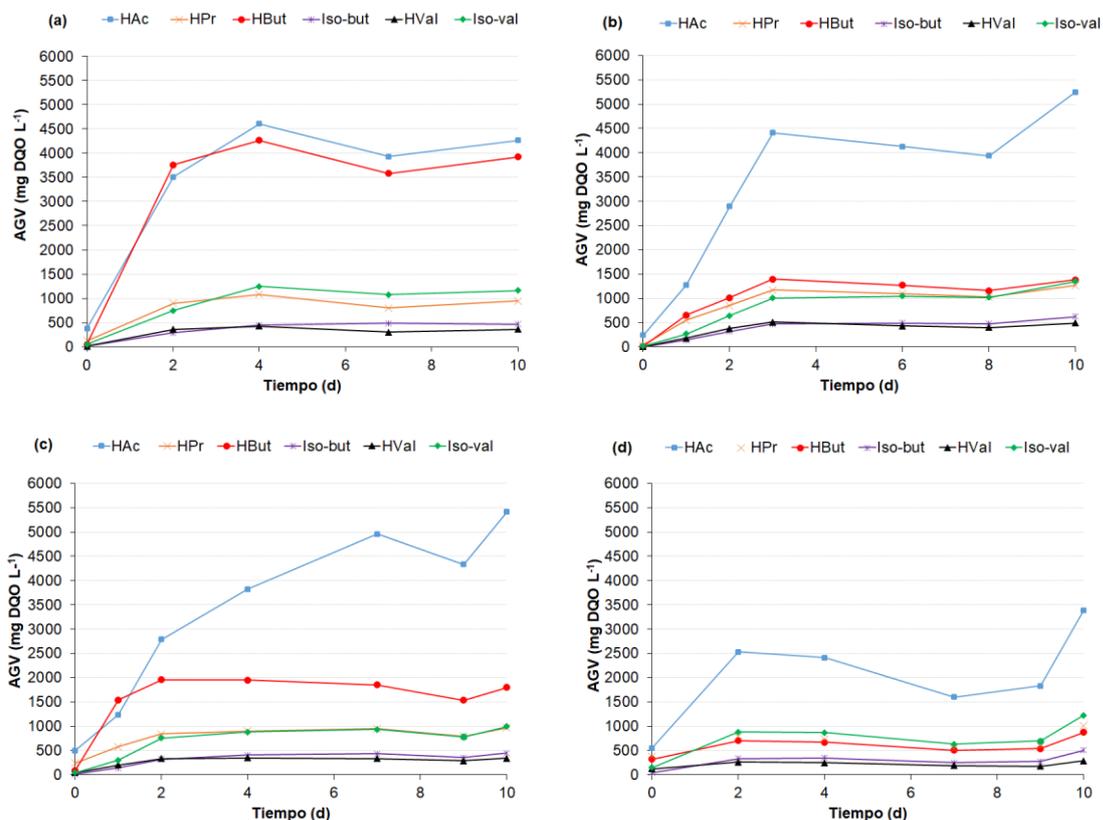


**Figura 15:** (a) Evolución del perfil de producción de AGV, (b) composición de AGV y (c) evolución del pH para las pruebas de co-fermentación de residuos.

### b. Distribución de los bioproductos

En condiciones de co-fermentación con LP en un ambiente alcalino (pH 9), se visualiza un cambio de bioproducto de ácido butírico hacia la producción de ácido acético (Figura 16). De acuerdo con las observaciones realizadas por Luo et al. (2019), Garcia-Aguirre et al. (2017) y Dahiya et al. (2015), concluyeron que las condiciones alcalinas podrían reducir la vía metabólica del butirato.

En esta investigación, el espectro de AGV para ensayos de co-fermentación a partir de LP + FORSU, LP + AL, LP + PM y LP + BM, estuvo dominado por la acumulación de ácido acético en 38,36%, 50,66%, 54,39% y 46,52%, respectivamente. Es decir, estableciendo condiciones de pH óptimas se podría dirigir la fermentación hacia un producto específico (Garcia-Aguirre et al. 2019). Del mismo modo, la temperatura juega un papel importante en la distribución de los bioproductos. Por ejemplo, Jiang et al. (2013), encontraron que las rutas metabólicas del acetato y propionato prevalecían a temperaturas de 35° C y 45° C, representando el 70% del total de AGV, mientras que el butirato fue el producto principal a 55 °C, equivalente al 81% de todos los productos, seguido de acetato y propionato.



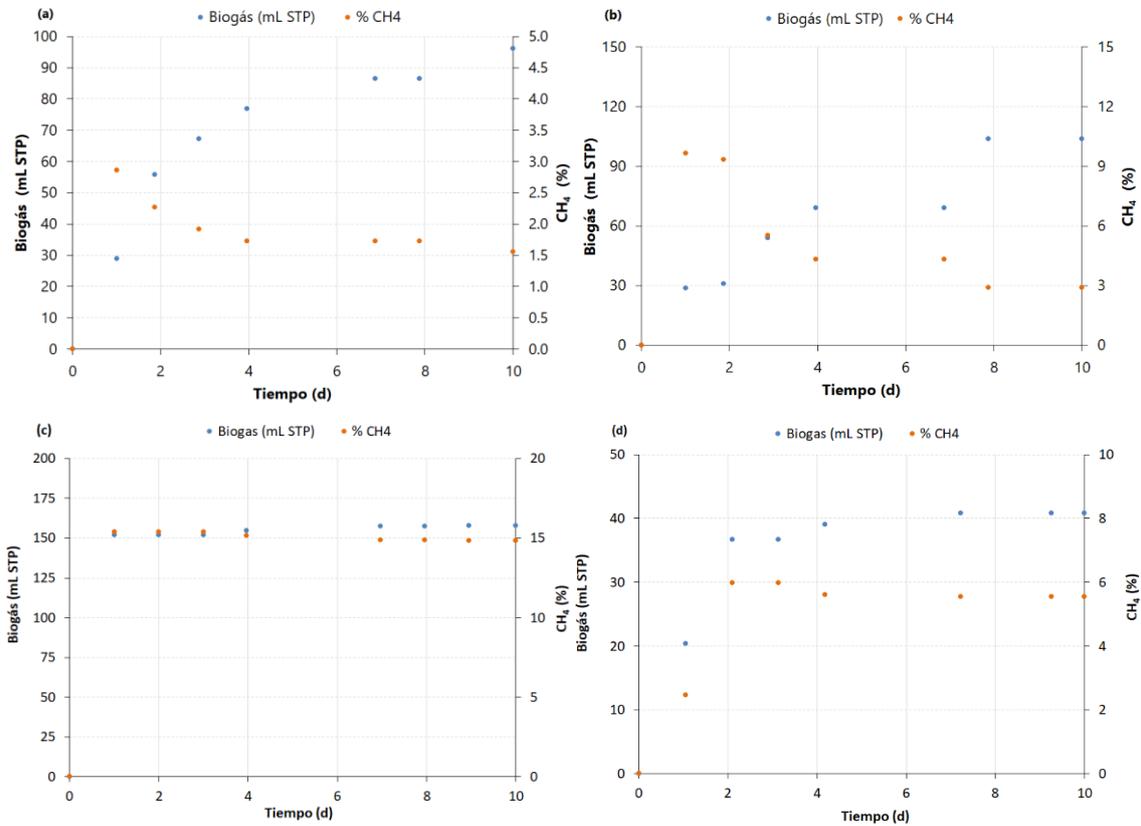
**Figura 16:** Producción de AGV en condiciones alcalinas (pH 9) y temperatura termofílica durante pruebas de co-fermentación anaerobia: (a) LP+FORSU, (b) LP+AL, (c) LP+PM y (d) LP+BM.

### c. Evaluación de la inhibición del biogás y metano

En la Figura 17 se ilustra la producción de biogás y contenido de metano generado durante la co-fermentación de LP+FORSU, LP+AL, LP+PM y LP+BM.

De acuerdo a los resultados mostrados, el contenido de biogás se mantuvo en torno a valores muy bajos en todos los ensayos de co-fermentación, oscilando entre 40,88–157,90 mL STP, asimismo, la actividad metanogénica fue parcialmente inhibida (1,56%-14,83% de CH<sub>4</sub>). Si bien las condiciones alcalinas redujeron la actividad metanogénica, la proliferación de metanógenos metilotróficos y oxidantes de hidrógeno en ambientes fuertemente alcalinos pueden ser favorecidos (Ali Shah et al. 2017).

Diferentes autores coinciden en que las condiciones alcalinas limitan la conversión de los AGV en metano (Zhang et al. 2009, Lee et al. 2014), por lo que estos resultados son significativos en la evaluación del rendimiento de producción de AGV de manera sencilla y rápida para una plataforma mayor a la del laboratorio.



**Figura 17:** Producción de biogás (mL STP) y contenido de metano (%) a partir de la co-fermentación de: (a) LP+FORSU, (b) LP+AL, (c) LP+PM y (d) LP+BM a pH 9.

#### **4.2.4. Evaluación del rendimiento del proceso de fermentación**

##### **a. Grado de acidificación (%)**

Los factores de operación, como el pH alcalino (9) y la temperatura termofílica (55°C), generaron un aumento de la DQOs en todos los residuos estudiados. En general, cuando se inhibe la actividad metanogénica, la DQOs formada puede convertirse en ácidos carboxílicos (correspondiente al grado de acidificación), alcoholes y una fase gaseosa que consiste en H<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>, (Garcia-Aguirre et al. 2017). Según los resultados mostrados en la Tabla 16, durante las pruebas de mono-fermentación, el grado de acidificación (%) de los residuos de naturaleza sólida fue menor que los residuos de naturaleza líquida.

En esta investigación, se alcanzó un alto grado de acidificación en las pruebas de mono-fermentación de BM, alcanzando un 54%, seguido de LP con 53%, así como un grado moderado de acidificación durante la mono-fermentación de AL y PM, en torno a valores de 33%-39% de DQOs. Según Perimenis et al. (2018), una ligera disminución de este rendimiento en los residuos de AL y PM podrían deberse al mayor contenido de fracción lignocelulósica, las cuales son más recalcitrantes a la conversión acidogénica de la materia orgánica solubilizada. Por el contrario, durante la mono-fermentación de FORSU, las condiciones ácidas y la temperatura termofílica resultaron perjudiciales para la proliferación de microorganismos acidogénicos, alcanzando un grado de acidificación bajo representado solo con un 9%.

De acuerdo con la Figura 12c, los microorganismos acidogénicos no pueden sobrevivir en un pH bajo (4,32-5,26) por lo tanto producen una sustancia neutra como mecanismo de defensa (es decir, etanol, producto de un cambio metabólico hacia la fermentación alcohólica) para prevenir la reducción del pH (Zheng et al. 2015). Por el contrario, los valores del pH obtenido en esta investigación no concordaron con lo reportado por Garcia-Aguirre et al. (2017), quienes encontraron que la fermentación de la FORSU alcanzó hasta un 75% de DQOs en condiciones de prueba similares. En efecto, su investigación también planteó la hipótesis de que la menor proporción de sustrato e inóculo (S/I) influyó en el grado de acidificación.

