



**Unidad Iztapalapa**

**División de Ciencias Biológicas y de la Salud**

**Departamento de Biotecnología**

**Digestión anaerobia de la fracción sólida de lirio acuático:  
hidrólisis y acidogénesis en un reactor hidrolítico anaerobio de  
lecho escurrido (RHAE).**

# **T E S I S**

**Para obtener el diploma de**

**Especialización en biotecnología**

**P r e s e n t a:**

**I.B.I. Francisco Ignacio Ramírez Estrada**

**Asesora**

**Dra. Florina Ramírez Vives**

**Lector**

**Dr. Ernesto Favela Torres**



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

# ACTA DE IDÓNEA COMUNICACIÓN DE RESULTADOS

No. 00186

Matrícula: 2163802302

DIGESTIÓN ANAEROBIA DE LA FRACCIÓN SOLIDA DEL LIRIO ACUÁTICO: HIDRÓLISIS Y ACIDOGÉNESIS EN UN REACTOR HIDROLÍTICO ANAEROBIO DE LECHO ESCURRIDO (RHALE).

En la Ciudad de México, se presentaron a las 10:00 horas del día 4 del mes de septiembre del año 2017 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

DRA. FLORINA RAMIREZ VIVES  
DR. ERNESTO FAVELA TORRES

siendo la primera asesora del alumno y lector el segundo, de la Idónea Comunicación de Resultados, se reunieron a evaluar la presentación cuya denominación aparece al margen, para la obtención del diploma de:

ESPECIALIZACION EN BIOTECNOLOGIA  
DE: FRANCISCO IGNACIO RAMIREZ ESTRADA

y de acuerdo con el artículo 79 fracción II del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

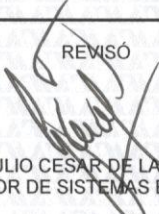
Aprobar

Acto continuo, se comunicó al interesado el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.




FRANCISCO IGNACIO RAMIREZ ESTRADA  
ALUMNO

REVISÓ



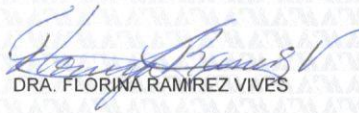
LIC. JULIO CESAR DE LARA ISASSI  
DIRECTOR DE SISTEMAS ESOLARES

DIRECTORA DE LA DIVISIÓN DE CBS



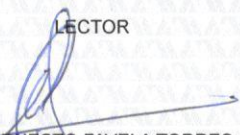
DRA. EDITH PONCÉ ALQUICIRA

ASESORA



DRA. FLORINA RAMIREZ VIVES

LECTOR



DR. ERNESTO FAVELA TORRES

## **Agradecimientos**

Primero que nada, quiero dar gracias a Dios por darme fuerza, fe, entendimiento y perseverancia en la realización de este trabajo.

A mis padres Ada Luz y Adrián, por brindarme educación, apoyarme en todo momento, guiarme por el buen camino, por los consejos que me han brindado y sobre todo por darme esta hermosa vida.

A mi hermano Adrián, por creer y confiar en mí en todo momento.

A mis abuelos, por brindarme sabiduría, respeto y responsabilidad en todo momento.

A mi asesora de tesis, Dra. Florina Ramirez Vives por compartir su conocimiento, enseñarme y guiarme en el manejo de técnicas y métodos del laboratorio y por los comentarios realizados durante todo el proyecto de especialidad.

Al Dr. Ernesto Favela Torres, por su apoyo, por estar presente en mis trabajos expuestos y por los comentarios realizados en el desarrollo de esta tesis.

A los colegas y compañeros del laboratorio W 106 por su amistad y apoyo en todo momento.

## Resumen

En este trabajo se estudian las dos primeras etapas de la digestión anaerobia (hidrólisis y acidogénesis) de la fracción sólida del lirio acuático en reactores hidrolíticos de lecho escurrido (RHALE).

En una primera parte de este trabajo se evaluó el efecto de tres distintos volúmenes de escurrimiento (5%, 10% y 15%) en la hidrólisis y acidogénesis anaerobia de lirio acuático. Cada uno de los ensayos se hizo por duplicado en reactores RHALE en lote de 300 mL. Cada uno de los reactores fue empacado con 100 g de una mezcla de la fracción sólida de lirio más lodos anaerobios como inóculo. El escurrimiento del lecho se hizo con el efluente de un reactor UASB que trata la fracción acuosa de lirio en mezcla con agua residual. Las cinéticas se llevaron a cabo a 30 °C, durante 31 días. Los resultados más relevantes de este análisis fueron una reducción de sólidos volátiles en la fracción sólida del 50 y 55 %, mayor producción de DQO soluble y de ácidos grasos volátiles en los lixiviados en los reactores con mayor volumen de escurrimiento (10 y 15 %). En una segunda etapa se evaluó el volumen de escurrimiento del 10% en un reactor RHALE de 4 L, empacando el reactor con 2 Kg de la mezcla de la fracción sólida más el inóculo. A diferencia del análisis anterior la reducción de sólidos volátiles fue menor (34 %), pero con altas concentraciones de DQO soluble (25 g/L), además los AGV producidos correspondieron a toda la DQO soluble producida, donde el ácido acético y propiónico se encontraron en mayor proporción.

En una tercera etapa, el estudio consistió en evaluar un 10% de recirculación del lixiviado del RHALE en mezcla con el efluente del UASB para el escurrimiento del lecho. No hubo diferencia significativa en la reducción de los sólidos volátiles, sin embargo, la composición de los AGV en el lixiviado fue equivalente a la DQO soluble producida y el ácido acético se encontró en mayor proporción.

## Índice

1. Introducción.....	3
1.1 Antecedentes.....	9
1.2 Justificación .....	12
1.3 Objetivos .....	13
1.3.1 General.....	13
1.3.2 Específicos .....	13
1.4 Hipótesis.....	13
2. Material y Métodos .....	14
2.1 Estandarización de técnicas analíticas. ....	15
2.2 Recolección del lirio acuático del CIBAC.....	15
2.3 Molienda de la planta.....	16
2.4 Separación de la fracción sólida y líquida.....	16
2.5 Caracterización del lirio acuático.....	16
2.6 Caracterización del inóculo .....	16
2.7 Cinéticas en lote para determinar el efecto del volumen de escurrimiento en la digestión anaerobia de la fracción sólida de lirio acuático.....	16
2.8 Hidrólisis y acidogénesis anaerobia de la fracción sólida de lirio acuático en un RHALE de 4 L en lote con 10 % de volumen de escurrimiento.....	18
2.9 Efecto de la recirculación de lixiviado en la hidrólisis y acidogénesis anaerobia de la fracción sólida de lirio acuático en un RHALE de 4 L en lote con 10 % de volumen de escurrimiento.....	19
3. Resultados y discusión.....	21
3.1 Estandarización de las técnicas analíticas .....	22
3.2 Recolección y caracterización de lirio acuático.....	23
3.3 Efecto del volumen de escurrimiento en la digestión anaerobia de la fracción sólida de lirio acuático en reactores RHALE por lote.....	25
3.4 Producción acumulada y comportamiento de los lixiviados generados en los RHALE. ....	26
3.5 Composición de metano en el biogás y producción de AGV en los lixiviados de los RHALE a diferentes volúmenes de escurrimiento. ....	29
3.6 Digestión anaerobia de la fracción sólida de lirio acuático en un RHALE de 4 L en lote con 10 % de volumen de escurrimiento. ....	30
3.7 Comportamiento del lixiviado generado en el RHALE.....	31

3.8 Efecto de la recirculación de lixiviado en la hidrólisis y acidogénesis anaerobia de la fracción sólida de lirio acuático en un RHALE de 4 L en lote con 10 % de volumen de escurrimiento.....	34
3.9 Comportamiento de los lixiviados generados en el RHALE con recirculación del 10 % del lixiviado. ....	35
4. Conclusiones.....	38
5. Recomendaciones .....	40
6. Referencias Bibliografías.....	42

# 1. Introducción



## 1. Introducción

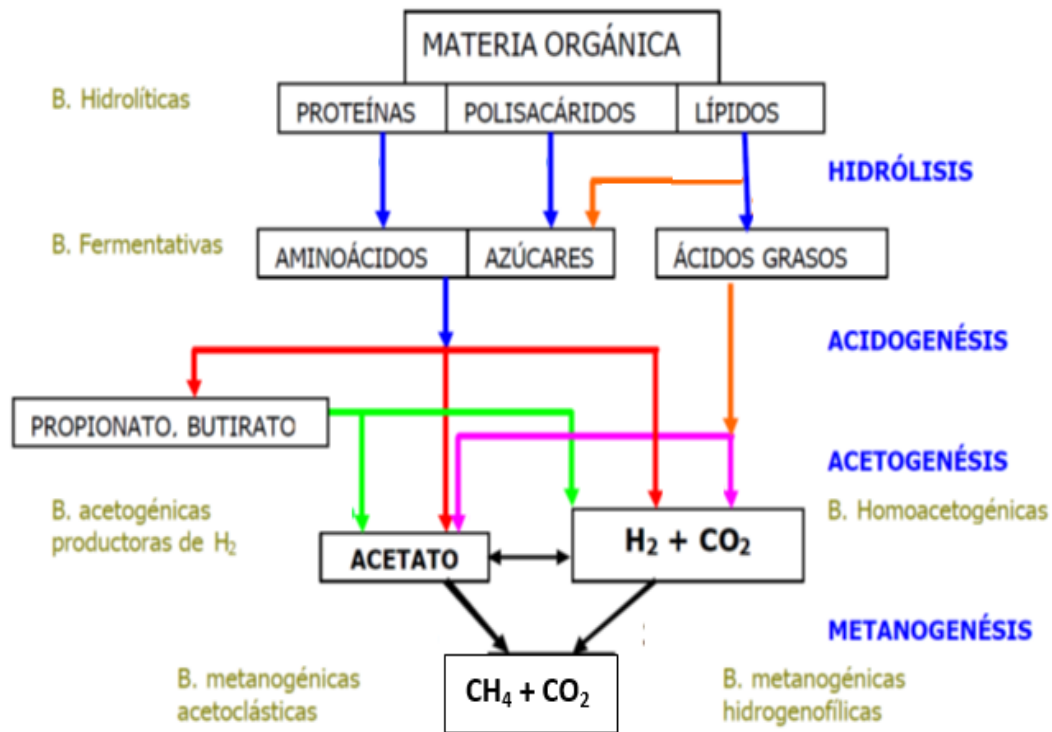
El lirio acuático (*Eichhornia crassipes*) es una planta hidrófita libre flotadora que pertenece a la familia de las Pontederiaceae, que ocupa un lugar sobresaliente entre las comunidades de hidrófitas de agua dulce de las regiones tropicales y subtropicales del mundo. Su distribución en México es sumamente amplia, ya que crece en una gran diversidad de hábitats dulceacuícolas localizados desde el nivel del mar hasta los 2,250 metros de altitud. En las regiones fuera de su área natural de distribución, el lirio acuático es considerado maleza (planta indeseable) por la serie de problemas que acarrea su presencia y, sobre todo, por el crecimiento tan rápido de su población (Miranda y Lot, 1999). El lirio acuático no soporta las heladas y su crecimiento es limitado por la salinidad, su crecimiento óptimo se da a pH de 7 y adquiere el rango de infestación masiva entre 6.2 y 7. En algunos estudios se propone al lirio acuático como captador de metales en agua, como desecho orgánico vegetal que puede ser usado para la producción de biogás, como agente texturizante en el proceso de composteo, entre otros estudios.

Dentro de la producción de energía alternativa se encuentra la procedente de la biomasa que genera biogás, una composición de gases de combustión como propano, metano y butano, que pueden ser utilizados en distintas actividades. El metano al ser un gas de combustión puede emplearse en una estufa doméstica o puede ser usado para mover motores y generar electricidad.

El lirio acuático puede ser transformado en biogás por medio de la digestión anaerobia, (Sullivana et al., 2010; Kunatsa, 2013; Njogu et al., 2015). En la actualidad diferentes autores han considerado que la digestión anaerobia está conformada por cuatro fases sucesivas: la hidrólisis, donde los polímeros de alto peso molecular son degradados a monómeros disueltos, la acidogénesis en donde los monómeros disueltos son fermentados en ácidos orgánicos tales como acético, propiónico, y butírico principalmente; la acetogénesis, en donde los productos generados en la etapa anterior son convertidos en ácido acético, hidrógeno y dióxido de carbono y la metanogénesis, etapa final encargada de la producción de metano a partir del ácido acético o de mezclas de hidrógeno y dióxido de carbono



o también se puede formar del ácido fórmico y metanol, (Montalvo y Guerrero, 2003), (figura 1).



