

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO

“Diseño, puesta en marcha y monitoreo de reactores anaerobios escala laboratorio para el tratamiento de residuos orgánicos provenientes del mercado central de Tumbaco”

María Paulina Castelo Rueda

Tesis de grado presentada como requisito para la obtención del título de
Ingeniería en Procesos Biotecnológicos

Cumbayá, Mayo 2012

Universidad San Francisco de Quito
Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales

HOJA DE APROBACIÓN DE TESIS

**“Diseño puesta en marcha y monitoreo de reactores anaerobios escala
laboratorio para el tratamiento de residuos orgánicos provenientes del
mercado central de Tumbaco”**

María Paulina Castelo Rueda

Valeria Ochoa-Herrera, Ph.D.

Directora del Proyecto

María de Lourdes Torres, Ph.D.

Miembro del Comité de Tesis

Dr.-Ing. Ródney Peñafiel

Miembro del Comité de Tesis

Stella de la Torre, Ph. D.

Decana del Colegio de Ciencias

Biológicas y Ambientales

Quito, Mayo del 2012

DERECHOS DE AUTOR

© Derechos de Autor

María Paulina Castelo Rueda

2012

Dedicatoria

A mis padres y hermanas, por el apoyo y ayuda incondicional durante esta etapa y a lo largo de toda mi vida.

Agradecimiento

A mi familia y amigos por ser mi guía y soporte en todo momento.

Un sincero agradecimiento a Valeria Ochoa por todo el conocimiento impartido, el apoyo y la infaltable motivación.

A mis compañeros del laboratorio de Ingeniería Ambiental por la ayuda brindada, y a todos quienes formaron parte de este proceso.

Resumen

En el año 2010, el promedio diario de recolección de desechos en el Distrito Metropolitano de Quito fue de aproximadamente un millón y medio de kilos (1.500 t/día), de los cuales más del 60% fueron identificados como residuos orgánicos. El manejo indebido y la alta producción de los residuos orgánicos provocan graves problemas medioambientales y de salud, por lo tanto su manejo integral es cada día más importante teniendo en consideración el alto índice de generación de los mismos en el país.

En el presente trabajo de investigación se diseñó y puso en marcha cuatro bioreactores anaerobios (R1, R2, R3, R4) de 4L en modo de operación semi - continuo para el tratamiento de residuos sólidos de frutas y vegetales (RFV) del mercado central de Tumbaco, con el objetivo de generar biogás. En el proceso de digestión se empleó un inóculo microbiano "EL" compuesto por 40% de lodos granulares provenientes del biodigestor de una planta de tratamiento de aguas de la ciudad de Quito y 90% (v/v) de estiércol vacuno disuelto. Los bioreactores (R) fueron sometidos a agitación constante y operados bajo condiciones anaerobias a una temperatura de $30 \pm 1^\circ \text{C}$. Éstos se alimentaron con diferentes porcentajes en peso de residuos de frutas y vegetales equivalentes a: R1: 5% (150 g), R2: 7.5% (225 g), R4: 10% (300 g) y R3: 12.5% (375 g).

El tiempo total de operación de los bioreactores fue de 90 días, divididos en tres períodos correspondientes a las diferentes fechas de alimentación. La producción acumulada de metano se monitoreó diariamente, mientras que el pH, el porcentaje de remoción de la demanda química de oxígeno soluble (DQO), el contenido de sólidos volátiles (SV) y la concentración de nitrato fueron monitoreados periódicamente empleando métodos analíticos. Se identificó al bioreactor alimentado con 5% RFV como el de mejor desempeño en los tres períodos evaluados a lo largo de 90 días de funcionamiento. La producción total acumulada de metano fue de $2401.92 \text{ L CH}_4 \text{ kg SV}^{-1}$ en condiciones de agitación constante, el porcentaje de remoción de sólidos totales fue de 84.6% y se obtuvo una alta tasa de remoción de DQO de 1.2.

Debido a los riesgos ambientales y de salud humana que representa el manejo inadecuado de los desechos en el Ecuador, esta investigación aporta con información y soluciones técnicas que pueden ser aplicadas por las instituciones municipales, para un tratamiento eficiente de los desechos en las ciudades.

Abstract

In 2010, the whole production of solid wastes collected in Quito was estimated to be 1.500 tons per day. The organic fraction constitutes about 60% of the solid waste. The most common disposal way of solid waste in the country is the landfills, which causes serious health and environmental problems. The proper disposal of the solid wastes is of great importance, considering its high daily production.

The present study was conducted to design and set-up four semi - continuous laboratory scale bioreactors (4 L capacity) for the treatment of fruit and vegetable wastes (FVW), coming from Tumbaco's central market, in order to obtain biogas. Microbial inoculum was composed of 40% granular sludge obtained from the bioreactor of a water treatment plant in Quito, and 90% (v/v) cow dung slurry. The operation parameters established for the bioreactors were constant agitation, anoxic environment and temperature of 30 ± 1 °C. The bioreactors (R) were tested for mesophilic anaerobic degradation of FVW with an organic loading rate of R1: 5% (150 g), R2: 7.5% (225 g), R3: 10% (300 g) and R4: 12.5% (375 g). The biogas produced was measured daily, and the analysis of the samples taken from the effluent were carried out on a regular bases. For each bioreactor, the cumulative methane production, pH, the chemical oxygen demand (COD) removal, the total volatile solids content and the nitrate concentration were measured periodically.

The bioreactors operated for 90 days, divided in three periods according to the FVW feeding dates. The highest cumulative methane production was achieved by the bioreactor fed with 5% FVW with a value of $2401.92 \text{ L CH}_4 \text{ kg SV}^{-1}$ during 90 operation days. This bioreactor also achieved the highest COD removal rate (1.2) and 84.6% of total volatile solids subtraction.

Due to the environmental and health risks caused by the poor disposal techniques in Ecuador, this research provides information and technology which can be applied by the municipal institutions, for an efficient waste disposal in the cities.

Tabla de Contenidos

1. Introducción	1
1.1 Generación de Residuos Sólidos	1
1.1.1 Generación de Residuos Sólidos en Ecuador	1
1.2 Problemática de la Generación de Residuos	4
1.3 Utilización de los Residuos Sólidos	7
1.3.1 Utilización de Residuos Sólidos para Generación de Energía	8
1.4 Bioreactores para Digestión Anaerobia y Sistemas de Operación	10
1.5 Productos de la Digestión Anaerobia	12
2. Justificación	13
3. Objetivo General	14
4. Objetivos Específicos	14
5. Área de Trabajo	15
6. Materiales	16
6.1 Inóculos microbianos	16
6.2 Residuos de frutas y vegetales (RFV)	16
6.3 Medio basal mineral de cultivo (MB)	16
6.4 Actividad Máxima Específica Metanogénica	17
6.5 Bioensayos de degradación anaerobia de RFV	17
6.5.1 Bioensayos en modo de operación batch	17
6.5.2 Bioensayos en modo de operación semi-continuo	18
6.6 Métodos analíticos	18
6.6.1 Determinación de Sólidos Suspendidos Totales (SST) y Sólidos Suspendidos Volátiles (SSV)	18
6.6.2 Determinación de la demanda química de oxígeno total (DQO _T) y soluble (DQO)	18

6.6.3 Medición de metano	19
6.6.4 Medición de nitrato.....	19
6.7 Reactivos para demanda química de oxígeno (DQO), medición de nitrato, y ensayos de actividad máxima específica metanogénica	19
7. Métodos	20
7.1 Inóculos microbianos	20
7.2 Residuos de frutas y vegetales (RFV).....	21
7.3 Medio basal mineral de cultivo (MB)	21
7.4 Actividad Máxima Específica Metanogénica	22
7.5 Bioensayos de degradación anaerobia de RFV	23
7.5.1 Bioensayos en modo de operación batch.....	23
7.5.2 Bioensayos en modo de operación semi-continuo	24
7.6 Métodos analíticos.....	25
7.6.1 Determinación de Sólidos Suspendidos Totales (SST) y Sólidos Suspendidos Volátiles (SSV)	25
7.6.2 Determinación de la demanda química de oxígeno total (DQO _T) y soluble (DQO)....	27
7.6.3 Medición de metano	28
7.6.4 Medición de nitrato.....	29
8. Resultados	29
8.1 Caracterización de inóculos microbianos.....	29
8.2 Caracterización de Residuos de Frutas y Vegetales.....	33
8.3 Bioensayos de degradación anaerobia de Residuos de Frutas y Vegetales.....	34
8.3.1 Bioensayos en modo de operación batch.....	34
8.3.2 Bioensayos en modo de operación semi-continuo	36
8.4 Balances de Biomasa y Sustrato.....	39

8.4.1 Balance de Masa para el Bioreactor de 5% RFV empleando el inóculo EL, en el período III entre los días 64 y 77	40
8.4.2 Balance de Biomasa para el Bioreactor de 5% RFV empleando el inóculo EL, en el período III entre los días 64 y 77	46
8.5 Datos reales del bioreactor con 5% RFV	50
9. Discusión	52
9.1 Caracterización de inóculos microbianos.....	52
9.2 Caracterización de Residuos de Frutas y Vegetales.....	60
9.3 Bioensayos de degradación anaerobia de RFV	62
9.3.1 Bioensayos en modo de operación batch.....	62
9.3.2 Bioensayos en modo de operación semi-continuo	65
10. Conclusiones	71
11. Recomendaciones	72
12. Trabajos Futuros	73
13. Bibliografía	74
14. Tablas	79
15. Figuras	87
16. Anexos	96
Anexo 1. Características generales del Biogás.....	96
Anexo 2. Residuos de frutas y vegetales (RFV) provenientes de mercado central de Tumbaco	97
Anexo 3. Bioensayos de modo de operación batch.....	98
Anexo 4. Diagrama de los biodigestores empleados para la degradación de RFV en diferentes porcentajes, empleando el inóculo EL (estiércol - lodo) en modo de operación semi - continuo	99

Anexo 5. Bioreactores en funcionamiento, empleando el inóculo EL para degradar diferentes porcentajes de residuos de frutas y vegetales en modo de operación semi - continuo	100
Anexo 6. Bioreactores en funcionamiento, empleando el inóculo EL para degradar diferentes porcentajes de residuos de frutas y vegetales en modo de operación semi - continuo, dentro de la incubadora a 30 °C	101
Anexo 7. Curva de calibración para la determinación de la demanda química de oxígeno (DQO) empleando estándares de KHP con concentraciones en el rango de 0 a 1000 mg O ₂ L ⁻¹ , versus la absorbancia (600 nm) rango de 0 a 1000 mg O ₂ L ⁻¹ , versus la absorbancia (600 nm)	102

Índice de Tablas y Figuras

Tabla 1. Caracterización físico - química de los inóculos microbianos evaluados en este estudio. Sólidos suspendidos totales (SST), sólidos suspendidos volátiles (SSV), cenizas, pH y demanda química de oxígeno soluble (DQO) y total (DQO _T).	79
Tabla 2. Actividad máxima específica de generación de metano de inóculos microbianos evaluados en presencia de 2.5 g DQO - acetato L ⁻¹	80
Tabla 3. Puestos de frutas y vegetales del mercado central de Tumbaco y la presencia de residuos	81
Tabla 4. Caracterización físico - química de la mezcla de residuos de frutas y vegetales (RFV) y de sus componentes. pH, sólidos totales (ST), sólidos volátiles (SV), cenizas, humedad y demanda química de oxígeno soluble (DQO) y total (DQO _T).	82
Tabla 5. Producción acumulada de metano para determinar las proporciones ideales de lodo y estiércol en el inóculo EL con 5% de RFV en función de la eficiencia de la degradación de los RFV, la tasa de producción acumulada de metano y el tiempo de digestión.	83
Tabla 6. Caracterización físico - química y biológica del inóculo EL compuesto por lodo y estiércol. pH, sólidos totales (SST), sólidos volátiles (SSV), cenizas y actividad máxima específica metanogénica	84
Tabla 7. Composición del inóculo (EL) para cada bioreactor en modo de operación semi - continuo.	84
Tabla 8. Porcentajes de degradación de RFV en los bioreactores (R) en modo de operación semi-continua.	85
Tabla 9. Tasa de producción acumulada de metano, pH efluente, tasa de remoción de DQO soluble, concentración de nitrato, y porcentaje SV/ST en los bioreactores (R) en los períodos de operación I, II y III.	86
Figura 1. Caracterización de residuos sólidos generados en el Distrito Metropolitano de Quito..	87
Figura 2. Generadores de residuos sólidos en el Distrito Metropolitano de Quito.	88
Figura 3. Distribución porcentual de los residuos sólidos generados (toneladas) diariamente en las 9 parroquias de la Administración Zonal Tumbaco	89

- Figura 4.** Producción acumulada de metano con respecto al tiempo en tres inóculos microbianos anaerobios. Los tratamientos incluyen medio basal mineral, 2.5 g DQO acetato L⁻¹ y 10% sedimentos de la laguna, o 20% de lodos granulares CN o 20% (v/v) de lodos del biodigestor JB. 90
- Figura 5.** Producción acumulada de metano con respecto al tiempo evaluando el efecto de la adición de estiércol al inóculo microbiano. El inóculo estuvo compuesto de 1.5 g SSV L⁻¹ de lodos granulares CN (10%) y diferentes porcentajes en volumen de estiércol en presencia de 2.5 g DQO acetato L⁻¹ 91
- Figura 6.** Producción acumulada de metano empleando diferentes cantidades de lodos granulares (L) en el inóculo EL con 90% de estiércol (E) en presencia de 5% de residuos de frutas y vegetales..... 92
- Figura 7.** Producción acumulada de metano (L kg SV⁻¹) con respecto al tiempo en los cuatro bioreactores (R) en modo de operación semi – continuo, empleando el inóculo EL durante la degradación anaerobia de diferentes porcentajes de residuos de frutas y vegetales (RFV). 93
- Figura 8.** Porcentaje de remoción de la demanda química de oxígeno (DQO) soluble con respecto al tiempo en los cuarto bioreactores (R) en modo de operación semi – continuo empleando el inóculo EL durante la degradación anaerobia de diferentes porcentajes de residuos de frutas y vegetales (RFV). 94
- Figura 9.** Variación del pH con respecto al tiempo en el efluente de los cuatro bioreactores (R) en modo de operación semi - continuo, empleando el inóculo EL para degradar diferentes porcentajes de residuos de frutas y vegetales (RFV) 95

1. Introducción

1.1 Generación de Residuos Sólidos

Los residuos sólidos son desechos orgánicos e inorgánicos generados durante las actividades domésticas, comerciales e industriales de los seres humanos. Se consideran como desechos orgánicos a aquellos que proceden de un origen biológico y que en su mayoría se caracterizan por ser biodegradables. Estos desechos tienen la capacidad de desintegrarse rápidamente para convertirse en otro tipo de materia orgánica (Jaramillo - Henao y Zapata, 2008) tal como son el biogás, el compost y el biol (fertilizante orgánico) (Korato, 2005).

La mayor generación de desechos orgánicos a nivel de Latinoamérica, proviene de tres áreas: agrícola, industria de alimentos, y doméstica. Los residuos sólidos orgánicos se clasifican principalmente por su fuente de generación, y por su naturaleza y/o características físicas. Según su fuente de generación se los puede clasificar en residuos provenientes de calles, residuos institucionales, de origen comercial, residuos de mercados, y residuos domiciliarios. Dependiendo de su naturaleza y/o características físicas, los residuos orgánicos se dividen en: residuos de alimentos, estiércol, restos vegetales, papel y cartón, cuero, plásticos, entre otros (Janulis y Simmonds, 2009).

1.1.1 Generación de Residuos Sólidos en Ecuador

En el año 2002, el Ministerio del Ambiente en colaboración con otras entidades nacionales realizaron un “Análisis Sectorial de Residuos Sólidos en el Ecuador”, en este estudio se obtuvieron datos de la generación per cápita y total de residuos sólidos en ciudades específicas

a nivel nacional. Los resultados obtenidos indicaron que en el país se generan alrededor de 7.423 toneladas de residuos sólidos por día. De este total de residuos generados, el 50.2% corresponde a las ciudades grandes como Santo Domingo y a las ciudades medianas como Riobamba, el 40,3% pertenece a las metrópolis tales como Quito o Guayaquil, y el 9,5% restante a las ciudades pequeñas tales como Tena (OPS, 2002). Según datos de la Asociación de Centralidades del Ecuador (AME), en el año 2009, el 34% de las ciudades en el Ecuador contaron con planes estratégicos de reciclaje y manejo de residuos sólidos, basados principalmente en planes pilotos en comunidades específicas. Del total de basura generada diariamente en el Ecuador, más de la mitad son desechos sólidos orgánicos (58%), 9% papel, 11% plástico, 2% vidrio y aluminio y 8% otros componentes. Los planes de reciclaje se encuentran enfocados específicamente a los residuos de plástico y papel, dejando a los residuos orgánicos que son los de mayor abundancia sin uso ni aprovechamiento (Rubio, 2011).

En el Distrito Metropolitano de Quito (DMQ), la Empresa Metropolitana de Aseo (EMASEO) es la encargada de la recolección de todo tipo de desechos generados por la población. De acuerdo a los datos del año 2008, el promedio diario de recolección en el área total del DMQ fue aproximadamente de 1'500.000 kilos de basura (1.500 t/día). En la Figura 1 se presenta la caracterización de residuos sólidos generados en el Distrito Metropolitano de Quito para el año 2008, más del 60% de basura correspondió a residuos orgánicos, cerca del 13.12% perteneció a desechos plásticos, el 8.15% correspondió a papel, y el 3.27% a vidrio, entre otros. Durante el primer trimestre del año 2010, se registraron valores de generación de residuos sólidos por día en el DMQ similares a los reportados para el año 2008 (EMASEO, 2010).

En la Figura 2 se presentan los mayores generadores de residuos sólidos dentro del DMQ para el mismo año, y se puede apreciar que los domicilios aportaron con un 66.41%, mientras

que los mercados generaron un 5.91%. En el año 2010, la Administración Zonal de Tumbaco determinó la distribución porcentual de los residuos sólidos generados en las 9 parroquias correspondientes: Cumbayá, Tumbaco, Puembo, Pifo, Tababuela, Yaruquí, Checa, El Quinche y Guayllabamba. Como se puede observar en la Figura 3, la parroquia de Tumbaco presentó el porcentaje más alto de generación de residuos con un 29%, seguida de Cumbayá con un 16% (OPS, 2002).

El Distrito Metropolitano de Quito cuenta con 54 mercados y ferias, tanto en el área urbana como en las parroquias (Silva, 2011). Los mercados grandes reciben servicio puntual de recolección de residuos y registro de la cantidad generada (toneladas/día), mientras que en los pequeños se hace recolección general en rutas y el depósito se lo realiza en el centro de recolección. Dentro de los mercados de mayor producción de residuos se encuentra el mercado mayorista Vespertino y el mercado San Roque Vespertino con valores de generación de residuos de 25.9 y 19.54 toneladas/día, respectivamente (Rubio, 2011). Los residuos son recolectados y depositados en centros de acopio, en los cuales minadores (recolectores informales) separan los residuos de plástico, dejando el resto para ser depositado en rellenos sanitarios. Según Mata - Álvarez *et al* (1992), cerca del 90% de los residuos generados en los mercados centrales corresponden a frutas y vegetales.

Adicionalmente, cabe indicar que los habitantes ecuatorianos no están familiarizados con el proceso de diferenciación o clasificación de la basura generada, es debido a esto que menos del 8% de los residuos totales generados llega a ser reciclado (EMASEO, 2010). Según la información publicada por el Departamento de Manejo de Residuos Sólidos del Ministerio de Vivienda (MIDUVI) en el año 2008, en el 63% de los municipios la basura fue arrojada a botaderos, quebradas o ríos causando contaminación ambiental. En estos municipios, tan solo el

20% de residuos fue depositado en rellenos sanitarios, de los cuales solo el 5% cuenta con licencia ambiental (Peñañiel, 2009). En Agosto del año 2011, la EMASEO presentó datos sobre su índice de gestión, en donde se indicó que el programa "Aseo y Reciclaje" implementado por la Administración Zonal de Tumbaco registró altos niveles de reciclaje correspondiente a cartón, plástico y papel, sin embargo no se realizó ninguna actividad de reciclaje o tratamiento relacionada a los residuos sólidos orgánicos (Silva, 2011).

1.2 Problemática de la Generación de Residuos

En Ecuador al igual que en el resto de países latinoamericanos, no existe un sistema adecuado de recolección de residuos, es así que en el país menos del 50% de los residuos colectados son colocados en basureros a cielo abierto o rellenos sanitarios, también conocidos como “landfill”, mientras que el 50% restante no recibe una disposición final adecuada, y en muchos casos regresa a las calles o termina en ríos y lagos (Medina, 1999). La disposición de residuos en basureros a cielo abierto o en landfills representan una serie de amenazas, tanto ambientales como de salud que afectan directamente a la población. Dentro de los landfills pueden generarse olores desagradables, contaminación atmosférica, proliferación de plagas y organismos transmisores de enfermedades, formación de grandes cantidades de lixiviados tóxicos, incendios espontáneos por la producción y acumulación de metano, entre otros (Kirov, 1982). Una de las mayores amenazas de los residuos es la presencia de patógenos y su potencial para transmitir enfermedades. Se han identificado dos grupos de patógenos como los posibles causantes de enfermedades. El primer grupo son los patógenos primarios, los cuales se encuentran comúnmente en los residuos (Lardinois y Klundert, 2003). Bacterias, virus, protozoos y huevos de helmintos pertenecen a este grupo y pueden causar problemas de salud como la

diarrea y la disentería, por la ruta de transmisión fecal – oral (Mims *et al*, 1999). El segundo grupo es el de los patógenos secundarios y está conformado por los microorganismos que se han generado a lo largo del proceso de descomposición de la materia orgánica, los microorganismos identificados son los hongos y las bacterias productoras de ácido. Estos patógenos son de menor impacto que los patógenos primarios; sin embargo, también pueden ser los causantes de infecciones o enfermedades respiratorias en individuos con un sistema inmunológico comprometido (Lardinois y Klundert, 2003).

Los rellenos sanitarios fueron considerados como una solución al problema ambiental y de salud pública a nivel mundial ya que los residuos depositados eran cubiertos con tierra. Sin embargo, después de ciertos estudios realizados en Estados Unidos en el año 2003, se demostró que el 25% de los rellenos sanitarios además de ser una fuente de patógenos contaminaban los acuíferos debido a la generación de lixiviados que se caracterizan por contener principalmente metales pesados tales como plomo, cadmio, mercurio, entre otros que son altamente tóxicos (Breen, 1990). Por ejemplo, en el acuífero Coronel Moldes al norte de Argentina, los residuos depositados en el vertedero central cercano, generaron un aumento significativo en la cantidad de Cl^- , SO_4^{-2} , Na^+ , HCO_3^- , K^+ , Mg^{+2} , NO_3^- , NO_2^- , Si, As, F⁻, Cu y Pb, presentes en el acuífero (Gomez *et al*, 2009). Además de la generación de lixiviados, en los rellenos sanitarios se detectaron emanaciones de gases como el metano, tolueno, y tetracloroetileno, siendo el primero uno de los gases con mayor efecto invernadero y los dos últimos cancerígenos (Breen, 1990). Es por esto que durante la década de los noventa, el manejo integral de los residuos sólidos fue cada vez más importante, el proceso del compostaje y la degradación anaerobia de los residuos almacenados en rellenos sanitarios y bioreactores han sido ampliamente investigados.