La co-fermentación en condiciones alcalinas presentó un mayor grado de acidificación que la mono-fermentación a pH ácido. Es notable el grado de acidificación de la co-fermentación de LP+FORSU, la cual alcanzó el 42%, es decir, se incrementó en 4,63

veces más que la mono-fermentación de FORSU. Este rendimiento de la fermentación está de acuerdo con la investigación de Moretto et al. (2019), quienes determinaron que el pH neutro y el pH alcalino, podrían ser condiciones de trabajo elegibles para alcanzar altas concentraciones de AGV o rendimientos de acidificación en una mezcla de LP+FORSU, especialmente relacionada con la DQOs. La co-fermentación de LP+AL presentó los resultados más favorables respecto del grado de acidificación, alcanzando un 55% de DQOs. Le siguen la co-fermentación de LP+PM, con un 46% de DQOs; y la BM con un 42% de DQOs.

#### **b. Rendimiento de conversión acidogénica (mg AGV g<sup>-1</sup> DQO<sub>sustrato</sub>)**

En general, el pH alcalino y la presencia de un co-sustrato mejoraron el rendimiento de conversión acidogénica o AGV (Tabla 16). Estos resultados se encuentran en concordancia con varios estudios que demostraron que en condiciones de pH alcalino, como pH 9 o 10, el rendimiento de AGV fue más de 3-4 veces mayor que a pH 5 o 7 no controlado (Liu et al. 2012). Según Garcia-Aguirre et al. (2017) el ambiente alcalino resulta beneficioso para la solubilización de grasas y la degradación de proteínas y carbohidratos solubles, así como, evita el crecimiento de metanógenos hidrogenotróficos y acetoclásticos, lo que enriquece las condiciones de tolerancia a los álcalis.

Durante la mono-fermentación de la FORSU, se aprecia una baja conversión de DQO a AGV, que apenas alcanzó los 39 mg AGV g<sup>-1</sup> DQO<sub>sustrato</sub>. Esto podría deberse a una alta proporción de DQO en el sustrato en comparación con la DQO presente en el inóculo, como se mencionó en los anteriores apartados. En cuanto a lo mencionado, los autores Lim et al. (2008), Arslan et al. (2016) y Jiang et al. (2013) concluyeron que un bajo rendimiento de AGV está en relación con una sobrecarga de sustrato orgánico alimentado, lo cual conduce a la acumulación de residuos sólidos no utilizados en el reactor. No obstante, para los sustratos: LP, AL, PM y BM, el rendimiento fue alto, en un rango que oscila de 129 a 262 mg AGV g<sup>-1</sup> DQO<sub>sustrato</sub>.

Por otro lado, se aprecia un aumento del rendimiento de conversión acidogénica para todas las mezclas de LP con sustratos. En otras palabras, la co-fermentación de LP y FORSU mejoró el rendimiento de AGV, alcanzado los 269 mg AGV g<sup>-1</sup> DQO<sub>sustrato</sub>. De manera similar, en la fermentación de residuos de LP+AL, LP+PM y LP+BM, el rendimiento de AGV fue alto y alcanzó los 360, 353 y 311 mg AGV g<sup>-1</sup> DQO<sub>sustrato</sub>,

respectivamente. De acuerdo con lo estudiado por Zhou et al. (2018), el escenario de co-fermentación constituye un complemento adecuado de nutrientes y equilibra la relación C/N. Además, los posibles compuestos tóxicos en un sustrato podrían diluirse agregando otro sustrato (Zhu et al. 2008, Zhou et al. 2018).

**Tabla 16: Resumen de los principales resultados de la fermentación durante el potencial acidogénico.**

Potencial acidogénico	Sustrato	pH	AGV (mg DQO L <sup>-1</sup> )	Distribución de bioproductos de AGV (% DQO)	GA (%)	Rendimiento de conversión acidogénica (mgAGV g <sup>-1</sup> DQO <sub>sustrato</sub> )
<b>Mono-fermentación</b>	LP	5,5	5.263	24:19: 29 (HAc, HPr, HBut)	52,57	261,82
	FORSU	5,5	5.206	20: 80: 0 (HAc, HBut, HVal)	9,17	39,04
	AL	5,5	8.559	50: 9: 37 (HAc, HPr, HBut)	38,59	138,44
	PM	5,5	7.853	19: 3: 78 (HAc, HPr, HBut)	32,51	129,25
	BM	5,5	8.769	28: 29: 20 (HAc, HBut, Iso-val)	53,53	239,45
<b>Co-fermentación</b>	LP + FORSU	9	11.124	38: 35: 10 (HAc, HBut, Iso-val)	42,44	269,26
	LP + AL	9	10.354	51: 13: 13 (HAc, HBut, Iso-val)	55,03	359,64
	LP + PM	9	9.955	54: 18: 10 (HAc, HBut, Iso-val)	46,22	352,58
	LP + BM	9	7.281	47: 14: 17 (HAc, HPr, Iso-val)	42,27	311,05

### 4.3. POTENCIAL ACIDOGÉNICO A PARTIR RESIDUOS DE PULPA DE MANZANA (PM): PRODUCCIÓN DE ÁCIDO GRASOS VOLÁTILES (AGV) A ESCALA PILOTO

Según los resultados obtenidos en el apartado anterior (ver apartado 4.2) y la disponibilidad del residuo, se consideró que un buen sustrato para evaluar la producción de AGV a escala piloto fue la pulpa de manzana (PM). Como se mencionó anteriormente, se realizaron pruebas preliminares de potencial acidogénico (Anexo 4), a escala laboratorio (mono y co-fermentación) para este residuo, seleccionándose como condición experimental más idónea a escalar la co-fermentación de LP+PM (1:1), en un ratio I/S (v/v) de 1:1 y a pH alcalino. En los siguientes apartados se explicarán a detalle los resultados del seguimiento analítico, la producción de AGV y la evaluación del rendimiento del proceso de fermentación obtenido en la investigación.

#### 4.3.1. Resultados del seguimiento analítico

##### a. Caracterización de los residuos e inóculo

En la Tabla 17 se detalla la caracterización del inóculo y residuos utilizados en las pruebas de producción de AGV a escala piloto. De acuerdo a lo observado, los resultados son similares a lo obtenido en la Tabla 12 y 13.

**Tabla 17: Caracterización del inóculo y residuo utilizado en las pruebas de producción de AGV a escala piloto.**

Parámetros	Unidades	Inóculo	LP	PM
ST	(%)	3,55	4,00	28,04
SV	(%)	1,91	2,90	27,37
SV/ST	(%)	54%	72%	98%
pH	-	7,40	6,97	3,84
DQOt	mg O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup>	2.121,59	39.365,64	1.162,69 <sup>a</sup>
DQOs	mg O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup>	1.285,64	6.280,18	n.d.
NTK	mg N L <sup>-1</sup>	3.892	2.968	13,27 <sup>b</sup>
NAT	mg N L <sup>-1</sup>	2.072	487,2	n.d.
AP	mg N L <sup>-1</sup>	5.650	700	n.d.
AT	mg CaCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup>	6.850	2.100	n.d.

n.d.: no determinado

<sup>a</sup> Dato expresado en mg O<sub>2</sub> g ST<sup>-1</sup>, por presentar fracciones orgánicas de naturaleza sólida.

<sup>b</sup> Dato expresado en mg N g ST<sup>-1</sup>, por presentar fracciones orgánicas de naturaleza sólida

## b. Ensayo de potencial acidogénico

En la Tabla 18 se detallan los resultados de las mediciones analíticas para las mezclas utilizadas en los ensayos de potencial acidogénico de la PM a escala piloto. Ciertamente, los resultados al inicio y final del ensayo están en concordancia con los resultados obtenidos en la Tabla 13. Así, la remoción de la materia seca expresada en ST alcanzó el 25,16 %, mientras que la reducción de los SV alcanzó el 30,63 %, por el contrario, la materia orgánica solubilizada presente en el sistema (DQOs) aumentó en más del 100 %, así como el contenido de amonio en el sistema (NAT) en un 20 %.

**Tabla 18: Valores de las mediciones analíticas para los ensayos de potencial acidogénico a escala piloto al inicio (I) y final del experimento (F).**

Parámetros	Unidades	LP+PM <sub>I</sub>	LP+PM <sub>F</sub>
ST	(%)	9,24	6,92
SV	(%)	5,37	3,72
SV/ST	(%)	58,08%	53,83%
pH	-	≈ 9,0	8,68
DQOt	mg O <sub>2</sub> g SV <sup>-1</sup>	1.091,79	777,57
DQOs	mg O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup>	14.005,29	36.018,66
NTK	mg N g SV <sup>-1</sup>	n.d.	22,4
NAT	mg N L <sup>-1</sup>	1.400	1.680
AP	mg CaCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup>	2.780	5.550
AT	mg CaCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup>	4.420	10.400

n.d.: no determinado

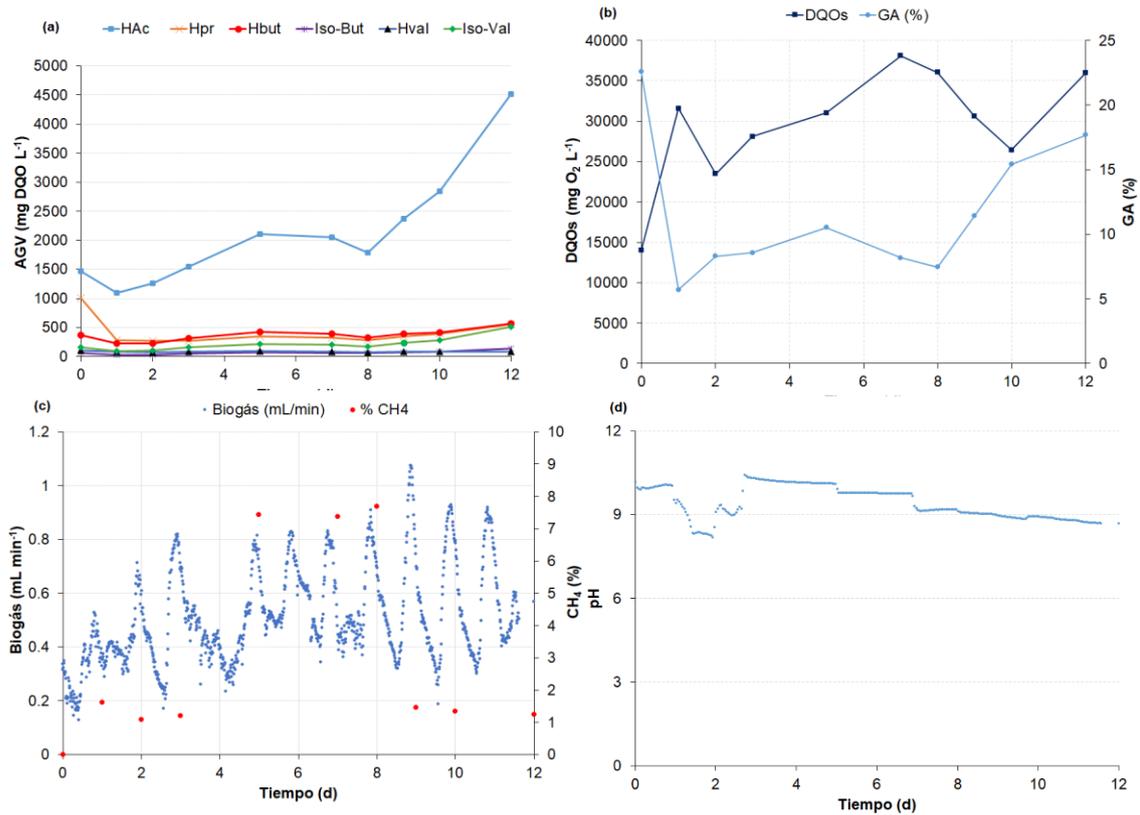
### 4.3.2. Producción de AGV, distribución de los bioproductos y evaluación del rendimiento del proceso de fermentación

Los resultados obtenidos en la plataforma piloto demuestran la dificultad de reproducir los rendimientos alcanzados a escala de laboratorio. La compleja heterogeneidad de la mezcla de los residuos a nivel piloto y la consecuente inestabilidad del pH durante los primeros días del ensayo (Figura 18d) afectaron la producción de AGV (Figura 18a) y el rendimiento del proceso de fermentación (Figura 18b y Tabla 19). Así, la producción total de AGV (Tabla 19) alcanzó los **6,4 g DQO L<sup>-1</sup>**, aproximadamente un 50% menos que lo reportado a escala laboratorio. Asimismo, el grado de acidificación (GA) al final del ensayo representó un 18% de DQOs (Figura 18b) y el rendimiento de conversión acidogénica alcanzó los 94,77 mg AGV g<sup>-1</sup> DQO<sub>sustrato</sub>.