**Figura 1. Representación esquemática de las fases de la DA.**

Para cada una de las etapas de la digestión anaerobia intervienen gran variedad y cantidad de bacterias, las que se pueden clasificar de la siguiente manera:

### **Bacterias hidrolíticas**

Las bacterias hidrolíticas conforman una mezcla muy compleja de muchas especies bacterianas, la mayoría de ellas son anaerobias obligadas. No obstante, también pueden ser facultativas como estreptococos y otros géneros entéricos. El estudio de estas bacterias ha sido enfocado principalmente en la hidrólisis de la celulosa, dada su importancia como fuente principal de biomasa, a través de la producción vegetal y sus subproductos.

### **Bacterias acidógenas (fermentativas)**

Estas bacterias intervienen en los procesos de fermentación de aminoácidos y azúcares y en la oxidación anaerobia de ácidos grasos de cadena larga. Son anaerobias estrictas o facultativas que realizan a partir de los azúcares libres toda clase de fermentación, y pertenecen a casi todos los grupos (enterobacterias, *Clostridium*, *Bacillus*, bacteroides, lactobacillus, entre otros). Estas bacterias siguen la ruta de la glucólisis y de las fermentaciones. La fermentación o acidogénesis no es la etapa limitante del proceso, pero puede serlo cuando hay celulosa.

### **Bacterias acetogénicas**

Son bacterias anaerobias estrictas que producen acetato, H<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> a partir de compuestos carbonados derivados de las etapas anteriores. Estas bacterias participan en las reacciones de oxidación anaerobia de productos como en la conversión no metanógena de ácido acético, metanol e H<sub>2</sub>. Estas bacterias desarrollan un metabolismo muy complejo catabolizando mezclas de H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> así como compuestos multicarbonados.

### **Bacterias metanogénicas**

Las bacterias metanogénicas pertenecen al grupo de las arqueobacterias que tienen ciertas diferencias con las bacterias clásicas tanto fisiológicas como estructurales. Su pH óptimo es de 6-8, el NH<sub>3</sub> y el HS<sup>-</sup> son las principales fuentes de nitrógeno y azufre. Son bacterias anaerobias estrictas que exigen además de la ausencia de oxígeno, condiciones de reducción del medio ambiente inferiores a los 300 mV para crecer. Tienen como características comunes el producir metano, el tener un rango de sustratos muy limitado y tasa de crecimiento altas.

### **Digestión Anaerobia de residuos sólidos en dos fases**

Cuando se tratan residuos sólidos con altas cargas orgánicas es recomendable hacer el proceso de la digestión anaerobia en dos fases, (Bouallagui y col., 2005; Vavilin y col., 2008; Shin y col., 2001). Este proceso se compone de dos reactores

separados, uno para la hidrólisis y acidogénesis y otro para la acetogénesis y metanogénesis (Koppar y Pullammanapallil, 2008). Esta separación física hace posible evitar problemas de operación por la inhibición con amonio y AGV que se producen en altas concentraciones, ya que en cada uno se logran mantener las mejores condiciones para la actividad de los microorganismos fermentadores y metanogénicos y su cinética de crecimiento (Shin y col., 2001; Vavilin y col., 2001; Cirne y col., 2007). Algunos de los parámetros que se pueden controlar son bajos tiempo de retención hidráulico o de sólidos (TRH o TRS), producción y consumo de ácidos separados físicamente entre sí para mantener los niveles de pH adecuado en cada fase (Bhadra y col., 1986; Tchobanoglous y col., 1993; ra y col., 1986; Tchobanoglous y col., 1993; Mata Álvarez, 2003). Este tipo de separación de fases aumenta la estabilidad del proceso, la cual no es posible en un proceso anaerobio convencional, donde estos dos grupos de microorganismos cohabitan en una sola fase, en un delicado equilibrio (Demirel y col., 2003).

Las principales ventajas de realizar la digestión anaerobia de los residuos sólidos en dos fases se mencionan a continuación (Ariunbaatar y col., 2014):

1. Incrementa la estabilidad con mejor control de pH
2. Incremento en la actividad específica de los metanógenos resultando un alto rendimiento de metano
3. Permite una mayor velocidad de carga
4. Incremento de la eficiencia de reducción de DQO y SV
5. Alto potencial para remover patógenos
6. Reducción de la cantidad de digestato
7. Mejor viabilidad económica

### **Recirculación de lixiviado y efluente al reactor acidogénico**

El reciclaje del lixiviado formado durante el proceso ha sido reportado como favorable para la descomposición anaerobia efectiva de los residuos sólidos, para fomentar la actividad biológica dando lugar a una cinética de degradación más rápida (Chan, 2002; Juanga, 2005). Reciclando los lixiviados en el reactor acidogénico se intensifica la digestión anaerobia de los residuos, en comparación

con un sistema sin recirculación, y se proporcionan las mejores condiciones para una mejor extracción de la materia orgánica, evitando el exceso de acidificación (Stabnikova 2008). Sin embargo, no se recomienda la recirculación del 100% de los lixiviados, por las altas concentraciones de AGV que contienen y pueden ser inhibitorias. Se estima que la recirculación máxima de lixiviado no debe ser mayor del 50%; se ha reportado que recirculando el lixiviado a esta proporción de dilución con ajuste de pH a 6, se acelera la hidrólisis, se incrementa los AGV y la producción de metano (Xu, 2011; Shahruari y col., 2012). Por otro lado, Zhang y col. (2007b), mencionan que los efluentes de los reactores metanogénicos contienen poblaciones microbianas muy establecidas, y su recirculación en los reactores acidogénicos incrementa la hidrólisis porque las bacterias se fijan en la superficie de los residuos aumentando su degradación, mientras que Zuo y col., 2013 mencionan que esta recirculación incrementa el pH y la capacidad amortiguadora de los lixiviados mejorando la degradación de sólidos volátiles y la estabilidad en la operación del reactor, menos crecimiento de hongos y mejor olor (Browne, 2013); un volumen más alto reciclado del efluente es favorable para el anabolismo microbiano y promueve una mayor hidrólisis (Hao L.P. y col., 2008).

### **Efecto de los ácidos grasos volátiles (AGV)**

Los ácidos grasos volátiles son los intermediarios más importantes del proceso anaerobio, siendo, por ello, fundamental conocer su evolución. Los AGV juegan un papel importante en el monitoreo y control de reactores anaerobios, mostrando una rápida respuesta a las variaciones en el sistema; por ejemplo, en el caso de las sobrecargas orgánicas, o en el caso de la introducción de tóxicos (Ahring y col, 1995). Son formados durante la acidogénesis-acetogénesis, constituyendo mezclas de ácidos de cadenas hidrocarbonadas de 2, 3, 4 átomos de carbono y sus isómeros. El aumento de su concentración está relacionado con la disminución en la producción de biogás (Hill y Nakano, 1987), además de inhibir algunos de los procesos que tienen lugar en la digestión anaerobia. La acumulación de ácido propiónico, especialmente de la forma no ionizada, puede inhibir la acetogénesis y la metanogénesis acetoclástica (Fukuzaki y col., 1990;

Barredo y Evison, 1991). La acumulación de ácido acético puede inhibir la acetogénesis a partir de butírico (Ahring y Westerman, 1998), sin embargo, son necesarias concentraciones muy altas (4000 mg L<sup>-1</sup>, o más) para que llegue a afectar la producción de metano (Stafford, 1982; Ahring y col, 1995). Vieitez y Ghosh (1999) demostraron que las reacciones de fermentación se detenían a una concentración de AGV de 13,000 mg L<sup>-1</sup> acompañada por un pH abajo de 5.

Son los ácidos propiónico y valérico los primeros que afectan el proceso, mientras que el butírico y el acético han de acumularse por encima de 100 mM para afectar la tasa de producción de metano. La acumulación de ácido propiónico juega un papel muy importante durante la degradación ya que tiene un efecto de inhibición en las poblaciones metanogénicas a concentraciones mayores de 1000 mg L<sup>-1</sup> (Juanga, 2005). Hanaki y col. (1994), demostraron que el ácido propiónico es el más tóxico de los AGV.

### **1.1 Antecedentes**

Entre los desechos orgánicos vegetales que pueden ser usados para la producción de biogás se encuentra el lirio acuático, que es una planta vascular acuática flotante que crece rápidamente. Se pueden producir hasta 106 toneladas de materia seca por hectárea por año (Reddy y DeBurk, 1984), además su extenso sistema radicular le permite absorber gran cantidad de nutrientes disueltos, que toma directamente del agua, reduciendo así la carga orgánica de éstas y eliminando los metales pesados (Brij, 1984; Jamil y col, 1984). La distribución en México del lirio acuático es muy amplia ya que crece en una gran diversidad de hábitats dulceacuícolas. En el lago de Xochimilco debido a derrames de fertilizantes y aguas negras se ha incrementado los nutrientes, lo que ha contribuido a la proliferación de esta planta, es por esto que diversos autores han realizado estudios tratando de dar un uso al lirio acuático.

El contenido de celulosa (20%), hemicelulosa (48%) y lignina (3,5%) de lirio acuático se puede utilizar para la producción de varios productos de valor agregado (Raveendran *et al.*, 2017). Dado que el crecimiento de la planta es muy

alto, puede ser utilizada como sustrato para la producción de biocombustibles, (Okewale *et al.*, 2016, Gunja *et al.*, 2016, Das *et al.*, 2016; Shah *et al.*, 2015).

En 1999, Vargas y col., fundaron Tecnología Especializada en el Medio Ambiente (TEMA), empresa cuya materia prima es el lirio acuático. Han mostrado que su estructura es muy porosa y que tiene una alta capacidad de absorber contaminantes.

Estudios realizados en los laboratorios de la Universidad Autónoma Metropolitana con plantas cosechadas en el Lago de Xochimilco muestran diferencias importantes en la composición de compuestos lignocelulósicos de tallo y hojas de la planta, así como una fracción extraíble que contiene compuestos solubles fácilmente fermentables (Tabla 1).

**Tabla 1. Composición del material lignocelulósico de plantas de lirio acuático cosechadas en el Lago de Xochimilco (% base seca) \*.**

Parte de la planta	Hemicelulosa (H)	Celulosa (C)	Lignina (L)	C+H+L	Cenizas	Extraíbles
Tallo	26.8	14.6	8.6	50.1	18.2	36.1
Hoja	20.3	21.8	15.9	58	11.4	26.3

\*Muestras tomadas en febrero de 2011 (después de la floración de la planta).

Investigadores y empresarios proponen mirar al lirio acuático como un recurso renovable y crear biocombustibles, absorbentes de hidrocarburos o productos que ayuden a la nutrición de humanos y animales. Han demostrado que con el lirio acuático es posible fabricar biocombustibles como bioetanol y biogás. También han desarrollado una patente para usarlo en la creación de prebióticos, moléculas que favorecen el crecimiento de las bacterias que ayudan a procesar los nutrientes de los alimentos (Favela y col. 2015).

Schettino y col., en 1996 llevaron a cabo la digestión anaerobia de lirio acuático en medio sólido con líquido ruminal como inóculo, para evaluar el efecto de la actividad de agua sobre el consumo del sustrato, producción de ácidos grasos volátiles, metano y CO<sub>2</sub>. El control se realizó con una  $a_w$  (actividad de agua) de 0.982, el producto principal fue acetato y su tasa de producción fue de 0.5345 milimoles/100 g peso seco de lirio. A 0.971 de  $a_w$ , la tasa de producción de acetato fue muy similar al control. Cuando se disminuye la  $a_w$ , no hay producción de acetato.

Watson R. y Rivas O., (2012), estudiaron la digestión anaerobia de lirio acuático en mezcla con agua residual y concluyeron que la mezcla de lirio más agua residual mejora la cantidad y calidad del biogás con un 50% de metano comparado con el 30% que se obtiene usando solamente el agua residual.

Estudios realizados por Hernández y col., en 2016 mostraron que es posible producir metano de la fracción líquida de lirio acuático en mezcla con agua residual en reactores por lote. Los resultados mostraron que a una proporción de jugo del 75% y 25% de agua residual, la producción de biogás fue mayor con una cantidad de metano acumulada de 289 mL y con eficiencias de remoción de azúcares totales, DQO y sólidos mayores al 80%. Actualmente se está trabajando la digestión anaerobia del lirio en mezcla con agua residual en un reactor en continuo, obteniendo eficiencias de remoción de la DQO mayores al 85% y con altas concentraciones de metano en biogás.