El manejo integral de los residuos sólidos orgánicos busca controlar la degradación de la materia orgánica presente, acelerar su estabilización y optimizar la transformación de la misma en metano, para ser utilizado como fuente de energía renovable (Lardinois y Klundert, 2003). Basándose en esto, los países europeos empezaron a explorar el área de la degradación anaerobia, utilizando bioreactores y se conoce que para el año 2003 más de 600 biodigestores de granja estaban ya instalados y en funcionamiento a lo largo de este continente (Monnet, 2003). En países como España, se implementó el uso de biodigestores para el tratamiento de residuos centrales, por ejemplo en año de 1991, se instalaron bioreactores para tratar los residuos del mercado central de distribución Mercabarna en Barcelona. La generación diaria de residuos del mercado fue de aproximadamente 100 toneladas (frutas, vegetales y pescado), para lo cual se implementó una planta de tratamiento de residuos que incluyó dos biodigestores con una capacidad volumétrica de 150 m³ cada uno (Mata - Alvarez *et al*, 1992). En el año 1999 se encontraban en funcionamiento dos biodigestores para el tratamiento de residuos centrales en la ciudad de Uppsala, Suecia. Los biodigestores se instalaron para operar en modo semicontinuo, con agitación constante, y variando su temperatura de funcionamiento de 37° C (mesofílico) a 55°C (termofílico) (Leven *et al*, 2007). Para el año 2001, Alemania se beneficiaba de su amplia experiencia en la implementación de plantas productoras de biogás. En las regiones de Bavaria y Baden - Württemberg se aprovechó el estiércol del ganado de las granjas para ser tratado junto con los desechos orgánicos centrales en biodigestores para la estabilización de la materia orgánica y la obtención de biogás (Fischer *et al*, 2006).

La degradación anaerobia ha demostrado ser más eficiente que otros procesos de tratamiento de residuos orgánicos como son la incineración y el compostaje, en términos de control de proceso, eficiencia, tiempo de operación, y generación de productos de valor agregado

(Deminer y Dogan, 2009). En el caso de la incineración, ésta es considerada como una técnica para la reducción del volumen de residuos, dejando siempre un remanente (cenizas) que necesita ser eliminado. Adicionalmente, las cenizas se dispersan en la atmósfera causando contaminación ambiental. Con esta técnica se logra una reducción entre el 80 y 95% de los residuos, sin la obtención de productos de valor agregado (Zerbock, 2003). En el caso del compostaje, el producto de valor obtenido es un fertilizante proveniente de la materia orgánica degradada. Sin bien es cierto que este fertilizante natural aumenta la capacidad de micro y macro nutrientes del suelo, el proceso de producción requiere de un alto gasto energético para aportar oxígeno al sistema, y además necesita de grandes superficies para funcionar adecuadamente, y adicionalmente se generan emisiones gaseosas contaminantes a la atmósfera (Institute, 2005).

1.3 Utilización de los Residuos Sólidos

En la actualidad, los residuos sólidos debido a su elevado contenido orgánico están siendo utilizados como alimento para animales, compostaje para mejorar la composición de la tierra y fuente de energía renovable a través de la producción de biogás. Las dos primeras opciones son muy conocidas y ampliamente utilizadas por varios años en países en vías de desarrollo. Por ejemplo, en países como Pakistán, el 40% de los residuos orgánicos son recolectados por granjeros y reutilizados como alimento para sus animales o compost. En la región de Latinoamérica y el Caribe, la generación de residuos sólidos orgánicos varía entre el 30 y 60%, y en países como Chile se implementó en el año 2000 un plan de utilización productiva de los residuos orgánicos, y se generó compost para utilizarlo como fertilizante en la agricultura urbana y la jardinería (Ore, 2002). La degradación anaerobia es utilizada para estabilizar la materia orgánica y producir tanto biofertilizantes, como gas combustible, conocido como biogás

que son productos con valor agregado (Lardinois y Klundert, 2003). A partir del año 2007, Argentina cuenta con varias planta de producción de biogás a partir de biodigestores anaerobios, el biogás obtenido se emplea para calefacción, electricidad y necesidades domésticas (Thébaud y Vos, 2009).

1.3.1 Utilización de Residuos Sólidos para Generación de Energía

La degradación anaerobia de los desechos orgánicos generados en mercados centrales constituye en la actualidad una de las mejores alternativas para el tratamiento integral de los residuos sólidos. En ausencia de oxígeno, la materia orgánica es transformada en biogás que es una fuente de energía renovable y en fertilizante de origen biológico (Monnet, 2003).

Durante la digestión, los microorganismos anaerobios degradan la materia orgánica dando como resultado el biogás que es el dióxido de carbono (CO_2) y el metano (CH_4). Estos microorganismos son encontrados por lo general en nichos ecológicos de bajo contenido de oxígeno, como son los pantanos, sedimentos, humedales, y en el tracto intestinal de los rumiantes y ciertos insectos (Rapport *et al*, 2008).

La digestión anaerobia de la materia orgánica se lleva a cabo por un consorcio de microorganismos que trabajan sinérgicamente. Este consorcio está básicamente conformado por un cultivo de microorganismos anaerobios estrictos o facultativos, en una concentración de 10^8 - 10^9 bacterias fermentadoras por mililitro (Deublein y Steinhauser, 2008). El proceso de digestión anaerobia ocurre en cuatro pasos: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis, y metanogénesis (Rapport *et al*, 2008).

- Primera fase (hidrólisis): Los polímeros de proteínas, grasas y carbohidratos son fraccionadas mediante el proceso de hidrólisis, para resultar en aminoácidos, ácidos grasos de cadenas largas y azúcares. La actividad hidrolítica en este proceso es de suma importancia en el tratamiento de residuos con alto contenido orgánico; y puede convertirse en el factor limitante del proceso.
- Segunda fase (acidogénesis): Los productos de la fase anterior son sometidos a un proceso de fermentación durante la acidogénesis, para formar ácidos grasos volátiles de dos, tres, cuatro, y cinco carbonos, tales como el ácido acético, el ácido propiónico, el ácido butírico y el ácido láctico.
- Tercera fase (acetogénesis): En la acetogénesis, los productos del proceso de fermentación son transformados por bacterias en ácido acético, dióxido de carbono, e hidrógeno.
- Cuarta fase (metanogénesis): Por último, los organismos metanógenos consumen el acetato, el hidrógeno y el dióxido de carbono, para producir metano. Esto se da de dos maneras: mediante la separación de dos moléculas de ácido acético, generando como producto dióxido de carbono y metano; o transformando el dióxido de carbono e hidrógeno en metano (Rapport *et al*, 2008; Monnet, 2003).

A lo largo de la primera y segunda fase de la degradación anaerobia se ha identificado a *Clostridium*, *Ruminococcus*, *Eubacterium* y *Bacteroides*, como los microorganismos más comunes dentro de las 58 especies encontradas. En la tercera y cuarta fase de la degradación, las bacterias predominantes dentro del consorcio son las metanogénicas, de las cuales hasta el momento se han identificado 81 especies de 23 géneros (Adhikari, 2006; Deublein y Steinhauser,

2008). Además de los microorganismos específicos para cada fase, se han encontrado bacterias pertenecientes al hábitat del bioreactor en el que ocurre la degradación, como es el caso del *Staphylococo*, peligroso para la salud humana. A lo largo de las cuatro fases del proceso se encuentran involucradas las especies *Acetobacter* y *Eubakterium* en cantidades similares (Deublein y Steinhauser, 2008). En cada una de las fases del proceso de digestión anaerobia se encuentran diferentes tipos de microorganismos, destinados a trabajar de forma sinérgica como característica del consorcio al que pertenecen.

1.4 Bioreactores para Digestión Anaerobia y Sistemas de Operación

Para llevar a cabo el proceso de descomposición de los residuos sólidos orgánicos en un ambiente anaerobio y bajo condiciones controladas, es necesario utilizar un recipiente de reacción, o también conocido como reactor. El reactor debe estar conformado por un tanque hermético, donde principalmente se dará el proceso de fermentación, con un depósito para la formación de biogás. Este sistema debe contar con las siguientes características para poder brindar un funcionamiento adecuado: hermético para evitar fugas de biogás o entrada de aire, técnicamente aislado para evitar cambios bruscos de temperatura, disponer de una válvula de seguridad, contar con acceso para mantenimiento, y poseer un medio para romper las natas que se forman. Adicionalmente, dentro del reactor se deben considerar ciertas condiciones para el rendimiento óptimo de los microorganismos degradadores. Básicamente se deben controlar los siguientes parámetros: temperatura, tiempo de retención, pH, agitación, porcentaje de sólidos y la relación carbono/nitrógeno. Para poder controlar estas condiciones, el biodigestor debe constar de entradas para la alimentación, medición de gas, salida de producto, mangueras, válvulas, conectores, entre otros (Deublein y Steinhauser, 2008; Monnet, 2003).

Existen diversos tipos de bioreactores anaerobios, los cuales son empleados según el proceso de degradación que se desea realizar y el modo de operación. El diseño del reactor tiene un gran efecto sobre el desempeño del proceso de degradación de los residuos orgánicos; y para el caso de la degradación de residuos de frutas y vegetales, se han aplicado procesos de operación batch, continuo de una etapa, continuo de dos etapas, y semicontinuo; junto con metanizadores como es el reactor de agitación continua (Continuos Stirred Tank Reactor (CSTR)), el reactor tubular (Plug Flow Reactor, PFR), el reactor de flujo ascendente (Up - flow Anaerobic Sludge Blanket (UASB)), entre otros (Bouallagui *et al*, 2005). Los sistemas batch se caracterizan por ser alimentados al inicio con sustrato fresco, con o sin adición de inóculo, y permitir que se lleve a cabo todo el proceso de digestión sin interrumpirlo (Monnet, 2003). En los sistemas continuos el reactor es alimentado de forma constante e ininterrumpida y el producto de la digestión es removido del fondo del bioreactor. En los semicontinuos (semi batch), se alimenta el reactor a lo largo de intervalos continuos de tiempo, con remoción simultánea del producto generado (Adhikari, 2006; Mata - Alvarez *et al*, 1992).

En el proceso batch no se llega a conseguir un estado estacionario, mientras que en el proceso continuo, ésta es una condición de operación. Operar un reactor de forma batch presenta varias ventajas y es bastante utilizado en países en vías de desarrollo, debido a: su simplicidad, bajo costo de inversión, bajo consumo de agua, resistencia frente a contaminantes, y buen control del proceso (Bouallagui *et al*, 2005). Sin embargo, la producción de biogás lograda es variable e inestable (Adhikari, 2006). Es por esto que pese a su simplicidad y sus ventajas, los sistemas batch no han tenido éxito en el mercado. Según Bouallagui *et al*, (2005) la eficiencia de la producción de biogás al principio del proceso de digestión de residuos orgánicos, sugiere considerar condiciones semi batch o continuas para este tipo de procesos.

En el caso de los sistemas de operación continua, tanto la alimentación como la remoción de producto se llevan a cabo de forma ininterrumpida. Esto ha presentado dificultades con el medio de suministro del sustrato (bombeo), con lo cual se ha destacado el interés en el uso de sistemas semi - continuos. Adicionalmente, los sistemas continuos requieren de una alta fluidez para un fácil manejo de la materia prima y la remoción del producto final, por lo que este tipo de sistemas son más adecuados para procesar bajas cargas de sólidos. El sistema más conveniente para la degradación de residuos sólidos es el semi – batch ya que este sistema logra un rendimiento regular en la producción de biogás y su operación no es compleja (Adhikari, 2006).

1.5 Productos de la Digestión Anaerobia

Los productos resultantes del proceso de degradación anaerobia pueden ser aprovechados en el mercado y cuentan con valor agregado, como es el caso del biogás (para generación de electricidad) y la materia orgánica digerida (fertilizante para suelos). Para obtener el mayor beneficio de estos productos generados, es necesario someterlos a ciertos procesos de purificación, como es el de la extracción del CO₂ del biogás para la utilización del metano como fuente de energía renovable. Dependiendo del tipo de producto que se desee obtener, difiere el enfoque en ciertos parámetros. Un ejemplo de esto es la variación del contenido total de sólidos en el reactor, para incrementar la generación de biogás (Monnet, 2003). Se ha observado en estudios que el incremento de la cantidad de sólidos alimentados en los reactores causa disminución en la producción de biogás, e incluso inhibición completa de la actividad de las bacterias metanogénicas, por lo tanto se debe controlar este parámetro (Bouallagui *et al*, 2003).

El biogás obtenido de este proceso está compuesto principalmente por metano (55 - 70%) y dióxido de carbono (30 - 45%), conteniendo también varias impurezas y trazas de otros gases. En el Anexo 1 se presenta las descripciones del biogás. Para lograr una composición de biogás deseada, es posible controlar determinados factores que incrementan o disminuyen el porcentaje de gas metano en el mismo. Algunos de estos factores son: la cantidad de átomos de carbono presentes en el sustrato digerido, tiempo prolongado de digestión de la biomasa, homogeneidad en el contenido del reactor, alto contenido acuoso, presión en el reactor, temperatura, preparación del sustrato, entre otros (Deublein y Steinhauser, 2008).

En la presente investigación se diseñó y puso en marcha cuatro bioreactores anaerobios de 4 L para degradar residuos sólidos orgánicos del mercado central de Tumbaco, con el objetivo de generar metano como fuente de energía renovable. Los bioreactores operaron de modo semi - continuo alimentados con diferentes porcentajes de residuos de frutas y vegetales (RFV): 5, 7.5, 10, y 12.5%. Para esto se empleó un inóculo compuesto por 40% de lodos granulares provenientes del biodigestor de una planta de tratamiento de aguas de la ciudad de Quito y 90% (v/v) de estiércol vacuno disuelto. Los cuatro bioreactores fueron alimentados en tres ocasiones a lo largo de 90 días de funcionamiento, en condiciones de agitación constante a una temperatura de $30 \pm 1^{\circ} \text{C}$.

2. Justificación

En Ecuador se generan anualmente 2.71×10^6 toneladas de residuos sólidos, de los cuales más del 60% son residuos orgánicos que se caracterizan por ser fácilmente biodegradables. El manejo integral de residuos sólidos a través del empleo de bioreactores es altamente beneficioso

ya que se reduce significativamente el volumen de los rellenos sanitarios, estabiliza la materia orgánica y adicionalmente produce el biogás y fertilizantes orgánicos.

Con el presente trabajo de investigación se propone dar tratamiento anaerobio a los residuos sólidos de frutas y vegetales generados en el mercado central de Tumbaco, con el objetivo de obtener productos con valor agregado como son el biogás y biofertilizantes, generando información para el manejo integral de residuos orgánicos a nivel de todo el país. Esta información podrá ser utilizada por las instituciones encargadas del tratamiento de los desechos en las ciudades, para disminuir los riesgos ambientales y de salud de la población por la forma precaria de tratar los desechos orgánicos, aprovechar estos residuos como materia prima para la generación de energía renovable (de participación marginal en la matriz energética nacional); y producir fertilizantes de origen orgánico de bajo costo.

3. Objetivo General

Diseñar, poner en marcha y monitorear cuatro bioreactores piloto, de 4 L cada uno, para la degradación de residuos sólidos de frutas y vegetales (RFV) provenientes del mercado central Tumbaco, y obtener como producto el biogás como fuente de energía renovable.

4. Objetivos Específicos

- Establecer el mejor inóculo microbiano para la degradación anaerobia de residuos sólidos de frutas y vegetales (RFV) en base a la caracterización físico-química y biológica de lodos y sedimentos anaerobios.

- Identificar la composición óptima de lodo y estiércol del inóculo EL durante la degradación anaerobia de los residuos sólidos de frutas y vegetales (RFV).
- Determinar las condiciones óptimas en modo de operación batch para el tratamiento de residuos orgánicos.
- Establecer la composición adecuada de los residuos orgánicos provenientes del mercado central de Tumbaco empleando diferentes mezclas de residuos de vegetales y frutas.
- Monitorear la formación de gas metano, pH y los porcentajes de degradación de la materia orgánica en cada uno de los bioreactores anaerobios alimentados con diferentes porcentajes de residuos sólidos de frutas y vegetales (RFV), a lo largo de 90 días de operación.

5. Área de Trabajo

Este trabajo de investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Ingeniería Ambiental (LIA) del Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales (COCIBA) de la Universidad San Francisco de Quito, en el campus de Cumbayá - Quito.

Los inóculos microbianos evaluados fueron obtenidos de la planta de tratamiento de aguas residuales de la Cervecería Nacional CN S.A., del biodigestor del Jardín Botánico del Parque La Carolina en Quito y de la laguna artificial de la Universidad San Francisco de Quito. Los residuos sólidos de frutas y vegetales fueron obtenidos del mercado central de Tumbaco.

6. Materiales

6.1 Inóculos microbianos

- Sedimentos de la laguna artificial del campus de la Universidad San Francisco de Quito (USFQ)
- Lodos granulares del biodigestor de la planta de tratamiento de aguas residuales (PTAR) de la Cervecería Nacional en Cumbayá
- Efluente Biodigestor del Jardín Botánico ubicado en el Parque La Carolina, Quito
- Estiércol vacuno de establo en los alrededores de Cumbayá

6.2 Residuos de frutas y vegetales (RFV)

- Residuos sólidos orgánicos del mercado central de Tumbaco
- Trituradora Proctor Silex (Grupo HB PS, S.A., Polanco, México)

6.3 Medio basal mineral de cultivo (MB)

- NH_4
- KH_2PO_4
- $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
- CaCl_2
- NaHCO_3
- Extracto de levadura

- Solución de elementos traza

6.4 Actividad Máxima Específica Metanogénica

- Botellas de suero de 160 mL
- Tapones de caucho
- Tapas de aluminio
- N₂ (proporcionado por AGA Ecuador)
- Incubadora artesanal (fabricada en el laboratorio)
- Mangueras de 8 mm de diámetro

6.5 Bioensayos de degradación anaerobia de RFV

6.5.1 Bioensayos en modo de operación batch

- Botellas de suero de 160 mL
- Tapones de caucho
- Tapas de aluminio
- N₂ (proporcionado por AGA Ecuador)
- Incubadora artesanal (fabricada en el laboratorio)
- Mangueras de 8 mm de diámetro
- Mezcla triturada de residuos sólidos orgánicos del mercado central de Tumbaco

6.5.2 Bioensayos en modo de operación semi-continuo

- 4 recipientes herméticos de plástico de 4 L
- Manguera afluyente
- Llave efluente
- Manguera medición biogás
- Planchas de agitación Magnetic Stirrer (Oakton, Denver, USA)

6.6 Métodos analíticos

6.6.1 Determinación de Sólidos Suspendidos Totales (SST) y Sólidos Suspendidos Volátiles (SSV)

- Crisoles
- Filtros de microfibra de vidrio 934-AH (Whatman, Piscataway, NJ, USA)
- Horno mufla (Ney Vulcan 3-550, York, PA)
- Horno (40 GC Lab Oven, Chicago, Illinois, USA)

6.6.2 Determinación de la demanda química de oxígeno total (DQO_T) y soluble (DQO)

- Solución de digestión de alto rango compuesta por dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) y ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4) (95 - 97%)
- Solución de ácido sulfúrico concentrado (95 - 97%) con nitrato de plata

- Espectrofotómetro Spectronic 20D+ (Thermo Fisher Scientific Inc. Waltham, MA, USA)
- Centrífuga Spectrafuge 24D (New Jersey, USA)

6.6.3 Medición de metano

- Botellas de suero de 160 mL
- Mangueras de 8 mm de diámetro
- Solución NaOH al 2%
- Tapones de caucho
- Tapas de aluminio

6.6.4 Medición de nitrato

- Electrodo selectivo de nitrato (Thermo Specific Ion Selective Electrode, ISE Orion (Beverly, MA 01915, USA))

6.7 Reactivos para demanda química de oxígeno (DQO), medición de nitrato, y ensayos de actividad máxima específica metanogénica

El dicromato de potasio (99.4%, pureza), hidróxido de sodio ($\geq 99\%$), nitrato de sodio (99.0%, pureza) y nitrato de plata ($\geq 99\%$) se obtuvieron del Laboratorio de Reactivos H.V.O (Quito, Ecuador). El ácido sulfúrico (95-97%) se adquirió de MERCK (Darmstadt, Alemania). El N₂ gas fue entregado por AGA Ecuador (Guayaquil, Ecuador). El acetato de sodio ($\geq 99\%$) y

ftalato ácido de potasio ($\geq 99.95\%$) se obtuvieron de BioXtra, Sigma Aldrich (Illinois, USA). Todos los reactivos se utilizaron en el estado en que se recibieron.

7. Métodos

7.1 Inóculos microbianos

En este proyecto se evaluaron tres diferentes tipos de inóculos anaerobios: sedimentos de la laguna artificial del campus de la Universidad San Francisco de Quito (USFQ), lodos granulares del biodigestor de la planta de tratamiento de aguas residuales (PTAR) de la Cervecería Nacional en Cumbayá (lodos granulares CN) y el efluente del biodigestor del Jardín Botánico ubicado en el Parque La Carolina (lodos biodigestor JB); con el fin de determinar sus características físicas, químicas y biológicas. El mejor inóculo anaerobio evaluado (lodos granulares CN) fue empleado como inóculo microbiano en los bioreactores batch y de operación semi-continuo, junto con estiércol de ganado vacuno. Tanto los sedimentos de la laguna USFQ, como los lodos de los biodigestores fueron evaluados bajo condiciones anaerobias y conservados a una temperatura de 4 °C.

El estiércol de ganado vacuno se utilizó como parte del inóculo microbiano con el objetivo de complementar al lodo anaerobio seleccionado. El estiércol fue recolectado en un establo ubicado frente a la entrada lateral de la Central Hidroeléctrica Cumbayá de la Empresa Eléctrica Quito, y se lo diluyó con agua potable en una relación 1:1. Posteriormente, se lo cernió para remover las partículas grandes y se refrigeró a 4 °C hasta su uso de acuerdo a lo recomendado por Singh, *et al* (2010).

7.2 Residuos de frutas y vegetales (RFV)

Los residuos sólidos orgánicos utilizados como sustrato tanto en los bioensayos batch como en los bioreactores de operación semi-continuo fueron obtenidos del mercado central de Tumbaco ubicado en la Avenida Interoceánica, kilómetro 16 y funciona los días miércoles (6 am - 12 pm) y domingos (6 am - 4 pm), en donde se venden frutas, verduras, legumbres, carnes, granos, flores, entre otros. El mercado cuenta con un total de 148 puestos de venta en promedio, número que varía dependiendo de la cantidad de producción semanal, de los cuales 81 puestos son específicamente para frutas y vegetales. Los desechos fueron recolectados durante los días de feria en ocho ocasiones y se seleccionaron para su empleo en este estudio en base a su abundancia como residuos en los suelos y en los alrededores de los puestos de venta. Una vez colectados fueron caracterizados y posteriormente triturados por separado con una trituradora, hasta conseguir partículas de menos de 5 milímetros de diámetro (Anexo 2). A continuación se realizó una mezcla de RFV compuesta en peso por: manzana (15%), lechuga (25%), pimiento (20%), tomate riñón (25%), y hojas de col (15%).

7.3 Medio basal mineral de cultivo (MB)

El medio basal mineral (MB) utilizado en los ensayos de actividad metanogénica estuvo compuesto (en mg L^{-1}) por: NH_4Cl (280); KH_2PO_4 (250); $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (100); CaCl_2 (10); NaHCO_3 (3000); extracto de levadura (50); 1 mL L^{-1} de solución de elementos traza. Durante los ensayos de actividad metanogénica se suministró acetato (en mg L^{-1}): $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (5312.5). La solución de elementos traza estaba compuesta (en mg L^{-1}) por: H_3BO_3 (50), $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (2,000), ZnCl_2 (50), MnCl_2 (32), $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (50), AlCl_3 (50), $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

(2,000), $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (50), $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (44), $\text{NaSeO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (100), EDTA (1,000), resazurina (200) y 1 mL L^{-1} de HCl 36% (Ochoa-Herrera *et al*, 2009). Para los bioensayos de degradación anaerobia de RFV batch y los bioreactores de operación semi - continua se empleó el mismo medio basal mineral utilizando los RFV como sustrato en lugar del acetato de sodio. El pH del medio se ajustó entre 7.1 - 7.3 añadiendo NaOH o HCl, según lo requerido.