En la Figura 18b se observa que el incremento inusual de la materia orgánica soluble (DQOs) al final del proceso de la fermentación acidogénica está relacionado al efecto abiótico de la dosificación manual de HCl 4N y NaOH 4N para estabilizar el pH a 9 (Figura 18d). Si bien el choque alcalino (Figura 18d) favorece la solubilización y la hidrólisis de la materia orgánica, ajustar el pH constantemente sería perjudicial para microorganismos acidógenos y la actividad de las enzimas clave involucradas durante la fermentación acidógena (Huang et al. 2018, Garcia-Aguirre et al. 2019).

No obstante, la distribución de los bioproductos (HAc, HPr, HBut) fue reproducible a lo obtenido a escala de laboratorio. Es decir, se obtuvo un alto contenido de ácido acético (Figura 18a y Tabla 19) de hasta 70%, seguido en menor proporción de ácido propiónico (10%) y ácido butírico (10%).

A pesar de que la producción de AGV, el grado de acidificación y el rendimiento de conversión acidogénica a escala piloto fueron bajos en comparación a lo reportado en las pruebas de laboratorio (Tabla 19), los resultados de la investigación revelaron un significativo potencial acidogénico de los residuos de PM para una plataforma de biorefinería, a través de los principales bioproductos generados (ácido acético, propiónico y butírico), los cuales tienen una mayor aplicabilidad industrial y valor económico que el metano y el compost. De modo que, investigaciones realizadas por Tamis et al. (2014), Morgan-Sagastume et al. (2015) y Liu et al. (2018), han concluido que es posible acortar la brecha entre los resultados de pruebas de laboratorio y la aplicación industrial (Garcia-Aguirre et al. 2019).



**Figura 18:** (a) Perfil de distribución de AGV, (b) evolución del GA (%) y DQOs, (c) biogás y contenido de metano (%) y (d) evolución del pH durante la co-fermentación de LP+PM a escala piloto.

Finalmente, se registraron valores muy bajos de biogás en el fermentador, menor a 2 mL min<sup>-1</sup> (Figura 18c) y consecuentemente las concentraciones de metano acumulado diariamente también fueron bajas (1,08%-7,70%). Estos valores demuestran la inhibición del crecimiento de bacterias metanogénicas debido al ajuste del pH en torno a 9. Por tanto, se evidenció que bajo las condiciones de ensayo definidas en la investigación, la fermentación hacia ácido acético y otros bioproductos fue la principal ruta metabólica en la degradación de la materia orgánica durante la co-fermentación de LP+PM.

**Tabla 19: Resumen de los principales resultados de la fermentación durante el potencial acidogénico a escala laboratorio y piloto.**

Potencial acidogénico	Escala	Sustrato	pH	AGV (g DQO L <sup>-1</sup> )	Distribución de bioproductos de AGV (% DQO)	GA (%)	Rendimiento de conversión acidogénica (mg AGV g <sup>-1</sup> DQO <sub>sustrato</sub> )
Co-fermentación	Laboratorio (prueba preliminar)	LP + PM (1:1)	9	15,50	58: 8: 24 (HAc, HPr, HBut)	55,10	255,68
	Piloto	LP + PM (1:1)	9	6,40	70: 10: 10 (HAc, HPr, HBut)	18	94,77

#### **4.4. POTENCIAL ECONÓMICO DE LA PRODUCCIÓN DE AGV A PARTIR DE RESIDUOS GENERADOS EN EL ÁMBITO URBANO Y AGROINDUSTRIAL: ENFOQUE HACIA UNA ECONOMÍA CIRCULAR**

En este apartado se realiza una breve valoración del potencial económico de la fermentación anaerobia como tecnología de producción de AGV a partir de residuos de origen urbano y agroindustrial, y se tratan aspectos relacionados con la viabilidad de esta alternativa en un enfoque hacia la Economía Circular. Esta discusión se ha basado en el trabajo realizado por Perimenis et al. (2018), quien recoge una metodología para calcular el valor económico anual de los residuos, considerando lo siguiente:

- La producción anual de ácidos grasos volátiles totales (AGVt), obtenido de la multiplicación de la cantidad de residuos generados anualmente con el contenido de DQO del residuo (Tabla 13) y el rendimiento de conversión acidogénica o de AGV respectivo (Tabla 16).
- Valor económico anual de los residuos basados en la producción de AGVt previamente calculada, la distribución de los AGV (%) (Figura 12b y Tabla 16) y precios comerciales de AGV (\$) de Zacharof y Lovitt (2013) (Tabla 2).

##### **4.4.1. Cantidad de residuos de origen urbano**

Según lo reportado por el MINAM (2018), durante el año 2016 a nivel nacional se generaron 7.005.576 ton/año de residuos sólidos municipales urbanos, de los cuales el 53,16% representa la fracción orgánica (MINAM 2016). Por lo tanto, en un escenario ideal, la cantidad de residuos de naturaleza orgánica potencialmente aprovechables es de aproximadamente 3.724.164 ton/año.

##### **4.4.2. Cantidad de residuos de origen agroindustrial**

Respecto a la generación de residuos de origen agroindustrial, MINAGRI (2017) reportó en su Boletín Estadístico de la Producción Agrícola y Ganadera 2017 - III Trimestre que la producción de alcachofa y manzana alcanzaron las 74.200 ton/año y 26.000 ton/año, respectivamente. En relación a ello, Osuna-Aguirre et al. (2019) reportaron que durante el cultivo de la alcachofa (*Cynara scolymus* L.) sólo es utilizado en el proceso industrial el 30-35 %, generando un alto porcentaje de residuos o lo que equivale a 51.940 ton/año de residuos de alcachofa potencialmente aprovechables. En esa misma línea, Urbina et al. (2016) determinó que alrededor del 65% del total de materia contenida en la manzana

(*Malus domestica*) es utilizado para actividades industriales (ej.: producción de mosto), por lo que da lugar a una gran cantidad de residuos aprovechables de hasta 9.100 ton/año.

#### **4.4.3. Valor económico de los residuos de origen urbano y agroindustrial**

En la Tabla 20, se presenta el valor económico anual de la conversión acidogénica de residuos de origen urbano y agroindustrial de importancia local y regional, representado por la FORSU, residuos de AL y PM.

En general, el potencial económico obtenido a partir de residuos urbanos y agroindustriales en una plataforma de biorefinería se encuentra alrededor de los \$/ 333.400 - \$/ 40.907.974. Estos valores obtenidos abren un nuevo panorama para apostar por la gestión circular de los residuos de distinta naturaleza orgánica a través de la transformación de éstos en bioproductos o recursos de alto valor económico, en concordancia con la filosofía de McDonough y Braungart (2003), Pauli (2011) y Ellen MacArthur Foundation (2013), quienes definen los primeros pasos que se deben dar para lograr la transición de la Economía Lineal a la Economía Circular.

Aunque los resultados indican un buen potencial económico para invertir en un mercado de producción de AGV a partir de residuos urbanos y agroindustriales, estos resultados sólo consideran el valor final del producto más no la inversión requerida para aprovecharlo en su forma utilizable, así como, tampoco se considera el margen de aumento de precios para los bioproductos. Sin embargo, en una plataforma de biorrefinería, el valor agregado de los residuos podría aumentar aún más si la DQO no convertida del sustrato después de la conversión acidogénica se digiere aún más para la producción de metano (Perimenis et al. 2018).

**Tabla 20: Valor económico anual de los residuos de origen urbano y agroindustrial.**

<b>Residuo</b>	<b>Cantidad de residuo (t/a)</b>	<b>DQO residuo (gCOD/g)</b>	<b>Rendimiento de conversión acidogénica (g AGV g<sup>-1</sup> DQO<sub>sustrato</sub>)</b>	<b>Producción de AGV (Kg DQO<sub>AGV</sub> /a)</b>	<b>Precio por Kg (\$/Kg DQO<sub>AGV</sub>)</b>	<b>Valor Económico (\$/a)</b>	<b>Referencias</b>
FORSU	3.724.164	0,30	0,04	45.296.711	0,90	40.907.974	MINAM (2018)
AL	51.940	0,13	0,14	921.806	0,89	821.113	(Osuna-Aguirre et al. 2019, MINAGRI 2017)
PM	9.100	0,30	0,13	360.082	0,93	333.384	(Urbina et al. 2016, MINAGRI 2017)

## V. CONCLUSIONES

1. El impacto de la concentración del sustrato al inicio del ensayo afectó el potencial de producción de AGV y el rendimiento del proceso de fermentación. La alta proporción de DQO en el sustrato inhibió parcialmente la etapa acidogénica en la mono-fermentación de la FORSU (5.206 mg DQO L<sup>-1</sup> de AGV) en comparación con los otros residuos evaluados (5.263 mg DQO L<sup>-1</sup> - 8.769 mg DQO L<sup>-1</sup> de AGV). En esta misma tendencia, la producción de AGV en LP fue afectada por el pH ácido y la temperatura termofílica de operación (55°C). Por otra parte, el grado de acidificación (%) de los residuos de naturaleza líquida (BM y LP) fue mayor durante las pruebas de mono-fermentación (>50% DQOs). Cabe resaltar, que en condiciones de pH ácido y temperatura termofílica, el principal bioproducto sintetizado es el ácido butírico y en menor proporción el ácido acético y el ácido propiónico.
2. La presencia de un co-sustrato líquido (LP) en condiciones alcalinas mejoró el potencial de producción de AGV y el rendimiento de conversión acidogénica en un escenario de co-fermentación. Los ensayos preliminares a las pruebas de co-fermentación (Anexo 4) demostraron que el ambiente alcalino mejoró la hidrólisis y la solubilización de carbohidratos y proteínas de los LP, de esta forma la co-fermentación de residuos de LP+FORSU (1:1), LP+AL (1:1) y LP+PM (1:1) alcanzaron una producción por encima de los 10 g DQO L<sup>-1</sup> de AGV. Además, se obtuvo como bioproducto principal ácido acético, seguido del ácido butírico e iso-valérico, en la mayoría de los ensayos de co-fermentación a pH alcalino.
3. La producción de AGV en los escenarios de mono-fermentación y co-fermentación a escala de laboratorio pueden ser dirigidos hacia la síntesis de bioproductos deseables a partir del control de parámetros de proceso (Ej.: pH y temperatura de operación). Además, se demostró que el co-tratamiento con residuos complementarios (residuo urbano y agroindustrial) son escenarios viables para el futuro de la valorización de los lodos de PTAR o biosólidos.