Ramírez F y col., en 2016, estudiaron la producción de biogás a partir de lirio acuático triturado, en mezcla con agua residual y la fracción sólida y concluyeron que cuando el lirio acuático se encuentra en mezcla con agua residual se obtiene una mayor producción de biogás con un 45% de metano, mientras que la digestión anaerobia de lirio solo y de la fracción sólida, el biogás producido contiene menos del 10% de metano, esto debido a una mayor concentración de compuestos lignocelulósicos de la planta que pueden ser inhibitorios en la producción de metano.



Ramírez y col., (2014), llevaron a cabo la digestión anaerobia de la fracción orgánica de residuos sólidos urbanos (FORSU) en dos reactores; la hidrólisis y acidogénesis en un reactor hidrolítico anaerobio de lecho escurrido (RHALE) en lote y la metanogénesis de los lixiviados en mezcla con agua residual municipal en un reactor anaerobio de lecho de lodos flujo ascendente (UASB), mostrando que se obtienen altas concentraciones de materia orgánica solubles (DQO) y de ácidos grasos volátiles (AGV) en el lixiviado del RHALE y altos rendimientos de metano en el reactor UASB.

En 2015, Rodríguez y col., estudiaron un sistema similar al reportado por Ramírez (2014) pero usando dos reactores en continuo, bajo diferentes cargas orgánicas y mostraron que se puede obtener en el RHALE hasta un 70% de reducción de los sólidos volátiles de la FORSU con altas concentraciones de DQO soluble y AGV en el lixiviado y hasta una producción diaria de más de 15 a 20 L de biogás, por litro de reactor.

## **1.2 Justificación**

En el proceso de digestión anaerobia (DA) de lirio acuático en una sola etapa, la producción de metano suele ser muy lenta, debido al tiempo que tardan los compuestos lignocelulósicos en hidrolizarse a compuestos más simples, que puedan ser consumidos por los microorganismos presentes en las distintas etapas de la digestión anaerobia.

Si se tratan las fracciones por separado (sólida y líquida), la sólida puede ser hidrolizada y fermentada en un reactor hidrolítico anaerobio de lecho escurrido (RHALE), bajo condiciones (pH y humedad) que favorezcan la hidrólisis y fermentación de los residuos para lixiviar altas concentraciones de DQO y ácidos grasos volátiles (AGV), evitando que los descensos de pH y la acumulación de los AGV en esta fase, inhiban la producción de metano. El lixiviado generado en el

RHALE puede ser diluido a concentraciones no inhibitorias para metanizarlo en un reactor UASB y producir altas cantidades de metano.

### **1.3 Objetivos**

#### **1.3.1 General**

Evaluar la hidrólisis y acidogénesis anaerobia de la fracción sólida de lirio acuático en reactores hidrolíticos anaerobios de lecho escurrido en lote.

#### **1.3.2 Específicos**

- Caracterizar fisicoquímicamente la fracción sólida del lirio acuático en diferentes estaciones del año.
- Evaluar el efecto del volumen de escurrimiento sobre la fracción sólida del lirio acuático en reactores anaerobios de lecho escurrido en lote.
- Evaluar la producción de la demanda química de oxígeno (DQO), ácidos grasos volátiles (AGV) y producción de biogás en un RHALE de 4 L con el 10 % de volumen de escurrimiento.
- Evaluar la producción de la demanda química de oxígeno (DQO), ácidos grasos volátiles (AGV) y producción de biogás en un RHALE de 4 L con el 10 % de volumen de escurrimiento y con 10% de recirculación de su lixiviado.

### **1.4 Hipótesis**

H1: El incremento en la velocidad de formación de DQO y AGV en el lixiviado de la hidrólisis y acidogénesis de la fracción solida del lirio acuático en el RHALE, dependerá de un mayor volumen de escurrimiento.

H2: La recirculación de un 10% de lixiviado, aumentará la concentración de DQO y AGV, mejorando la hidrólisis de la fracción sólida de lirio acuático.

## **2. Material y Métodos**

## 2. Materiales y métodos

### 2.1 Estandarización de técnicas analíticas.

Se realizaron curvas patrón para la determinación de la demanda química de oxígeno (DQO) por el método de reflujó cerrado (APHA, 2005), la técnica de azúcares totales (Dubois, 1956) y la determinación de los ácidos grasos volátiles por cromatografía de gases.

La tabla 2, muestra las técnicas analíticas que se usaron para la determinación de todas las variables

**Tabla 2. Variables de respuesta y técnicas analíticas.**

VARIABLE	TÉCNICA
pH	El pH se determina con un potenciómetro HANNA instruments HI 255
Ácidos grasos volátiles (AGV)	Cromatografía de gases con detector de ionización de flama (FID), con un cromatógrafo Hewlett Packard modelo 6890N
Azúcares totales	Técnica colorimétrica: Fenol-sulfúrico (Dubois, 1956)
Demanda química de oxígeno (DQO)	Por el método de Reflujo cerrado, (APHA, 2005)
Determinación de sólidos (ST, SF, SV)	Por gravimetría (APHA, 2005)
CH <sub>4</sub> y CO <sub>2</sub>	Cromatografía de gases, en un cromatógrafo GOWMAC con un detector de conductividad térmica (TDC) y una columna de acero empacada con carbosphere malla 80/100, usando helio como gas acarreador.

### 2.2 Recolección del lirio acuático del CIBAC.

Las plantas de lirio antes de ser extraídas del cuerpo de agua fueron enjuagadas con agua del mismo lago para remover sólidos adheridos en toda la planta. Una vez extraídas las plantas del cuerpo de agua se depositaron en un costal con orificios para favorecer el escurrimiento del exceso de agua y se transportaron al laboratorio para ser procesadas.

### **2.3 Molienda de la planta.**

Cada planta fue cortada en trozos y molida a un tamaño de partícula de 0.5 cm en un molino marca TOR-REY-M12-FS.

### **2.4 Separación de la fracción sólida y líquida.**

Las fracciones fueron separadas por medio de tamices de 0.073 mm y de 0.025 mm, esto para tener una mejor separación de los sólidos.

### **2.5 Caracterización del lirio acuático.**

La fracción sólida (bagazo) resultante fue caracterizada en base a los siguientes parámetros: DQO, pH, azúcares totales, pH y sólidos por medio de los métodos descritos en la tabla 2.

### **2.6 Caracterización del inóculo**

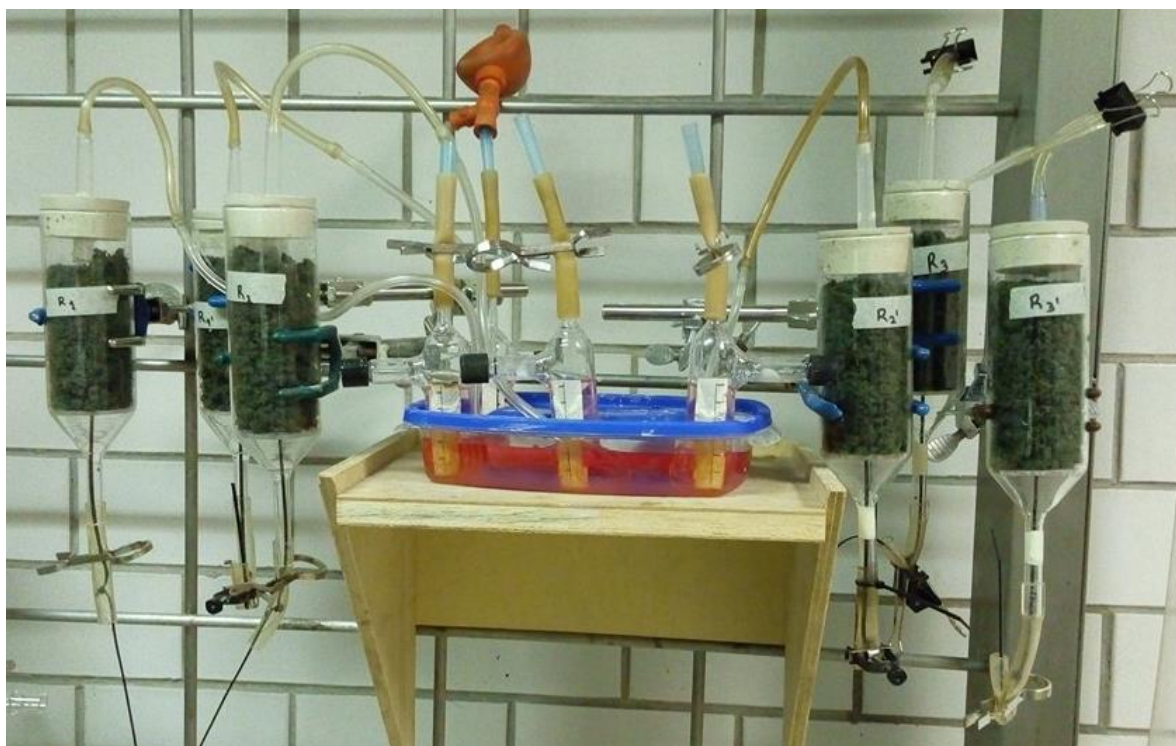
El inóculo utilizado en las cinéticas consistió de lodos del reactor que trata la fracción acuosa de lirio en mezcla con agua residual municipal. Su caracterización consistió en la determinación de sólidos totales, fijos y volátiles.

### **2.7 Cinéticas en lote para determinar el efecto del volumen de escurrimiento en la digestión anaerobia de la fracción sólida de lirio acuático.**

La fracción sólida recolectada en otoño de 2016 fue tratada en reactores de lecho escurrido (RHALE) en lote, como se muestra en la figura 2. El bagazo fue inoculado con lodos granulares anaerobios del reactor UASB que trata jugo de lirio en mezcla con agua residual del campus. Los reactores consistieron en columnas de vidrio de 300 mL de volumen, se empacaron con la fracción sólida del lirio en mezcla con los lodos anaerobios en una proporción del 20% (V/V), equivalentes a 0.6 gSV/100 gbagazo, como se muestra en la tabla 3. Se evaluaron 3 diferentes volúmenes de escurrimiento (5, 10 y 15 %). El escurrimiento del lecho se hizo con el efluente del reactor UASB que trata la mezcla del jugo de lirio más agua residual. Los tratamientos ilustrados en la tabla 3, se realizaron con sus respectivos duplicados como se muestra en la figura 2.

**Tabla 3. Diseño experimental de la digestión anaerobia en lote de la fracción sólida de lirio acuático.**

Tratamientos	BAGAZO+LODOS (g)	Volumen de efluente del UASB (mL)
R1	100.75 ± 0.35	5
R2	100.25 ± 0.35	10
R3	100.75 ± 0.35	15



**Figura 2. Digestión anaerobia de la fracción sólida de lirio acuático en reactores por lote.**

Los reactores fueron incubados a una temperatura de 30 °C, durante 33 días. El escurrimiento del lecho en cada uno de los reactores se hizo cada 24 horas y el lixiviado que se obtuvo de cada uno fue retirado a diferentes intervalos de tiempo y

analizado para saber su volumen, DQO soluble, AGV y pH. El biogás y los AGV totales producidos en cada uno de los reactores fueron analizados una vez por semana, por cromatografía de gases con detector de conductividad térmica (TCD) y detector de ionización de flama (FID), respectivamente para saber su composición.

## **2.8 Hidrólisis y acidogénesis anaerobia de la fracción sólida de lirio acuático en un RHALE de 4 L en lote con 10 % de volumen de escurrimiento.**

El lirio acuático utilizado en este experimento fue recolectado en invierno de 2017, triturado y separada la fracción sólida de la líquida. la fracción sólida fue caracterizada y tratada en un RHALE de 4 L, inoculado con lodos anaerobios provenientes del reactor UASB que trata jugo de lirio en mezcla con agua residual con una proporción de inóculo del 20% (v/v) que equivalen a 6 g<sub>sv</sub>/kg bagazo. El RHALE se empacó con 2 kg de la mezcla bagazo-lodo como se muestra en la figura 3. Se incubó en un cuarto de temperatura controlada a 30 °C, durante 27 días. Diariamente sobre el lecho, se le agregó efluente del reactor UASB, en un volumen de escurrimiento equivalente al 10 % respecto al volumen de operación.

El lixiviado producido en el RHALE fue retirado diariamente y analizado para cuantificar el volumen generado, pH, DQO soluble y concentración de AGV. El biogás y los AGV totales producidos en cada uno de los reactores fueron analizados 3 veces por semana, por cromatografía de gases TCD y FID para saber su composición.





**Figura 3. Hidrólisis y acidogénesis de la fracción sólida de lirio acuático en un RHALE de 4 L con 10 % de volumen de escurrimiento.**

### **2.9 Efecto de la recirculación de lixiviado en la hidrólisis y acidogénesis anaerobia de la fracción sólida de lirio acuático en un RHALE de 4 L en lote con 10 % de volumen de escurrimiento.**

El lirio acuático que se usó para este experimento fue recolectado en primavera, triturado a un tamaño de partícula de 0.5 cm y separada la fracción sólida de la líquida. Fueron inoculados 2 kg de bagazo en el RHALE con lodos anaerobios provenientes del reactor UASB que trata la fracción líquida en una proporción del 20% (v/v) que equivalen a 6 g<sub>SV</sub>/kg bagazo.