7.4 Actividad Máxima Específica Metanogénica

Para la determinación de la actividad máxima específica metanogénica de cada inóculo microbiano evaluado en este estudio se emplearon botellas de suero (vidrio) de 160 mL, selladas con tapones de caucho y tapas de aluminio. En cada botella se colocó el medio basal mineral (MB): 50 mL para sedimentos o lodos granulares CN, y 40 mL para los lodos efluentes del biodigestor del Jardín Botánico; inóculo microbiano: 10% v/v de los sedimentos de la laguna artificial, o 20% de lodos granulares CN y lodos biodigestor JB. El sustrato donador de electrones en los bioensayos de actividad metanogénica fue el acetato (2.5 g de demanda química de oxígeno-acetato por litro ($\text{g DQO-acetato L}^{-1}$)), y para conseguir una atmósfera con condiciones anaerobias se suministró N_2 durante dos minutos. Todas las botellas fueron colocadas en una incubadora artesanal (elaborada en el laboratorio) a una temperatura de 30 ± 2 °C, se monitoreó la generación de metano por desplazamiento de líquido durante períodos de tiempo comprometidos entre 3 y 5 días, y la actividad máxima específica metanogénica se expresó en mg de demanda química de oxígeno-metano por g de sólidos suspendidos volátiles por día ($\text{mg DQO-CH}_4 \text{ g SSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$) y se obtuvo a partir de la pendiente de la curva de generación acumulada de metano con respecto al tiempo. Todos los ensayos se realizaron por

duplicado. La tasa de producción acumulada de metano para los ensayos batch y en modo de operación semi-continuo se calculó a partir de la pendiente de la curva de generación acumulada de metano con respecto al tiempo y se expresó en litros de metano generados por kilogramo de sólidos volátiles por día ($\text{L CH}_4 \text{ kg SV}^{-1} \text{d}^{-1}$).

7. 5 Bioensayos de degradación anaerobia de RFV

7.5.1 Bioensayos en modo de operación batch

La composición óptima del inóculo EL formado por lodo y estiércol vacuno se determinó en bioensayos batch bajo condiciones de operación anaerobias. En estos bioensayos se emplearon botellas de suero (vidrio) de 160 mL de capacidad, en donde se colocó medio basal mineral (MB) (75% v/v), inóculo microbiano previamente preparado (20% v/v), y residuos sólidos de frutas y vegetales (RFV) triturados (5% v/v). El inóculo microbiano empleado estuvo compuesto de lodos granulares CN (L), estiércol vacuno diluido (E), y agua. A lo largo de los bioensayos se evaluaron diferentes mezclas de estiércol y lodo granular CN, así como también condiciones físicas de operación como el efecto de la agitación (Anexo 3). Los porcentajes de lodo granular CN (L) en peso evaluados para determinar la mejor composición del inóculo microbiano fueron: 10, 20, 30 y 40%, mientras que la cantidad de estiércol vacuno (E) varió entre 25, 50 y 90% (v/v). Los bioensayos fueron analizados por duplicado y triplicado. Los controles abióticos (ausencia de microorganismos) control lodo (ausencia de estiércol) y control estiércol (ausencia de lodo) fueron realizados en paralelo. La producción acumulada de metano en presencia de residuos de frutas y vegetales fue expresada en litros de metano generado por kilogramo de sólidos volátiles agregado ($\text{L CH}_4 \text{ kg SV}^{-1}$).

7.5.2 Bioensayos en modo de operación semi-continuo

Una vez determinada la concentración óptima del inóculo EL compuesto por lodos granulares CN (L) y estiércol vacuno diluido (E), se procedió a utilizar bioreactores en modo de operación semi - continuo con el fin de determinar el porcentaje de mezcla adecuado de residuos sólidos de frutas y vegetales (RFV) a degradarse. Para esto se emplearon cuatro bioreactores, recipientes herméticos de plástico con capacidad volumétrica de 4 L. Cada bioreactor fue diseñado con características específicas para su correcto funcionamiento tales como: manguera de entrada (afluente), llave de salida (efluente), y manguera para medición de biogás (Anexo 4 y 5). Los bioreactores fueron sellados herméticamente con teflón, silicona y tape para evitar fugas de biogás y mantener condiciones anaerobias. En cada uno de los reactores se colocó la misma cantidad de inóculo microbiano (20% v/v), medio basal mineral (MB), agua destilada, y residuos sólidos triturados de frutas y vegetales (RFV).

El porcentaje de residuos sólidos en peso a ser degradado bajo condiciones anaerobias varió en cada reactor y fue de 5, 7.5, 10, y 12.5% y fueron monitoreados por un período de 90 días. Durante las alimentaciones posteriores se añadió la cantidad correspondiente de RFV y 500 mL de estiércol diluido. La primera alimentación se realizó al arranque de los biorreactores - período I, la segunda alimentación en el día de operación 43 – período II y la tercera alimentación en el día 64 – período III. En los períodos I y III se alimentó la mezcla de RFV en las cantidades predeterminadas de cada bioreactor incluyendo estiércol disuelto como parte de la alimentación, mientras que en el período II se alimentó únicamente con la mezcla RFV. Los tiempos de digestión de cada período fueron 20, 6 y 13 días, respectivamente.

Los reactores fueron ubicados sobre planchas de agitación, con agitadores magnéticos. Para lograr una atmosfera anaerobia se inyectó N₂ durante 4 minutos, y los bioreactores se

colocaron dentro de la incubadora hecha en casa a 30 ± 2 °C. La producción de metano fue monitoreada de forma periódica a través del método de desplazamiento de líquidos (Metcalf & Eddy, 2003) (Anexo 6), en intervalos de 24 horas. La tasa de producción acumulada de metano, pH efluente, tasa de remoción de DQO soluble, concentración de nitrato, y porcentaje SV/ST en los bioreactores (R) se determinaron para cada uno de los períodos de operación I, II y III.

7.6 Métodos analíticos

7.6.1 Determinación de Sólidos Suspendidos Totales (SST) y Sólidos Suspendidos Volátiles (SSV)

Los sólidos suspendidos totales (SST) y volátiles (SSV), fueron determinados por el método de crisoles y de filtros de acuerdo a protocolos estandarizados para muestras ambientales descritos en Métodos Normalizados para el Análisis de Agua Potable y Residual (APHA, 1998). El método de crisoles fue utilizado para los lodos granulares CN y los sedimentos de la laguna artificial, mientras que el método de filtros se empleó para caracterizar los lodos efluentes del biodigestor JB. Para la determinación de SST y SSV por crisoles, se colocaron los crisoles vacíos en el horno mufla a 550 °C por una hora para eliminar todos los residuos presentes. Una vez limpios los crisoles, se pesó la cantidad de lodo deseada (10 g), siendo esta la masa del lodo húmedo (m_{lh}). Posteriormente, se colocaron los crisoles con el lodo húmedo en el horno a 105 °C durante toda la noche. Al siguiente día se registró la masa de lodo seco (m_{ls}). A continuación el lodo contenido en los crisoles fue sometido a un proceso de pre - calcinación dentro de una sorbona, para remover los compuestos de azufre formados durante la combustión de la materia orgánica. Los crisoles pre - calcinados se colocaron en el horno mufla a una temperatura de 550

°C durante tres horas. Posteriormente los crisoles fueron removidos de la mufla y se los dejó enfriar y se procedió a pesarlos, así obteniendo la masa de la ceniza (m_c). En el caso de los RFV, los sólidos totales (ST) y sólidos volátiles (SV) fueron obtenidos empleando el mismo protocolo con crisoles descrito previamente para SST y SSV de inóculos microbianos.

El método de filtros se aplicó para los inóculos líquidos, como fue el caso de los lodos efluentes del biodigestor JB, empleando 15 mL de muestra y filtros de microfibra de vidrio (diámetro 4 cm, tamaño de poro 1.2 μm). Los filtros fueron pesados antes de agregar el inóculo microbiano. El inóculo fue filtrado al vacío para determinar el contenido de sólidos suspendidos totales y a continuación los filtros húmedos se sometieron a un proceso de evaporación a 105 °C durante toda la noche, y al siguiente día se determinó la masa del lodo seco (m_{ls}). Posteriormente, los filtros con el inóculo seco se colocaron en el horno mufla a 550 °C durante tres horas, se los dejó enfriar, y se obtuvo el peso de la ceniza (m_c).

Para calcular los sólidos suspendidos totales (SST), los sólidos suspendidos volátiles (SSV) y la cantidad de cenizas presentes en los diferentes inóculos microbianos se emplearon las ecuaciones 1 y 2.

$$\%SST = \frac{m_{ls}}{m_{lh}} \times 100$$

(Ec. 1)

$$\%SSV = \frac{m_{ls} - m_c}{m_{lh}} \times 100$$

(Ec. 2)

7.6.2 Determinación de la demanda química de oxígeno total (DQO_T) y soluble (DQO)

La determinación de la demanda química de oxígeno (DQO) es un método colorimétrico por medio del cual se establece la cantidad de oxígeno requerida para degradar químicamente la materia orgánica de una muestra en presencia de un agente oxidante fuerte como el dicromato de potasio en medio ácido. La determinación de la DQO se realizó en base a protocolos estandarizados descritos en Métodos Normalizados para el Análisis de Agua Potable y Residual (APHA, 1998). En esta prueba se utilizó una solución de digestión de alto rango, compuesta por dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) y ácido sulfúrico concentrado, y una solución de ácido sulfúrico concentrado con nitrato de plata en una relación de 6 g $AgNO_3$ por kg H_2SO_4 . En cada tubo de ensayo se colocaron los reactivos y la muestra en el siguiente orden: 2.5 mL de muestra, 1.5 mL de solución de digestión, y 3.5 mL de ácido sulfúrico. Las mezclas fueron sometidas a un proceso de digestión a una temperatura de 150°C durante dos horas.

Una vez concluido el proceso de digestión, 4 mL de la muestra se colocaron en un tubo de ensayo y se determinó la absorbancia a una longitud de onda de 600 nm en el espectrofotómetro. Para establecer la demanda química de oxígeno total (DQO_T) se empleó una curva de calibración utilizando estándares de ftalato ácido de potasio (KHP) con valores de 50, 100, 250, 500, 750 y 1000 mg $O_2 L^{-1}$. Dichos estándares se prepararon mediante diluciones en volumen, a partir de una solución madre de KHP de 1000 mg $O_2 L^{-1}$. La demanda química de oxígeno soluble (DQO) se obtuvo sometiendo la muestra a un proceso de centrifugación durante 10 minutos a 10.000 rpm en la centrífuga, y en el caso de ser necesario se diluyó la muestra de modo que se encuentre dentro del rango de los estándares de KHP. Todas las muestras se midieron por duplicado. En el Anexo 7 se presenta la curva de calibración en donde se representa

la relación lineal entre la absorbancia y la concentración de KHP en los estándares utilizados. Los resultados de demanda química de oxígeno de las muestras analizadas fueron obtenidos a partir de los estándares de KHP.

En los bioreactores en modo de operación semi-continuo, la tasa de remoción de DQO soluble se calculó a partir de la pendiente de la curva de porcentaje de remoción de DQO con respecto al tiempo para cada período y se expresó en porcentaje de remoción de DQO por día (% remoción DQO d⁻¹).

7.6.3 Medición de metano

En todos los bioensayos anaerobios realizados a lo largo de este estudio, se midió el volumen del gas metano producido mediante el método de desplazamiento de líquido (Metcalf & Eddy, 2003). La botella de suero de 160 mL (bioensayo anaerobio) se conectó por medio de una manguera y una aguja a otra botella de suero invertida completamente llena con una solución de NaOH al 2%, sellada con tapón de caucho y tapa de aluminio. El biogás (compuesto por dióxido de carbono y metano) generado durante el bioensayo entró en contacto con el hidróxido de sodio de la botella invertida. El CO₂ en el biogás en presencia del NaOH reaccionó convirtiéndose en bicarbonato y fue absorbido; mientras que el segundo componente del biogás, el metano generado, desplazó al hidróxido de sodio a través de una segunda aguja direccionada hacia un recipiente recolector. El volumen de NaOH desplazado correspondió a la cantidad de metano generada en el bioensayo y ésta fue expresada como la actividad máxima específica metanogénica en g CH₄-DQO g⁻¹ SSV d⁻¹.

7.6.4 Medición de nitrato

La medición de nitrato (NO_3^-) en los bioreactores en modo de operación semi-continuo se realizó empleando un electrodo selectivo de nitrato. Para determinar la cantidad de nitrato presente en cada uno de los reactores, se tomaron muestras de 10 mL. Primero se realizó una curva de calibración con estándares de nitrato, con valores de 5, 25, 50, 75, y 100 mg L^{-1} , versus el potencial registrado en mili voltios. A continuación se procedió a determinar el potencial de la muestra en mili voltios. Tanto en los estándares como en las muestras se utilizó 0.2 mL de solución ISA por cada 10 mL de muestra para ajustar la fuerza iónica.

8. Resultados

8.1 Caracterización de inóculos microbianos

En este trabajo de investigación se caracterizaron lodos y sedimentos anaerobios con el objetivo de identificar el de mejores características para ser empleado durante la biodigestión de residuos sólidos de frutas y vegetales (RFV) provenientes del mercado central de Tumbaco. La caracterización físico - química de los inóculos evaluados se realizó en base a la determinación de pH, sólidos suspendidos totales (SST), sólidos suspendidos volátiles (SSV), cenizas, y demanda química de oxígeno (total y soluble), utilizando la metodología descrita previamente en la sección 7.6. La actividad máxima específica metanogénica de los diferentes lodos y sedimentos se determinó de acuerdo a los protocolos descritos en las secciones 7.4 y 7.6.3.

En la Tabla 1 se presentan los resultados de la caracterización física - química de los lodos y sedimentos evaluados en este estudio. En esta caracterización se midió el pH de cada uno de los inóculos, obteniendo valores cercanos a 7 en todos los casos. Los lodos granulares CN registraron un pH de 7.27, los lodos del biodigestor JB registraron un pH de 6.96 y, los sedimentos de la laguna artificial un valor de 7.83.

Se determinó la cantidad de sólidos, biomasa y las cenizas presentes en cada inóculo microbiano por medio de la cuantificación de los sólidos suspendidos totales (SST), sólidos suspendidos volátiles (SSV) y cenizas, respectivamente. Los sedimentos de la laguna artificial registraron el valor más alto de sólidos suspendidos totales con $10.01 \text{ (g L}^{-1}\text{)}$, seguidos por los lodos granulares CN con $7.90 \text{ (g L}^{-1}\text{)}$, y por último con el valor más bajo los lodos del biodigestor JB con $3.42 \text{ (g L}^{-1}\text{)}$. Los lodos granulares obtenidos del biodigestor de la Cervecería Nacional (CN), son los que mayor cantidad de sólidos suspendidos volátiles (SSV) contienen por unidad de volumen, con un valor de $7.32 \text{ (g L}^{-1}\text{)}$. Mientras que los lodos del biodigestor del Jardín Botánico (JB), y los sedimentos de la laguna artificial USFQ contienen un valor bajo de SSV de, 2.71 y $1.08 \text{ (g L}^{-1}\text{)}$, respectivamente. La relación de sólidos suspendidos volátiles, con respecto a los sólidos suspendidos totales fue de 92.7% para los lodos granulares CN, 79.4% para los lodos del biodigestor JB, y un valor bajo de 10.8% para los sedimentos de la laguna artificial.

Los lodos del biodigestor JB registraron la mayor demanda química de oxígeno (DQO) total y soluble, 5037.67 y $1685.91 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$, respectivamente. La DQO total y soluble de los lodos granulares CN fue 962.90 y $360.55 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$; mientras que la DQO total y soluble de los sedimentos de la laguna artificial registró valores bajos de 228.60 y $186.51 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$, respectivamente. La caracterización biológica de los inóculos obtenidos, se determinó en base a la actividad máxima específica de generación de metano de acuerdo al protocolo descrito en la

sección 7.4. Brevemente, la actividad metabólica de los metanógenos que utilizan acetato se determinó en bioensayos batch en presencia de medio basal mineral con 2.5 g DQO-acetato L⁻¹ a 30° C.

La Figura 4 presenta la producción acumulada de metano expresada en moles de metano con respecto al tiempo de los tres inóculos microbianos evaluados. En esta gráfica se observan las curvas de producción de metano de los microorganismos presentes en los lodos granulares CN, lodos del biodigestor JB y sedimentos laguna artificial en relación con el control abiótico (ausencia de microorganismos). La generación de metano en el control se consideró despreciable, mientras que en los inóculos microbianos la producción de metano aumentó con respecto al tiempo. Estos resultados indican que son los microorganismos los responsables de la generación de metano a partir de un sustrato donador de electrones, como es en este caso el acetato.

La actividad máxima específica de generación de metano se calculó a partir de la pendiente de la curva de generación acumulada de metano con respecto al tiempo y se expresó en mg DQO-CH₄ g SSV⁻¹ d⁻¹. En la Tabla 2 se presentan las actividades máximas específicas de generación de metano, siendo los lodos del biodigestor JB los que mayor valor reportaron, 121.64 mg DQO-CH₄ g SSV⁻¹ d⁻¹. La comunidad bacteriana de los otros dos inóculos analizados alcanzaron niveles de producción de metano menores. En el caso de los metanógenos presentes en los lodos granulares CN, la actividad máxima específica de generación de metano fue 89.03 mg DQO-CH₄ g SSV⁻¹ d⁻¹ mientras que los microorganismos de la laguna artificial registraron una producción de 67.15 mg DQO-CH₄ g SSV⁻¹ d⁻¹. En base a la caracterización físico-química y biológica de los lodos y sedimentos analizados, se estableció que el mejor inóculo microbiano para ser utilizado en los bioensayos posteriores fue el de los lodos granulares CN (L).

En el presente trabajo también se evaluó el efecto de la adición de estiércol vacuno a los lodos granulares CN en términos de la producción de metano. La actividad máxima específica de generación de metano se estudió en bioensayos batch con inóculos microbianos compuestos de lodos granulares CN y porcentajes en volumen de estiércol vacuno disuelto en aumento en presencia de acetato y medio basal mineral. Se identificó al bioensayo con mayor porcentaje de estiércol vacuno disuelto como el de mejor producción de metano.

En la Figura 5 se presentan las curvas de producción acumulada de metano con respecto al tiempo para los diferentes bioensayos evaluando el efecto del estiércol en el inóculo microbiano. Los bioensayos contienen: a) inóculo compuesto de 1.5 g SSV L⁻¹ de lodos granulares CN (10% lodo granular CN) y porcentajes de estiércol vacuno disuelto en aumento, b) 2.5 g DQO-acetato L⁻¹ y c) medio basal mineral. Los tratamientos incluyen: Tratamiento 1, 2 y 3 con 25, 50 y 90% de estiércol disuelto con 10% lodo CN, respectivamente. Adicionalmente, se realizaron controles que incluyen: control lodo: 10 % lodos granulares CN y control estiércol: 90% (v/v) de estiércol disuelto. En la Figura 5 se puede observar que los tratamientos al incluir estiércol disuelto como componente del inóculo microbiano, alcanzan una mayor generación de metano con respecto al tiempo, mientras que los controles presentan una baja producción de dicho gas durante los primeros 20 días de tratamiento. En el caso del control estiércol, la generación de metano después de 40 días de tratamiento registró valores similares a aquellos obtenidos en el Tratamiento 2 (50% de estiércol y 10% lodo granular CN).

La actividad máxima específica de generación de metano en los diferentes bioensayos se encuentra resumida en la Tabla 2. El tratamiento con mejores resultados en cuanto a la producción de CH₄ utilizando acetato como donador de electrones fue el Tratamiento 3 en el que el inóculo estuvo compuesto de 10% de lodos granulares CN y 90% (v/v) de estiércol vacuno

disuelto, con un valor de 119.12 mg DQO-CH₄ g SSV⁻¹ d⁻¹. Los tratamientos con 25 y 50% (v/v) de estiércol disuelto registraron 36.54 y 101.33 mg DQO-CH₄ g SSV⁻¹ d⁻¹, respectivamente. La actividad máxima específica metanogénica de los tratamientos se calculó empleando el valor de los SSV de los lodos granulares CN (Tabla 1). En los controles utilizados en este estudio, se alcanzaron valores de generación de metano menores en comparación a los obtenidos en el Tratamiento 3.

8.2 Caracterización de Residuos de Frutas y Vegetales

La Tabla 3 resume la cantidad de puestos de venta de frutas y vegetales, aquellos con residuos sólidos en sus alrededores, y el tipo de residuos generados con más frecuencia durante los días de feria en el mercado de Tumbaco. Los datos de la Tabla 3 indican que más de la mitad de los puestos de venta de frutas y vegetales son generadores de residuos siendo los de mayor generación: tomate riñón, pimiento, lechuga, col y manzana.

Los análisis físico - químicos de la mezcla de residuos de frutas y vegetales (RFV) y de cada uno de sus componentes se encuentran resumidos en la Tabla 4. La mezcla RFV se compuso de los residuos más generados en el mercado, con los siguientes porcentajes en peso: manzana (15%), tomate riñón (25%), lechuga (25%), pimiento (20%) y hoja de col (15%). El pH de las frutas y vegetales presentes en la mezcla de RFV se encuentra entre 4.2 y 6.5, la manzana es el fruto con pH más bajo (4.23) y la col con el valor más alto (6.53), siendo el pH de la mezcla de RFV 4.97. Los sólidos totales (ST) y volátiles (SV) de los componentes de la mezcla oscilaron entre 3 y 7 g L⁻¹, con excepción de la manzana que registró 12.74 y 12.13 g L⁻¹ de ST y SV, respectivamente. La mezcla de RFV registró un valor de 7.27 g L⁻¹ de SV y 7.95 g L⁻¹ de ST,

y la humedad fue del 92.05%. La relación de la cantidad de sólidos volátiles, con respecto al valor de sólidos totales en la mezcla de RFV fue de 91.4%. Finalmente, la demanda química de oxígeno soluble (DQO) y total (DQO_T) fue 93.70 y 210.19 mg O₂ L⁻¹.

8.3 Bioensayos de degradación anaerobia de Residuos de Frutas y Vegetales

8.3.1 Bioensayos en modo de operación batch

Una vez demostrada la influencia positiva del estiércol como componente del inóculo microbiano en presencia de acetato, se llevó a cabo otro bioensayo con los mismos tratamientos evaluados previamente pero utilizando en este caso la mezcla de residuos sólidos RFV (5%) como sustrato en lugar de acetato (sección 7.2). El objetivo de estos bioensayos en modo de operación batch fue determinar la composición adecuada del inóculo EL (estiércol-lodo) durante la degradación anaerobia de RFV. La composición del inóculo EL se evaluó a través de la producción acumulada de metano expresada en L CH₄ kg SV⁻¹ con respecto al tiempo en días en bioensayos batch, los tratamientos incluyeron inóculo compuesto de 1.5 g SSV L⁻¹ equivalente a 10% lodos granulares CN (L) y diferentes porcentajes de estiércol vacuno disuelto (E) (10%L + 25% E, 10%L + 50%E, 10%L + 90%E) en presencia de 5% de mezcla de RFV y medio basal mineral. Los controles incluyeron control lodo: inóculo compuesto de 10% de lodos granulares CN sin estiércol y control estiércol: inóculo compuesto 90% (v/v) de estiércol disuelto. En la Tabla 5 se presenta el porcentaje de degradación, la tasa de producción acumulada de metano expresada en L CH₄ kg SV⁻¹ d⁻¹ y el tiempo de digestión de los diferentes bioensayos realizados. El tratamiento con mayor generación de metano a partir de RFV a lo largo de 35 días de

operación fue el mismo que el del bioensayo anterior con acetato, con inóculo compuesto de 10% lodo granular CN y 90% (v/v) estiércol disuelto, $39.09 \text{ L CH}_4 \text{ kg SV}^{-1} \text{ d}^{-1}$.