4. La producción de AGV y el rendimiento del proceso de co-fermentación de LP + PM (1:1) a escala de planta piloto fue afectado por el impacto del pH en el sistema; sin embargo la distribución de los bioproductos obtenidos fue reproducible a lo obtenido a escala de laboratorio. Vale decir que a escala piloto se obtuvo un alto contenido de ácido acético (70%), ácido propiónico (10%) y ácido butírico (10%), los cuales tienen mayor aplicabilidad industrial y potencial económico que el metano en un escenario de biorefinería dentro del marco de la Economía Circular.

## VI. RECOMENDACIONES

1. Establecer una proporción adecuada de sustrato/inóculo (S/I) en relación al DQOt alimentado ( $\text{mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ ) para mejorar el potencial de producción de AGV. Estudios refieren que una sobrecarga de sustrato orgánico inhibe la acidogénesis, por lo que es importante tener en cuenta la naturaleza orgánica del residuo.
2. Evaluar diferentes escenarios de co-fermentación que permitan aumentar el rendimiento del proceso de fermentación a partir de la mezcla de sustratos de diferente naturaleza orgánica, es decir, con diferente composición de carbohidratos y proteínas, como LP y FORSU. Los efectos sinérgicos también deben estudiarse a profundidad para analizar y aislar los microorganismos involucrados en el sistema, los cuales ayudarían a comprender la bioquímica de las rutas metabólicas.
3. Estudiar la aplicación de consorcios bacterianos (bioaumentación) como estrategia para mejorar el rendimiento en la fermentación acidogénica, lo cual constituye posibilidades prometedoras para futuras investigaciones en la producción de bioproductos específicos de alto valor agregado.
4. Finalmente, para competir en un modelo de Economía Circular es necesario un paso final en la purificación de los bioproductos de aplicación industrial y de importancia económica (por ejemplo: ácido acético, ácido butírico y ácido propiónico), a partir de la recuperación y separación de compuestos orgánicos (por ejemplo: técnicas de microfiltración, ultrafiltración, nanofiltración). Por lo tanto, es importante obtener bioproductos altamente concentrados para competir directamente con productos hechos a partir de petróleo.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ali Shah, F; Mahmood, Q; Shah, MM; Pervez, A; Asad, SA. 2017. Retracted: Microbial Ecology of Anaerobic Digesters: The Key Ali Shah, F; Mahmood, Q; Shah, MM; Pervez, A; Asad, SA. 2017. Retracted: Microbial Ecology of Anaerobic Digesters: The Key Players of Anaerobiosis. *TheScientificWorldJournal* 2017:3852369. DOI: <https://doi.org/10.1155/2017/3852369>.

Angelidaki, I; Alves, M; Bolzonella, D; Borzacconi, L; Campos, JL; Guwy, AJ; Kalyuzhnyi, S; Jenicek, P; Van Lier, JB. 2009. Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: A proposed protocol for batch assays. *Water Science and Technology* 59(5):927-934. DOI: <https://doi.org/10.2166/wst.2009.040>.

APHA. 2005. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 21st ed. Washington, American Public Health Association.

Arslan, D; Steinbusch, KJJ; Diels, L; Hamelers, HVM; Strik, DPBTB; Buisman, CJN; De Wever, H. 2016. Selective short-chain carboxylates production: A review of control mechanisms to direct mixed culture fermentations (en línea). *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 46(6):592-634. DOI: <https://doi.org/10.1080/10643389.2016.1145959>.

Atasoy, M; Owusu-Agyeman, I; Plaza, E; Cetecioglu, Z. 2018. Bio-based volatile fatty acid production and recovery from waste streams: Current status and future challenges (en línea). *Bioresource Technology* 268(May):773-786. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.07.042>.

Aydin, S; Yesil, H; Tugtas, AE. 2018. Recovery of mixed volatile fatty acids from anaerobically fermented organic wastes by vapor permeation membrane contactors(en línea). *Bioresource Technology* 250(September 2017):548-555. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.11.061>.

- Baskar, C; Baskar, S; Dhillon, RS. 2012. Biomass Conversion: The Interface of Biotechnology, Chemistry and Materials Science. s.l., s.e., vol.9783642284. 341-379 p. DOI: [https://doi.org/10.1007/978-3-642-28418-2\\_11](https://doi.org/10.1007/978-3-642-28418-2_11).
- Bengtsson, S; Hallquist, J; Werker, A; Welander, T. 2008. Acidogenic fermentation of industrial wastewaters: Effects of chemostat retention time and pH on volatile fatty acids production. *Biochemical Engineering Journal* 40(3):492-499. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bej.2008.02.004>.
- Bermúdez-Penabad, N; Kennes, C; Veiga, MC. 2017. Anaerobic digestion of tuna waste for the production of volatile fatty acids. *Waste Management* 68:96-102. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.06.010>.
- Bolaji, IO; Dionisi, D. 2017. Acidogenic fermentation of vegetable and salad waste for chemicals production: Effect of pH buffer and retention time. *Journal of Environmental Chemical Engineering* 5(6):5933-5943. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jece.2017.11.001>.
- Bouzas, A; Gabaldón, C; Marzal, P; Peña-Roja, JM; Seco, A. 2002. Fermentation of municipal primary sludge: Effect of srt and solids concentration on volatile fatty acid production. *Environmental Technology (United Kingdom)* 23(8):863-875. DOI: <https://doi.org/10.1080/09593332308618359>.
- Campbell, NA; Reece, JB. 2007. *Biología*. Madrid, Editorial Médica Panamericana. p. 68-91.
- Ceit-IK4. 2018. Water & Health Division (en línea). s.l., s.e. Disponible en <https://www.ceit.es/en/about-ceit/our-location>.
- Cheng, J; Ding, L; Lin, R; Yue, L; Liu, J; Zhou, J; Cen, K. 2016. Fermentative biohydrogen and biomethane co-production from mixture of food waste and sewage sludge: Effects of physiochemical properties and mix ratios on fermentation performance (en línea). *Applied Energy* 184:1-8. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2016.10.003>.
- Dahiya, S; Mohan, SV. 2019. Selective control of volatile fatty acids production from food waste by regulating biosystem buffering: A comprehensive study (en línea). *Chemical Engineering Journal* 357:787-801. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.08.138>.

Dahiya, S; Sarkar, O; Swamy, Y V.; Venkata Mohan, S. 2015. Acidogenic fermentation of food waste for volatile fatty acid production with co-generation of biohydrogen (en línea). *Bioresource Technology* 182:103-113.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.01.007>.

Dosta, J; Martin-Ryals, A; Garrigó, M; Ortiz-Roca, V; Fernández, I; Torres-Castillo, R; Mata-Álvarez, J. 2018. Acidogenic Fermentation and Anaerobic Co-digestion of Mechanically Sorted OFMSW and Polyethylene Glycol (en línea). *Waste and Biomass Valorization* 9(12):2319-2326. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12649-018-0294-x>.

Eastman, J a; Ferguson, JF. 1981. Solubilization organic phase of of carbon anaerobic particulate during the digestion acid. *Journal Water Pollution Control Federation* 53(3):352-366.

Elbeshbishy, E; Dhar, BR; Nakhla, G; Lee, HS. 2017. A critical review on inhibition of dark biohydrogen fermentation (en línea). *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 79(October 2015):656-668. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.05.075>.

Ellen MacArthur Foundation. 2013. Towards the Circular Economy (en línea). *Ellen MacArthur Foundation* 1:1-96. DOI: <https://doi.org/10.1162/108819806775545321>.

Esteban-Gutierrez, M. 2014. Co-digestión anaerobia de lodo de EDAR con residuos orgánicos de diferente naturaleza: combinación de técnicas experimentales y herramientas matemáticas. (en línea). :1-260. Disponible en <http://dspace.si.unav.es/dspace/handle/10171/35814>.

Esteban-Gutiérrez, M. 2018. PROAZETIK - Producción de acético a partir de RSU (Residuos Sólidos Urbanos): avanzando hacia una Economía Circular. Donostia-San Sebastian, Ceit-IK4. 56 p.

Esteban-Gutiérrez, M; Garcia-Aguirre, J; Irizar, I; Aymerich, E. 2018. From sewage sludge and agri-food waste to VFA: Individual acid production potential and up-scaling. *Waste Management* 77:203-212. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.05.027>.

Eurostat. 2016. Municipal waste by waste management operations (en línea). . Disponible en <http://appsso.eurostat.ec.europa.eu/nui/setupDownloads.do>.

Fang, W; Zhang, P; Zhang, T; Requeson, DC; Poser, M. 2019. Upgrading volatile fatty acids production through anaerobic co-fermentation of mushroom residue and sewage sludge: Performance evaluation and kinetic analysis (en línea). *Journal of Environmental Management* 241(August 2018):612-618.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.02.052>.

FAO. 2013. *FAO Statistical Yearbook 2013* (en línea). s.l., s.e., vol.1. 289 p. Disponible en <http://www.fao.org/docrep/018/i3107e/i3107e.PDF>.

Feng, K; Li, H; Zheng, C. 2018. Shifting product spectrum by pH adjustment during long-term continuous anaerobic fermentation of food waste (en línea). *Bioresource Technology* 270(August):180-188. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.09.035>.

Ferrer, I; Uggetti, E; Poggio, D; Velo, E. 2008. Producción de Biogás a partir de residuos organicos en Biodigestores de bajo coste (en línea). *Researchgate.Net* (May 2014):7. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.intcom.2005.06.005>.

Ferrer, I; Vázquez, F; Font, X. 2010. Long term operation of a thermophilic anaerobic reactor: Process stability and efficiency at decreasing sludge retention time (en línea). *Bioresource Technology* 101(9):2972-2980.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.12.006>.

Fischer, A; Pascucci, S. 2017. Institutional incentives in circular economy transition: The case of material use in the Dutch textile industry (en línea). *Journal of Cleaner Production* 155:17-32. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.12.038>.

Garcia-Aguirre, J. 2019. Production and recovery of valuable bioproducts through anaerobic fermentation of organic waste (en línea). (June). Disponible en <http://dadun.unav.edu/bitstream/10171/58016/1/Jon Garcia.pdf>.

