

**Universidad Autónoma Metropolitana
Unidad Iztapalapa**



Casa abierta al tiempo

División de Ciencias Biológicas y de la Salud

“Efecto de un complejo enzimático en la hidrólisis de la fracción orgánica de residuos sólidos urbanos (FORSU)”

TESIS

Presentada como requisito para obtener el grado de

MAESTRA EN BIOTECNOLOGÍA

Presenta:

María del Rosario Mancera Sandoval.

Directora de Tesis

Dra. Florina Ramírez Vives.

Asesores:

Dr. Oscar Armando Monroy Hermosillo.

Dr. Ulises Durán Hinojosa.



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

ACTA DE EXAMEN DE GRADO

No. 00213

Matricula: 2133802063

EFFECTO DE UN COMPLEJO ENZIMATICO EN LA HIDROLISIS DE LA FRACCION ORGANICA DE RESIDUOS SOLIDOS URBANOS (FORU)

En México, D.F., se presentaron a las 10:00 horas del día 29 del mes de enero del año 2016 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

DR. OSCAR ARMANDO MONROY HERMOSILLO
DR. ULISES DURAN HINOJOSA
DRA. REYNA ISABEL RODRIGUEZ PIMENTEL
DR. OCTAVIO LOERA CORRAL



Bajo la Presidencia del primero y con carácter de Secretario el último, se reunieron para proceder al Examen de Grado cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

MAESTRA EN BIOTECNOLOGIA

DE: MARIA DEL ROSARIO MANCERA SANDOVAL

MARIA DEL ROSARIO MANCERA SANDOVAL
ALUMNA

y de acuerdo con el artículo 78 fracción III del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

Aprobar

REVISÓ

LIC. JULIO CESAR DE LARA ISASSI
DIRECTOR DE SISTEMAS ESCOLARES

Acto continuo, el presidente del jurado comunicó a la interesada el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.

DIRECTORA DE LA DIVISIÓN DE CBS

DRA. EDITH PONCE ALQUICIRA

PRESIDENTE

DR. OSCAR ARMANDO MONROY
HERMOSILLO

VOCAL

DR. ULISES DURAN HINOJOSA

VOCAL

DRA. REYNA ISABEL RODRIGUEZ PIMENTEL

SECRETARIO

DR. OCTAVIO LOERA CORRAL

La Maestría en Biotecnología de la Universidad Autónoma Metropolitana está incluida en el Padrón Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) del CONACYT, con la referencia 001465.

Maestría en Biotecnología

México, D.F. a 29 de Enero de 2016.

El jurado designado por la
División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Unidad Iztapalapa
aprobó la tesis

“Efecto de un complejo enzimático en la hidrólisis de la fracción orgánica de residuos sólidos urbanos (FORSU)”

Que presentó:
María del Rosario Mancera Sandoval

Comité Tutorial:

Directora: Dra. Florina Ramírez Vives.
Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa.

Asesor: Dr. Oscar Armando Monroy Hermosillo.
Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa.

Asesor: Dr. Ulises Durán Hinojosa.
Instituto de Ingeniería . U.N.A.M.

Jurado:

Presidente: Dr. Oscar Armando Monroy Hermosillo (U.A.M.-I) _____

Secretario: Dr. Octavio Loera Corral. (U.A.M.-I) _____

Vocal: Dra. Reyna Isabel Rodríguez Pimentel. (U.T.N.) _____

Vocal: Dr. Ulises Durán Hinojosa. (IINGEN-UNAM) _____

Efecto de un complejo enzimático en la hidrólisis de la fracción orgánica de
residuos sólidos urbanos (FORSU)

Maestría en Biotecnología

Agradecimientos.

**A Dios y a sus Ángeles que viven en las Cumbres,
por guiar y hacer perseverar mis pasos.**

**A mis Doctores Florina y Oscar
por su infinita paciencia, dedicación y apoyo a mi trabajo.**

**A mis hijos Rosi y Marcos
Luz y alegría de mi vida
por su paciencia y tolerancia a una mamá como yo.**

A la tía Luciana, Mi madre y antepasados.