El reactor se incubó en un cuarto de temperatura controlada a 30 °C, durante 26 días. Diariamente sobre el lecho, se le agregó efluente del reactor UASB en mezcla con el 10 % del lixiviado producido. El volumen de escurrimiento total fue equivalente al 10%, respecto al volumen de operación, es decir 200 mL/d.

El lixiviado fue retirado diariamente del reactor y analizado para cuantificar el volumen generado, pH, DQO soluble y concentración de AGV. El biogás y los AGV totales producidos en cada uno de los reactores fueron analizados 3 veces por semana, por cromatografía de gases TCD y FID para saber su composición.

# **3. Resultados y discusión**

### 3. Resultados y discusión

#### 3. 1 Estandarización de las técnicas analíticas

La figura 4 muestra la curva patrón de la demanda química de oxígeno (DQO), que se usó para determinar la materia orgánica presente en cada uno de los tratamientos y la figura 5, la curva patrón de azúcares totales que se usó para determinar el contenido de azúcares presentes en el lirio acuático y durante las cinéticas a partir de la digestión anaerobia.

Se puede observar que las curvas patrón, muestran una muy buena linealidad con una  $R^2$  por arriba de 0.99, lo que indica que es confiable emplearlas para cuantificar los azúcares y la DQO producidas o consumidas durante la digestión anaerobia.

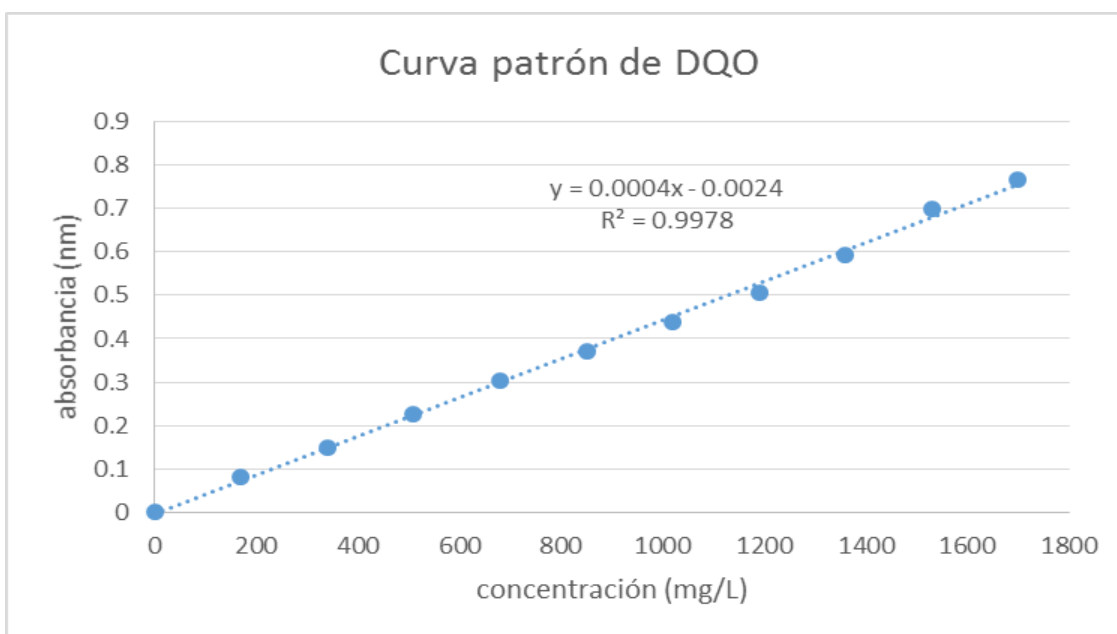
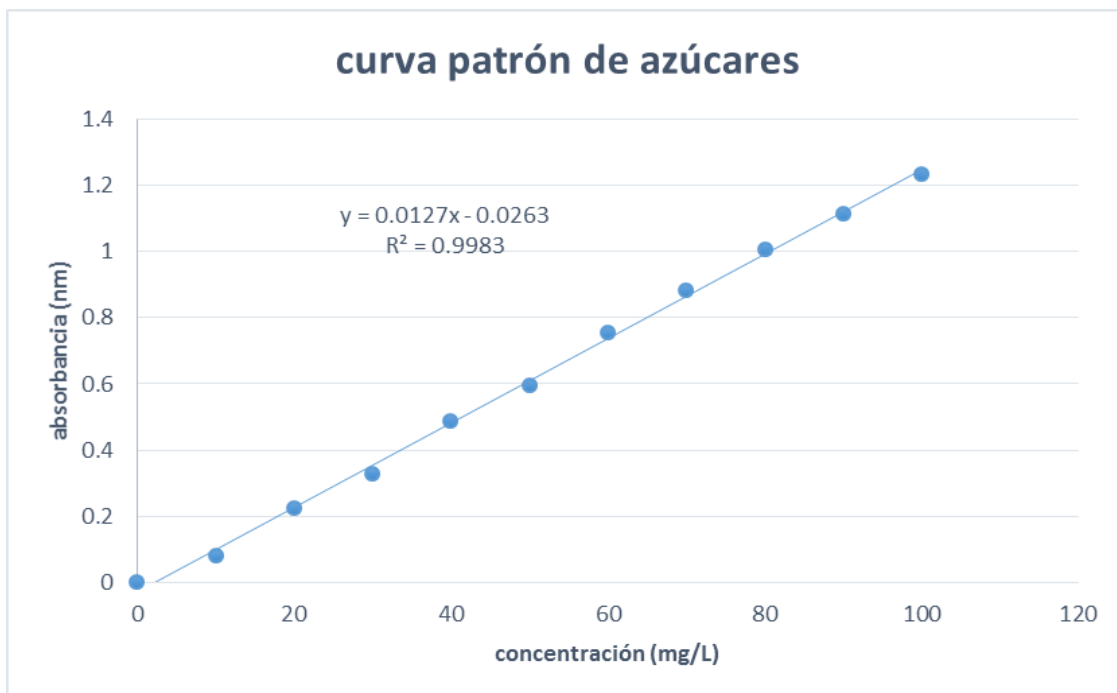


Figura 4. Curva patrón de DQO y ecuación de la recta.



**Figura 5. Curva patrón de azúcares totales y ecuación de la recta.**

### 3.2 Recolección y caracterización de lirio acuático

Todas las plantas de lirio acuático fueron recolectadas del Centro de Investigaciones Biológicas y Acuícolas de Cuemanco (CIBAC).

Otoño 2016: Las plantas de lirio acuático obtenidas fueron jóvenes y adultas (tamaño de jóvenes: 30 cm y adultas: 55 cm).

Invierno 2017: Las plantas obtenidas fueron en su mayoría adultas entre 40 y 60 cm de longitud.

Primavera 2017: Las plantas fueron adultas entre 50 y 60 cm de longitud.

La tabla 4 muestra los resultados de la caracterización de la fracción sólida del lirio acuático en las tres estaciones del año. Esta caracterización se realizó con el fin de tener el valor de las variables (pH, ST, SF, SV, DQO y azúcares totales) antes de la digestión anaerobia. Se puede observar que el valor de pH del bagazo es ligeramente ácido en otoño, por otro lado, en invierno y primavera el pH tiende a la neutralidad. La DQO es un parámetro que sirve para medir principalmente la concentración de la materia orgánica, en este análisis se observa que existe una

cantidad considerable tanto de DQO como de sólidos volátiles (90 % de los ST) en las tres estaciones del año, que pueden ser aprovechados para la digestión anaerobia.

Los sólidos fijos representan aproximadamente el 10 % de los sólidos totales presentes en el lirio y pueden estar representando los nutrientes y algunos metales que la planta toma del lago de Cuemanco, como lo mencionan Miranda y Lot (1999). Se observa que en invierno existe un ligero aumento en los sólidos del bagazo respecto a la de otoño y primavera. La DQO es un 30% menor en invierno y primavera, esto debido probablemente a que las plantas recolectadas fueron en su mayoría adultas, también podría deberse a que en invierno no hay presencia de lluvias, por lo que la planta absorbe todos los nutrientes que se encuentran en el lago, mientras que, en otoño y primavera, la presencia de lluvia probablemente causó una dilución de los nutrientes, reflejándose un porcentaje menor de sólidos volátiles en estas dos épocas (12-18%).

**Tabla 4. Caracterización fisicoquímica de la fracción sólida de lirio acuático.**

Variable	Otoño	Invierno	Primavera
<b>pH</b>	6.1	7.22	7.17
<b>Sólidos totales (g/kg<sub>bagazo</sub>)</b>	177.6 ± 0.97	202 ± 1.87	169 ± 0.01
<b>Sólidos fijos (g/kg<sub>bagazo</sub>)</b>	18.5 ± 0.95	22 ± 1.88	22 ± 0.01
<b>Sólidos volátiles (g/kg<sub>bagazo</sub>)</b>	159.02	180	147
<b>DQO (gDQO/g<sub>ST</sub>)</b>	1.02 ± 0.1	0.75 ± 0.006	0.72 ± 0.001
<b>Azúcares totales (gAzúcares/g<sub>ST</sub>)</b>	0.25 ± 0.05	0.44 ± 0.04	0.23 ± 0.002

### 3.3 Efecto del volumen de escurrimiento en la digestión anaerobia de la fracción sólida de lirio acuático en reactores RHALE por lote.

La tabla 5 muestra los resultados de las variables analizadas en los distintos tratamientos de los RHALE al inicio y final de las cinéticas. Se puede observar que el reactor 1 que era escurrido con un volumen de 0.05 L/kg.d, presenta una disminución en el pH, esto debido probablemente a una acumulación en el lecho de material soluble como los ácidos grasos volátiles producidos de la hidrólisis de los sólidos de lirio, este comportamiento fue reportado por Rodríguez y col., (2015), tratando FORSU bajo condiciones similares, pero con un volumen de escurrimiento menor (0.025L /Lr.d).

Se observa que tanto la masa como la DQO y los azúcares aumentan al final de las cinéticas, esto debido a que al final se tiene un biosólido con mayor cantidad de agua y una gran cantidad DQO y azúcares solubles acumulados que no se alcanzaron a escurrir del lecho. Las concentraciones de estos compuestos solubles fueron de 16.5 g/L para el reactor 1, 12 g/L para el reactor 2 y 9.6 g/L para el 3 y para los azúcares de 0.62 g/L para el 1, 0.74 g/L para el 2 y para el 3 0.75 g/L, mostrando que se presentó una buena hidrólisis de los polímeros como la celulosa y hemicelulosa presentes en el lirio acuático.

**Tabla 5. Resultados al inicio y final de las cinéticas de las variables analizadas en los RHALE con diferentes volúmenes de escurrimiento.**

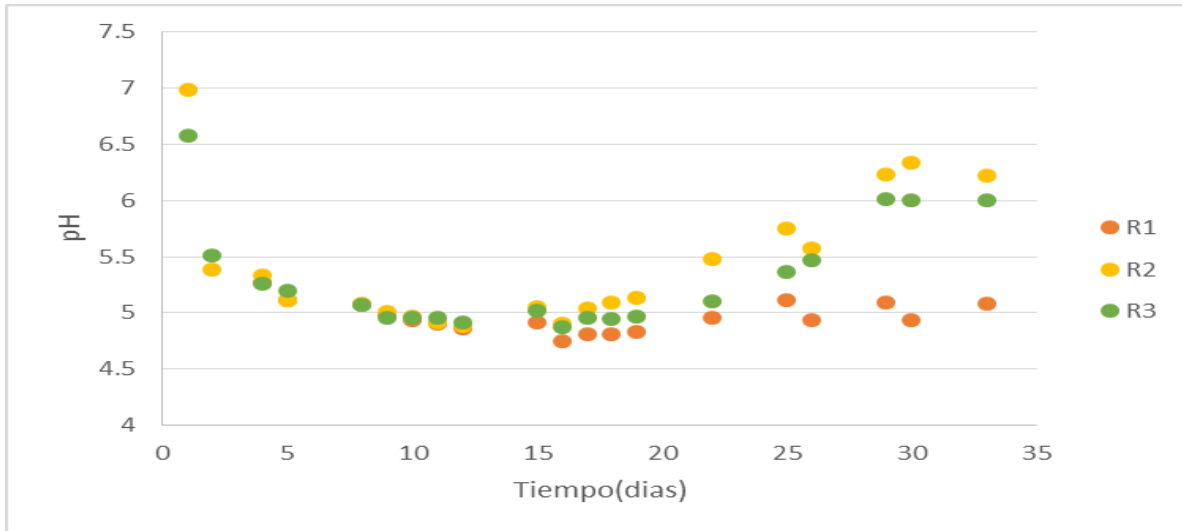
Tratamiento	tiempo (Días)	Bagazo + lodo (g)	ST (g/Kg <sub>b</sub> )	SV (g/Kg <sub>b</sub> )	gDQO/gSV	gAzúcares/gSV	pH	Reducción de SV (%)
R1	0	100.75	159.3	139.0	0.531	0.038	6.17	29
	33	118.75	100.34	98.9	1.542	4.158	5.26	
R2	0	100.25	159.3	139.0	0.531	0.038	6.17	50
	33	129.5	81.9	69.3	1.435	5.382	7.52	
R3	0	100.75	159.3	139	0.531	0.038	6.17	55
	33	130.25	76.01	62.22	1.619	5.641	7.56	



La reducción de los sólidos volátiles en cada uno de los tratamientos muestra que a un mayor volumen de escurrimiento, mayor es el porcentaje de reducción, confirmando que en este tipo de reactores y bajo estas condiciones de operación es posible obtener altos porcentajes de hidrólisis de la fibra del lirio acuático. La reducción de los SV con los tratamientos del 10 y 15 % de volumen de escurrimiento son similares a los reportados por varios autores para diferentes sustratos sólidos (Terreros y col, 2009; Viguera y col, 2011; Rodríguez y col. 2015).