Garcia-Aguirre, J; Alvarado-Morales, M; Fotidis, IA; Angelidaki, I. 2020. Up-concentration of succinic acid, lactic acid, and ethanol fermentations broths by forward osmosis (en línea). *Biochemical Engineering Journal* 155(December):107482. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bej.2019.107482>.

Garcia-Aguirre, J; Aymerich, E; González-Mtnez. de Goñi, J; Esteban-Gutiérrez, M. 2017. Selective VFA production potential from organic waste streams: Assessing temperature and pH influence. *Bioresource Technology* 244(July):1081-1088. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.07.187>.

Garcia-Aguirre, J; Esteban-Gutiérrez, M; Irizar, I; González-Mtnez de Goñi, J; Aymerich, E. 2019. Continuous acidogenic fermentation: Narrowing the gap between laboratory testing and industrial application (en línea). *Bioresource Technology* 282(January):407-416. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.03.034>.

Hayes, M; Skomedal, H; Skjånes, K; Mazur-Marzec, H; Toruńska-Sitarz, A; Catala, M; Isleten Hosoglu, M; García-Vaquero, M. 2017. Microalgal proteins for feed, food and health. *Microalgae-Based Biofuels and Bioproducts: From Feedstock Cultivation to End-Products* :347-368. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-101023-5.00015-7>.

He, X; Yin, J; Liu, J; Chen, T; Shen, D. 2019. Characteristics of acidogenic fermentation for volatile fatty acid production from food waste at high concentrations of NaCl (en línea). *Bioresource Technology* 271(September 2018):244-250. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.09.116>.

Hoornweg, D; Bhada-Tata, P. 2014. What a waste: A global review of solid waste management (en línea). *FEBS Journal* 281(19):4556-4556. DOI: <https://doi.org/10.1111/febs.13058>.

Horttanainen, M; Deviatkin, I; Havukainen, J. 2017. Nitrogen release from mechanically dewatered sewage sludge during thermal drying and potential for recovery (en línea). *Journal of Cleaner Production* 142:1819-1826.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.11.102>.

Huang, L; Chen, Z; Xiong, D; Wen, Q; Ji, Y. 2018. Oriented acidification of wasted activated sludge (WAS) focused on odd-carbon volatile fatty acid (VFA): Regulation strategy and microbial community dynamics. *Water Research* 142:256-266. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.05.062>.

Ismail, IM; Nizami, A. 2016. Waste-Based Biorefineries in Developing Countries : an imperative need of time (en línea). .

Disponibile en <http://ir.lib.uwo.ca/csce2016/London/Environmental/9/>.

Jankowska, E; Chwialkowska, J; Stodolny, M; Oleskowicz-Popiel, P. 2017. Volatile fatty acids production during mixed culture fermentation – The impact of substrate complexity and pH (en línea). *Chemical Engineering Journal* 326:901-910. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.06.021>.

Jankowska, E; Duber, A; Chwialkowska, J; Stodolny, M; Oleskowicz-Popiel, P. 2018. Conversion of organic waste into volatile fatty acids – The influence of process operating parameters (en línea). *Chemical Engineering Journal* 345:395-403. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.03.180>.

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 (en línea). *Bioresource Technology* 143:525-530.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.06.025>.

Lee, WS; Chua, ASM; Yeoh, HK; Ngoh, GC. 2014. A review of the production and applications of waste-derived volatile fatty acids (en línea). *Chemical Engineering Journal* 235:83-99. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2013.09.002>.

Li, Z; Chen, Z; Ye, H; Wang, Y; Luo, W; Chang, JS; Li, Q; He, N. 2018. Anaerobic co-digestion of sewage sludge and food waste for hydrogen and VFA production with microbial community analysis (en línea). *Waste Management* 78:789-799. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.06.046>.

Lim, SJ; Kim, BJ; Jeong, CM; Choi, J dal rae; Ahn, YH; Chang, HN. 2008. Anaerobic organic acid production of food waste in once-a-day feeding and drawing-off bioreactor. *Bioresource Technology* 99(16):7866-7874.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.06.028>.

Liu, H; Han, P; Liu, H; Zhou, G; Fu, B; Zheng, Z. 2018. Full-scale production of VFAs from sewage sludge by anaerobic alkaline fermentation to improve biological nutrients removal in domestic wastewater. *Bioresource Technology* 260(March):105-114. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.03.105>.

Liu, H; Wang, J; Liu, X; Fu, B; Chen, J; Yu, HQ. 2012. Acidogenic fermentation of proteinaceous sewage sludge: Effect of pH. *Water Research* 46(3):799-807. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.11.047>.

Luo, K; Pang, Y; Yang, Q; Wang, D; Li, X; Lei, M; Huang, Q. 2019. A critical review of volatile fatty acids produced from waste activated sludge: enhanced strategies and its applications. *Environmental Science and Pollution Research* . DOI: <https://doi.org/10.1007/s11356-019-04798-8>.

Magdalena, JA; Greses, S; González-Fernández, C. 2019. Impact of Organic Loading Rate in Volatile Fatty Acids Production and Population Dynamics Using Microalgae Biomass as Substrate. *Scientific Reports* 9(1):1-11. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-54914-4>.

Maharaj, I; Elefsiniotis, P. 2001. The role of HRT and low temperature on the acid-phase anaerobic digestion of municipal and industrial wastewaters. *Bioresource Technology* 76(3):191-197. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(00\)00128-0](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(00)00128-0).

Mata-Alvarez, J. 2003. Biomethanization of the organic fraction of municipal solid wastes. IWA Publishing :1-338.

McDonough, W; Braungart, M. 2003. Towards a sustaining architecture for the 21st century: The promise of cradle-to-cradle design. *Industry and Environment* 26(2-3):13-16.

MINAGRI. 2017. Boletín Estadístico de la Producción Agrícola y Ganadera 2017 - III Trimestre. s.l., s.e. 132 p.

MINAM. 2016. Plan Nacional de Gestión Integral de Residuos Sólidos (2016-2024) (en línea). s.l., s.e. 80 p. Disponible en <http://sinia.minam.gob.pe/download/file/fid/59910>.

MINAM. 2018. En el Perú solo se recicla el 1,9% del total de residuos sólidos reaprovechables (en línea). . Disponible en <http://www.minam.gob.pe/notas-de-prensa/en-el-peru-solo-se-recicla-el-1-9-del-total-de-residuos-solidos-reaprovechables/>.

Misi, SN; Forster, CF. 2002. Semi-Continuous Anaerobic Co-Digestion of Agro-Wastes (en línea). *Environmental Technology* 23(4):445-451.

DOI: <https://doi.org/10.1080/09593332508618405>.

Moreno, J; Moral, J; García-Morales, JL; Pascual, JA; Bernal, MP. 2014. De residuo a recurso. El camino a la sostenibilidad: Residuos orgánicos I.4. (en línea). Mundi-Prensa, E (ed.). Madrid, s.e. Disponible en <http://ebookcentral.proquest.com/lib/utnortesp/detail.action?docID=4849942>.

Moreno, J; Moral, J; García-Morales, JL; Pascual, JA; Bernal, MP. 2015. Residuos orgánicos y agricultura intensiva III.1. Madrid, Ediciones Mundi-Prensa. 135 p.

Moretto, G; Russo, I; Bolzonella, D; Pavan, P; Majone, M; Valentino, F. 2020. An urban biorefinery for food waste and biological sludge conversion into polyhydroxyalkanoates and biogas (en línea). *Water Research* 170:115371.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.115371>.

Moretto, G; Valentino, F; Pavan, P; Majone, M; Bolzonella, D. 2019. Optimization of urban waste fermentation for volatile fatty acids production (en línea). *Waste Management* 92:21-29. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2019.05.010>.

Morgan-Sagastume, F; Hjort, M; Cirne, D; Gérardin, F; Lacroix, S; Gaval, G; Karabegovic, L; Alexandersson, T; Johansson, P; Karlsson, A; Bengtsson, S; Arcos-Hernández, M V.; Magnusson, P; Werker, A. 2015. Integrated production of polyhydroxyalkanoates (PHAs) with municipal wastewater and sludge treatment at pilot scale (en línea). *Bioresource Technology* 181:78-89.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.01.046>.

Nizami, AS; Rehan, M; Waqas, M; Naqvi, M; Ouda, OKM; Shahzad, K; Miandad, R; Khan, MZ; Syamsiro, M; Ismail, IMI; Pant, D. 2017. Waste biorefineries: Enabling circular economies in developing countries (en línea). *Bioresource Technology* 241:1101-1117. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.05.097>.

Osuna-Aguirre, ME; Rodríguez-Jiménez, J; Amaya-Guerra, CA. 2019. Aprovechamiento de los residuos del cultivo de alcachofa (*Cynara scolymus* L.) para el desarrollo de harina ricas en antioxidantes (en línea). 4:873-877. Disponible en <http://www.fcb.uanl.mx/IDCyTA/files/volume4/4/9/122.pdf>.

Passos, F; Ferrer, I. 2014. Microalgae conversion to biogas: Thermal pretreatment contribution on net energy production. *Environmental Science and Technology* 48(12):7171-7178. DOI: <https://doi.org/10.1021/es500982v>.

Pauli, G. 2011. The Blue Economy (en línea). *Japan Spotlight* (February):14-17. Disponible en [https://www.jef.or.jp/journal/pdf/175th\\_cover04.pdf](https://www.jef.or.jp/journal/pdf/175th_cover04.pdf).

Perimenis, A; Nicolay, T; Leclercq, M; Gerin, PA. 2018. Comparison of the acidogenic and methanogenic potential of agroindustrial residues (en línea). *Waste Management* 72:178-185. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.11.033>.

Ponsá, S; Gea, T; Sánchez, A. 2011. Anaerobic co-digestion of the organic fraction of municipal solid waste with several pure organic co-substrates. *Biosystems Engineering* 108(4):352-360. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2011.01.007>.

Prieto-Sandoval, V; Jaca, C; Ormazabal, M. 2017. Economía circular: Relación con la evolución del concepto de sostenibilidad y estrategias para su implementación (en línea). *Memoria Investigaciones en Ingeniería* 15:15. Disponible en [http://www.um.edu.uy/docs/Economia\\_Circular.pdf](http://www.um.edu.uy/docs/Economia_Circular.pdf).

Riondet, C; Cachon, R; Waché, Y; Alcaraz, G; Diviès, C. 2000. Extracellular oxidoreduction potential modifies carbon and electron flow in *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology* 182(3):620-626. DOI: <https://doi.org/10.1128/JB.182.3.620-626.2000>.

Rodriguez-Perez, S; Serrano, A; Pantión, AA; Alonso-Fariñas, B. 2018. Challenges of scaling-up PHA production from waste streams. A review. *Journal of Environmental Management* 205:215-230. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.09.083>.

Rojas Martínez, E; Fortich Duarte, M; Pavajeau Maestre, H. 2014. Determinación del origen y la composición de las aguas termales ubicadas en los municipios de Becerril (Cesar) y Ciénaga (Magdalena), Colombia. *Ingenium* 8(21):35. DOI: <https://doi.org/10.21774/ing.v8i21.441>.