**Al Dr. Octavio Loera
por su tiempo dedicado a la revisión
de la tesis y ser parte del jurado.**

**A la Dra. Reyna, Dr. Ulises, Dra, Jazmín Méndez y Dr, Ladislao
por su apoyo en el desarrollo de la maestría.**

**A Bere, Chuchín, Juan y Jorgito
Grandes amigos encontrados en este camino.**

**A todos mis compañeros del
Laboratorio W-106**

Índice

i Abreviaturas.	iv
ii Índice de tablas.	v
iii Índice de figuras.	vii
Resumen.	1
Abstract	2
1. Introducción.		
1.1. La generación de residuos: una problemática de actualidad.	3
1.1.1. Situación actual de la producción de la basura en la ciudad de México.	3
1.2. Estrategias de tratamiento de los residuos sólidos urbanos.	4
1.2.1. La digestión anaerobia (DA).	7
1.2.2. Hidrolisis de la FORSU.	9
1.3. Tipos de pretratamientos de la FORSU.	9
1.3.1. Pretratamientos biológicos.	12
1.3.2. Complejos enzimáticos.	12
1.3.3. Extracto enzimático BACTOZYME.	13
1.4. Enzimas involucradas en la DA.	13
1.5. Reactor de lecho escurrido.	16
1.6. Producción de lixiviados y regímenes de lixiviación.	17
1.7. Variables del proceso anaerobio.	18
1.7.1. Temperatura.	18

1.7.2. Efecto del pH.	19
1.7.3. Efecto de los ácidos grasos volátiles.	19
2. Antecedentes.	21
3. Justificación.	23
4. Hipótesis.	24
5. Objetivos.	24
5.1. Objetivo General.	24
5.2. Objetivos particulares.	24
6. Materiales y métodos.		
6.1. Reactores por lote.	25
6.2. Recolección de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos (FORSU).	25
6.3. Caracterización de la FORSU.	26
6.4. Cinéticas por lote.	26
6.5. Técnicas analíticas y equipos experimentales.	27
6.6. Análisis estadístico.	29
7. Resultados y Discusión.		31
7.1. Caracterización de la FORSU.	31
7.2. FORSU (fracción sólida).	32
7.2.1. Perfil de pH en los distintos tratamientos.	32
7.2.2. Hidrólisis de sólidos volátiles.	33
7.2.3. Perfil de formación de compuestos solubles (representados como DQO).	36

7.2.4. Hidrólisis de la fibra.	37
7.2.5. Hidrólisis de la grasa.	40
7.3. Lixiviados.	42
7.3.1. Volumen acumulado de lixiviados.	42
7.3.2. DQO en los lixiviados.	44
7.3.3. AGV acumulados en los lixiviados producidos.	46
8. Análisis estadístico.	48
8.1. FORSU (fracción sólida).	48
8.2. LIXIVIADOS.	49
9. Conclusiones y recomendaciones.	51
10. Referencias bibliográficas.	52
11. Anexos.	59
11.1. Cuantificación de la fibra cruda.	59
11.2. Tablas del análisis estadístico	61

i Abreviaturas

FORSU	Fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos.
DA	Digestión anaerobia.
RSU	Residuos sólidos urbanos.
UAM-I	Universidad Autónoma Metropolitana – Iztapalapa.
SR	Sin recirculación de lixiviados.
CR20	Con recirculación del 20 % de lixiviados.
CR45	Con recirculación del 45 % de lixiviados.
CR100	Con recirculación del 100 % de lixiviados.
DQO	Demanda química de oxígeno.
T	Experimento realizado sin la adición de extracto enzimático.
Ee	Experimento realizado con la adición de extracto enzimático.
INEGI	Instituto nacional de estadística geografía e informática.
CO ₂	Dióxido de carbono.
AGV	Ácido graso volátil.
H ₂	Hidrógeno.
ST	Sólidos totales.
SV	Sólidos volátiles.
APHA	American Public Health Association.
AOAC	Association of official analytical chemists.
ND	No determinado.
SPSS	Programa estadístico y para elaboración de gráficas.

ii Índice de tablas

1	Principales ventajas de los pretratamientos a la FORSU para mejorar la etapa hidrolítica.	10
2	Exoenzimas y sustratos involucrados en la hidrólisis de la FORSU.	14
3	Condiciones óptimas requeridas en el proceso de la DA.	20
4	Recirculación de lixiviados.	27
5	Técnicas analíticas empleadas para la caracterización y cuantificación de la FORSU, biosólido y lixiviados.	27
6	Diseño estadístico de los experimentos.	29
7	Caracterización de la FORSU.	31
8	Estadísticos descriptivos de la velocidad de producción de la DQO soluble en la FORSU.	61
9	Estadísticos descriptivos de la hidrólisis de la fibra en la FORSU.	64
10	Estadísticos descriptivos de la velocidad de la hidrólisis de la grasa en la FORSU.	67
11	Estadísticos descriptivos de la velocidad de la hidrólisis de los SV en la FORSU.	70
12	Estadísticos descriptivos de la velocidad de producción de AGV en los lixiviados.	72
13	Estadísticos descriptivos de la velocidad de producción de DQO en los lixiviados.	74