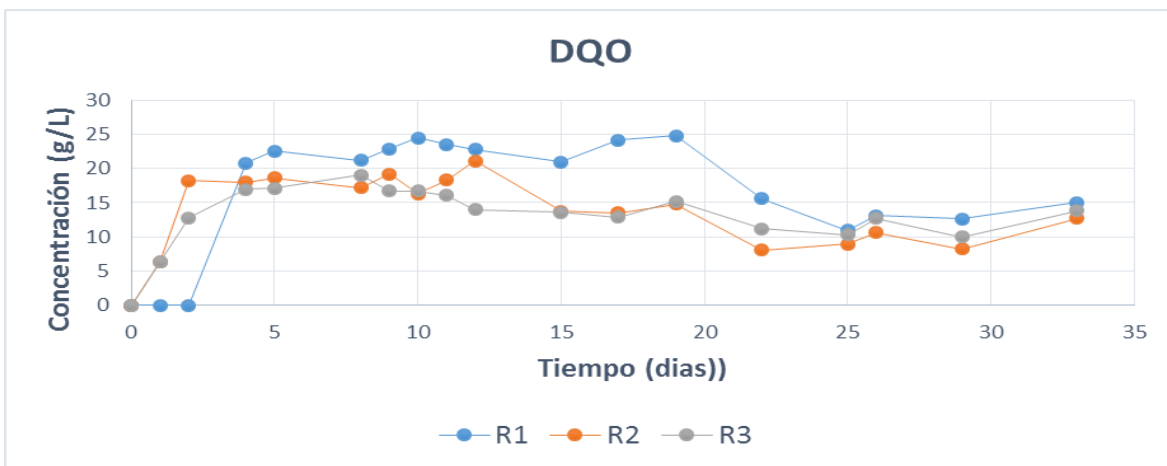
### **3.4 Producción acumulada y comportamiento de los lixiviados generados en los RHALE.**

La figura 6 muestra el perfil del pH en los lixiviados producidos en los RHALE a través del tiempo y puede observarse un descenso importante en los primeros 15 días de fermentación, debido a la acumulación de los AGV (Tabla7), sin embargo después del día 20 se observa un aumento gradual en los reactores 2 y 3, permaneciendo constante el pH en el reactor 1, este comportamiento puede estar ligado a un mejor amortiguamiento debido al volumen de efluente del UASB agregado para el escurrimiento, ya que el efluente puede contener algún compuesto con amonio que funciona como amortiguador, por lo que el aumento de metano en el biogás fue también mayor, como se muestra en la Tabla 6, obteniéndose hasta un 50% de metano con el tratamiento del 15% (V/V) de volumen de escurrimiento. Ramírez Y col., (2014) reportan que cuando el pH es amortiguado en el reactor la producción de metano se ve favorecida.



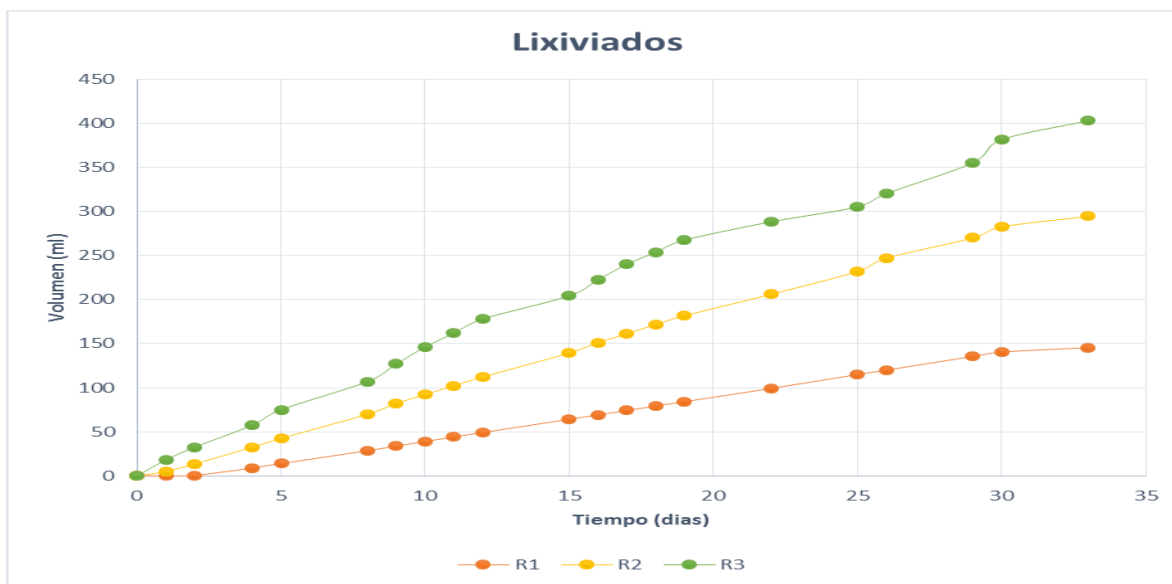
**Figura 6. Perfil de pH en los lixiviados producidos en los RHALE bajo los diferentes tratamientos.**

La figura 7 muestra la producción acumulada de DQO en los lixiviados desde el inicio hasta el final de los tratamientos. Se puede observar que a los 15 días de fermentación los reactores 2 y 3 presentan una disminución de la DQO soluble, mientras que en el reactor 1 la DQO soluble disminuye 7 días después, esto puede explicarse por el aumento de pH y por la formación de metano en el biogás en los reactores 2 y 3 (tabla 6), mientras que el reactor con menor volumen de escurrimiento se comportó como un reactor hidrolítico-acidogénico, como lo reportan Rodríguez y col., (2015).



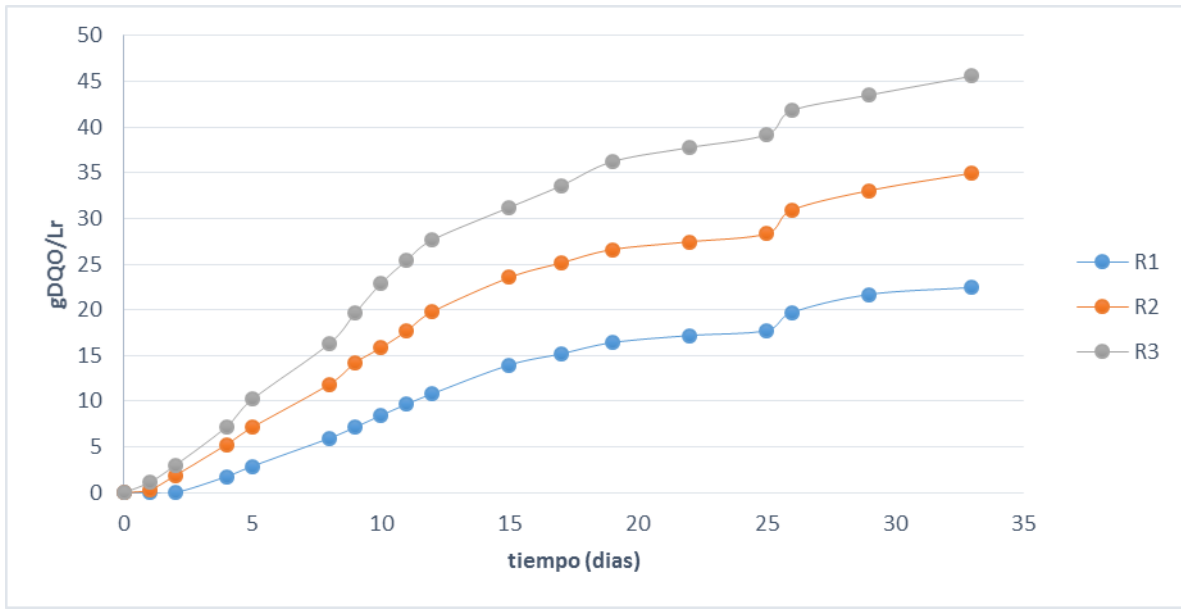
**Figura 7. Evolución de la DQO soluble de los lixiviados respecto el tiempo.**

La figura 8 muestra el volumen acumulado de los lixiviados producidos en cada uno de los reactores. Presentándose un mayor volumen de lixiviado en el reactor 3 que fue escurrido con mayor volumen de efluente.



**Figura 8. Volumen acumulado de lixiviados en los RHALE**

Si se calcula la DQO producida con base en el volumen del reactor y del lixiviado producido, durante los primeros 15 días de fermentación, se obtiene la figura 9 y se observa que la producción de la DQO también depende del volumen de escurrimiento, presentando una velocidad de producción mayor (2.3 gDQO/Lr.d) en el reactor (R3) donde se usó un mayor volumen para escurrir el lecho, comparada con las velocidades en los reactores 1 (0.98 gDQO/Lr.d) y 2 (1.17 gDQO/Lr.d).



**Figura 9. Producción acumulada de DQO en los lixiviados durante la digestión anaerobia de la fracción sólida de lirio acuático.**

### **3.5 Composición de metano en el biogás y producción de AGV en los lixiviados de los RHALE a diferentes volúmenes de escurrimiento.**

La tabla 6 muestra la composición del metano en el biogás y la concentración de AGV, durante 4 semanas de experimentación. Se observa que en los reactores 2 y 3 la producción de metano comienza en la semana 2, probablemente debido a una mayor adición de compuestos como el amonio y de bacterias presentes en el efluente del reactor UASB que se usó para escurrir el lecho, que ayudan con la amortiguación en el sistema y favorece el consumo de los AGV (Tabla 6) y en la producción de metano como lo han mencionado algunos autores (Zhang y col., 2007; Zuo y col., 2013), mientras que en el reactor 1 la producción de metano empieza una semana más tarde, permaneciendo en valores bajos hasta el final del experimento, ya que el pH se mantiene en valores cercanos a 5 (figura 7) y el consumo de los AGV es muy bajo (Tabla 6).