Solé-Bundó, M; Passos, F; Romero-Güiza, MS; Ferrer, I; Astals, S. 2019. Co-digestion strategies to enhance microalgae anaerobic digestion: A review (en línea). *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 112(July 2018):471-482. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2019.05.036>.

Sun, C; Xia, A; Liao, Q; Fu, Q; Huang, Y; Zhu, X; Wei, P; Lin, R; Murphy, JD. 2018. Improving production of volatile fatty acids and hydrogen from microalgae and rice residue: Effects of physicochemical characteristics and mix ratios (en línea). *Applied Energy* 230(September):1082-1092. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2018.09.066>.

Tamis, J; Lužkov, K; Jiang, Y; Loosdrecht, MCM va.; Kleerebezem, R. 2014. Enrichment of *Plasticicumulans acidivorans* at pilot-scale for PHA production on industrial wastewater. *Journal of Biotechnology* 192(Part A):161-169.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2014.10.022>.

Tran, KC. 2017. Anaerobic digestion of microalgal biomass: effects of solid concentration and pre-treatment (en línea). Southampton, s.e. 182 p. Disponible en [https://eprints.soton.ac.uk/415791/%0Ahttps://eprints.soton.ac.uk/415791/1/Final\\_e\\_the\\_sis\\_for\\_e\\_prints\\_Khanh\\_Tran\\_24542342.pdf](https://eprints.soton.ac.uk/415791/%0Ahttps://eprints.soton.ac.uk/415791/1/Final_e_the_sis_for_e_prints_Khanh_Tran_24542342.pdf).

Tukker, A. 2015. Product services for a resource-efficient and circular economy - A review (en línea). *Journal of Cleaner Production* 97:76-91. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2013.11.049>.

Urbina, L; Hernandez, AM; Gabilondo, N; Arantxa, E; Corcuera, MÁ; Prieto, A; Retegi, A. 2016. Subproductos de la elaboración de la sidra: fuente de nutrientes alternativa para la producción de celulosa bacteriana. *In Elkarrekin ikertuz. s.l., s.e.* p. 134.

Van-Aarle, IM; Perimenis, A; Lima-Ramos, J; de Hulst, E; George, IF; Gerin, PA. 2015. Mixed inoculum origin and lignocellulosic substrate type both influence the production of volatile fatty acids during acidogenic fermentation (en línea). *Biochemical Engineering Journal* 103:242-249. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bej.2015.07.016>.

Venkata Mohan, S; Nikhil, GN; Chiranjeevi, P; Nagendranatha Reddy, C; Rohit, M V.; Kumar, AN; Sarkar, O. 2016. Waste biorefinery models towards sustainable circular bioeconomy: Critical review and future perspectives (en línea). *Bioresource Technology* 215:2-12. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.03.130>.

Xiong, H; Chen, J; Wang, H; Shi, H. 2012. Influences of volatile solid concentration, temperature and solid retention time for the hydrolysis of waste activated sludge to recover volatile fatty acids (en línea). *Bioresource Technology* 119:285-292. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.05.126>.

Yuan, Q; Sparling, R; Oleszkiewicz, JA. 2011. VFA generation from waste activated sludge: Effect of temperature and mixing (en línea). *Chemosphere* 82(4):603-607. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.10.084>.

Zacharof, MP; Lovitt, RW. 2013. Complex effluent streams as a potential source of volatile fatty acids. *Waste and Biomass Valorization* 4(3):557-581. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12649-013-9202-6>.

Zhang, C; Su, H; Baeyens, J; Tan, T. 2014. Reviewing the anaerobic digestion of food waste for biogas production (en línea). *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 38:383-392. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.05.038>.

Zhang, L; Zeng, G; Dong, H; Chen, Y; Zhang, J; Yan, M; Zhu, Y; Yuan, Y; Xie, Y; Huang, Z. 2017. The impact of silver nanoparticles on the co-composting of sewage sludge and agricultural waste: Evolutions of organic matter and nitrogen (en línea). *Bioresource Technology* 230(2017):132-139.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.01.032>.

Zhang, P; Chen, Y; Zhou, Q. 2009. Effects of pH on the waste activated sludge hydrolysis and acidification under mesophilic and thermophilic conditions (en línea). 2009 International Conference on Energy and Environment Technology, ICEET 2009 3(15):306-309. DOI: <https://doi.org/10.1109/ICEET.2009.539>.

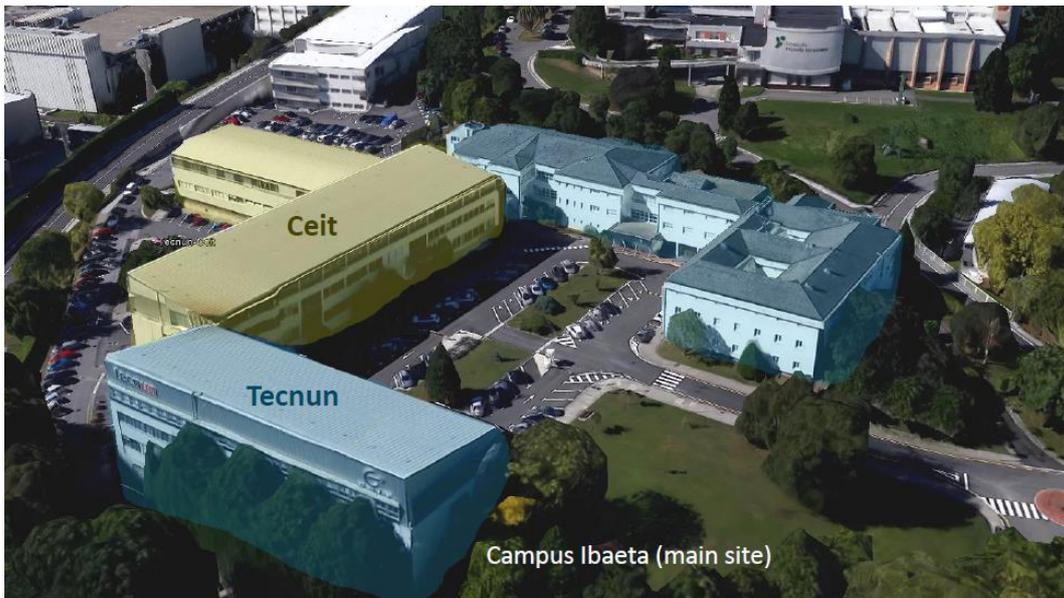
Zheng, M; Zheng, M; Wu, Y; Ma, H; Wang, K. 2015. Effect of pH on types of acidogenic fermentation of fruit and vegetable wastes. *Biotechnology and Bioprocess Engineering* 20(2):298-303. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12257-014-0651-y>.

Zhou, M; Yan, B; Wong, JWC; Zhang, Y. 2018. Enhanced volatile fatty acids production from anaerobic fermentation of food waste: A mini-review focusing on acidogenic metabolic pathways (en línea). *Bioresource Technology* 248:68-78. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.06.121>.

Zhu, H; Parker, W; Basnar, R; Proracki, A; Falletta, P; Béland, M; Seto, P. 2008. Biohydrogen production by anaerobic co-digestion of municipal food waste and sewage sludges. *International Journal of Hydrogen Energy* 33(14):3651-3659. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2008.04.040>.

## VIII. ANEXOS

**ANEXO 1.** Imagen aérea del lugar de ejecución de la investigación.



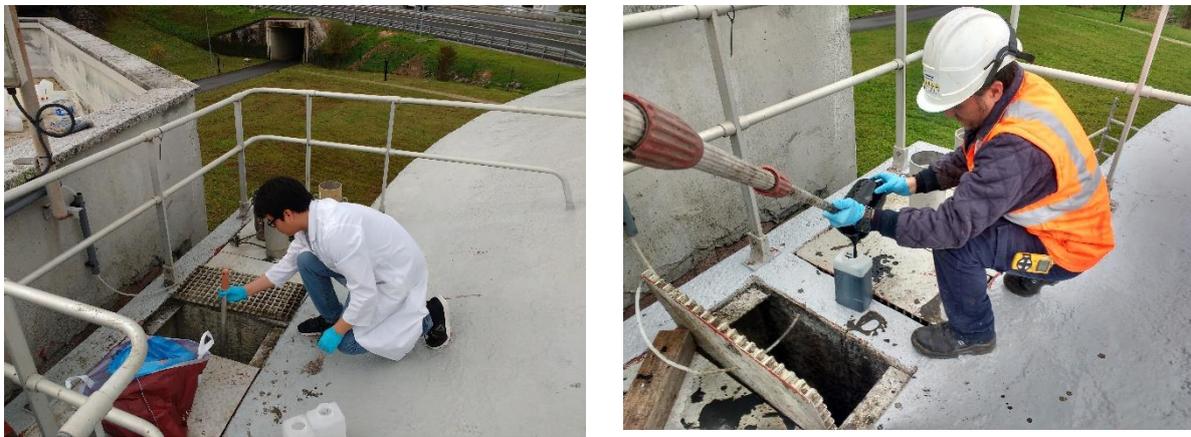
**Figura 19:** Imagen aérea del Centro Tecnológico Ceit- IK4 y el Campus de Ibaeta Tecnun (43°18'16.4"N 2°00'33.5"W).

FUENTE: Adaptado de Ceit-IK4 (2018)

**ANEXO 2.** Imágenes de la PTAR Loiola (San Sebastián), inóculo y residuos empleados en la investigación.



**Figura 20:** Planta de tratamiento de Aguas residuales (PTAR) Loiola de San Sebastián, perteneciente al consorcio de Aguas de Añarbe S.A.



**Figura 21:** Toma de muestra del inóculo (lodo digerido) en los digestores de la PTAR Loiola.



**Figura 22:** Toma de muestra de lodos crudos (LP) en los espesadores de la PTAR Loiola.



**Figura 23:** Inóculo (lodo digerido) y lodo crudo (LP) utilizados en la investigación.



**Figura 24:** Fracción orgánica de residuos sólidos (FORSU) utilizada en la investigación.



**Figura 25:** Residuos de alcachofa (AL) utilizados en la investigación.



**Figura 26:** Lugar de recolección de los residuos de pulpa de manzana (PM).



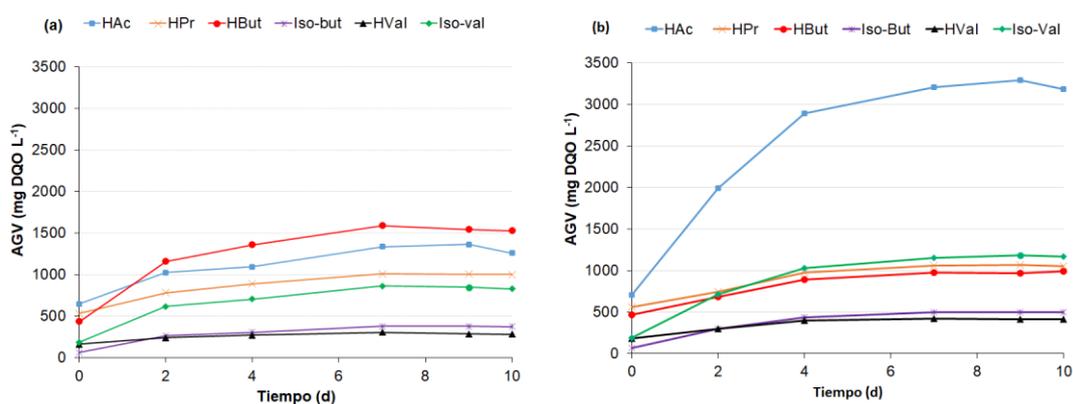
**Figura 27:** Residuos de pulpa de manzana (PM) utilizados en la investigación.