Con los resultados obtenidos de los dos primeros bioensayos batch se determinó que el porcentaje óptimo de estiércol a combinarse con los lodos granulares CN en la composición del inóculo EL fue 90% (v/v). Partiendo de esta información, se realizó un bioensayo adicional manteniendo el porcentaje de estiércol constante y variando la cantidad de lodos granulares CN (L) en el inóculo EL durante la degradación anaerobia de 5% de RFV. En la Figura 6 se presentan las curvas de producción acumulada de metano expresadas en L kg SV^{-1} con respecto al tiempo en los tratamientos evaluados que incluyen: diferentes concentraciones de lodos granulares CN (L) en el inóculo EL: 10, 20, 30 y 40 % equivalentes a T10%L + 90%E, T20%L + 90%E, T30%L + 90%E y T40%L + 90%E, respectivamente y tres controles, control estiércol: 90% v/v estiércol, control lodo: 10% L y control abiótico: ausencia de microorganismos. Después de 25 días de degradación, la tasa de producción acumulada de metano en los diferentes tratamientos varió entre 39.56 a $44.18 \text{ L CH}_4 \text{ kg SV}^{-1} \text{ d}^{-1}$. El tratamiento con la tasa de producción de metano más alta reportada fue aquel en el que inóculo contenía 20% de lodo con 90% de estiércol alcanzando un valor máximo de $44.18 \text{ L CH}_4 \text{ kg SV}^{-1} \text{ d}^{-1}$. A continuación le siguen los tratamientos cuyo inóculo contiene 30 y 40% de lodo + 90% E con una tasa de producción acumulada cercana entre ellos de aproximadamente $42.1 \text{ L CH}_4 \text{ kg SV}^{-1} \text{ d}^{-1}$. Finalmente, se encuentra el tratamiento en el que el inóculo contiene de 10% de lodo + 90% E con una tasa de $39.6 \text{ L CH}_4 \text{ kg SV}^{-1} \text{ d}^{-1}$ (Tabla 5). Estos resultados indican que la tasa de producción acumulada de metano no cambió con un incremento de lodo en el inóculo como se esperaba, con lo cual se pueden sugerir problemas de transferencia de masa durante el proceso estudiado.

Los parámetros de operación bajo los cuales se llevan a cabo los procesos biológicos son de suma importancia, y en este trabajo de investigación se hizo énfasis en evaluar el efecto de la agitación con el fin de reducir problemas de transferencia de masa. Se realizó un bioensayo final batch con el objetivo de comparar la cantidad de metano generado por el inóculo compuesto de 20% lodo y 40% con 90% (v/v) estiércol disuelto con agitación. Los resultados muestran que el tratamiento con inóculo compuesto de 40% lodo y 90% (v/v) estiércol, bajo condiciones de agitación registró una tasa de producción acumulada de metano 2.2 veces mayor que el mismo tratamiento sin agitación y en el tratamiento con 20% lodo y 90% (v/v) de estiércol la tasa de producción de metano con agitación fue 1.3 veces mayor que aquella sin agitación (Tabla 5).

En base a estos resultados se estableció la combinación óptima de componentes en el inóculo EL (40% L y 90% E), y las condiciones de agitación requeridas para su funcionamiento, con el fin de utilizarse en los bioensayos de modo de operación semi - continuo. La caracterización físico - química y biológica del inóculo EL se presenta en la Tabla 6, donde se obtuvo una tasa de producción acumulada de metano de $12020.41 \text{ L CH}_4 \text{ kg SV}^{-1} \text{ d}^{-1}$, la cual es mayor a la de los lodos de biodigestor del Jardín Botánico (inóculo con mayor actividad metanogénica registrada) por un factor de 9.8. El pH fue 7.68 y se encuentra dentro del rango óptimo.

8.3.2 Bioensayos en modo de operación semi-continuo

En la presente investigación se evaluó la eficiencia de degradación de los residuos de frutas y vegetales (RFV) provenientes de un mercardo, bajo condiciones anaerobias en modo de operación semi-continuo. El objetivo de estos bioensayos fue determinar el porcentaje de mezcla

adecuado de residuos sólidos de frutas y vegetales (RFV) a degradarse en base a la tasa de gas metano generado ($\text{L CH}_4 \text{ kg SV}^{-1}\text{d}^{-1}$).

Cuatro bioreactores (R) de 4L en modo de operación semi – continuo fueron estudiados empleando el inóculo previamente elaborado EL, en presencia de diferentes porcentajes de mezcla de RFV en peso (5, 7.5, 10 y 12.5%). En la Tabla 7 se presenta la composición del inóculo EL utilizada en cada uno de los bioreactores, en las cantidades proporcionales al volumen de trabajo (VT) que fue de 3L. El porcentaje de mezcla RFV alimentado en cada bioreactor, junto con el medio basal mineral utilizado y el inóculo EL se encuentran resumidos en la Tabla 8. Aquí se puede ver que en los cuatro bioreactores se colocó la misma cantidad de inóculo (600 g) para degradar diferentes cantidades de residuos sólidos.

La Figura 7 presenta la producción acumulada de metano con respecto al tiempo para cada bioreactor en presencia de diferentes porcentajes de RFV empleando el inóculo EL. El desempeño de los bioreactores se monitoreó en función de la generación de metano, el pH del efluente, la remoción de la demanda química de oxígeno soluble (DQO), y la concentración de nitratos. La agitación y la temperatura se mantuvieron constantes a lo largo del estudio. En la Tabla 9 se presenta la tasa de producción acumulada de metano, pH efluente, tasa de remoción de DQO soluble, concentración de nitrato, y porcentaje SV/ST en los bioreactores (R) en los períodos de operación I, II y III. Aquí se puede ver como la generación acumulada de metano en los bioreactores varió con el tiempo para cada período. En términos generales, los bioreactores con 5 y 7.5% de mezcla RFV son los que mayor cantidad de metano acumulado registraron a lo largo de los 3 períodos de operación. En el período I correspondiente al arranque de los reactores, en el bioreactor de 5% la tasa de producción acumulada de metano fue de $62.25 \text{ L CH}_4 \text{ kg SV}^{-1} \text{ d}^{-1}$, seguido por el de 7.5% con una tasa de $34.0 \text{ L CH}_4 \text{ kg SV}^{-1} \text{ d}^{-1}$. Los bioreactores de

10 y 12.5% de alimentación alcanzaron tasas de generación acumulada de metano de 20.17 y 16.49 L CH₄ kg SV⁻¹ d⁻¹, respectivamente.

En los períodos II y III se observó la misma tendencia, el bioreactor de 5% registró la mayor tasa de producción acumulada de metano, seguido por el bioreactor de 7.5%, el bioreactor de 10% y finalmente el de 12.5% RFV (Tabla 9). Cabe indicar que en el período II en donde se alimentó únicamente la mezcla de RFV, los cuatro bioreactores registraron la producción acumulada de metano más baja. En este período, las tasas de producción acumulada de metano para los bioreactores de 5, 7.5, 10 y 12.5% disminuyeron por un factor 1.7, 5.5, 2.5 y 1.7, respectivamente en relación al período I. En el período III correspondiente a la tercera alimentación de RFV con estiércol diluido, el comportamiento de los bioreactores varió. En los bioreactores de 5 y 7.5 % RFV, la tasa de producción acumulada de metano aumentó con respecto al período II pero no se lograron alcanzar los valores registrados en el período I. En el caso de los bioreactores de 10 y 12.5 % RFV, la tasa de producción acumulada de metano aumentó con respecto al período II e incluso se alcanzaron los mismos valores obtenidos en el período I.

Adicionalmente a la generación de metano en los bioreactores, también se monitoreó periódicamente la demanda química de oxígeno soluble (DQO) en el efluente de cada uno de ellos para obtener los respectivos porcentajes de remoción. La Figura 8 presenta el porcentaje de DQO soluble removido con respecto al tiempo, monitoreado durante la degradación de los residuos de frutas y vegetales (RFV) alimentados a lo largo de 90 días de operación semi - continua. La tasa de remoción de la DQO soluble en cada uno de los bioreactores, se calculó a partir de la pendiente de la curva de porcentaje de remoción de DQO con respecto al tiempo para cada período y se encuentran resumidos en la Tabla 9. Las tasas de remoción de DQO en los

cuatro bioreactores disminuyeron en el período II con respecto al período I. La misma tendencia de disminución se observó en el período III con respecto a los períodos anteriores para los bioreactores evaluados en este trabajo.

La Figura 9 ilustra la fluctuación del pH en el efluente de los bioreactores con respecto al tiempo. Los valores de pH registrados a lo largo de los 90 días de operación se encuentran en un rango entre 5.98 y 8.39. Entre los días 9 y 65 de funcionamiento de los reactores, el pH se mantuvo con valores cercanos a 7 y 7.5 y, a partir del día 72 empezó a oscilar entre 7.5 y 8. La alimentación de la mezcla de RFV con estiércol disuelto en los reactores no ocasionó mayores alteraciones en el pH. En el período I se registraron valores menores a 7 durante la primera semana de operación en los cuatro bioreactores. En el día 9, el pH aumentó manteniendo valores cercanos al a 7.01 y 7.23. El pH promedio de los cuatro bioreactores en el período II osciló entre 7.43 y 7.68, mientras que en el período III aumentó a un rango comprendido entre 7.52 y 7.63.

En el período III se evaluó adicionalmente la concentración de nitrato y la relación entre los sólidos volátiles con respecto a los sólidos totales en el día 76. Los valores de nitrato registrados para los cuatro bioreactores variaron entre 17.01 y 27.06 mg L⁻¹, y la relación entre los sólidos volátiles con respecto a los totales fue bastante similar para todos los bioreactores evaluados en este estudio con valores comprendidos entre 81 y 84%.

8.4 Balances de Biomasa y Sustrato

Los balances de biomasa y sustrato se realizaron para el bioreactor alimentado con 5% RFV en el período III, durante los días de digestión 64 y 77 asumiendo condiciones de operación batch.

8.4.1 Balance de Masa para el Bioreactor de 5% RFV empleando el inóculo EL, en el período III entre los días 64 y 77

La ley de la conservación de la masa se ve expresada por la siguiente ecuación (Chang, 2002):

$$\text{Acumulación} = \text{Flujo de entrada} - \text{Flujo salida} + \text{Reacción}$$

El balance de masa para el bioreactor 5% RFV se presenta en el Diagrama 1, no hay flujo de entrada ni de salida, por lo tanto el caudal de alimentación Q_0 , como el caudal de salida Q_1 , son igual a cero:

$$Q_0 = Q_1 = 0$$

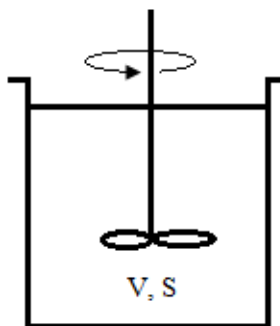


Diagrama 1. Representación del bioreactor 5% RFV

Donde:

S = concentración de sustrato (g DQO L^{-1})

V = volumen de trabajo del reactor (L)

Entonces, se puede decir que la tasa de acumulación, expresada como la variación de la concentración del sustrato con respecto al tiempo por el volumen del reactor es igual a la velocidad de reacción en el bioreactor multiplicada por el volumen.

$$\frac{d[S]}{dt} V = r(s)V$$

Ec. 1

De donde la Ecuación 1 se reduce a:

$$\frac{d[S]}{dt} = r(s)$$

Ec. 2

Las reacciones biológicas están consideradas como reacciones de pseudo – primer orden, por lo tanto la velocidad de reacción de los microorganismos presentes en el bioreactor 5% RFV es de pseudo – primer orden:

En una reacción biológica:



$$\frac{d[S]}{dt} = -k[S][E]$$

Ec. 3

$[E] = \text{constante}$ (ej: enzima) Donde:

$$K = k[E]$$

Entonces la variación de la concentración de sustrato con respecto al tiempo es igual a una reacción de pseudo-primer orden:

$$\frac{d[S]}{dt} = -K[S]$$

Ec. 4

Donde:

$\frac{d[S]}{dt}$ = variación de la concentración de sustrato con respecto al tiempo

K = constante de velocidad (d^{-1})

Se procede a separar variables e integrar la Ecuación 4:

$$\frac{d[S]}{S} = -Kdt$$

Ec. 5

Los límites de integración se definen para la Ecuación 5 de la siguiente manera, cuando $t = 0$ entonces $[S] = [S_0]$, cuando $t = t$ entonces $[S] = [S]$

$$\int_{S_0}^S \frac{d[S]}{S} = - \int_0^t Kdt$$

Ec. 6

$$\ln[S] \Big|_{S_0}^S = -Kt$$

Ec. 7

$$\ln [S] - \ln [S_0] = -Kt$$

Ec. 8

Donde:

S = concentración del sustrato en el bioreactor (g DQO L⁻¹)

S₀ = concentración inicial del sustrato (g L⁻¹)

t = tiempo (d)

K = constante de velocidad (d⁻¹)

La ecuación 8 puede reordenarse en función de K (constante de velocidad). Entonces se expresa de la siguiente manera:

$$K = \frac{\ln([S_0]/[S])}{t}$$

Ec. 9

Adicionalmente, se conoce que la fracción de conversión (x) es la cantidad de sustancia convertida, sobre la cantidad de sustancia alimentada, y se define a partir de la siguiente ecuación:

$$x = \frac{[S_0] - [S]}{[S_0]}$$

Ec. 10

Utilizando la Ecuación 10, se puede determinar el porcentaje de conversión de la mezcla RFV dentro del bioreactor con 5% RFV durante el proceso de degradación anaerobia en el período III, durante los días de digestión 64 y 77 asumiendo condiciones de operación batch.

8.4.1.1 Datos reales del bioreactor con 5% RFV

Empleando las ecuaciones anteriores junto con los valores registrados durante la etapa de monitoreo del bioreactor con 5% RFV en el en el período III, durante los días de digestión 64 y 77 asumiendo condiciones de operación batch, se determinó (a) la constante de velocidad de la reacción y (b) el porcentaje de degradación de la mezcla RFV.

(a) Para obtener la constante de velocidad (K) se empleó la Ecuación 9, utilizando los valores de la demanda química de oxígeno obtenidos en los días 64 y 77 para la mezcla de RFV (S) y la concentración inicial (S_0) en un período de tiempo de 13 días.

Donde:

$$S_0 = 3.176 \text{ g DQO L}^{-1},$$

$$S = 1.295 \text{ g DQO L}^{-1},$$

$$t = 13 \text{ d}$$

$$K = \frac{\ln([S_0]/[S])}{t}$$

Ec. 9

$$\ln \frac{3.176 \text{ g DQO/L}}{1.295 \text{ g DQO /L}} = 2.450$$

$$k = \frac{0.897}{13 \text{ d}}$$

$$k = 0.06 \text{ d}^{-1}$$

(b).- Para determinar el porcentaje de conversión de la mezcla de RFV en el día 77, después de 13 días de digestión, se utilizaron los mismos valores de sustrato inicial y final, y se empleó la Ecuación 10.

$$x = \frac{[S_0] - [S]}{[S_0]}$$

Ec. 10

$$x = \frac{3176.07 \frac{\text{mgDQO}}{\text{L}} - 1295.92 \text{ mgDQO /L}}{3176.07 \text{ mg DQO/L}} \cdot 100$$

$$x = 59.1 \%$$

Por lo tanto, el 59.1% de la materia orgánica expresada como demanda química de oxígeno fue removido en el bioreactor con 5% RFV

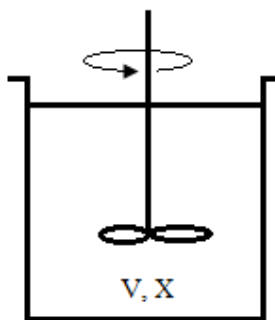
8.4.2 Balance de Biomasa para el Bioreactor de 5% RFV empleando el inóculo EL, en el período III entre los días 64 y 77

El balance de biomasa (X) para el bioreactor 5% RFV se determina como (Metcalf & Eddy, 2003):

$$\begin{array}{ccccccc} \text{Tasa de} & & \text{Velocidad del} & & \text{Velocidad del} & & \text{Crecimiento neto} \\ \text{acumulación de} & & \text{flujo de} & & \text{flujo de} & & \text{de los} \\ \text{microorganismos} & = & \text{microorganismos} & - & \text{microorganismos} & + & \text{microorganismos} \\ \text{dentro de los} & & \text{entrando en el} & & \text{saliendo del} & & \text{en el sistema} \\ \text{límites el sistema} & & \text{sistema} & & \text{sistema} & & \end{array}$$

El balance de biomasa se determina en un modo de operación batch, se conoce que no hay flujo de entrada ni de salida, por lo tanto Q_0 , como Q_1 , son igual a cero:

$$Q_0 = Q_1 = 0$$



Donde:

X = concentración de biomasa en el bioreactor (g SSV L^{-1})

V = volumen del trabajo en el bioreactor (L)

Por lo tanto, la tasa de acumulación de la biomasa expresada como la variación de la concentración de la biomasa con respecto al tiempo multiplicado por el volumen del bioreactor, es igual a la tasa neta de producción de biomasa por el volumen del reactor:

$$\frac{d[X]}{dt} V = r_g V$$

Ec. 11

Entonces la Ecuación 11 se reduce a:

$$\frac{d[X]}{dt} = r_g$$

Ec. 12

Donde:

$\frac{d[X]}{dt}$ = variación de la concentración de biomasa con respecto al tiempo

V = volumen del bioreactor (L)

r_g = tasa neta de producción de biomasa (g SSV L⁻¹d⁻¹)

Se conoce que la tasa neta de producción de biomasa es igual a (Metcalf & Eddy, 2003):

$$r_g = - Y r_{su} - k_d X$$

Ec. 13

Donde:

r_g = tasa volumétrica de producción de biomasa (g SSV L⁻¹ d⁻¹)

Y = rendimiento celular (g SSV g DQO⁻¹)

k_d = coeficiente de decaimiento endógeno (d⁻¹)

X = concentración de biomasa en el bioreactor (g SSV L⁻¹)

Se conoce que la tasa volumétrica de utilización de sustrato es igual a (Metcalf & Eddy, 2003):

$$r_{su} = -\frac{q \cdot [S]}{k_s + [S]} [X]$$

Ec. 14

Donde:

r_s = tasa volumétrica de utilización de sustrato (g DQO L⁻¹ d⁻¹)

q = actividad específica de utilización de sustrato (g DQO g SSV⁻¹ d⁻¹)

S = concentración del sustrato en el bioreactor (g DQO L⁻¹)

X = concentración de biomasa en el bioreactor (g SSV L⁻¹)

Entonces si se reemplaza la Ecuación 14 en la Ecuación 13, se obtiene:

$$r_g = -Y \left(-\frac{q \cdot [S]}{K_s + [S]} [X] \right) - k_d [X]$$

Ec. 15

$$r_g = \left(\frac{Y \cdot q \cdot [S]}{k_s + [S]} - k_d \right) [X]$$

Ec. 16

Si se reemplaza la Ecuación 16 en la Ecuación 12, se obtiene

$$\frac{d[X]}{dt} = \left[\left(\frac{Y \cdot q \cdot [S]}{k_s + [S]} - k_d \right) [X] \right]$$

Ec. 17

Se procede a separar variables e integrar la Ecuación 17 con los siguientes límites de integración:

cuando $t=0$ entonces $[X] = [X_0]$, cuando $t = t$ entonces $[X] = [X]$

$$\int_{X_0}^X \frac{d[X]}{[X]} = \int_0^t \left(\frac{Y \cdot q \cdot [S]}{k_s + [S]} - k_d \right) dt$$

Ec. 18

$$\ln [X] \Big|_{X_0}^X = \left(\frac{Y \cdot q \cdot [S]}{k_s + [S]} - k_d \right) t$$

Ec. 19

$$\ln [X] - \ln [X_0] = \left(\frac{Y \cdot q \cdot [S]}{k_s + [S]} - k_d \right) t$$

Ec. 20

$$\ln \frac{[X]}{[X_0]} = \left(\frac{Y \cdot q \cdot [S]}{k_s + [S]} - k_d \right) t$$

Ec. 21

Se conoce que la actividad específica de utilización de sustrato es igual a:

$$q = \frac{U_{max}}{Y}$$

Ec. 22

Donde:

q = actividad específica de utilización de sustrato (g DQO g SSV⁻¹ d⁻¹)

U_{max} = tasa máxima específica de crecimiento microbiano (d⁻¹)

Y = rendimiento celular (g SSV g DQO⁻¹)

Si reemplazamos la Ecuación 22 en la Ecuación 21, se obtiene la siguiente expresión:

$$\ln \frac{[X]}{[X_0]} = \left(\frac{U_{max} \cdot [S]}{k_s + [S]} - k_d \right) t$$

Ec. 23

Empleando la Ecuación 23, se puede determinar el valor de $[X]$ (concentración de biomasa en el bioreactor) en el tiempo comprendido entre los días 64 y 77.

8.5 Datos reales del bioreactor con 5% RFV

Para determinar la cantidad de biomasa generada el bioreactor con 5% RFV, en el período III entre los día 64 y 77, se empleó la Ecuación 23. Los valores para los coeficientes se obtuvieron de las variables utilizadas por Gholamifard y Duquennnoi (2008), en su trabajo de investigación. El valor del sustrato $[S]$ se obtuvo del DQO de la mezcla de RFV registrado en el

día de operación 77, y la cantidad de biomasa inicial $[X_0]$ son los sólidos suspendidos volátiles determinados en el bioreactor previo a la tercera alimentación del día 64.

Donde:

$$[S] = 1.295 \text{ g DQO L}^{-1}$$

$$X_0 = 0.49 \text{ g SSV L}^{-1},$$

$$t = 13 \text{ d}$$

$$k_d = 0.002 \text{ d}^{-1}$$

$$Y = 0.08 \text{ g SSV g DQO}^{-1}$$

$$U_{\max} = 0.35 \text{ d}^{-1}$$

$$k_s = 1.0 \text{ g L}^{-1}$$

$$\ln \frac{[X]}{[X_0]} = \left(\frac{U_{\max} \cdot [S]}{k_s + [S]} - k_d \right) t$$

Ec. 23

Entonces:

$$\ln [X] - \ln [X_0] = \left(\frac{0.35 \frac{1}{d} \cdot 1.295 \text{ gDQO/L}}{1.0 \frac{\text{g}}{\text{L}} + 1.295 \text{ g DQO/L}} - 0.002/d \right) 13 \text{ d}$$

$$\ln X = 3.807$$

$$e^{\ln X} = e^{3.807}$$

$$\mathbf{X = 45.01 \text{ g SSV/L}}$$

Por lo tanto, la concentración de la biomasa dentro del reactor fue 45.01 g SSV L⁻¹.

9. Discusión

9.1 Caracterización de inóculos microbianos

La caracterización físico - química de los inóculos se resume en la Tabla 1, en donde se puede observar que el pH de los tres lodos evaluados en el presente trabajo, se encuentra dentro del pH óptimo de lodos primarios no tratados, 5.0 a 8.0 (Metclaf & Eddy, 2003). Valores de pH alrededor de 7 son comunes en lodos provenientes de reactores biológicos. Por ejemplo, en un estudio realizado por Rizk *et al* (2007), en la Universidad de Maringá, se utilizó como inóculo microbiano para degradar frutas y vegetales, lodos anaerobios provenientes de una estación local de tratamiento de aguas residuales domésticas. En este caso el pH del inóculo fue de 7.81, valor cercano al del los lodos granulares evaluados en la presente investigación.

Los SST representan la cantidad total de sólidos presentes en un inóculo mientras que los SSV representan el contenido orgánico de dichos sólidos y constituyen una medida indirecta de la biomasa (Metclaf & Eddy, 2003). La relación entre la cantidad de SST y SSV es uno de los parámetros que se emplea en la caracterización de lodos para definir el potencial de utilización del inóculo en procesos de degradación biológica. La relación entre la cantidad de SSV y los sólidos suspendidos totales SST registrados para los lodos del efluente del Biodigestor del Jardín Botánico se encuentra dentro del rango propuesto para un inóculo saludable (60 - 80%) como se indica en la literatura (Metclaf & Eddy, 2003). Para los lodos granulares CN se alcanzaron valores bastante altos (92.7%), demostrando que estos lodos contienen una elevada concentración de biomasa por lo cual constituyen un buen candidato para utilizarse en los ensayos de degradación de RFV. En el caso de los sedimentos de la laguna artificial de la USFQ, el contenido orgánico es bastante bajo ya que la relación entre SSV y SST fue de 10.8%, lo cual

implica que aproximadamente el 89% de los sólidos totales presentes en estos sedimentos es material inerte, cenizas. Los resultados obtenidos en este estudio son consistentes con valores encontrados en la literatura, por ejemplo Gomez - Lahoz *et al* (2007) reportaron que la relación entre SSV y SST de lodos provenientes de una planta de tratamiento de aguas residuales de Málaga fue de 75%.