**Tabla 6. Composición porcentual de metano en el biogás y concentración de AGV en los lixiviados de los RHALE.**

Tratamiento	semana 2		semana 3		semana 4		semana 5	
	% CH4	g/L AGV	% CH4	g/L AGV	% CH4	g/L AGV	% CH4	g/L AGV
R1	0	18.06	32	16.62	36	10.22	39	8.11
R2	31	17.48	52	8.33	47	5.47	42	6.40
R3	26	15.78	46	9.14	49	7.99	50	4.35

### **3.6 Digestión anaerobia de la fracción sólida de lirio acuático en un RHALE de 4 L en lote con 10 % de volumen de escurrimiento.**

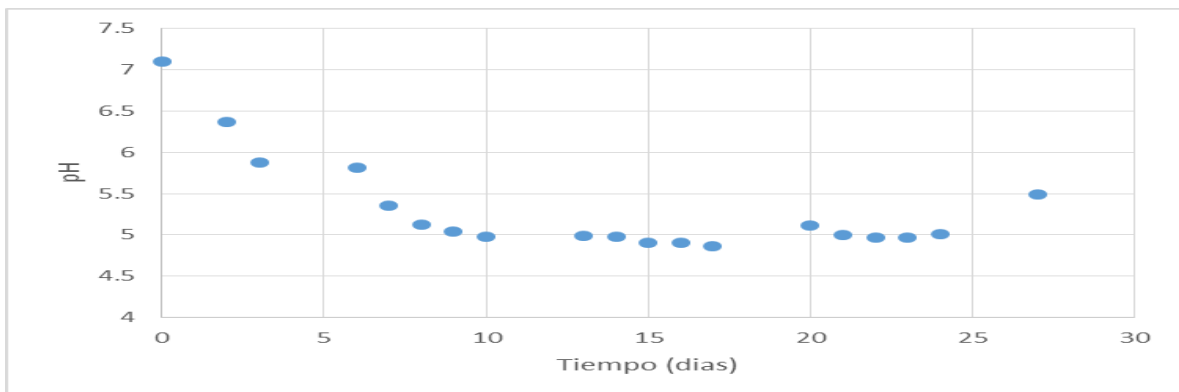
Se decidió trabajar con el volumen de escurrimiento del 10 % debido a que la reducción de sólidos volátiles fue similar al reactor de mayor volumen. En la tabla 7 se muestran los resultados obtenidos de la fracción sólida del lirio al inicio y al final de la cinética en el RHALE, se puede observar que al final de la cinética el pH disminuye ligeramente, esto debido probablemente a la generación de AGV provenientes de la hidrólisis de los polímeros presente en el lirio acuático, como se observó en el estudio anterior. Los azúcares presentes en el lirio disminuyeron al final de la cinética ya que son fácilmente fermentados a ácidos grasos volátiles, a diferencia de la DQO, que se ve aumentada al final debido a la hidrólisis de la fracción sólida de lirio a DQO soluble en los lixiviados. Los sólidos totales y volátiles se ven disminuidos al final de la cinética indicando que la materia orgánica fue convertida a ácidos grasos volátiles, el porcentaje de reducción de sólidos volátiles fue menor al tratamiento similar (R2) obtenido en el estudio anterior (Tabla 5), esto se puede deber probablemente a la composición de la fracción sólida del lirio acuático, por la época del año como se muestra en la tabla 4, ya que en este estudio los sólidos fijos presentes en el lirio fueron mayores que en otoño de 2016 (Tabla 5). Algunos autores presentan un análisis realizado en Huasca de Ocampo, Hidalgo, donde se observa que existe un aumento de compuestos inorgánicos y lignocelulósicos en la época de invierno en comparación a la de otoño.

**Tabla 7. Variables respuesta al inicio y al final de la hidrólisis y acidogénesis de la fracción sólida de lirio acuático en el RHALE de 4 L, con el 10 % de volumen de escurrimiento.**

	Días	Bagazo + Lodo (kg)	ST (g/kg)	SV (g/kg)	gDQO/gSV	gAzúcares/gSV	pH	Reducción SV (%)
RHALE	0	2	170	151	0.84	0.37	7.1	34
	27	2.7	125	100	1.18	0.33	6.7	

### 3.7 Comportamiento del lixiviado generado en el RHALE.

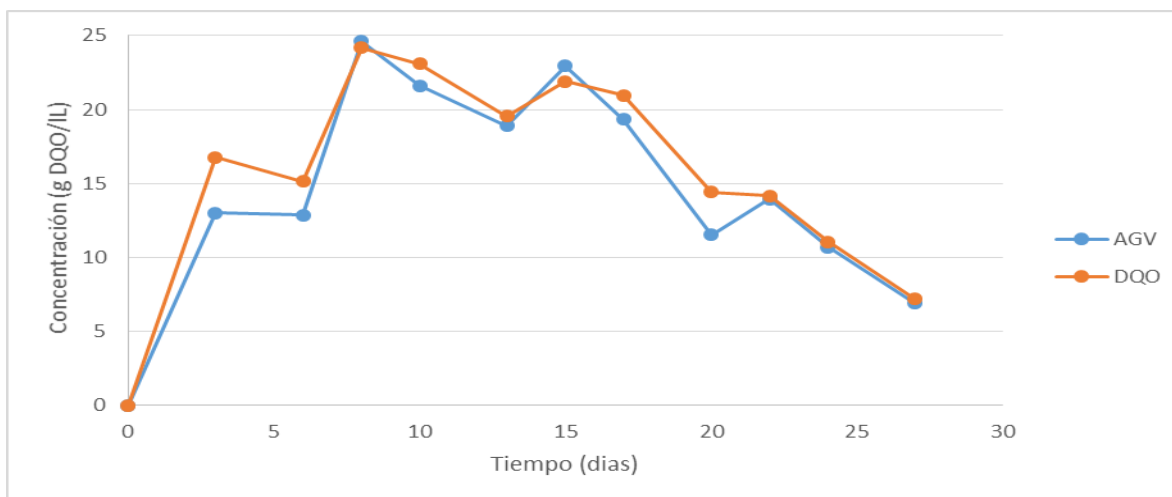
La figura 10 muestra el perfil de pH del lixiviado producido en el RHALE. Se observa un descenso importante en los primeros 10 días de hidrólisis. Este comportamiento permanece constante hasta el día 25, debido a una producción importante de ácidos grasos volátiles (AGV) como se muestra en la figura 13.



**Figura 10. Perfil de pH en los lixiviados producidos en el RHALE.**

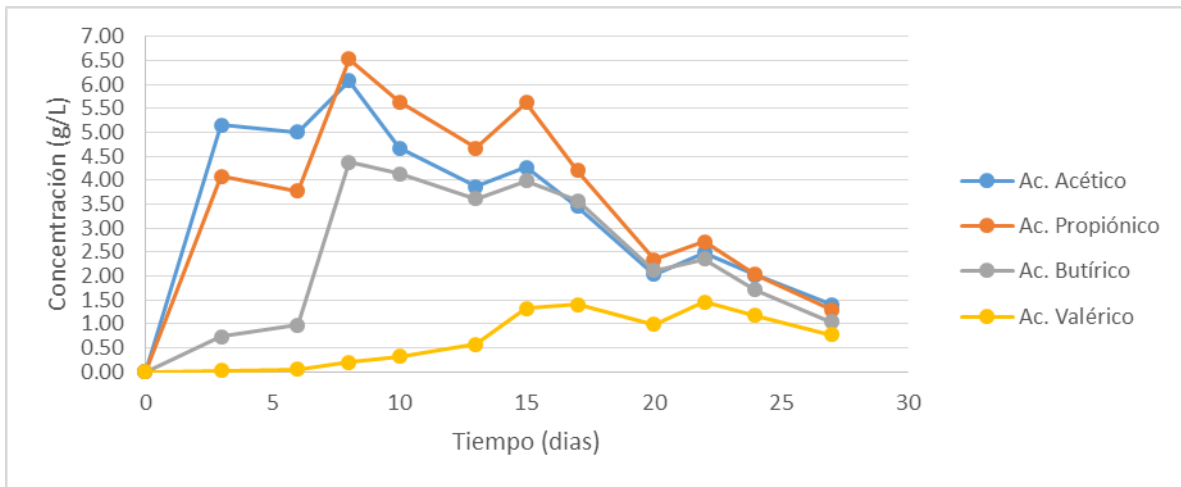
La concentración de DQO soluble y los AGV producidos en el lixiviado del RHALE se presentan en la figura 11, observándose que los AGV corresponden a toda la DQO soluble producida, lo que resultaría en una conversión a metano en el UASB más rápida y eficiente. Tanto el descenso de pH, como la producción importante de AGV en los primeros 15 días, muestran que en el RHALE ocurren solamente

dos fases de la digestión anaerobia (hidrólisis y acidogénesis), como lo reportan Rodríguez y col., (2015).



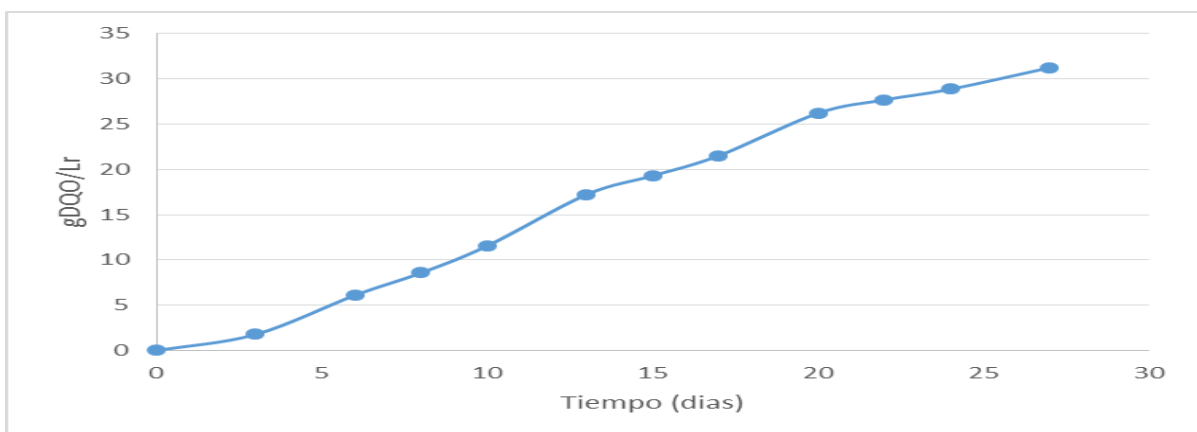
**Figura 11. Concentración de DQO y AGV en el lixiviado del RHALE.**

En la figura 12 se muestra la evolución de todos los AGV producidos en el lixiviado del RHALE. Se puede observar que los ácidos, acético y propiónico se encuentran en mayor proporción, seguidos del butírico y valérico. Se ha reportado por algunos autores (Batstone y col., 2003; Pind y col. 2003; Nielsen y col. 2007) que altas concentraciones de estos AGV pueden inhibir la digestión anaerobia de los residuos, ya que el aumento de su concentración está relacionado con la disminución en la producción de biogás (Hill y Nakano, 1987). La acumulación de ácido propiónico, especialmente de la forma no ionizada, puede inhibir la acetogénesis y la metanogénesis acetoclástica (Fukuzaki y col., 1990; Barredo y Evison, 1991). La acumulación de ácido acético puede inhibir la acetogénesis a partir de butírico (Ahring y Westerman, 1998); sin embargo de manera particular en el RHALE no ocurre, dado que el lixiviado es retirado del lecho por el escurrimiento. Esta concentración alta de los AGV en el lixiviado resulta favorable para la metanogénesis en un segundo reactor, ya que éstos lixiviados pueden ser diluidos con la mezcla de la fracción líquida de lirio y agua residual que sirven de alimentación en el reactor UASB, y aumentando la carga orgánica alimentada se puede alcanzar una mayor producción de metano en el biogás, como lo reportan Ramírez y col., (2014) y Rodríguez y col, (2015).



**Figura 12. Evolución de la concentración de los AGV en los lixiviados del RHALE con 10 % de volumen de escurrimiento.**

Si se calcula la DQO acumulada con base en el volumen del reactor y del lixiviado producido durante los primeros 20 días de fermentación, se obtiene la figura 13, con una velocidad de producción de 1.45 gDQO/Lr.d., que es ligeramente mayor a la obtenida en el estudio anterior para el mismo volumen de escurrimiento (1.17 gDQO/Lr.d) y con una mejor conversión de la fracción sólida a ácidos grasos volátiles.



**Figura 13. Producción acumulada de DQO en los lixiviados durante la digestión anaerobia del bagazo de lirio acuático.**



### 3.8 Efecto de la recirculación de lixiviado en la hidrólisis y acidogénesis anaerobia de la fracción sólida de lirio acuático en un RHALE de 4 L en lote con 10 % de volumen de escurrimiento.

Dado que algunos autores reportan que la recirculación de lixiviado favorece la degradación de los residuos en este estudio se probó una recirculación del 10 % del lixiviado para el escurrimiento del lecho en el RHALE. La tabla 8 muestra los resultados obtenidos de la fracción sólida de lirio acuático antes y después del tratamiento anaerobio en el RHALE. Se observa que al final de la cinética el pH disminuye, debido a la generación de AGV provenientes de la hidrólisis de los polímeros presentes en el lirio acuático. Los pocos azúcares presentes en el lirio aumentaron ligeramente al final de la cinética debido a la hidrólisis de los compuestos celulósicos y hemicelulósicos presentes en la fibra de lirio lo que aumentó la concentración de azúcares en el lixiviado. La DQO se ve aumentada en el biosólido (digestato) debido a hidrólisis y acidogénesis de la de la fibra de lirio acuático, y se obtiene en el lixiviado una alta concentración de DQO soluble.