**Figura 28:** Biomasa microalgal (BM) utilizada en la investigación.

### ANEXO 3. Elección del pH en los ensayos de co-fermentación.

Los ensayos preliminares a las pruebas de co-fermentación determinaron que el co-sustrato utilizado, lodos de PTAR (LP), presenta mejor producción y rendimiento de producción de AGV en un pH alcalino (pH 9), por lo que se decidió trabajar la investigación en un entorno alcalino para potenciar la producción y rendimientos de producción de AGV entre las distintas co-fermentaciones evaluadas. En la Figura 50 y Tabla 21 se muestran las diferencias alcanzadas a diferentes pH.

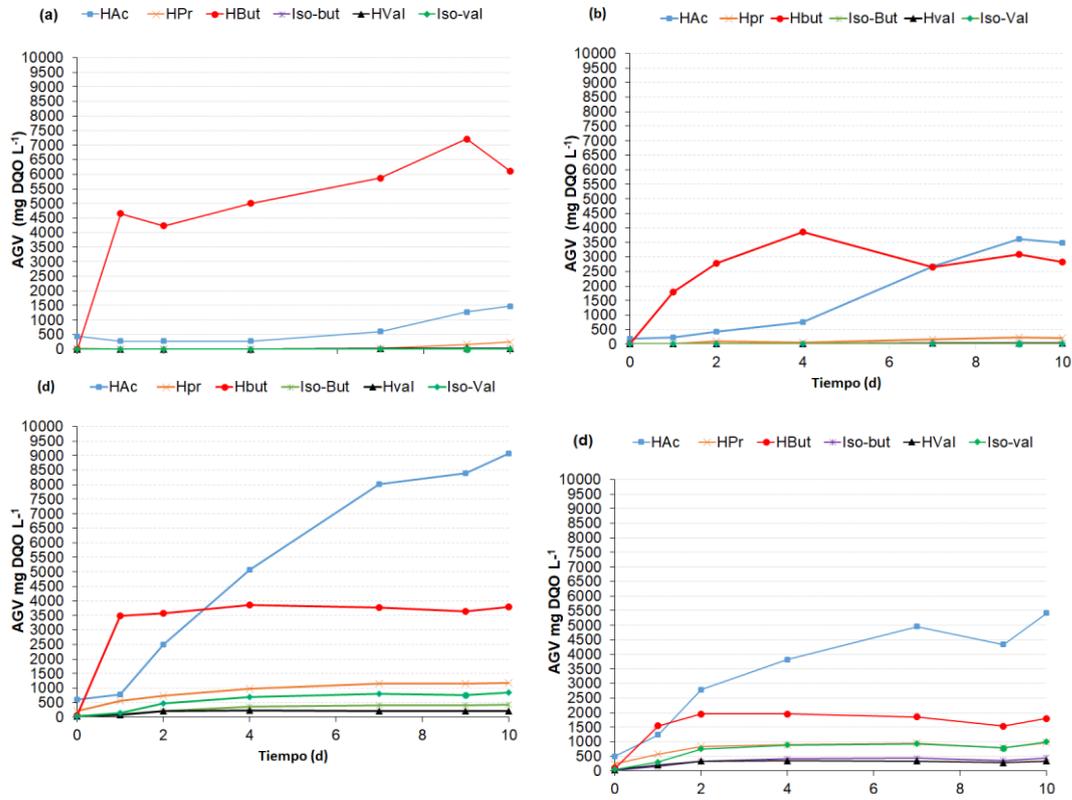


**Figura 29:** (a) Producción de AGV en LP1 (pH 5,5) y (b) producción de AGV en LP2 (pH 9).

**Tabla 21:** Resumen de los principales resultados de los ensayos preliminares.

Sustrato	pH	AGV (mg DQO L <sup>-1</sup> )	Distribución de bioproductos de AGV (% DQO)	Grado de acidificación (%)	Rendimiento de conversión acidogénica (mgAGV g <sup>-1</sup> DQO <sub>sustrato</sub> )
LP1	5,5	5.263	24:19: 29 (HAc, HPr, HBut)	52,57	261,82
LP2	9	7.296	44:16:14 (HAc, Iso-Val, HPr )	47,78	362,93

**ANEXO 4.** Pruebas preliminares a escala laboratorio del potencial acidogénico (mono-fermentación y co-fermentación) de la pulpa de manzana (PM).



**Figura 30:** (a) Producción de AGV en PM1 a pH 5,5, (b) producción de AGV en PM2 a pH 5,5, (c) producción de AGV en LP+PM (1:1) a pH 9, (d) producción de AGV en LP+PM (4:1) a pH 9.

**Tabla 22: Resumen de los principales resultados de las pruebas preliminares del potencial acidogénico (mono-fermentación y co-fermentación) de la pulpa de manzana (PM).**

Potencial acidogénico	Sustrato	pH	AGV (mg DQO L <sup>-1</sup> )	Distribución de bioproductos de AGV (% DQO)	GA (%)	Rendimiento de conversión acidogénica (mgAGV g <sup>-1</sup> DQO <sub>sustrato</sub> )
<b>Mono-fermentación</b>	<b>PM1</b>	<b>5,5</b>	7.853	19: 3: 78 (HAc, HPr, HBut)	32,51	129,25
	<b>PM2</b>	<b>5,5</b>	6.520	53: 3 :43 (HAc, HPr, HBut)	56,94	214,59
<b>Co-fermentación</b>	<b>LP + PM (1:1)</b>	<b>9</b>	<b>15.536</b>	<b>58: 8: 24 (HAc, HPr, HBut)</b>	<b>55,10</b>	<b>255,68</b>
	<b>LP + PM (4:1)</b>	<b>9</b>	11.124	38: 35: 10 (HAc, HBut, Iso-val)	42,44	269,26

**ANEXO 5.** Imágenes de las instalaciones del Centro tecnológico Ceit- IK4.

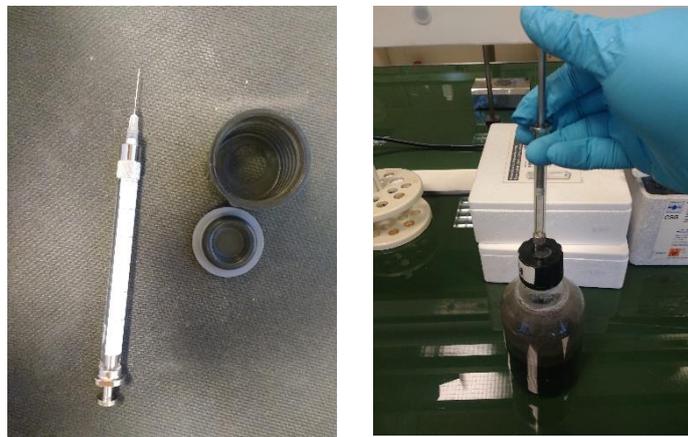


**Figura 31:** Instalaciones utilizadas en el Centro tecnológico Ceit- IK4 (Laboratorio analítico, laboratorio de ensayos y laboratorio instrumental).

**ANEXO 6.** Equipos utilizados durante el desarrollo de la investigación.



**Figura 32:** Sensor de presión (IFM electronic, PN 20279) empleado en la cuantificación del biogás.



**Figura 33:** Jeringa de 1 mL utilizada en la toma de muestra para la composición del biogás en las pruebas de laboratorio.



**Figura 34:** Bolsa Tedlar de 5 L utilizada en la toma de muestra para la composición del biogás en la plataforma piloto.



**Figura 35:** Equipo de cromatografía de gases GC-TCD HP6890 (columna SUPELCO 60/80 Carboxen, Ref. 10001-2390-U).



**Figura 36:** Equipo de cromatografía de gases Agilent GC-6890, equipado con un FID (Flame Ionization Detector) y una columna capilar (DB-FFAP, 30m x 0,25 mm i.d., 0,25  $\mu$ m film, Agilent J&W ref. 122 – 3232E), utilizado en la medición de AGV.



**Figura 37:** pH-metro CRISON GLP 21+ sonda 5014T (izquierda) y pH-metro CRISON sonda portátil CRISON 5200T (derecha).



**Figura 38:** Equipo de centrifugación MEDITRONIC BL7001084.



**Figura 39:** Equipo de filtración y bomba de vacío.



**Figura 40:** (a) Baño termostático y (b) termostato de inmersión Tectron-Bio (Marca Selecta).



**Figura 41:** Equipo destilador por arrastre de vapor BÜCHI 315.



**Figura 42:** Estufa Selecta Modelo 381 (izquierda) y horno mufla Hobersal (Modelo 12PR/300, serie 8B) (derecha).



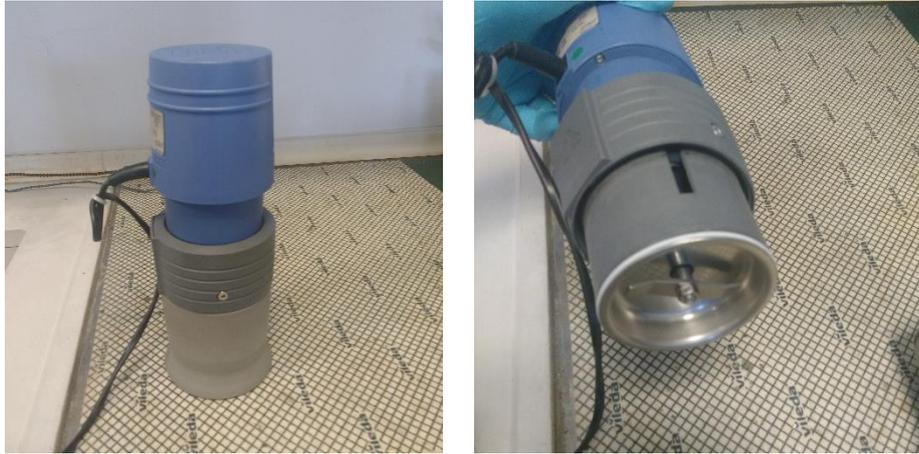
**Figura 43:** Analizador de elementales LECO CS-200 (izquierda) y LECO TC-400 (derecha).