La caracterización de inóculos microbianos en función de SSV y SST indica que los lodos granulares CN constituyen el mejor inóculo microbiano en términos de concentración de biomasa. Según el estudio conducido por Ahring y Schmidt (1996), en los lodos granulares se ha identificado una concentración celular de 5×10^{10} a 1.4×10^{12} células por miligramo de gránulos, en donde las bacterias metanogénicas *Methanosarcina* y *Methanosaeta* spp. son las predominantes en el consorcio. Los lodos granulares están caracterizados por ser principalmente densas capas de microorganismos con metabolismo sintrófico, lo que les permite degradar residuos orgánicos complejos. Los gránulos de los lodos presentan un gran contenido de biomasa, con altas velocidades de sedimentación (Espinoza-Chavez *et al*, 2007). En los lodos granulares se da la formación de biofilms, promoviendo el crecimiento bacteriano con mayor resistencia a agentes antimicrobianos (Anwar *et al*, 1990).

La demanda química de oxígeno es un parámetro importante dentro del proceso de caracterización de los inóculos microbianos debido a que establece la cantidad de materia orgánica presente en la muestra, la cual es susceptible a ser oxidada en una reacción química por medio de la solución de digestión de dicromato de potasio, y ácido sulfúrico (Metclaf & Eddy, 2003). Los lodos provenientes de biodigestores tanto del jardín botánico como de la PTAR CN son los que registraron las mayores cantidades de materia orgánica presente, con valores de DQO soluble de 1685.9 y 360.6 mg O₂ L⁻¹, respectivamente. Esto se puede atribuir a que son lodos

que han participado en procesos de degradación de material vegetal y de aguas residuales, respectivamente; si su contenido orgánico es elevado indican que existen restos de materia orgánica presente. En el caso del inóculo del efluente del biodigestor JB, la demanda química de oxígeno total fue mayor que aquella de los lodos del biodigestor CN por un factor de 5. El primero representa el material orgánico (desechos resultantes de la poda del Jardín Botánico) y estiércol de caballo presentes en el biodigestor, mientras que los lodos granulares CN provienen de un biodigestor para el tratamiento de aguas residuales con valores de DQO significativamente menores. En el caso de lodos del efluente del JB, el inóculo fue obtenido cuando el biodigestor llevaba apenas un mes de funcionamiento. Este biodigestor se alimenta semanalmente con 50 kg de material orgánico triturado, y 80 kg de estiércol de caballo disuelto. Los elevados valores de DQO registrados indican que, pese al tratamiento llevado a cabo dentro del biodigestor, todavía existen cantidades elevadas de materia orgánica presente en dicho efluente. Además, es importante tomar en cuenta la elevada cantidad de materia orgánica presente en cada uno de los componentes de este inóculo. La DQO del efluente del biodigestor del Jardín Botánico fue excesivamente elevada en comparación a los valores obtenidos de la DQO del biodigestor CN. En un estudio realizado por Kolař *et al* (2009) en la universidad de South Bohemia, se concluyó que la DQO del estiércol de caballo fue sorprendentemente elevada, y estos valores fueron bastante similares a los de la DQO del material vegetal de la alimentación (heno). Por lo que pese al proceso de digestión que se da en el tracto del animal, la cantidad de materia orgánica permanece prácticamente igual, sugiriendo que la misma ha sido transformada mas no completamente degradada.

La DQO soluble para los sedimentos de la laguna USFQ fue $186.5 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$. Los sedimentos presentan niveles bajos de DQO en comparación con los otros inóculos evaluados, y

estos valores son comprables con los obtenidos por Yang (1998). En dicha investigación, se caracterizaron los sedimentos de ríos, reservorios, lagos y estanques en Taiwán. El valor de la DQO registrado en el reservorio de Taoyuan County fue de $173.3 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$, valor típico para sedimentos.

La actividad máxima específica de generación de metano fue determinada para caracterizar biológicamente los inóculos microbianos evaluados en este estudio. El inóculo con mayor actividad máxima específica metanogénica fue el del efluente del biodigestor JB, mientras que las comunidades microbianas presentes en los lodos granulares CN y en los sedimentos de la laguna artificial USFQ registraron actividades de generación de metano inferiores (Tabla 2). El biodigestor JB se alimenta con material vegetal proveniente de la poda de los jardines (hierba, hojas, etc), mezclada con estiércol de caballo y agua. La cantidad de estiércol presente es 1.6 veces mayor a la cantidad de material vegetal, y se conoce que la relación de SSV y SST del estiércol equino es de 83.7% (Wartell, 2009), indicando que este inóculo contiene un valor elevado de biomasa con potencial para los procesos de degradación anaerobia (Metcalf & Eddy, 2003). Los resultados obtenidos en el presente trabajo de investigación se compararon con los conseguidos por Kusch *et al* (2008) en donde se registró una mayor producción de metano al utilizar estiércol de caballo junto con material vegetal (paja o heno), al igual que en el caso de los lodos del efluente del biodigestor JB. En dicho estudio (Kusch *et al*, 2008) se demostró que al mezclar estiércol equino con material vegetal, es posible conseguir mayor cantidad de metano que solo utilizando estiércol. Además, se ha demostrado que el estiércol de caballo puede ser una excelente materia prima para la producción de biogás (Kolař *et al*, 2009).

La comunidad microbiana presente en los sedimentos de la laguna artificial de la Universidad San Francisco de Quito alcanzó una actividad máxima específica metanogénica de

67.15 mg DQO-CH₄ g SSV⁻¹ d⁻¹. Según los valores indicados en la investigación realizada por Yang (1998), la actividad máxima específica de generación de metano de los sedimentos de la laguna artificial USFQ es comparable a la registrada para los sedimentos de ríos, lagos y reservorios de Taiwán (54.54 mg DQO-CH₄ g SSV⁻¹ d⁻¹). En este artículo se menciona la relación existente entre la cantidad de materia orgánica presente y la producción de metano, indicando que a menor cantidad de materia orgánica la producción de metano será baja. La información proporcionada en el estudio de Yang (1998) coincide con los valores de caracterización de los sedimentos de la laguna artificial USFQ ya que registraron un valor bajo tanto de materia orgánica como de biomasa, ocasionando una baja producción de metano. Moreno y Niell (2008) indican en su estudio que la limitada producción de metano en los sedimentos se debe a factores como la temperatura o la presencia de bacterias sulfato reductoras, las cuales compiten con las metanogénicas por el sustrato. En dicho estudio (Moreno y Niell, 2008) se determinó la actividad máxima específica de generación de metano de los sedimentos del Estuario del Río Palmones (Bahía Algeciras, España), en presencia de un inhibidor de bacterias sulfato reductoras logrando así incrementar la cantidad de metano producido.

La actividad máxima específica metanogénica de los microorganismos presentes en los lodos granulares fue 89.03 mg DQO-CH₄ g SSV⁻¹ d⁻¹. Este valor es comparable con los obtenidos en el trabajo conducido por Rodríguez *et al* (2001), en donde utilizaron como inóculo lodos provenientes del proceso de tratamiento de aguas residuales de la industria láctea. La actividad máxima específica metanogénica de dichos lodos fue de 20 - 30 mg DQO-CH₄ g SSV⁻¹ d⁻¹, pese a los bajos valores de actividad máxima específica metanogénica registrados, se obtuvieron resultados favorables en términos de la remoción de la DQO en aguas residuales. Sin embargo, en comparación con los valores reportados en la literatura, la actividad máxima

específica metanogénica de lodos granulares fue significativamente baja. Ahring y Schmidt (1996) determinaron que la actividad máxima específica metanogénica para lodos granulares cultivados en un medio con acetato fue $500 \text{ mg DQO-CH}_4 \text{ g SSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$, mientras que en la investigación realizada por Guyot *et al* (1988), se obtuvieron valores entre $460 - 1715 \text{ mg DQO-CH}_4 \text{ g SSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$. Como puede verse, en ambos casos de la literatura los valores de actividad máxima específica metanogénica registrados para lodos granulares son superiores a los alcanzados en el presente trabajo de investigación ($89.03 \text{ mg DQO-CH}_4 \text{ g SSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$).

La razón por la cual la actividad máxima específica metanogénica registrada en el presente estudio fue tan baja se debe a que probablemente la comunidad microbiana presente en los lodos granulares no es muy elevada y no se encuentra en buen estado. Teniendo en consideración que cuando se obtuvieron los lodos granulares, el biodigestor de la planta de tratamiento de aguas residuales (PTAR) de la Cervecería Nacional llevaba en funcionamiento apenas 10 meses y posterior a esto se los mantuvo en refrigeración ($4 \text{ }^\circ\text{C}$) durante varios meses, se espera que el inóculo microbiano no cuente con una elevada concentración de bacterias por lo cual no alcanzará valores típicos de actividades metanogénicas de bioreactores que llevan en operación 5 a 10 años. En el estudio realizado por Bhatti *et al* (1995), se menciona la formación de gránulos partiendo de bacterias suspendidas, en donde después de 180 días de funcionamiento continuo, se percibió la presencia de pequeños gránulos compuestos de una alta cantidad de carbohidratos y cenizas, pero insuficiente cantidad microorganismos. Según Nieto *et al* (2001), los gránulos aumentan en tamaño y mejoran su composición microbiana a lo largo de su tiempo de operación. Esto es favorable debido a que incrementa el espacio central del gránulo, permitiendo la ubicación de una mayor cantidad de bacterias metanogénicas, las cuales se sitúan específicamente en esta área. Otra posible explicación para la obtención de actividades de

producción bajas de metano en lodos granulares son los problemas de difusión. Este tipo de problemas ocurren en la transferencia del sustrato hacia el grano de lodo o en la difusión del metano desde del grano hacia la fase líquida y posteriormente gaseosa. Una vez que se ha acumulado el gas dentro de los gránulos de lodo, éste debe ser liberado para iniciar su ascenso a través del lecho de lodos y de la fase líquida. Este tipo de complicaciones puede generar datos errados en la cinética de producción de metano (Guyot *et al*, 1988). En el estudio realizado por Guyot *et al* (1988), se registraron retrasos en el proceso de transferencia del gas generado en los gránulos de lodo hacia el medio líquido durante los ensayos de determinación de actividad metanogénica. En los cultivos de este estudio se utilizó hidrógeno como sustrato, obteniendo valores significativamente menores de producción de metano.

Los lodos granulares presentan una opción viable para ser empleados como inóculo microbiano en procesos de degradación anaeróbica como los evaluados en este trabajo de investigación ya que es posible lograr una degradación efectiva del sustrato gracias a la corta distancia entre microorganismos sintróficos presentes en los gránulos de lodo (Ahring y Schmidt, 1996). Adicionalmente, la capacidad de decantación que presentan los lodos granulares es una de las características más deseadas en los procesos de degradación, ya que esto favorece a la retención de la biomasa en el bioreactor y a la disminución de tiempos de retención del sustrato, obteniendo de esta manera una elevada concentración de biomasa (Guyot *et al*, 1988). Más aún, los gránulos son considerados nichos compuestos por una amplia gama de microorganismos trabajando de forma sinérgica, lo cual es favorable para la degradación del sustrato y evita la inhibición de actividad por exceso del mismo (Ahring y Schmidt, 1996). Es debido a esto que los lodos granulares evaluados en el presente estudio fueron elegidos como el inóculo idóneo para

ensayos posteriores de degradación anaerobia, a pesar de haber registrado valores de actividad máxima específica metanogénica inferiores a los registrados por el inóculo del biodigestor JB.

La adición de estiércol a los lodos granulares CN como parte del inóculo microbiano tuvo un efecto positivo en el proceso de biodegradación anaerobia de la materia orgánica. En los bioensayos en los que se evalúa el efecto de la cantidad de estiércol en el inóculo, se puede observar una correlación directa entre el estiércol y la producción de metano, es así que a medida que aumenta el porcentaje de estiércol diluido (v/v) en el inóculo, la cantidad de metano generada también aumenta. En el Tratamiento 3 que contiene la mayor cantidad de estiércol vacuno disuelto (90%E (v/v)) y 1.5 g SSV L⁻¹ (10% L) de lodos granulares CN, la producción de metano registrada fue de 119.12 mg DQO-CH₄ g SSV⁻¹ d⁻¹, mientras que en los tratamientos con menor porcentaje de estiércol, la cantidad de metano producida fue significativamente menor (Tabla 2).

El estiércol diluido además de aportar con un determinado consorcio bacteriano apto para degradación del sustrato también aporta con un alto contenido de materia orgánica y micronutrientes. Esta materia orgánica es el producto resultante del proceso llevado a cabo en el sistema digestivo del ganado vacuno, por lo tanto, parte de esta materia es fácil de degradar y utilizar como sustrato. La materia orgánica del estiércol está compuesta básicamente por celulosa (35.4%), hemicelulosa (32.0%), cenizas (13.3 - 13.4%) y nitrógeno (1.2 - 1.6%) (Pennington, 2009). En el estudio realizado por Singh *et al* (2010), se indica que al mezclar las diferentes poblaciones de microorganismos especializados en degradación, se incrementa la velocidad de reacción de la hidrólisis, acidogénesis y metanogénesis. La mezcla de microorganismos crea una diversificación de la biomasa, permitiendo incluso obtener mejores rendimientos en la producción de biogás.

En base a los resultados obtenidos de la caracterización físico-química y biológica de los tres inóculos evaluados en este estudio se establece que el mejor lodo para ser utilizado como inóculo durante la degradación anaerobia de residuos de frutas y vegetales provenientes del mercado central de Tumbaco es el lodo granular CN (10% L) con estiércol disuelto (90% E), ya que la combinación de los dos da como resultado un inóculo con mejores características, ideal para la degradación de materia orgánica y generación de biogás, como se menciona en trabajos previos (Singh, 2010).

9.2 Caracterización de Residuos de Frutas y Vegetales

Los residuos de frutas y vegetales comunes generados en el mercado central de Tumbaco fueron recolectados en diferentes ocasiones. La composición de la mezcla RFV (Tabla 4) se realizó en base a mezclas de residuos de frutas y vegetales empleadas como sustrato en estudios previos de degradación anaerobia (Vituria y Mata - Alvarez, 1989; Gomez - Lahoz *et al*, 2007). Dentro de los análisis realizados para la caracterización de la mezcla, el pH registrado (4.97) no fue el ideal para iniciar el proceso, motivo por el cual se empleó el medio basal mineral de cultivo (MB) para mantener un pH neutro entre 7.1 y 7.3 y adicionalmente asegurar que la concentración de los macro y micronutrientes sea la adecuada. En estudios similares de degradación anaeróbica de residuos de frutas y vegetales se registraron valores de pH menores a 4, y se agregó NaHCO_3 para ajustar el pH antes de iniciar el proceso (Rizk *et al*, 2007).

Dentro de la caracterización de la mezcla de frutas y vegetales utilizada como sustrato es importante tomar en cuenta el porcentaje de humedad. El porcentaje de humedad registrado de cada componente y de la mezcla fue bastante alto, entre 87 - 95%, estos valores se encuentran

dentro del rango óptimo para emplearse como sustrato en procesos de degradación anaerobia y concuerdan con los datos de mezclas de frutas y vegetales expuestos en la literatura (Bouallagui *et al*, 2009; Gomez - Lahoz *et al*, 2007). Más aún, el porcentaje de humedad registrado en la mezcla empleada en este trabajo de investigación, es aún mayor al de otros estudios, lo cual facilita el proceso de digestión anaerobia (Bouallagui *et al*, 2003), permitiendo la transformación de los componentes a lo largo del proceso (Bouallagui *et al*, 2005). Bouallagui *et al* (2003), reportaron que en una mezcla de RFV con una composición comparable a la empleada en el presente estudio, la fracción orgánica contiene 75% de azúcares y hemicelulosa, 9% celulosa y 5% de lignina. La presencia de un contenido orgánico fácil de degradar, combinado con un alto porcentaje de humedad, es un factor de alta importancia que beneficia el proceso de digestión (Bouallagui *et al*, 2005).

La demanda química de oxígeno (DQO) calculada para la mezcla fue bastante baja (210.19 mg O₂ L⁻¹), lo que demuestra que la cantidad de materia orgánica presente no es significativa. Esto quiere decir que la mezcla no requerirá de mucho tiempo para ser degradada. Dentro de la mezcla, el componente con mayor valor de sólidos totales y volátiles fue la manzana con 12.74 y 12.13 g L⁻¹, respectivamente. Al ser este un fruto carnoso aporta con un alto contenido de azúcares y almidón, brindando a la mezcla un mayor contenido de materia orgánica (Kirk *et al*, 1996).

9.3 Bioensayos de degradación anaerobia de RFV

9.3.1 Bioensayos en modo de operación batch

Siendo el objetivo principal de este trabajo de investigación el degradar los residuos de frutas y vegetales de mercados centrales bajo condiciones anaerobias, se evaluó en bioensayos batch el efecto de la cantidad de lodo granular CN en la composición del inóculo EL (estiércol-lodo) durante la degradación de la mezcla de residuos sólidos RFV (5%) del mercado central de Tumbaco. En los bioensayos de degradación de la mezcla 5% RFV se emplearon los mismos tratamientos evaluados previamente con acetato como sustrato, y nuevamente se identificó al Tratamiento 3 (10%L + 90%E) como el más apto para generar la mayor producción de metano con una tasa acumulada de $39.09 \text{ L kg SV}^{-1}\text{d}^{-1}$ (Tabla 5). Este resultado reafirma la necesidad de emplear estiércol diluido (90%E (v/v)) como componente del inóculo EL (estiércol-lodo), para degradar un sustrato más complejo (RFV), ya que la producción de metano alcanzada es significativamente superior a la lograda por el estiércol o los lodos granulares CN como inóculos independientes. En un estudio similar conducido por Iyagba *et al* (2009), se menciona la importancia de la presencia del estiércol como co - sustrato para la degradación de material vegetal, con lo que se corroboran los resultados obtenidos en la presente investigación.

En el bioensayo realizado para determinar la cantidad adecuada de lodos granulares CN en la composición del inóculo EL, se varió la cantidad de lodo CN con el fin de probar si la cantidad de éste influía de manera positiva en la degradación de RFV. Al igual que en los tratamientos en donde se incrementó la cantidad de estiércol diluido, se esperó que los tratamientos con elevados porcentajes de lodos granulares fueran los de mayor producción de metano. Sorprendentemente, los resultados obtenidos fueron diferentes ya que el tratamiento con

mejor rendimiento, en términos de producción de metano, no fue el de mayor contenido de lodo granular CN (40%L) en inóculo EL, sino el de 20% lodo ($3.05 \text{ g SSV L}^{-1}$).

La fase estacionaria, o de mantenimiento, en la curva de crecimiento microbiano se inicia cuando uno de los nutrientes esenciales se termina o cuando productos de la reacción alcanzan niveles inhibitorios (Madigan *et al*, 2004). Como se puede observar en la Tabla 5, el tratamiento con 40% de lodos CN y 90% (v/v) de estiércol diluido alcanzó un 83.7% de degradación de la materia orgánica determinada en función de la DQO soluble, sugiriendo que la reacción no se detuvo necesariamente por falta de sustrato y que probablemente está relacionada con factores mecánicos como se ha observado en otros estudios (Rizk *et al*, 2007). En el trabajo de investigación conducido por Rizk *et al* (2007), se empleó un bioreactor batch para la degradación de residuos de frutas y vegetales provenientes del mercado central de Maringa, Brasil. En dicho estudio, tanto la producción de metano como la degradación de la materia orgánica fueron limitadas atribuyéndose este hecho a la falta de contacto entre los microorganismos utilizados y el sustrato. Este estudio sugiere que la baja producción de metano reportada en este trabajo de investigación en el tratamiento con la mayor concentración de lodo granular se puede atribuir a problemas de transferencia de masa en el bioreactor. En el bioreactor con elevadas concentraciones de lodo, el espacio es limitado, por lo tanto el contacto entre los microorganismos y el sustrato es deficiente, causando la suspensión del proceso de degradación. Bosma y Harms (1997) sugieren homogenizar la mezcla para solucionar los problemas de transferencia de masa, la idea es reducir las distancias entre las células y las moléculas de sustrato con el objeto de obtener un flujo más rápido de sustrato, permitiendo así la manutención de un mayor número de microorganismos.

Con el objetivo de superar los problemas de difusión encontrados en los bioreactores debido a la falta de contacto entre el sustrato y la biomasa presente, se realizó un bioensayo adicional en el que se utilizó una plancha de agitación. Los tratamientos evaluados fueron el de 20 y 40% de lodos granulares y 90% estiércol diluido. En el tratamiento con inóculo EL compuesto de 40% lodo y 90% (v/v) estiércol bajo condiciones de agitación, la tasa de producción acumulada de metano fue 2.3 veces mayor aquella obtenida en el mismo tratamiento sin agitación, mientras que en el caso del tratamiento con 20% lodo y 90% (v/v) estiércol, la tasa de producción acumulada de metano con agitación fue 1.3 veces mayor que aquella sin agitación (Tabla 5). Estos resultados concuerdan con los datos obtenidos por Adhikari *et al* (2006) y Rizk *et al* (2007), en donde se concluyó que la falta de agitación durante el proceso de degradación anaerobia disminuye la cantidad de metano producido, y aumenta el tiempo de residencia. En un estudio conducido por Dahhan *et al* (2006), biodigestores con capacidad de 3.7 L fueron alimentados con estiércol vacuno y agitados con propulsores mecánicos. En dicho estudio, además de concluir la importancia de la agitación para promover el contacto entre los microorganismos y el sustrato, se resalta que estos procesos de agitación mantienen uniforme el pH y la temperatura, así como también previenen la precipitación de sólidos pesados, y ayudan a la liberación de burbujas de biogás.

Tomando en cuenta los resultados previamente expuestos sobre las condiciones de operación como el pH, temperatura y agitación en los experimentos batch, se determinó la composición óptima del inóculo EL y los parámetros de operación necesarios para ser utilizados en los ensayos de modo de operación semi-continuo.

9.3.2 Bioensayos en modo de operación semi-continuo

En base a los resultados obtenidos en este trabajo de investigación, se procedió a la instalación y puesta en marcha de cuatro bioreactores de 4 L bajo las mismas condiciones y parámetros evaluados en los experimentos batch de degradación anaerobia de la mezcla de RFV (Anexos 4, 5, 6). El porcentaje de sustrato alimentado en cada bioreactor se definió considerando el trabajo realizado por Bouallagui *et al* (2003), en donde se utilizó una mezcla de residuos de frutas y vegetales provenientes del mercado de Túnez en cargas de alimentación de 4, 6, 8 y 10% de sólidos totales. Los bioreactores evaluados en la presente investigación fueron alimentados con 5, 7.5, 10 y 12% en peso de RFV, tomando en cuenta también otros estudios en donde se empleó material vegetal de similar composición como sustrato para procesos de degradación anaerobia con el objetivo de obtener biogás (Adhikari, 2006; Eliyan *et al*, 2007).

En la Figura 7 correspondiente a la producción acumulada de metano se observa que los microorganismos presentes en el bioreactor con 5% RFV experimentaron una fase de adaptación bastante corta de aproximadamente 1 día, en comparación con los otros tres bioreactores de 7.5, 10 y 12.5% RFV en los que las fases de adaptación en promedio fueron de aproximadamente 4 días. La fase de adaptación o fase lag, es el resultado de la adaptación fisiológica de los microorganismos presentes en el inóculo EL a la mezcla de RFV (Singh *et al*, 2010). La relación de dependencia entre la duración de la fase de adaptación con la carga orgánica de alimentación observada en este trabajo concuerda con datos reportados en la literatura. En un estudio conducido por Pound *et al* (1981) se emplearon ocho bioreactores de 2 L de capacidad, para degradar estiércol vacuno junto con material vegetal proveniente de la industria azucarera en Santo Domingo, República Dominicana. En dicho estudio los reactores fueron alimentados con estiércol y material vegetal de la caña de azúcar en cantidades ascendentes, la fase de adaptación

de los microorganismos en los bioreactores con mayor cantidad de carga orgánica duró más que la de los bioreactores alimentados solo con estiércol o bajos porcentajes de material vegetal (Pound, 1981). Para resolver esta prolongada fase de adaptación, se agregó una solución de urea al 4%, lo cual disminuyó dicha fase a la mitad de tiempo. También se identificó al pH como factor determinante en fases de adaptación extendidas. En otro trabajo realizado por Singh *et al* (2010), bioreactores alimentados con estiércol vacuno y material vegetal en concentraciones altas, registraron fases de adaptación de aproximadamente cinco días.