**Tabla 8. Variables respuesta al inicio y al final de la hidrólisis y acidogénesis de la fracción sólida de lirio acuático en el RALE de 4 L con recirculación del 10 % de lixiviado.**

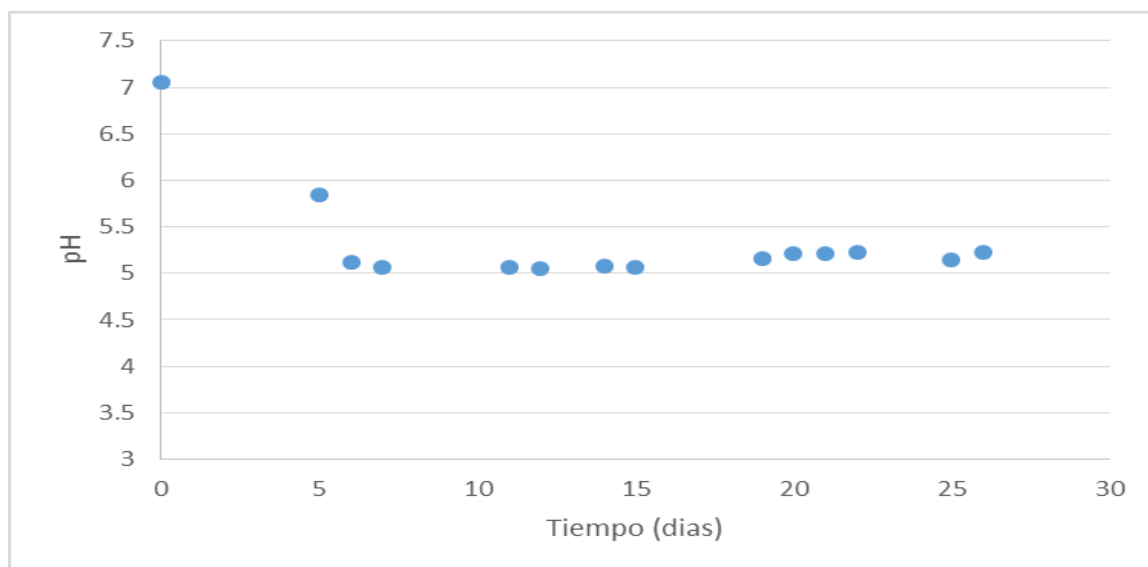
	Dias	Bagazo + L (kg)	ST (g/KgB)	SV (g/kgB)	gDQO/gsv	gAzúcares/gsv	pH	Reducción SV (%)
RHALE	0	2	167.45	144.44	0.88	0.44	7.06	37
	26	2.24	105.1	91.1	1.88	0.47	5.57	

Los sólidos totales y volátiles se ven disminuidos al final de la cinética indicando que hubo una degradación de la materia orgánica, el porcentaje de reducción de solidos volátiles es ligeramente mayor al tratamiento obtenido con anterioridad (Tabla 7), esto puede deberse a una mayor disminución en el pH a valores que favorecieron la actividad de las bacterias para una mejor hidrólisis de la fracción

sólida de lirio, ya que varios autores mencionan que valores de entre 4 y 6.5 son favorables para una mejor hidrólisis y fermentación de los residuos sólidos (Yu y col., 2002; Arshad, 2011), o a la composición de la fracción del lirio acuático ya que se reporta que la concentración de los compuestos lignocelulósicos en el lirio acuático varían con la época del año, así como de la edad de la planta y esto puede interferir en dicha reducción (Juárez y col., 2011).

### 3.9 Comportamiento de los lixiviados generados en el RHALE con recirculación del 10 % del lixiviado.

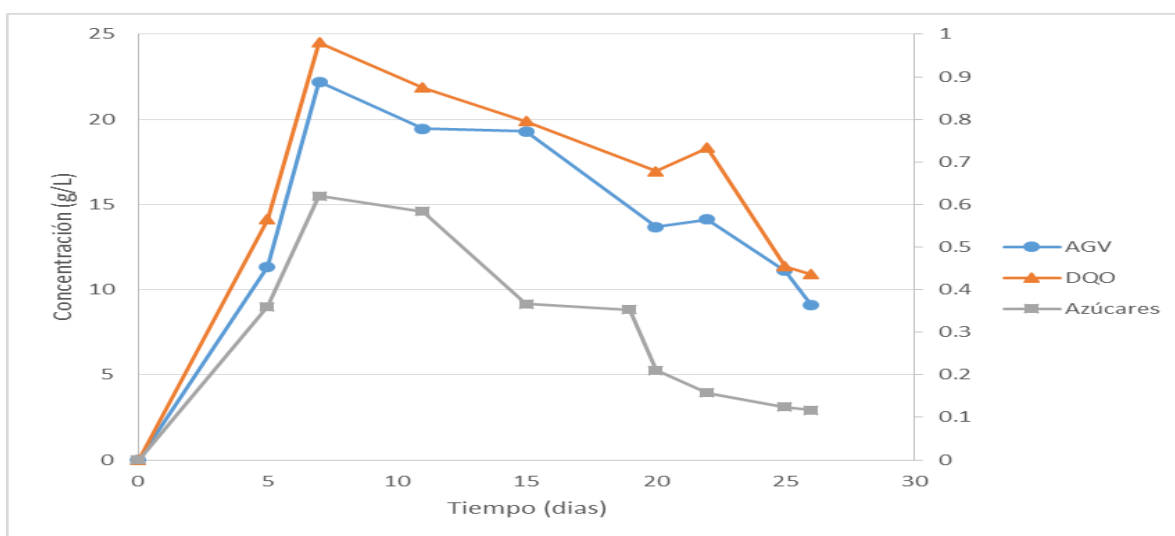
En la figura 14 se muestra el perfil de pH de los lixiviados producidos en el RHALE.



**Figura 14. Perfil de pH en los lixiviados producidos en el RHALE con recirculación del 10 % de lixiviado.**

Se observa un descenso importante en los primeros 5 días de hidrólisis. Este comportamiento permanece constante hasta el último día de cinética (26), debido a una producción importante de ácidos grasos volátiles (AGV). El descenso del pH en este estudio fue más rápido que en el reactor sin recirculación de lixiviado lo que puede resultar favorable para una mayor velocidad en la formación de los AGV.

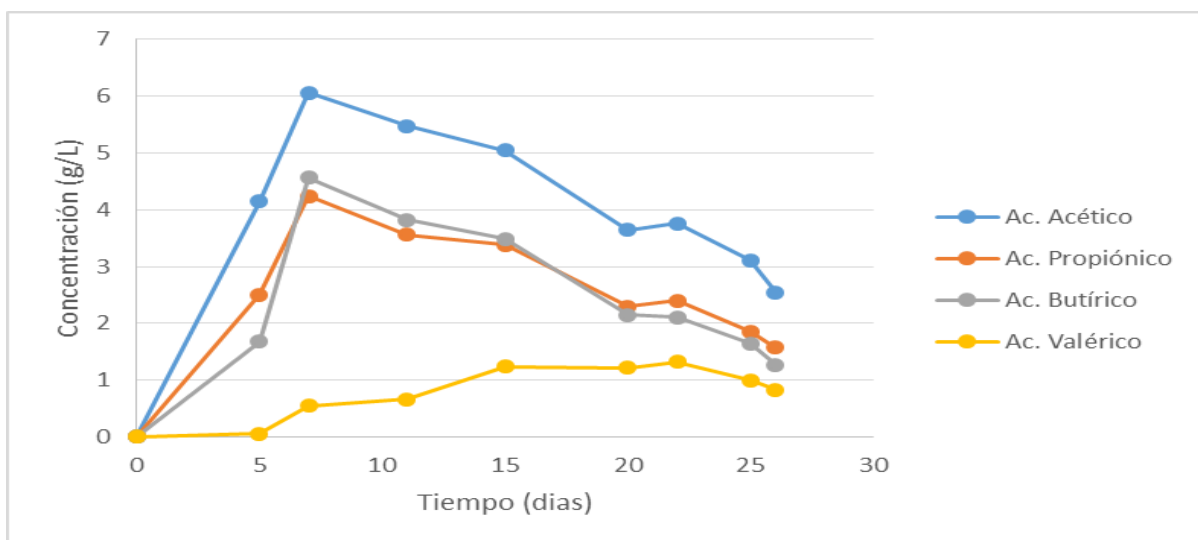
La concentración de DQO soluble, azúcares solubles y los AGV producidos en el lixiviado del RHALE se presentan en la figura 15, observándose que los AGV corresponden a toda la DQO soluble producida, lo cual puede favorecer la producción de biogás en el reactor UASB. Tanto el descenso de pH, como la producción importante de DQO y AGV en los primeros 7 días, muestran que en el RHALE ocurren solamente dos fases de la digestión anaerobia (hidrólisis y acidogénesis), como lo reportan Rodríguez y col., (2015).



**Figura 15. Concentración de DQO, AGV y azúcares en el lixiviado del RHALE con recirculación de lixiviado.**

La figura 16 muestra la evolución de todos los AGV producidos en el lixiviado del RHALE, siendo el ácido acético el AGV que se encuentra en mayor proporción, seguido del propiónico, butírico y valérico. En el estudio anterior sin recirculación de lixiviado se obtuvieron resultados similares en la formación de DQO soluble y AGV, sin embargo, la recirculación del 10% de lixiviado mejoró la producción de ácido acético, disminuyendo la concentración de ácido propiónico, resultado que puede favorecer una mayor velocidad en la producción de metano, ya que el ácido acético es el principal precursor de la metanogénesis en la digestión anaerobia. Se ha reportado por algunos autores (Batstone y col., 2003; Pind y col. 2003;

Nielsen y col. 2007) que altas concentraciones de estos AGV pueden inhibir las últimas dos fases de la digestión anaerobia. Esta concentración alta de los AGV resulta favorable para la metanogénesis, especialmente el ac. Acético, ya que es el precursor directo para esta última etapa de la DA.



**Figura 16. Composición de AGV en el lixiviado del RHALE con recirculación de 10 % de lixiviado.**

Si se grafica la DQO soluble acumulada en el RHALE, considerando el volumen de lixiviado producido y el volumen del reactor, se obtiene una velocidad de formación de DQO de 1.1 gDQO/Lr.d., resultado similar al estudio anterior. Es importante aclarar que la recirculación de una fracción de lixiviado no favoreció de manera significativa la hidrólisis y acidogénesis de la fracción sólida del lirio, solamente tuvo efecto positivo en la formación de ácido acético.

# 4. Conclusiones

#### 4. Conclusiones

- Los resultados en el primer estudio muestran que, a mayor volumen de escurrimiento, mayor reducción de sólidos volátiles (55 %), mayor formación de DQO soluble y una mayor composición de metano (50 %) en el biogás lo que favoreció la digestión anaerobia de la fracción sólida de lirio acuático.
- La velocidad de producción de la DQO en el lixiviado del RHALE fue directamente proporcional al volumen de escurrimiento, con un valor de 2.3 gDQO/Lr.d., para el volumen mayor.
- La evolución de pH en el reactor RHALE de 4 L con el 10 % de volumen de escurrimiento, favoreció la hidrólisis y los procesos fermentativos en la fibra del lirio reflejándose en una alta concentración de compuestos solubles en el lixiviado.
- La DQO soluble producida en el lixiviado del RHALE de 4 L, es igual a los AGV producidos con una velocidad de acidogénesis de 1.4 gDQO/Lr.d.
- Con la recirculación del 10% de lixiviado en el RHALE de 4 L, no se observaron diferencias en la reducción de sólidos volátiles, producción de DQO soluble y AGV, sin embargo, se favoreció la conversión a ácido acético en el lixiviado.

# 5. Recomendaciones

## 5. Recomendaciones

- Para un mejor tratamiento anaerobio de lirio acuático se recomienda usar dos reactores: uno de ellos (RHALE) para hidrolizar y fermentar la fracción sólida y uno más (UASB) para metanizar la mezcla de la fracción acuosa de lirio en mezcla con agua residual y lixiviado producido en el RHALE.
- La fracción sólida en el RHALE deberá operar con un volumen de escurrimiento del 10 % pero sin recirculación de lixiviado.
- El lixiviado producido de la fracción sólida se puede mezclar con la fracción acuosa y agua residual para aumentar la producción de metano en el UASB.



# **6. Referencias Bibliografías**

Ahring, B.K. y Westermann, P. 1988. Product inhibition of butyrate metabolism by acetate and hydrogen in a thermophilic coculture. *Applied and environment microbiology*. 54 (10), 2393-2397.

Ahring, B.K. 1995. Methanogenesis in thermophilic biogas reactors. *Antonie Van Leeuwenhoek*. (67), 91-102.

APHA (2005) *Standard Methods for the examination of Water and Wastewater*, American Public Health Association, Washington, DC.