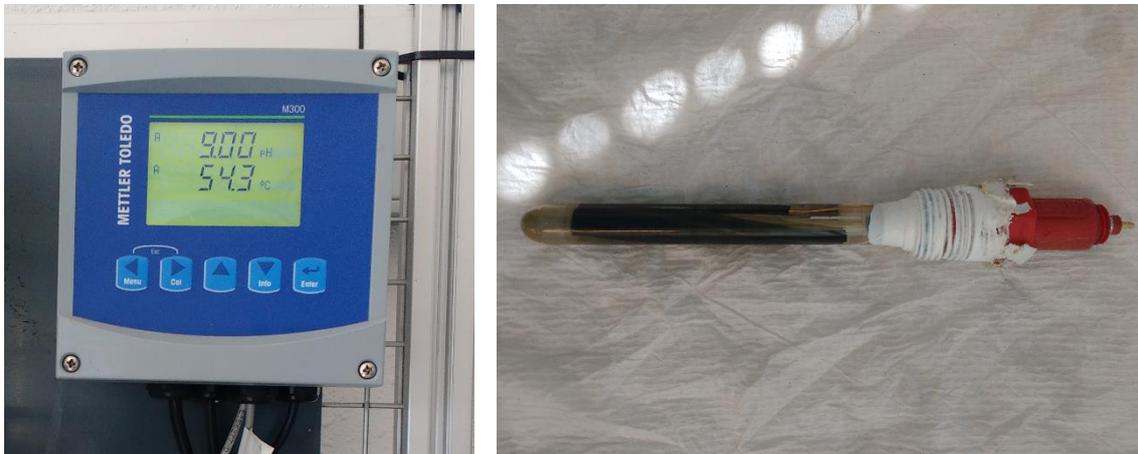
**Figura 44:** Balanza autocalibrada METTLER TOLEDO serie AB104 y PB3002-S.



**Figura 45:** Unidad de digestión Selecta “Bloc-digest 12” utilizada en la digestión de las muestras para la DQO.



**Figura 46:** Molino de análisis (tritador IKA A11).

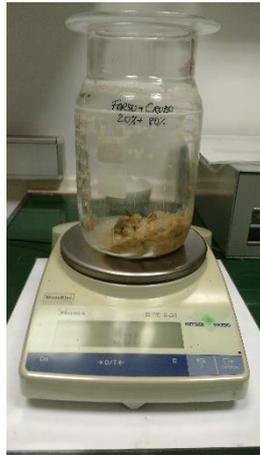


**Figura 47:** Transmisor M300 (METTLER TOLEDO).



**Figura 48:** Controlador de flujo másico (MFC, de sus siglas en inglés) modelo Bronkhorst ® F-221M.

**ANEXO 7. Imágenes de la investigación.**



**Figura 49:** Ejemplo de procesamiento de las muestras para la fermentación acidogénica a escala de laboratorio.



**Figura 50:** Procesamiento de las muestras (LP+PM) para la fermentación acidogénica a escala piloto.

## ANEXO 8. Recta de calibración para la medición de AGV.

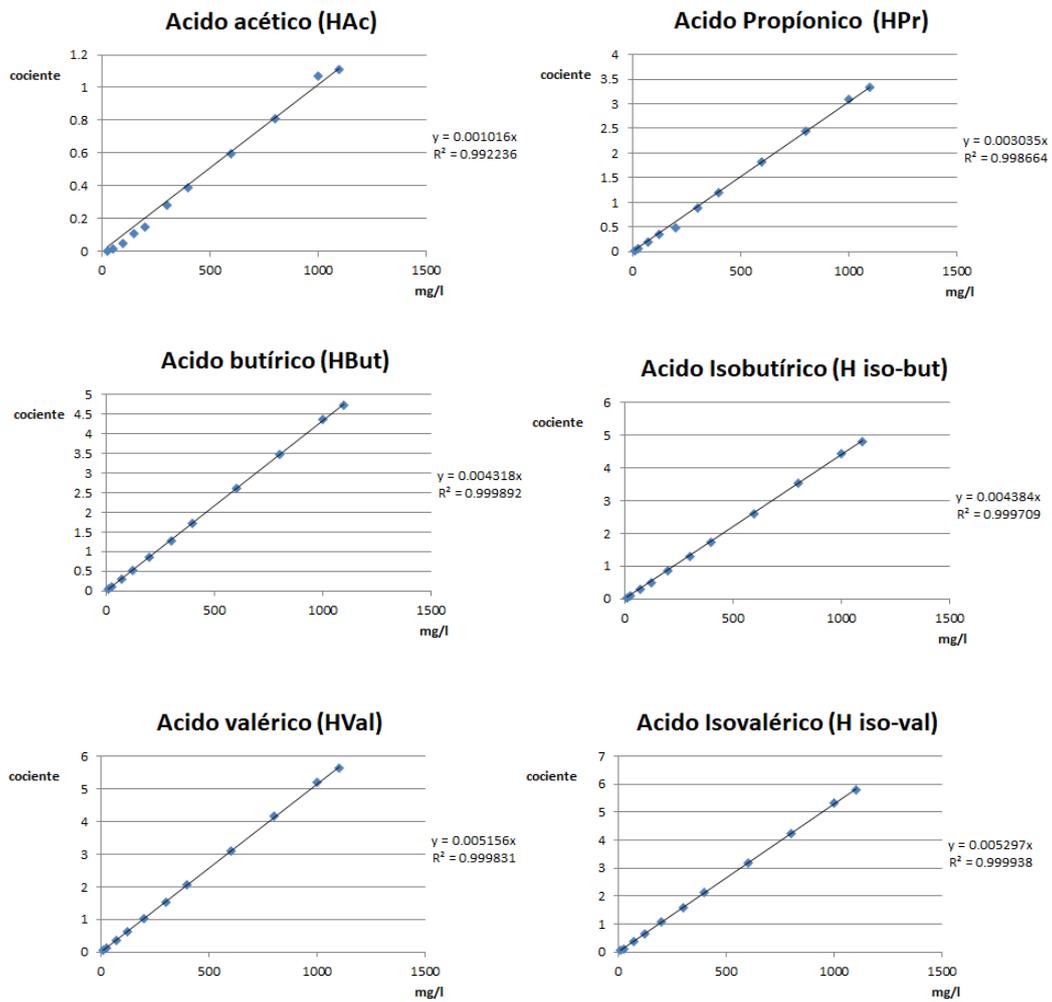


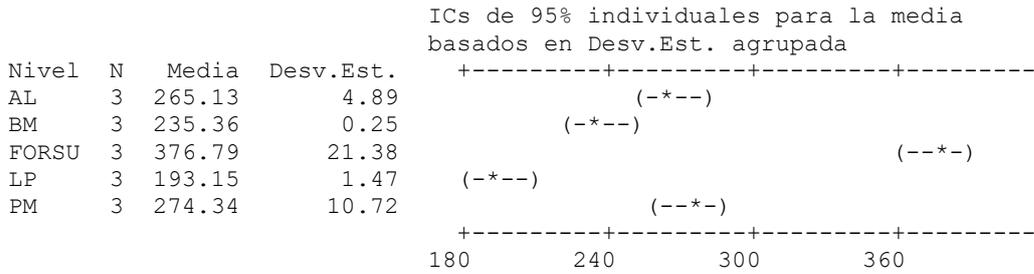
Figura 51: Recta de calibración para la medición de AGV.

## ANEXO 9. Análisis estadístico del potencial metanogénico (Test BMP).

### ANOVA unidireccional: mLCH4/gSV vs. Residuo

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Residuo	4	55644	13911	116.31	0.000
Error	10	1196	120		
Total	14	56840			

S = 10.94    R-cuad. = 97.90%    R-cuad.(ajustado) = 97.05%



Desv.Est. agrupada = 10.94

Agrupar información utilizando el método de Tukey

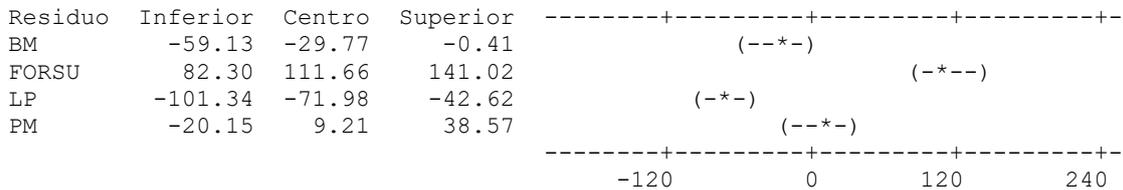
Residuo	N	Media	Agrupación
FORSU	3	376.79	A
PM	3	274.34	B
AL	3	265.13	B
BM	3	235.36	C
LP	3	193.15	D

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

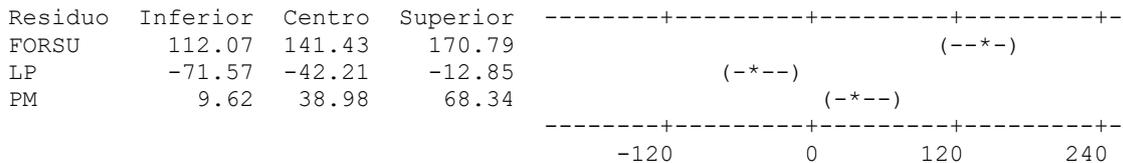
Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%  
Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de Residuo

Nivel de confianza individual = 99.18%

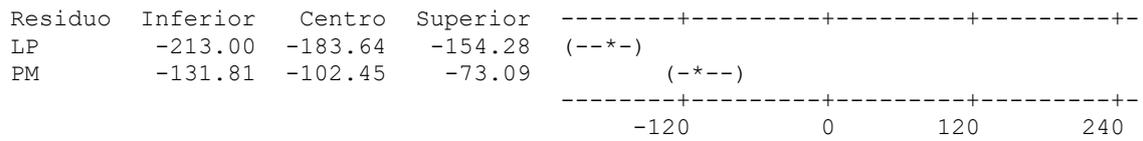
Residuo = AL restado de:



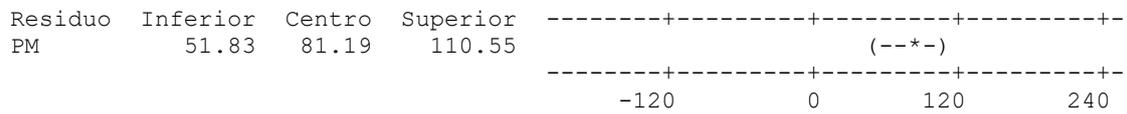
Residuo = BM restado de:



Residuo = FORSU restado de:



Residuo = LP restado de:



## ANEXO 10. Actividades de difusión de la investigación.

La presente investigación formó parte del proyecto **PROAZETIK: Producción de acético a partir de RSU (residuos sólidos urbanos): avanzando hacia una Economía Circular**, financiada por la Diputación Foral de Gipuzkoa (España) y el Centro tecnológico Ceit-IK4. Este proyecto consistió en transformar la fracción orgánica de los RSU y los lodos de PTAR en ácido acético y otros bioproductos asimilables a una plataforma de biorefinería. Para mayor información se puede visitar el siguiente link:

<https://www.ceit.es/es/sala-de-prensa/noticias-y-eventos/8299-utilizando-residuos-para-conseguir-cosmeticos>



**Figura 52:** Publicidad del proyecto PROAZETIK: Producción de acético a partir de RSU (residuos sólidos urbanos): avanzando hacia una Economía Circular.



**Figura 53:** Participación en el II Congreso Internacional de Residuos Sólidos (VIII Congreso Nacional de Residuos Sólidos en el Perú - UNALM).

## ANEXO 11. Certificado de pasantía en el Centro Tecnológico Ceit-ik4.



**Figura 54:** Certificado de pasantía en el Centro Tecnológico Ceit-ik4.