Una vez que los cuatro bioreactores alcanzaron la fase de mantenimiento, se realizó una segunda alimentación de sustrato fresco de la mezcla de RFV en las cantidades previamente establecidas dando inicio al período II. El bioreactor de 5% fue el único en mostrar fase de producción exponencial elevada de metano después de esta reinyección de sustrato, los otros reactores registraron valores bajos de producción de metano (Figura 7, Tabla 9). Se presume que el estiércol disuelto alimentado con la mezcla de RFV, además de cumplir con la función de complemento del inóculo microbiano EL, también forma parte del sustrato donador de electrones para la generación de metano. Singh *et al* (2010), emplearon en su investigación estiércol vacuno disuelto en agua potable como complemento del inóculo microbiano utilizado, y además como sustrato donador de electrones. En otra investigación, Iyagba *et al* (2009), utilizaron estiércol vacuno como co - sustrato para la degradación de la cáscara de arroz con el objetivo de producir biogás y observaron que en los ensayos en donde se redujo el volumen de estiércol, la producción de biogás disminuyó de forma significativa, demostrando la importancia de la presencia de estiércol.

En general se puede establecer que durante los tres períodos de operación, el bioreactor con 5% RFV fue el de mejor desempeño en términos de generación de metano, seguido por el de

7.5% RFV, el de 10% RFV y finalmente el de 12.5% RFV, por lo que se concluye que la carga orgánica de alimentación está directamente relacionada con la producción acumulada de biogás, mientras mayor es la carga orgánica menor es la producción de metano. Estos resultados son comparables con publicaciones previas. Bouallagui *et al* (2003) emplearon biodigestores tubulares para degradar residuos de frutas y vegetales, y demostraron que la producción de biogás incrementó al aumentar la carga orgánica de 4 a 6% de sólidos totales. Sin embargo, la conversión del sustrato a biogás disminuyó drásticamente al aumentar la carga orgánica a 8% e incluso el proceso llegó a detenerse con una alimentación de 10% de sólidos totales. Además de Bouallagui *et al* (2003), otros autores como Cohen (1983) atribuyen este hecho a la rápida conversión del sustrato en ácidos grasos volátiles, indicando que la acumulación de los mismos causa inhibición de los microorganismos metanógenos. De igual manera, Cohen (1983) y Liu *et al* (2002) afirman que al incrementar la tasa de alimentación del sustrato, la producción de acetato, hidrógeno y dióxido de carbono aumenta de manera significativa, mientras que la actividad degradadora de la población de microorganismos metanógenos que utilizan acetato y de los que utilizan hidrógeno no se incrementa en la misma medida. La acumulación de hidrógeno inhibe parcialmente la acidogénesis causando desbalances en las reacciones metanogénicas, dando como resultado el cese de la producción de metano (Cohen, 1983; Liu *et al*, 2002; Eliyan *et al*, 2007).

La generación acumulada de metano en el bioreactor de mejor desempeño alimentado con 5% RFV después de 90 días de funcionamiento fue elevada, alcanzando valores de 2401.92 L CH₄ kg SV⁻¹ (Figura 7). La producción de metano de este bioreactor es comparable con la producción registrada en el trabajo de Bouallagui *et al* (2003), en donde emplearon un biodigestor tubular con volumen de trabajo de 18 litros consiguiendo el mayor rendimiento de

producción de biogás de $907.18 \text{ L CH}_4 \text{ kg SV}^{-1}$ con una concentración de material alimentado de 6% de sólidos totales. Este valor de generación de biogás se registró en el día 20 de operación. Si se compara la cantidad de metano producida por el bioreactor estudiado en esta investigación, con porcentaje de alimentación de 5% RFV en el día de operación 20, se puede ver que la cantidad de metano producida ($1481.5 \text{ L CH}_4 \text{ kg SV}^{-1}$) es incluso superior a la reportada en el estudio de Bouallagui *et al* (2003).

La producción acumulada de metano está relacionada directamente con el pH y los porcentajes de remoción de la materia orgánica expresada como demanda química de oxígeno en los bioreactores. La Figura 9 presenta la variación del pH registrado en el efluente de los cuatro bioreactores, a lo largo del tiempo de operación (90 días). Como era de esperarse, el pH de los reactores cayó durante los tres primeros días, por ejemplo en el reactor de 12.5% RFV se registró un pH de 5.98. Eliyan *et al* (2007) y Vavilin *et al* (2002) explican en sus artículos que en los primeros días del proceso de degradación anaerobia, la concentración de ácidos grasos volátiles incrementa, siendo esto una de las posibles causas para la acidificación en el bioreactor. Este incremento en la concentración de los ácidos grasos volátiles se debe a que los microorganismos presentes no son capaces de remover el hidrógeno y los ácidos orgánicos a la misma velocidad a la que estos están siendo producidos (Adhikari, 2006). Según la investigación realizada por Bouallagui *et al* (2003), en los primeros días de reacción el pH desciende debido a los bajos valores de pH de la mezcla de frutas y vegetales alimentada. El pH de la mezcla alimentada en los bioreactores en este estudio fue de 4.97, lo cual ocasionó una ligera acidificación en los sistemas. Este comportamiento también fue mencionado en el estudio de Mata - Álvarez *et al* (1992), en donde se indica que debido al bajo pH de la mezcla de residuos de frutas y vegetales algunos autores adicionan una solución de hidróxido de sodio a la mezcla. Sin regulación en la

mezcla, el pH puede descender a valores menores a 6 inhibiendo la actividad de las bacterias metanogénicas (Mata - Alvarez *et al*, 1992). Sin embargo, según Bouallagui *et al* (2003), el pH de los reactores puede auto neutralizarse a lo largo del proceso debido a la acción de los organismos metanógenos.

Durante los primeros 20 días de funcionamiento, el pH de los cuatro bioreactores se mantuvo en un rango entre 7.01 y 7.14. A partir del día 43, inicio del período II el pH varió entre 7.43 y 7.59, y en el período III (día 64 – 90) el pH varió entre 7.41 y 7.63. El pH de los bioreactores permaneció estable exceptuando algunas ocasiones cercanas a nuevas fases de alimentación. En términos generales se puede concluir que los valores de pH registrados en los períodos II y III son mayores que aquellos obtenidos en el período I. El aumento de pH en los dos últimos períodos representa una disminución excesiva de iones hidronio, incluso mayor al 50% en el caso del bioreactor de 5% RFV. Este aumento de pH en los períodos II y III está directamente relacionado con una disminución en la producción de metano, es así que la mayor tasa de producción de metano se obtuvo en el período I con valores de pH entre 7.01 y 7.14. Según la investigación conducida por Balch *et al* (1979), los microorganismos metanógenos requieren valores de pH cercanos a 7 y en ciertas ocasiones incluso valores menores para desempeñarse adecuadamente. Por ejemplo, *M. ruminantium* necesita un pH entre 6.3 y 6.8 para generar metano como producto de su metabolismo microbiano. Estos mismos autores consideran que el pH óptimo para la generación de biogás por parte de estos microorganismos está entre 6.7 y 7.2. En la literatura incluso se señala que *Metanosarcina*, una de las metanógenas de mayor prevalencia en los consorcios microbianos encontrados en procesos de degradación anaerobia, requiere un pH de 6.5 (Deublein y Steinhauser, 2008).

Las tasas de remoción de DQO fueron expresadas como porcentaje de remoción DQO por día y en términos generales se puede decir, que la tasa de remoción de DQO para los cuatro bioreactores evaluados en el presente trabajo fue mayor en el período I, mientras que en los períodos II y III los valores obtenidos fueron comparables entre sí. Estos resultados concuerdan con los obtenidos para la producción acumulada de metano y el pH, en los que efectivamente se observa que en el período I se alcanzó la mayor producción de metano, el rango de pH óptimo y por ende la mayor degradación de la materia orgánica. La disminución en la tasa de remoción de DQO puede ser atribuida al aumento del pH en los reactores. Como se mencionó previamente, los microorganismos metanógenos requieren valores de pH específicos para alcanzar su máximo desempeño ya sea de producción de metano o degradación del sustrato (Balch *et al*, 1979).

Los porcentajes de remoción de sólidos volátiles en los cuatro bioreactores fueron muy similares entre sí variando entre 80.3 y 84.6%, obteniéndose la mayor remoción en el bioreactor con 5% RFV. Los valores alcanzados en esta investigación son bastante elevados indicando una buena degradación de la materia orgánica presente y se comparan con datos reportados en la literatura. Bouallagui *et al* (2003), en un estudio de degradación anaerobia de un bioreactor tubular alimentado con 6% sólidos totales reportó una remoción del 75.9% en un tiempo de retención de 20 días.

En los procesos de digestión anaeróbica de residuos de frutas y vegetales (RFV) por lo general se monitorea la concentración de amonio presente en la mezcla, la cual puede ser considerada como la cantidad de nitrógeno total. En el estudio conducido por Lin *et al* (2011), se empleó la digestión anaerobia para tratar residuos de frutas y vegetales junto con los residuos generados en la industria de alimentos, en donde los valores de amonio registrados para la mezcla de RFV empleada en dicho estudio fue de 585.3 mg L⁻¹. Se conoce que la concentración

de nitrógeno como amonio es significativamente superior a la registrada como concentración de nitrato, lo cual concuerda con los resultados obtenidos en la presente investigación. Como se mencionó previamente, los niveles de nitrato registrados para los cuatro bioreactores son bastante menores a los de amonio mencionados en la literatura, con valores que oscilan entre 16.92 y 22.73 mg L⁻¹, siendo el reactor de 10% RFV el que mayor concentración de nitratos registró (22.73 mg L⁻¹).

10. Conclusiones

La generación de metano por parte del inóculo EL (40% lodo y 90% (v/v) estiércol) en los cuatro bioreactores con diferentes porcentajes de RFV alimentados durante noventa días de operación se demostró exitosamente. El empleo de inóculos mixtos o co-substratos durante la degradación anaerobia de residuos orgánicos da como resultado una mayor generación de metano debido al sinergismo por parte de los microorganismos involucrados.

Se logró determinar las condiciones de operación óptimas para el funcionamiento adecuado de los bioreactores. La agitación y el pH se identificaron como los parámetros más importantes en el proceso, ya que sin su control los valores de producción de metano habrían sido menores, e incluso se podría haber dado la suspensión del proceso debido a la alta carga orgánica suministrada.

De los cuatro bioreactores en funcionamiento, se estableció que la composición adecuada para la obtención de mejores resultados fue la del bioreactor alimentado con 5% de la mezcla de residuos de frutas y vegetales. Éste presentó mejores niveles de producción acumulada de

metano en los tres períodos estudiados con pH óptimos logrando también buenos porcentajes de remoción tanto de sólidos totales como de la demanda química de oxígeno.

La información obtenida en este estudio y la tecnología generada en bioreactores representan una alternativa viable y atractiva para el manejo de los residuos orgánicos en el país. La implementación este tipo de sistemas ofrece un manejo integral de residuos sólidos orgánicos a través de la generación energía renovable en forma de gas metano, el empleo de energía limpia para utilizar en el mercado, y el tratamiento y control de la contaminación ambiental.

11. Recomendaciones

Con respecto al estudio realizado y los resultados obtenidos, se recomienda monitorear de forma regular el pH de los bioreactores y además controlarlo para que se encuentre dentro de los rangos óptimos y de esta manera obtener una mayor producción de gas metano. También sería recomendable monitorear los valores de ácidos grasos volátiles durante el proceso, ya que la presencia de estos es un indicador de gran importancia para mantener la estabilidad en el sistema.

En el diseño de los bioreactores es importante tener en cuenta las condiciones necesarias para el desempeño del mismo, como es el caso de la hermeticidad.

Se recomienda continuar con la investigación sobre sistemas adecuados para el aprovechamiento de residuos sólidos orgánicos generados en nuestro país, ya que es un campo con mucho potencial y actualmente poco explorado.

12. Trabajos Futuros

Los resultados obtenidos en este trabajo de investigación serán aplicados en la construcción de un reactor anaerobio escala piloto para el tratamiento de desechos orgánicos provenientes de la granja de la USFQ.

13. Bibliografía

- Adhikari, R. (2006). *Sequential Batch and Continuous Anaerobic Digestion of Municipal Solid Waste in Pilot Scale Digesters*. Asian Institute of Technology, Thailand.
- Ahring, B., y J. Schmidt (1996). Granular Sludge Formation in Upflow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) Reactors. [Review]. *Biotechnology and Bioengineering*, 49, 229-246.
- Anwar, H., M. Dasgupta., y J. Costerton (1990). Testing the Susceptibility of Bacteria in Biofilms to Antibacterial Agents. *American Society for Microbiology*, 34, 2043 - 2046.
- APHA, C., A.E. Greenberg, and A.D. Eaton (1998). *Standard methods for the examination of water and wastewater* (20 th ed.). Washington DC: American Public Health Association.
- Balch, W. *et al.* (1979). Methanogens: Reevaluation of a Unique Biological Group. *Microbiological Reviews*, 43, 260 - 296.
- Bhatti, Z., *et al.* (2001) *Characterization of denitrifying granular sludge treating soft groundwater in an upflow sludge - blanket reactor* Department of Civil and Environmental Engineering, Kumamoto University.
- Bosma, T., y H. Harms. (1997) *Mass transfer limitation of microbial growth and pollutant degradation*. Swiss federal Institute for Environmental Science and Technology (EAWAG) CH 8600 Dubendorf.
- Bouallagui, H. *et al.* (2003). Mesophilic biogas production from fruit and vegetable waste in a tubular digester. *Bioresourse Technology*, 86, 85-89.
- Bouallagui, H. *et al.* (2005). Bioreactor performance in anaerobic digestion of fruit and vegetable wastes. *Process Biochemistry*, 40, 989-995.
- Bouallagui, H. *et al.* (2009). Improvement of fruit and vegetable waste anaerobic digestion performance and stability with co - substrates addition. *Journal of Environmental Management*, 90, 1844-1849.
- Breen, B. (1990). Landfills are Number I. . *Garbage Magazine*, 4, 32-40.
- Chang, R. (2002). *Quimica*. Mexico D.F.
- Cohen, A. (1983). *Two - Phase digestion of liquid and solid wastes*. Paper presented at the Proceedings of the 3th International Symposium of Anaerobic Digestion, Boston.
- Dahhan, A., *et al.* (2005) *Anaerobic digestion of animal waste: effect of mode of mixing*. Chemical Reaction Engineering Laboratory (CREL), Department of Chemical Engineering, Washinton University, St. Louis.

- Deminer, E., y E. Dogan (2009). Volatile Fatty Acid Production from Organic Fraction of Municipal Solid Waste Through Anaerobic Acidogenic Digestion. *Environmental Engineering Science*, 26, 1443-1450.
- Deublein, D., y A. Steinhauser (2008). *Biogas from Waste and Renewable Resources. An Introduction*. Weinheim: Wiley - VCH GmbH & Co.
- EMASEO, E. M. d. A. (2010). *Plan de Servicios de Aseo Administracion Zonal Tumbaco*.
- Eliyan, C. et al. (2007). *Anaerobic Digestion of Municipal Solid Waste in Thermophilic Continuous Operation*. Paper presented at the Proceedings of the International Conference on Sustainable Solid Waste Management.
- Espinoza-Chavez, B. et al. (2007). *Caracterizacion anaerobia de un lodo granular: Efecto del tamano de particula en la actividad anaerobia especifica*. Paper presented at the XII Congreso Nacional de Biotecnologia y Bioingenieria.
- Fischer, T. et al. (2006). *Farm Scale Biogas Plants*. Goettingen, Germany: National Institute of Agricultural Science and Technology.
- Gholamifard, S., y Christian Duquennoi (2008). Modeling anaerobic bioreactor landfills in methanogenic phase: Long term and short term behaviors. *Water Research*, 42, 5061 - 5071.
- Gomez - Lahoz, C. et al. (2007). Biomethanization of mixtures of fruits and vegetables solid wastes and sludge from a municipal wastewater treatment plant. *Journal of Environmental Science and Health*, 42, 481- 487.
- Gomez, M., R. Moirena., y J. Felizzia (2009). Caracterizacion hidrogeoquimica e identificacion de procesos de mezcla en un acuífero afectado por un vertedero municipal no controlado. *Boletín De la Sociedad Geológica Mexicana*, 61, 437-450.
- Guyot, J. et al. (1988). *Actividades Metanogenicas de lodos granulares de un digestor de lecho de lodos*. Paper presented at the I Simposio Nacional sobre Ingenieria Ambiental.
- Institute, C. M. (2005). *Home Composting*. Ithaca NY.
- Iyagba, E., et al (2009) *The study of cow dung as co - substrate with rice husk in biogas production* Department of Chemical Engineering, University of Port Harcourt, Choba.
- Janulis, P., y E. Simmonds (2009). Application of Sewage Sludge in the Production of Biogas and Biofertilizers. *Biosystem Engineering and Environment*, 321-326.

- Jaramillo - Henao, G., y L. Zapata (2008). *Aprovechamiento de los Residuos Soidos Organicos en Colombia*. Universidad de Antioquia, Colombia.
- Kirk, S., R. Sawyer., y H. Egan (1996). *Composicion y Analisis de alimentos de Pearson* (Novena edicion ed.). Mexico.
- Kirov, N. (1982). *General Overview of Waste Management Practices and Needs in Developing Countries*. Berlin.
- Kolař, L. *et al.* (2009). Changes in methane release from organic matter passing through the digestive tract of horses. *Czech J. Anim*, 54, 112-120.
- Korato, D. *et al.* (2005). Evaluation of maturity of poultry manure compost by phospholipid fatty acids analysis. *Biol Fertil Soils*, 41, 399-410.
- Kusch, S., Oechsner, H., y Jungbluth, T. (2008). Biogas production with horse dung in solid phase digestion systems. *Bioresource Technology*, 99: 1280-1292.
- Lardinois, I., y A. Klundert. (2003). *Organic Waste, Options for small- scale resource recovery*. The Netherlands: TOOL.
- Leven, L., A. Eriksson, y A. Schnurer. (2007). Effect of process temperature on bacterial and archeal communities in two methanogenic bioreactors treating organic household waste. *Federation of European Microbiological Societies*, 59, 683-693.
- Lin, J., *et al.* (2011) *Effects of mixture ratio on anaerobic co - digestion with fruit and vegetable waste and food waste of China*. Journal of Environmental Sicences, 1403 - 1408.
- Liu, H. *et al.* (2002). Steam pressure disruption of municipal solid waste enhances anaerobic digestion kinetics and biogas yield. *Biotechnology Bioengineering*, 77, 121-130.
- Madigan, M., J. Martinko, y Jack Parker (2004). *Biologia de los Microorganismos* (10ma ed.). Madrir: Prentice Hall.
- Mata - Alvarez, J. *et al.* (1992). Anaerobic Digestion of the Barcelona Central Food Market Organic Wastes. Plant Design and Feasibility Study. *Bioresource Technology*(42), 33-42.
- Medina, M. (1999). Reciclaje de desechos solidos en America Latina. *Frontera Norte*, 11, 3-25.
- Metcalf & Eddy, I. (2003). *Wastewater Engineering Treatment and Reuse* (Fourth Edition ed.). New York
- Mims, C. *et al.* (1999). *Microbiologia Medica* (Segunda ed.). Madrid, Espana.
- Monnet, F. (2003). *An Introduction to Anaerobic Digestion of Organic Wastes*. Scotland.

- Moreno, A., y X. Niell. (2008) *El metano, un gas que contribuye al cambio climatico, en el Estuario del rio Palmones* Dep. Ecología y Geología, Fac. de Ciencias, Universidad de Málaga
- Nieto, G., et al (2001) *Morfología y estructura microbiana de biogranulos de reactores anaerobios UASB (Upflow anaerobic sludge bed)*
- Ochoa-Herrera, V. et al. (2009). Toxicity of flouride to microorganisms in biological wastewater treatment systems. *Water Research*, 43.
- Ore, D. (2002). *Aprovechamiento de Residuos Organicos en Agricultura Urbana*.
- Organizacion Panamericana de la Salud, O. M. d. I. S. (2002). *Analisis Sectorial de Residuos Solidos Ecuador*.
- Pennington, J., K. VanDevender, y J. Jennings (2009). Nutrient and Fertilizer Value of Dairy Manure. *Agriculture and Natural Resources*(FSA 4017).
- Peñafiel, J. (2009). En el país no se aprovechan los desechos. *El Universo*.
- Pound, B., F. Done, y T. Preston (1981). Biogas Production From Mixtures of Cattle Slurry and Pressed Sugar Cane Stalk, with and Without Urea. *Trop Anim Prod*, 6-21.
- Rapport, J. et al. (2008). *Current Anaerobic Digestion Technologies Used for Treatment of Municipal Organic Solid Waste*. Sacramento: California Environmental Protection Agency.
- Rizk, MC., R. Bergamasco, y C. Granhen (2007). Anaerobic Co-digestion of Fruit and Vegetable Waste and Sewage Sludge. *International Journal of Chemical Reactor Engineering*, 5, 1-10.
- Rodriguez, J., G. Sosa y Y. Garza (2001). Bioconversion anaerobia como una alternativa para la remocion de DQO contenido en aguas residuales del rastro municipal de la Ciudad de Saltillo, Coahuila, Mexico. *Revista de la Sociedad Quimica de Mexico*, 46, 185 - 188.
- Rubio, M. (2011). *Manejo Residuos Solidos*. Quito: EMASEO.
- Silva, R. (2011). *Indices de Gestion*. Quito: EMASEO.
- Singh, R., S. Mandal, y V. Jain (2010). *Development of mixed inoculum for methane enriched biogas production*. *Indian J Microbiol*, 50, 26 - 33.
- Thébaud, A., J. Vos (2009). *State of the art in biogas. Short country profiles for Argentina, Brazil, Chile and Mexico*. Buenos Aires.

- Vavilin, V., *et al.* (2002) *Distributed Model of Solid Waste Anaerobic Digestion* Water Problems institute, Russian Academy of Sciences, Moscow.
- Viturtia, A. y J. Mata -Alvarez (1989). *Two - Phase Anaerobic Digestion of a Mixture of Fruit and Vegetable Wastes* Biological Wastes, 29, 189-199.
- Wartell, B. (2009). *Anaerobic Digestion of Equine Waste*. Rutgers, The State University of New Jersey, New Jersey.
- Yang, S-S. (1998). Methane production in river and lake sediments in Taiwan. *Environmental Geochemistry and Health*, 20, 245 - 249.
- Zerbock, O. (2003). *Urban Solid Waste Management: Waste Reduction in Developing Nations*. Michigan Technological University, Michigan.