Ariunbaatar J., Panico A., Esposito G., Pirozzi F., Lens P. 2014. Pretreatment methods to enhance anaerobic digestion of organic solid waste. *Applied Energy* (123) 143–156.

Barredo M. y Evison M. 1991. Effect of propionate toxicity on methanogen-enriched sludge, *Methanobrevibacter smithii*, and *Methanospirillum hungatii* at different pH values. *Applied and Environmental Microbiology*. 57(6) 1764-1769.

Batstone D. J., Pind, P. F. and Angelidaki, I. 2003. Kinetics of thermophilic, anaerobic oxidation of straight and branched chain butyrate and valerate. *Biotechnology and Bioengineering*, 84, (2), 195-204.

Bouallagui, H.; Torrijos, M.; Godon, J.J.; Moletta, R.; Ben Cheikh, R.; Touhami, Y.; Delgenes, J.P.; Hamdi, M., 2004. Two-phase anaerobic digestion of fruit and vegetable wastes: Bioreactors performance. *Biochemical Engineering Journal* 21, 193–197.

Bouallagui, H., Touhami, Y., Ben Cheikh, R. y Hamdia, M., 2005. Bioreactor performance in anaerobic digestion of fruit and vegetable wastes: review. *Process Biochemistry* 40, 989–995.

Brij, G., (1984). Utilization of water hyacinth as a new source or for its control: some environmental considerations. Proceedings of the international conference on water hyacinth. United Nations Environmental Program. Nairobi, India, pp 193-206.

Browne J., Allen E. y Murphy J. 2013. Improving hydrolysis of food waste in leach bed reactor. Waste Management. <http://dx.doi.org/10.1016/j.wasman.2013.06.025>.

Carrión, Cristóbal; Ponce-De León, Claudia; Cram, Silke; Sommer, Irene; Hernández, Manuel; Vanegas, Cecilia. (2012). Aprovechamiento del lirio acuático (*Eichhornia Crassipes*) en Xochimilco para Fitorremediación de metales. *Agrociencia*, 46, (6), 612-619.

Cathryn O'Sullivan, Beth Rounsefell, Alistair Grinhamb, William Clarke, James Udy (2010). Anaerobic digestion of harvested aquatic weeds: water hyacinth (*Eichhornia crassipes*), cabomba (*Cabomba Caroliniana*) and salvinia (*Salvinia molesta*). *Ecological Engineering*, 2010, (36) 1459-1468.

Chan, G.Y., Chu, L.M. y Wong, M.H., 2002. Effects of leachate recirculation on biogas production from landfill co-disposal of municipal solid waste, sewage sludge and marine sediment. *Environmental Pollution* 118 (3), 393–399.

Chigbo, F. E., R. W. Smith, and F. L. Shore. 1982. Uptake of arsenic, cadmium, lead and mercury from polluted waters by the water hyacinth *Eichhornia crassipes*. *Env. Poll. Series A* 27: 31-36.

Cirne, D., Lehtomäki, A., Björnsson, L., Blackall, L., 2007. Hydrolysis and microbial community analyses in two-stage anaerobic digestion of energy crops. *Journal Applied Microbiology* 103, 516–527.

Cirne, D.G., Paloumet, X., Björnsson, L., Alves, M.M. y Mattiasson, B. 2007. Anaerobic digestion of lipidrich waste—Effects of lipid concentration. *Renewable Energy* 32 (6), 965-975.

Das, S.P., Gupta, A., Das, D., Goyal, A., 2016. Enhanced bioethanol production from water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) by statistical optimization of fermentation process parameters using Taguchi orthogonal array design. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 109, 174–184.

Demirel B., Yenigun O. y Onay T. 2005. Anaerobic treatment of dairy wastewaters: a review. *Process Biochemistry*, 40, (8), 2583-2595.

Demirer G.N., Chen S. 2005. Two-phase anaerobic digestion of unscreened dairy manure. *Process Biochemistry* (40) 3542–3549.

Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Roberts, P.A. and Smith, F. (1956) Colorimetric Method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.*, 28: 350-356.

Gunja, Vipin, G., Priyanka, J., Kant, S.C., Dixit, A.K., Jain, R.K., 2016. Production of bioethanol from water hyacinth by isolated thermotolerant bacteria. *Int. J. Curr. Sci. Technol.* 4, 219–223.

Gunnarsson C. C. y Mattsson P. C. 2007. Water hyacinths as a resource in agriculture and energy production: A literature review. *Waste Management*, 27, 117 – 129. 17.

Hills, D.J., Nakano, K. (1984). Effects of particle size on anaerobic digestion of tomato solid wastes. *Agricultural Wastes*.10, 285-295.

Hernández José. Producción de biogás a partir de la fracción acuosa de lirio acuático. Avances de tesis de Especialización en Biotecnología. UAMI. 2016.

J.E. Jiménez-Rodríguez. Pretratamiento Aerobio de la Fracción Orgánica de los Residuos Sólidos Urbanos (FORSU) y Digestión Anaerobia del residuo pretratado. Avances tesis de doctorado en Biotecnología. UAMI 2016.

Jamil, K., Vinay, k. (1984). Histological damage of *Eichhornia crassipes* due to heavy metals uptake. Proceeding of the International Conference on water hyacinth. United Nations Environmental Program. Nairobi, India.

Juanga J. P. 2005. "Optimizing dry anaerobic digestion of organic fraction of municipal solid waste", M. E. Thesis, Asian Institute of Technology, Bangkok, Thailand.

Juárez L. 2011 Tesis "Cambios en la composición de lirio acuático (*Eichhornia crassipes*) debido a su grado de madurez y a su transformación biotecnológica, en IPN.

Koppar, A., Pullammanappallil, P., 2008. Single-stage, batch, leach bed thermophilic anaerobic digestion of spent sugar beet pulp. *Bioresource Technology* 99, 2831– 2839.

Kunatsa T. Feasibility study of biogas production from water hyacinth " a case lake Chievo – Zimbawue *International Journal of Engineering and Technology Volume 3 No. 2, February, 2013.*

Malik A. 2007. Environmental challenge vis a vis opportunity: The case of water hyacinth. *Environment International*, 33, 122 – 138.

Mata-Álvarez, J., 2003. Biomethanization of the organic fraction of municipal solid wastes. IWA publishing. Londres, Inglaterra. p. 1-180.

Miranda A. M.y Lot H. A. 1999. El lirio acuático, ¿una planta nativa de México?. Departamento de hidrobiología, UAM, Iztapalapa.

Njogu P. Kinyua R, Muthoni P, Nemoto Y. Biogas production using water hyacinth for electricity generation in Kenya. *Energy and Power Engineering*, 2015, 7, 209-216.

Nielsen, H.B., Uellendahl, H., Ahring, B.K., 2007. Regulation and optimization of the biogas process: Propionate as a key parameter. *Biomass and Bioenergy*. 31, 820-830.

Okewale, A.O., Omoruwou, F., Ojaigho, R.O., 2016. Alternative energy production for environmental sustainability. *Br. J. Renewable Energy* 1, 18–22.

Pind P. F., Angelidaki I. and Ahring, B. K. 2003. Dynamics of the anaerobic process: Effects of volatile fatty acids. *Biotechnology and Bioengineering* 82 (7), 791-801.

Ramírez, F. (2016) Digestión anaerobia del lirio acuático. Informe de servicio social. Laboratorio de microbiología y tratamiento de aguas residuales, UAMI.

Ramírez. F., Rodríguez R., De Jesús A., Martínez F., Rodríguez S. Monroy O. 2014. Two-phase anaerobic digestion of municipal organic solid wastes. *Journal Advances in Biotechnology* 3 (2) 210-218.

Raveendran Sindhu, Parameswaran Binod, Ashok Pandey, Aravind Madhavan, Jose Anju Alphonsa, Narisetty Vivek, Edgard Gnansounou, Eulogio Castro, Vincenza Faraco. 2017. Water hyacinth a potential source for value addition: An overview. *Bioresource Technology, Microbial Processes and Technology Division, CSIR-National Institute for Interdisciplinary Science and Technology, Thiruvananthapuram 695019, Kerala, India.* 153 – 154.

Reddy, K.R. Y DeBurk, W.F., (1984). Growth characteristics of aquatic macrophytes cultered in nutrient-enriched water. I. Water hyacinth, water lettuce, and pennywort. *E con. Botany*, 38:229-239.

Reyna I., Rodríguez-Pimentel R., Suyen Rodríguez-Pérez, Oscar Monroy, and Florina Ramírez-Vives (2015). Effect of organic loading rate on the performance of

two-stage anaerobic digestion of the organic fraction of municipal solid waste (OFMSW).

Robles Martínez, F; Ramírez Sánchez, I. M.; Vargas Soto, J.C.; Durán Páramo, E. (2008). Efecto de la mezcla de viruta de madera y lirio acuático (*Eichhornia Crassipes*) como agente texturizante en el proceso de composteo. Departamento de Bioprocesos, unidad profesional interdisciplinaria de Biotecnología. Instituto Politécnico Nacional. Tesis.

S.E. Viguera-Carmona, F. Ramírez, A. Noyola and O. Monroy (2011). Effect of thermal alkaline pretreatment on the anaerobic digestion of wasted activated sludge. *Water Science and Technology*. 64(4): 953-959.

Schettino Bermúdez Beatriz Sofía, M en C. Óscar Monroy Hermosillo, Dr. Jorge Gómez h., Dra. Isabel Guerrero L. (1996). Efecto de la actividad de agua en la digestión anaerobia seca del lirio acuático (*Eichhornia Crassipes*). Tesis de maestría en biología experimental, UAMI.

Shah, F.A., Mahmood, Q., Rashid, N., Pervez, A., Iqbal, A., Shah, M.M., 2015. Anaerobic digestion of water hyacinth, giant reed, maize and poultry waste for biogas generation EC. *Agriculture* 2, 277–284.

Shahriari H., Warith M. Hamoda M., Kennedy K. 2012. Effect of leachate recirculation on mesophilic anaerobic digestion of food waste. *Waste Management* 32, 400-403.

Shin, H. 2001. Performance of UASB Reactor treating leachate from acidogenic fermenter in the two-phase anaerobic digestion of food waste. *Water Research*. 35 (14), 3441–3447.

Stabnikova, O., Liu, X.Y., Wang, J.Y., 2008. Anaerobic digestion of food waste in a hybrid anaerobic solid-liquid system with leachate recirculation in an acidogenic reactor. *Biochemical Engineering Journal* 41 (2), 198–201.

Tchobanoglous, G., Theisen, H., & Vigil S.A. *Integrated Solid Waste Management* (international edition). 1993. New York: McGraw-Hill Inc.

Terreros M, J, Olmos D, A, Noyola R. A, Ramírez V F, Monroy H. O. (2009). Digestión anaerobia de lodo primario y secundario em dos reactores UASB en serie. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. 8 (2), 1-9.

Tiwari, S., S. Dixit, and N. Verma. 2007. An effective means of biofiltration of heavy metals contaminated water bodies using aquatic weed *Eichhornia crassipes*. *Env. Mon. Asses.* 129: 253-256.

Valipour, A., V. K. Raman, and P. Motallebi. 2010. Application of shallow pond system using water hyacinth for domestic wastewater treatment in the presence of high total dissolved solids (TDS) and heavy metals. *Env. Eng. Manag. J.* 9: 853-860.

Vavilin V., Rytov S. Ya L., Rintala J., And Lyberatos G., 2001. Simplified hydrolysis models for the optimal design of two-stage anaerobic digestion. *Water Resource* 35 (17), 4247–4251.

Vavilin V., Fernandez B., Palatsi J., and Flotats X. 2008. Hydrolysis kinetics in anaerobic degradation of particulate organic material: An overview. *Waste Management* 28 (6), 939-951.

Vieitez E. y Ghosh S. 1999. Biogasification of solid wastes by twophase anaerobic fermentation. *Biomass and Bioenergy*, 16 (5), 299-309

Watson, R y Rivas, O. (2012) Producción de metano a partir de desechos orgánicos generados en el Tecnológico de Costa Rica.



Xu S. Y., Lam H. P., Karthikeyan P.O. y Wong J. W. 2011. Optimization of food waste hydrolysis in leach bed coupled with methanogenic reactor: Effect of pH and bulking agent. *Bioresource Technology* 102, 3702–3708.

Zhang, B., He, P.J., Lu, F., Shao, L.M. y Wang, P., 2007b. Extracellular enzyme activities during regulated hydrolysis of high-solid organic wastes. *Water Research*. 41, 4468– 4478.

Zuo Z., Wu S., Zhang W. y Dong R. 2013. Effects of organic loading rate and effluent recirculation on the performance of two-stage anaerobic digestion of vegetable waste. *Bioresource Technology* 146, 556-561.