14. Tablas

Tabla 1. Caracterización físico - química de los inóculos microbianos evaluados en este estudio. Sólidos suspendidos totales (SST), sólidos suspendidos volátiles (SSV), cenizas, pH y demanda química de oxígeno soluble (DQO) y total (DQOT)

Muestras	pH	SST (gL⁻¹)	SSV (gL⁻¹)	Cenizas (gL⁻¹)	SSV/SST (%)	DQO (mg O₂ L⁻¹)	DQO_T (mg O₂ L⁻¹)
Lodos granulares CN	7.27	7.90±0.06	7.32±0.11	0.05±0.01	92.7	360.55±15.42	962.90±58.71
Lodos biodigestor JB	6.96	3.42±1.50	2.71±1.28	0.01±0.00	79.4	1685.91±22.03	5037.67±421.98
Sedimentos laguna artificial USFQ	7.83	10.01±0.14	1.08±0.61	0.89±0.06	10.8	186.51±115.6	228.60±1.70

Tabla 2. Actividad máxima específica de generación de metano de inóculos microbianos evaluados en presencia de 2.5 g DQO - acetato L⁻¹

Ensayo	Muestras	Actividad máxima específica metanogénica (mg DQO-CH ₄ g SSV ⁻¹ d ⁻¹)
Inóculos microbianos	Lodos granulares CN (20%)	89.03
	Lodos biodigestor JB (20% v/v)	121.64
	Sedimentos Laguna USFQ (10%)	67.15
Evaluación diferentes % de estiércol (E) con lodos granulares CN (L)*	Tratamiento 1: 10% L + 25% E	36.54
	Tratamiento 2: 10% L + 50% E	101.33
	Tratamiento 3:10% L + 90% E	119.12

* La actividad máxima específica de los tratamientos con diferentes porcentajes de estiércol se determinó con los el valor de SSV de los lodos granulares CN

Tabla 3. Puestos de frutas y vegetales del mercado central de Tumbaco y la presencia de residuos

Frutas & Vegetales	Puestos en Mercado	Puestos con Residuos	% residuos en el mercado*
Cebolla	18	5	6.17
Choclo	23	17	20.99
Zanahoria	17	3	3.70
Coliflor	26	7	8.64
Brócoli	20	9	11.11
Tomate	50	18	22.22
Pimiento	48	15	18.52
Lechuga	57	32	39.51
Col	61	35	43.21
Manzana	39	12	14.81
Frutilla	4	1	1.23
Pera	7	1	1.23
Naranja	12	2	2.47
Sandía	8	4	4.94
Melón	6	0	0.00
Uva	7	1	1.23
Naranjilla	5	0	0.00
Pepino	15	3	3.70
Taxo	14	2	2.47
Maduro	9	1	1.23
Maqueño	5	0	0.00
Uvilla	7	3	3.70
Caña	16	10	12.35
Papaya	13	0	0.00
Pitahaya	8	0	0.00
Durazno	15	4	4.94
Plátano	11	0	0.00
Mandarina	22	2	2.47
Limón	8	3	3.70
Total Puestos	81	43	53.09

*El porcentaje de residuos de cada fruta y vegetal se determinó estimando la cantidad de puestos en funcionamiento, y el número de estos que generan residuos

Tabla 4. Caracterización físico - química de la mezcla de residuos de frutas y vegetales (RFV) y de sus componentes. pH, sólidos totales (ST), sólidos volátiles (SV), cenizas, humedad y demanda química de oxígeno soluble (DQO) y total (DQO_T)

Sustrato	pH	ST (g L⁻¹)	SV (g L⁻¹)	Cenizas (g L⁻¹)	Humedad (%)	SV/ST (%)	DQO (mg O₂ L⁻¹)	DQO_T (mg O₂ L⁻¹)	Composición Mezcla (%)
Tomate	4.31	4.70±0.14	3.86±0.10	0.08±0.003	95.29	82.02	-	-	25
Pimiento	5.54	5.81±0.04	4.90±0.04	0.09±0.0002	94.18	84.25	-	-	20
Lechuga	6.19	6.33±0.04	5.63±0.04	0.07±0.0001	93.66	88.90	-	-	25
Col	6.53	6.90±0.02	6.51±0.02	0.03±0.0002	93.09	94.35	-	-	15
Manzana	4.23	12.74±0.15	12.13±0.17	0.06±0.002	87.26	95.26	-	-	15
Mezcla RFV	4.97	7.95±0.21	7.27±0.18	0.06±0.003	92.05	91.4	93.70±23.84	210.19±84	100

Tabla 5. Producción acumulada de metano para determinar las proporciones ideales de lodo y estiércol en el inóculo EL con 5% de RFV en función de la eficiencia de la degradación de los RFV, la tasa de producción acumulada de metano y el tiempo de digestión

Ensayo	Muestras	% Degradación	Tasa de producción CH₄ (L kg SV⁻¹d⁻¹)	Tiempo de Digestión (días)
Evaluación diferentes % de estiércol en inóculo	T10% L + 25% E	70.33	36.89	35
	T10% L + 50% E	39.12	37.62	
	T10% L + 90% E	25.69	39.09	
	Control Estiércol	-	15.31	
	Control Lodo	-	17.07	
Evaluación diferentes % de lodo con 90% estiércol en inóculo	T10% L + 90% E	25.69	39.56	25
	T20% L + 90% E	94.14	44.18	
	T30% L + 90% E	82.38	42.07	
	T40% L + 90% E	83.76	42.27	
	Control Estiércol	84.01	15.50	
	Control Lodo	86.96	17.44	
	Control Abiótico	85.47	1.94	
Comparación ensayos de mayor producción	T10%L + 90% E	41.68	27.04	43
	T40%L + 90% E	43.79	39.88	
	Control Lodo 40%	46.36	34.23	
	Control Abiótico	-	12.77	
Evaluación inóculo completo con agitación	T20%L + 90% E Agitación	-	58.59	7
	T40%L+90% E Agitación	-	97.02	

Tabla 6. Caracterización físico - química y biológica del inóculo EL compuesto por lodo y estiércol. pH, sólidos totales (SST), sólidos volátiles (SSV), cenizas y actividad máxima específica metanogénica

	pH	ST (g L ⁻¹)	SV (g L ⁻¹)	Cenizas (g L ⁻¹)	SSV/SST (%)	Actividad metanogénica (mg DQO-CH ₄ gSSV ⁻¹ d ⁻¹)
Inóculo EL*	7.68	19.90	16.32	0.36	82.00	12020.41

*EL (estiércol - lodo)

Tabla 7. Composición del inóculo (EL) para cada bioreactor en modo de operación semi - continuo
(T: tratamiento, L: lodo, E: estiércol)

Inóculo EL	Lodo		Estiércol		Agua	Volumen
	(g)	%	Volumen (mL)	%	Volumen (mL)	Total (EL)
T 40%L-90% E	240.0	40	540	90	60	600

Tabla 8. Porcentajes de degradación de RFV en los bioreactores (R) en modo de operación semi-continua

Bioreactor	Sólidos (g)	Medio basal mineral (g)	Inóculo EL (estiércol - lodo) (g)	Total (g)
R 5%	150	2250	600	3000
R 7.5%	225	2175	600	3000
R 10%	300	2100	600	3000
R 12.5%	375	2025	600	3000

Tabla 9. Tasa de producción acumulada de metano, pH efluente, tasa de remoción de DQO soluble, concentración de nitrato, y porcentaje SV/ST en los bioreactores (R) en los períodos de operación I, II y III

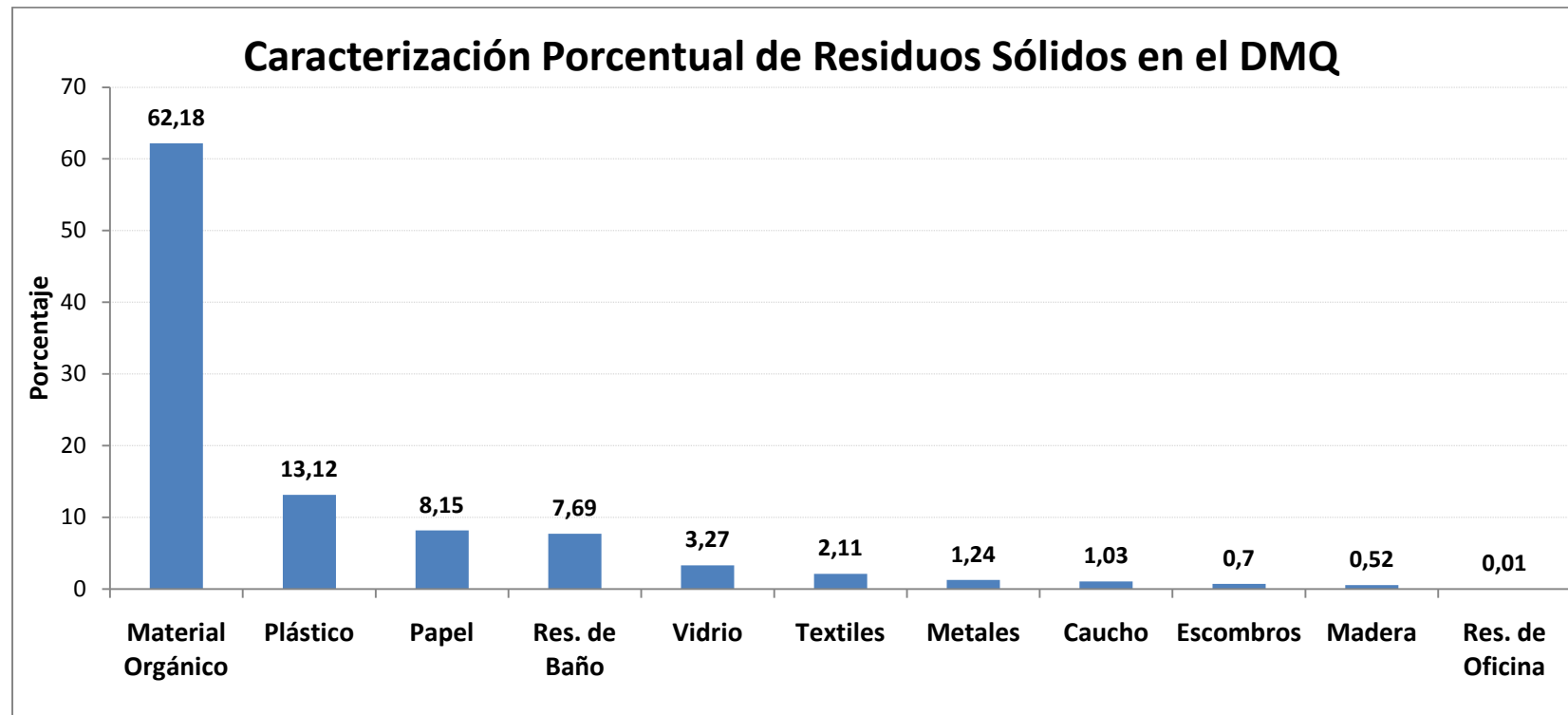
Período	Bioreactor	pH (promedio)	Tasa de producción acumulada de metano (L CH ₄ kg SV ⁻¹ d ⁻¹)	Tasa de remoción DQO (% remoción d ⁻¹)	SV/ST* (%)	Nitrato* (mg L ⁻¹)	Período de Digestión (días)
I	R5%	7.14	62.25	1.56	-	-	20
	R7.5%	7.06	34.00	1.38	-	-	20
	R10%	7.06	20.17	1.02	-	-	20
	R12.5%	7.01	16.49	1.08	-	-	20
II	R5%	7.59	37.06	1.16	-	-	6
	R7.5%	7.43	6.14	0.66	-	-	6
	R10%	7.68	8.20	0.36	-	-	6
	R12.5%	7.45	9.72	0.13	-	-	6
III	R5%	7.41	44.28	1.20	84.62	27.06	13
	R7.5%	7.45	29.44	1.15	82.56	20.67	13
	R10%	7.63	23.93	0.21	80.25	19.88	13
	R12.5%	7.52	16.52	0.16	81.35	17.01	13

* Valor de (%) SV/ST y nitratos en el día 76

* La tasa de remoción de DQO soluble se calculó a partir de la pendiente de la curva de porcentaje de remoción de DQO con respecto al tiempo para cada período

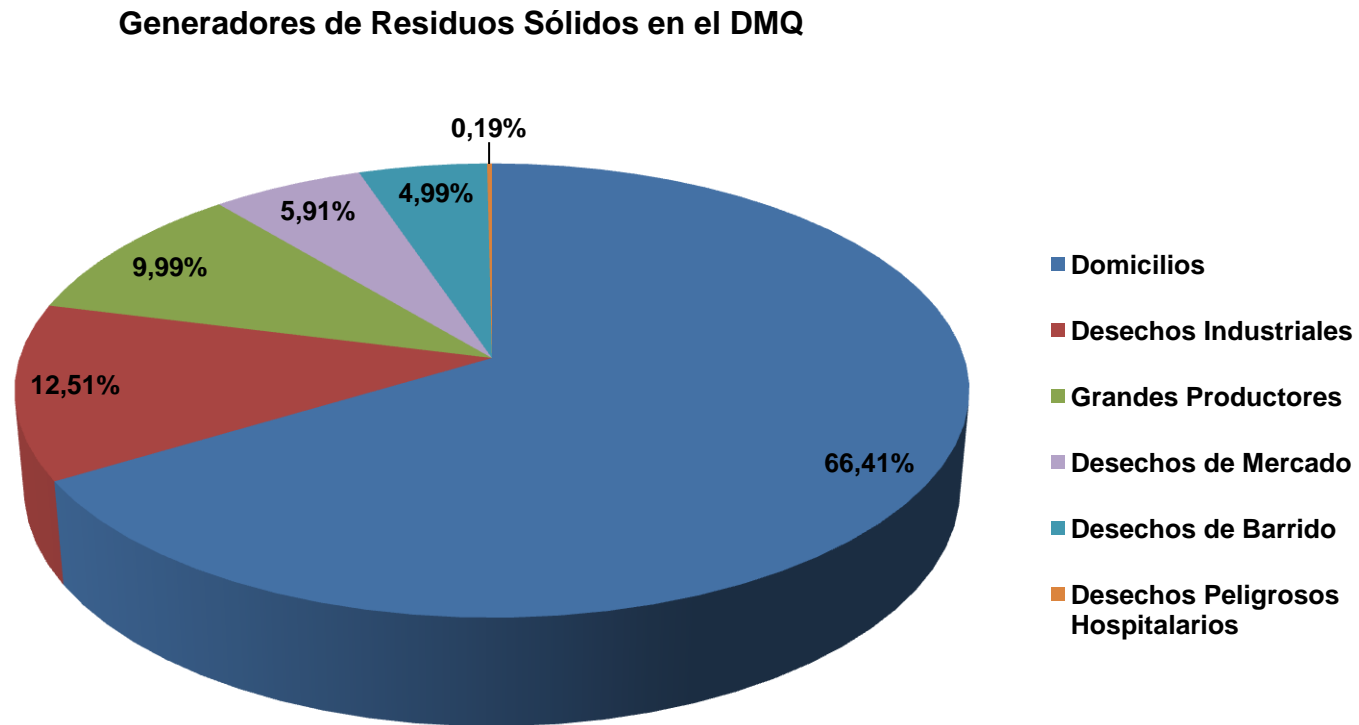
15. Figuras

Figura 1. Caracterización de residuos sólidos generados en el Distrito Metropolitano de Quito



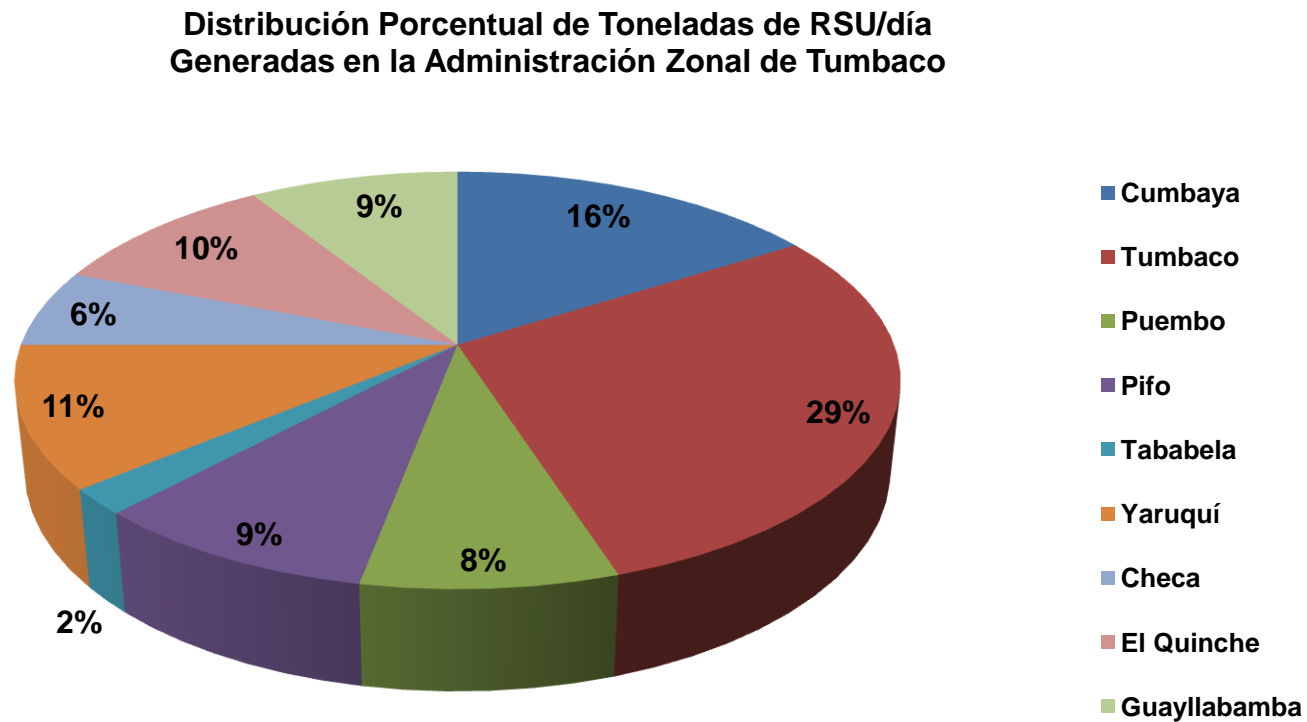
Fuente: EMASEO, 2010

Figura 2. Generadores de residuos sólidos en el Distrito Metropolitano de Quito



Fuente: EMASEO, 2010

Figura 3. Distribución porcentual de los residuos sólidos generados (toneladas) diariamente en las 9 parroquias de la Administración Zonal Tumbaco



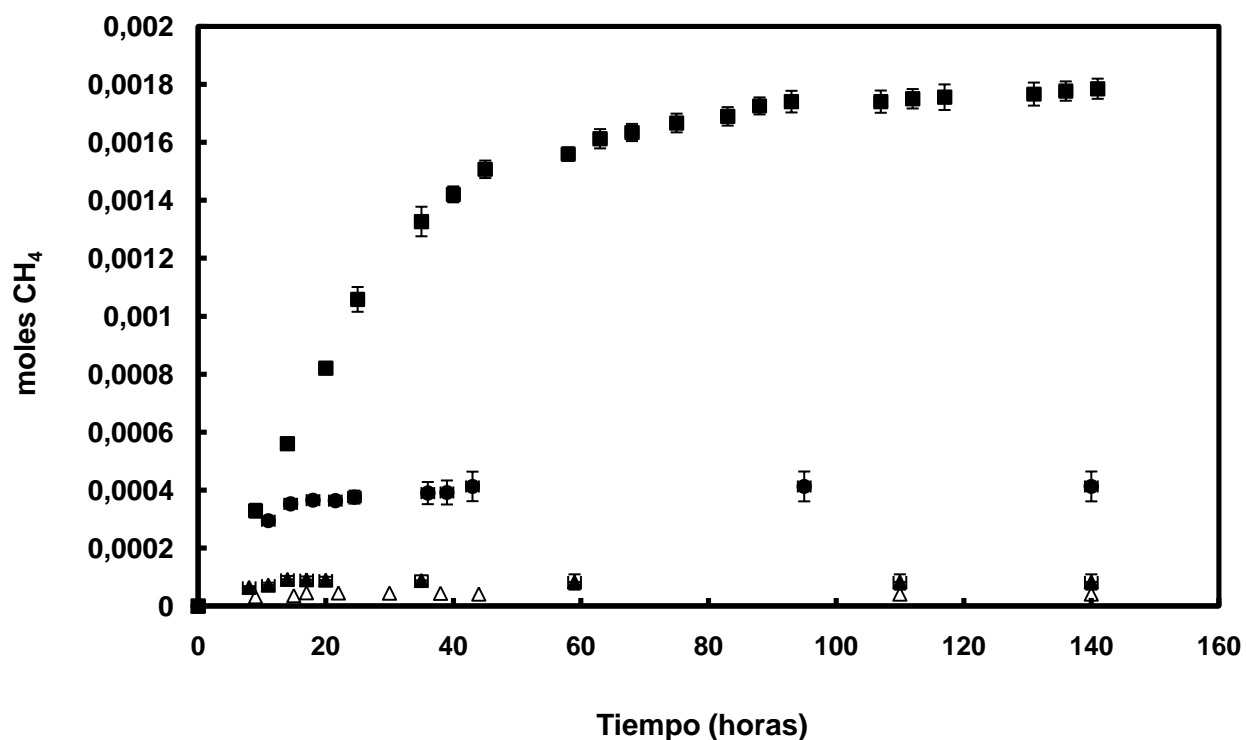


Figura 4. Producción acumulada de metano con respecto al tiempo en tres inóculos microbianos anaerobios. Los tratamientos incluyen medio basal mineral, 2.5 g DQO acetato L⁻¹ y 10% sedimentos de la laguna, o 20% de lodos granulares CN o 20% (v/v) de lodos del biodigestor JB. El control abiótico no incluye inóculo microbiano. Leyenda: (■) Lodos granulares CN, (●) Lodos biodigestor JB, (▲) Sedimentos laguna artificial y (△) Control abiótico. Las barras de error representan desviaciones estándares de bioensayos realizados por triplicado

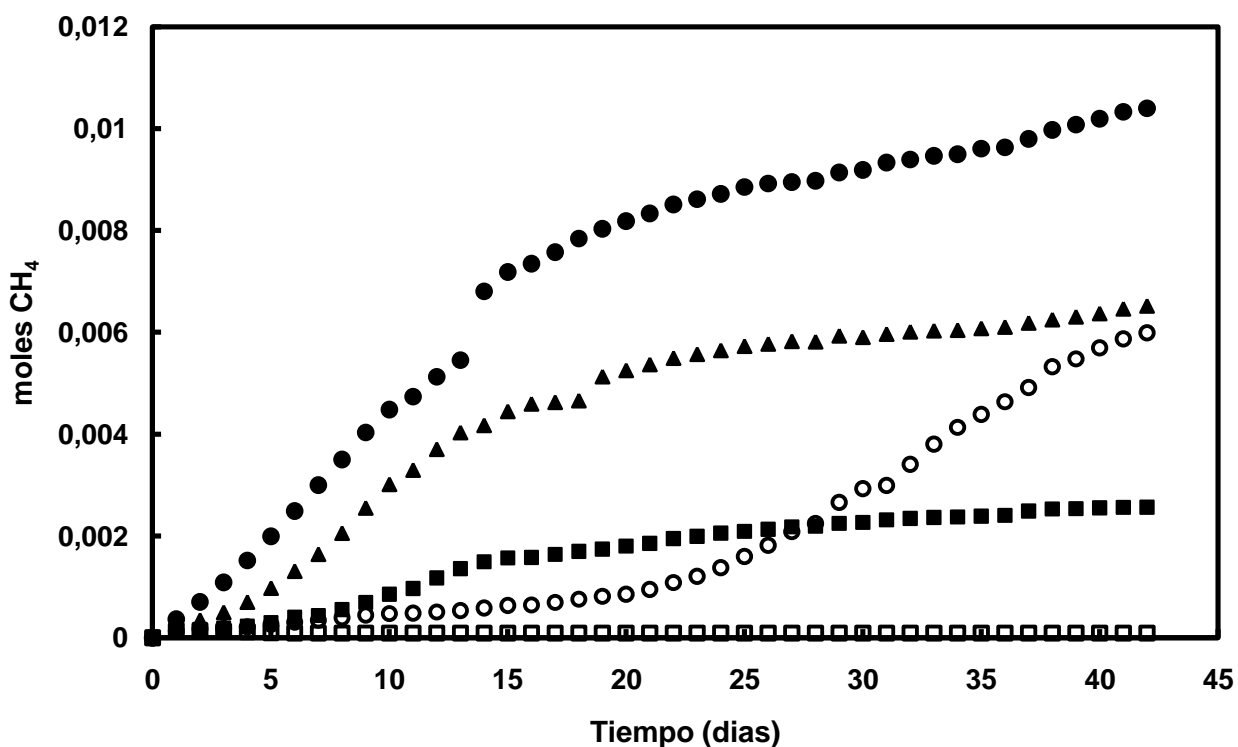


Figura 5. Producción acumulada de metano con respecto al tiempo evaluando el efecto de la adición de estiércol al inóculo microbiano. El inóculo estuvo compuesto de 1.5 g SSV L^{-1} de lodos granulares CN (10%) y diferentes porcentajes en volumen de estiércol en presencia de $2.5 \text{ g DQO acetato L}^{-1}$. Leyenda: (■) Tratamiento 1: 10% lodo CN +25% estiércol, (▲) Tratamiento 2: 10% lodo CN + 50% estiércol, (●) Tratamiento 3: 10% lodo CN + 90% estiércol, (○) control 90% estiércol, (□) control 10% lodo CN

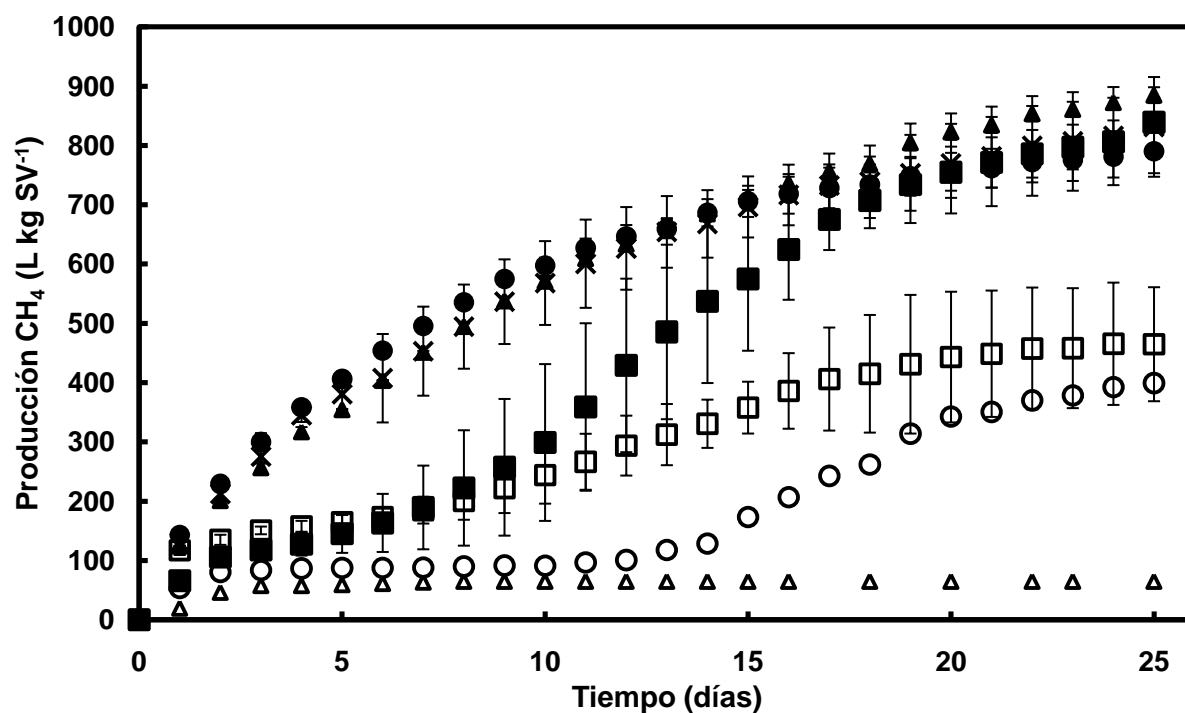


Figura 6. Producción acumulada de metano empleando diferentes cantidades de lodos granulares (L) en el inóculo EL con 90% de estiércol (E) en presencia de 5% de residuos de frutas y vegetales. Leyenda: (■) T10% L + 90% E, (▲) T20% L + 90% E, (x) T30% L + 90% E, (●) T40% L + 90% E, (○) control estiércol, (□) control lodo, (△) Control Abiótico. Las barras de error representan desviaciones estándares de bioensayos realizados por triplicado

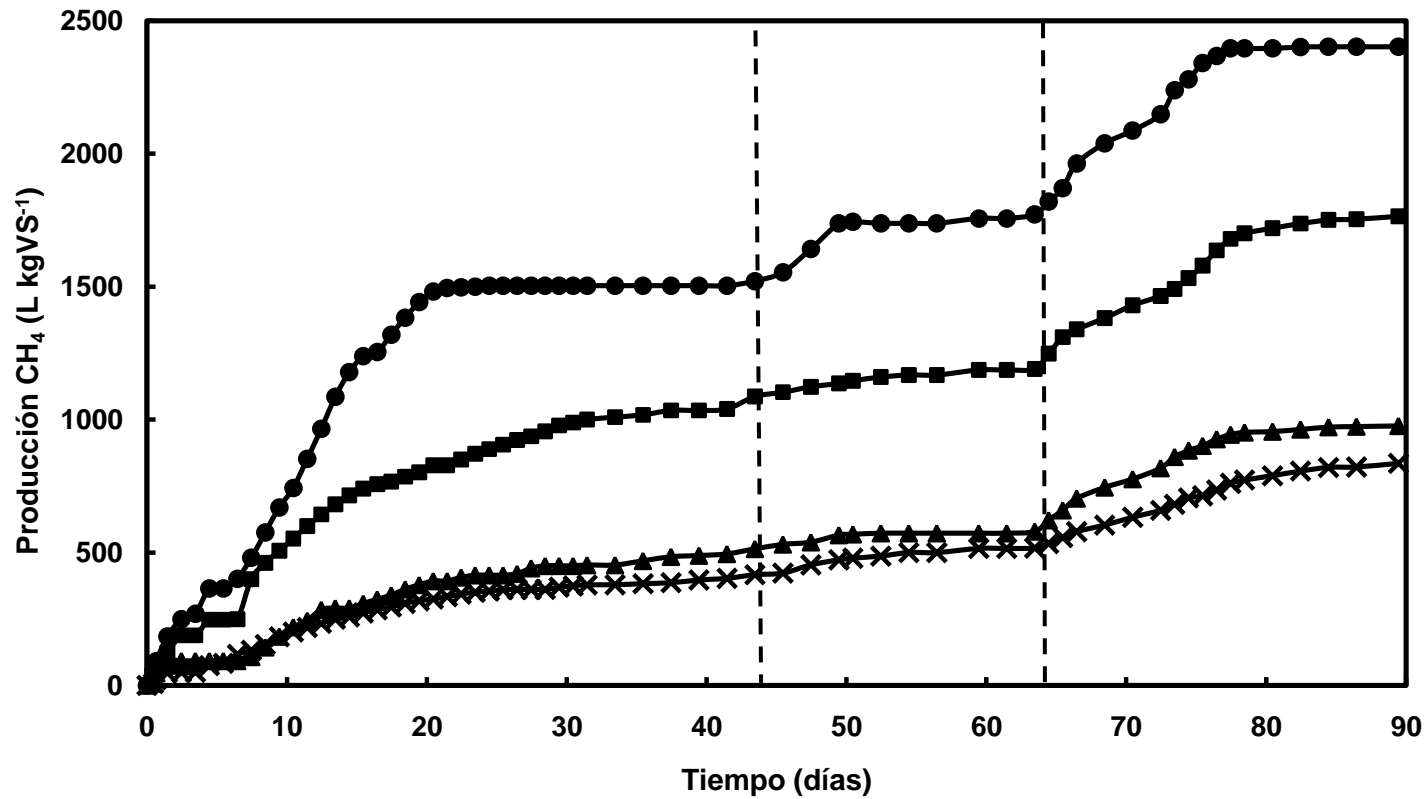


Figura 7. Producción acumulada de metano ($L\ kg\ SV^{-1}$) con respecto al tiempo en los cuatro bioreactores (R) en modo de operación semi – continuo, empleando el inóculo EL durante la degradación anaerobia de diferentes porcentajes de residuos de frutas y vegetales (RFV). Leyenda: (●) R 5%, (■) R 7.5%, (▲) R 10%, y (x) R 12.5% de RFV. El período I corresponde a los días 0 - 42, el período II corresponde a los días 43 – 63, y el período III corresponde a los días 64 - 90

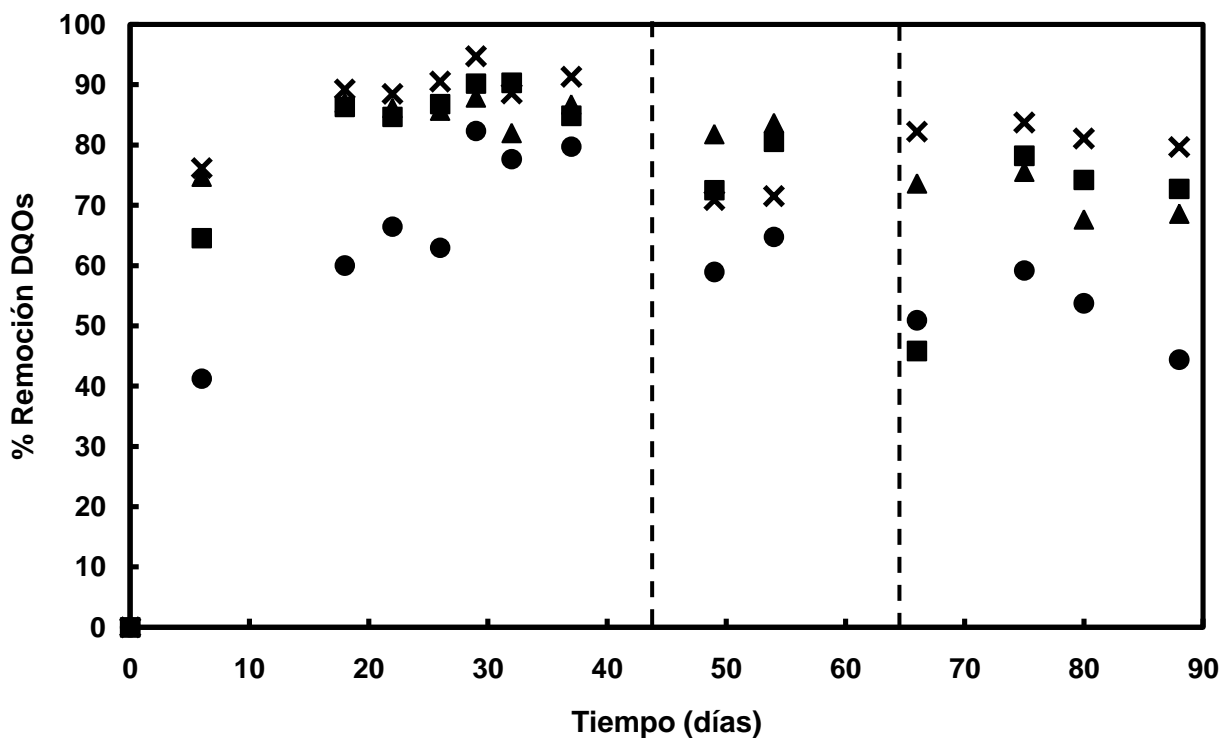


Figura 8. Porcentaje de remoción de la demanda química de oxígeno (DQO) soluble con respecto al tiempo en los cuarto bioreactores (R) en modo de operación semi – continuo empleando el inóculo EL durante la degradación anaerobia de diferentes porcentajes de residuos de frutas y vegetales (RFV). Leyenda: (●) R 5%, (■) R 7.5%, (▲) R 10%, y (x) R 12.5% de RFV. El período I corresponde a los días 0 - 42, el período II corresponde a los días 43 – 63, y el período III corresponde a los días 64 - 90

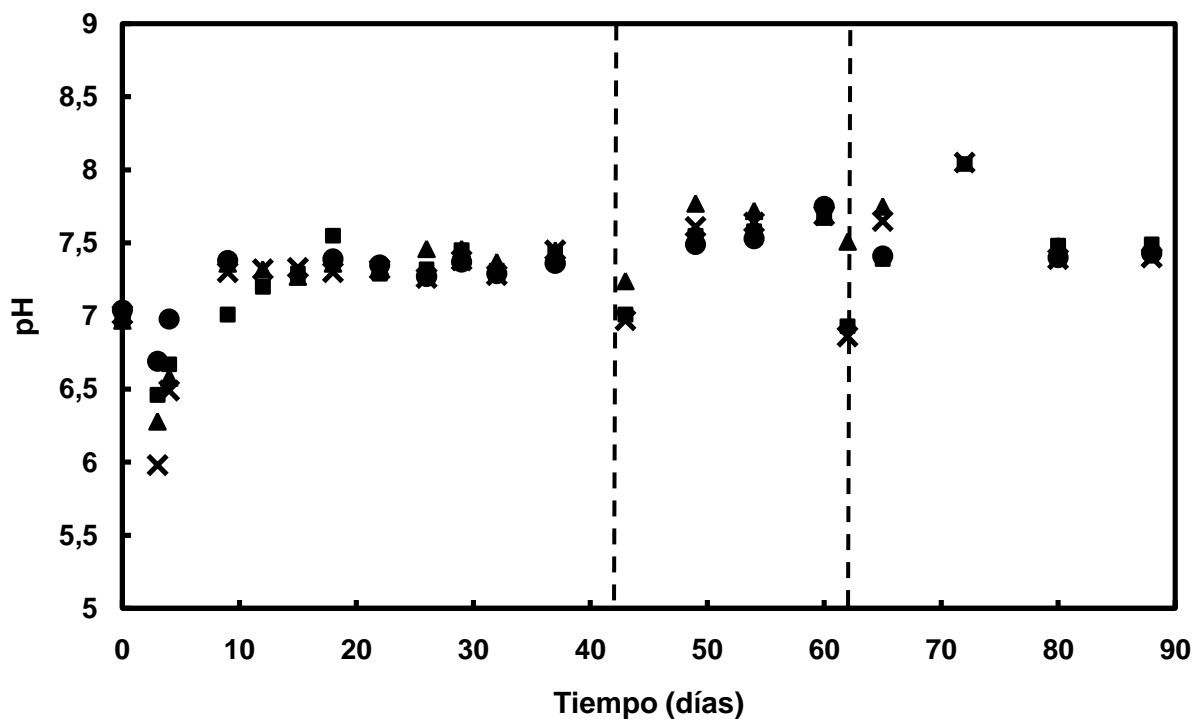


Figura 9. Variación del pH con respecto al tiempo en el efluente de los cuatro bioreactores (R) en modo de operación semi - continuo, empleando el inóculo EL para degradar diferentes porcentajes de residuos de frutas y vegetales (RFV). Leyenda: (●) R 5%, (■) R 7.5%, (▲) R 10%, (x) R 12.5%. El período I corresponde a los días 0 - 42, el período II corresponde a los días 43 - 63, y el período III corresponde a los días 64 - 90

16. Anexos

Anexo 1. Características generales del Biogás

Composition	55 - 70% methane (CH₄) 30 - 45% carbon dioxide (CO₂) Traces of other gases
Energy content	6.0 - 6.5 kWh m ⁻³
Fuel equivalent	0.60 - 0.65 L oil/m ³ biogas
Explosion limits	6 - 12% biogas in air
Ignition temperature	650 - 750 °C (with the above mentioned methane content)
Critical pressure	75 - 89 bar
Critical temperature	-82.5 °C
Normal density	1.2 kg m ⁻³
Smell	Bad eggs (the smell of desulfurized biogas is hardly noticeable)
Molar Mass	16.043 kg kmol ⁻¹

Tomado de: Dieter Deublein, 2008

Anexo 2. Residuos de frutas y vegetales (RFV) provenientes de mercado central de Tumbaco



2a.- Residuos de frutas y vegetales (RFV) recolectados de suelos y basureros del mercado central de Tumbaco. Residuos: manzana, pimiento, lechuga, col, tomate riñón.



2b.- Mezcla RFV compuesta por los residuos triturados (<5mm), para ser alimentada en los bioreactores en diferentes cantidades (5, 7.5, 10, 12.5%).

Anexo 3. Bioensayos de modo de operación batch

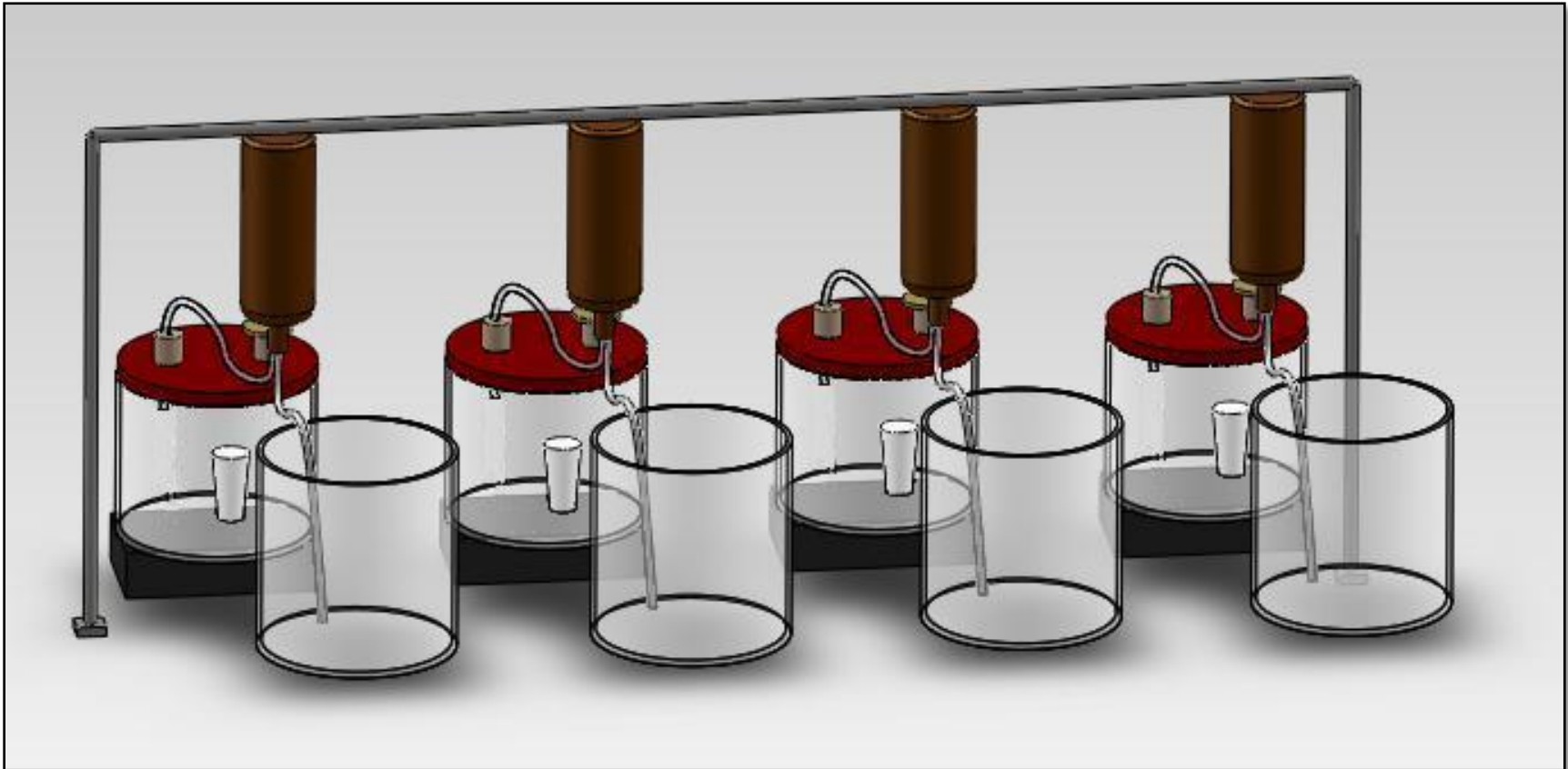


3a.- Bioensayo batch para la evaluando el efecto de la adición de estiércol al inóculo. Composición inóculo: 1.5 g SSV L⁻¹ de lodos granulares CN), diferentes porcentajes de estiércol en presencia de 2.5 g DQO acetato · L⁻¹ y medio basal mineral.

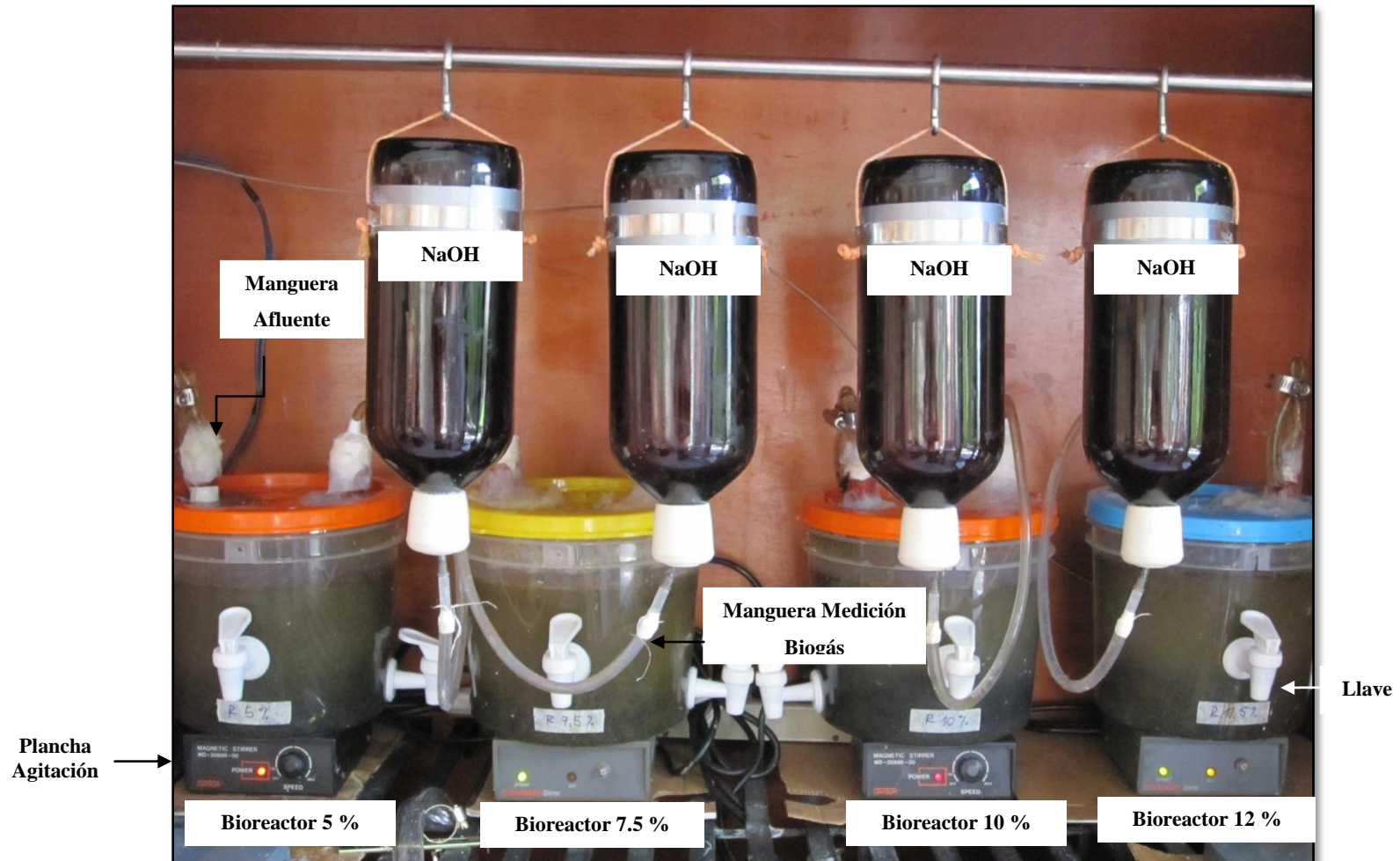


3b.- Bioensayo batch, empleando diferentes porcentajes de lodos granulares en el inóculo con 90% de estiércol, en presencia de medio basal mineral y 5% de residuos de frutas y vegetales.

Anexo 4. Diagrama de los biodigestores empleados para la degradación de RFV en diferentes porcentajes, empleando el inóculo EL (estiércol - lodo) en modo de operación semi - continuo



Anexo 5. Bioreactores en funcionamiento, empleando el inóculo EL para degradar diferentes porcentajes de residuos de frutas y vegetales en modo de operación semi - continuo



Anexo 6. Bioreactores en funcionamiento, empleando el inóculo EL para degradar diferentes porcentajes de residuos de frutas y vegetales en modo de operación semi - continuo, dentro de la incubadora a 30 °C



Anexo 7. Curva de calibración para la determinación de la demanda química de oxígeno (DQO) empleando estándares de KHP con concentraciones en el rango de 0 a 1000 mg O₂ L⁻¹, versus la absorbancia (600 nm) rango de 0 a 1000 mg O₂ L⁻¹, versus la absorbancia (600 nm)