iii Índice de figuras

1	Composición de los residuos sólidos en la Ciudad de México.	4
2	Representación esquemática de la DA.	7
3	Diseño del reactor en lote	25
4	Diseño experimental para el pretratamiento de la FORSU.	28
5	Perfil de pH respecto al tiempo de la hidrólisis de la FORSU en cada uno de los tratamientos.	33
6	Perfil de la hidrólisis de los SV respecto al tiempo en cada uno de los tratamientos.	34
7	Velocidad de hidrólisis de los SV en cada uno de los tratamientos	35
8	Perfil de formación de compuestos solubles (representados como DQO) en cada uno de los tratamientos.	36
9	Velocidad de formación de compuestos solubles (representados como DQO) en la FORSU en cada uno de los tratamientos.	34
10	Perfil de la hidrólisis de la fibra en cada uno de los tratamientos a través del tiempo.	38
11	Velocidad de hidrólisis de la fibra en cada uno de los tratamientos.	39
12	Perfil de la hidrólisis de la grasa respecto al tiempo en cada uno de los tratamientos.	40
13	Velocidad de hidrólisis de la grasa en cada uno de los tratamientos.	41

14	Perfil de lixiviados acumulados a través del tiempo en cada uno de los tratamientos	42
15	Velocidad de producción de lixiviados en los distintos tratamientos.	43
16	Perfil de formación de compuestos solubles (representados como DQO) en los lixiviados producidos a través del tiempo.	44
17	Velocidad de formación de compuestos solubles (representados como DQO) en los lixiviados	45
18	Perfil de producción de los AGV en los lixiviados producidos a través del tiempo.	46
19	Velocidad de producción de AGV en los lixiviados.	47

Resumen.

La fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos (FORSU) es un contaminante ya que durante su descomposición genera olores desagradables y puede causar enfermedades, debido a las altas concentraciones de compuestos orgánicos y contenido de humedad. Por otro lado, estas características la hacen una fuente de carbohidratos y otros compuestos susceptibles de fermentación; especialmente su aplicación como sustrato en la digestión anaerobia (DA). Esta opción para su tratamiento permite reducir los problemas ambientales asociados a la disposición final de los residuos y la liberación indiscriminada de metano al medio ambiente, éste último representa una alternativa al uso de combustibles fósiles. En el caso de la DA de la FORSU, se ha documentado que la etapa de hidrólisis es el paso limitante, debido a la complejidad de su composición. Para resolver este problema se proponen diversos tipos de pretratamientos. En este trabajo se estudia la efectividad de un pretratamiento enzimático con un producto multienzimático comercial, llamado BACTOZYME sobre la hidrólisis anaerobia de la FORSU obtenida de la cafetería de la Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa (UAM-I). Se realizaron estudios en lote, en columnas de vidrio empacadas con 0.15 kg de FORSU, incubadas por siete días a 32 °C, sin recirculación de lixiviados (SR), con recirculación del 20% (CR20), del 45 % (CR45) y de 100% (CR 100). A las columnas que no se les agregó extracto enzimático se les llamó testigos (T) y a las que se les agregó el extracto enzimático se les denominó como Ee. Los resultados obtenidos muestran que los principales efectos del Ee fueron sobre la velocidad de hidrólisis de la grasa y de formación de compuestos solubles (representados como DQO) en la fracción sólida. Al realizar el análisis estadístico de los resultados, se observa que en los parámetros existen diferencias significativas entre cada uno de los tratamientos. Los mejores resultados fueron en la velocidad de hidrólisis de la fibra ($0.02\text{g}_{\text{fibra}}\text{Lr}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$), en la velocidad de formación de compuestos solubles (representados como DQO) ($0.35\text{ g DQO gST}^{-1}\text{d}^{-1}$) y en la velocidad de hidrólisis de

Maestría en Biotecnología

la grasa ($0.04g_{grasa} * Lr^{-1} * d^{-1}$) con el tratamiento del 20% de recirculación del lixiviado en presencia del extracto enzimático.

Abstract.

Food waste (FW) has been recognized as pollutants, since it readily decomposes, generates odors, and sometimes causes illness under natural condition, due to its high biodegradable organic compound and moisture content. In other hand, this features became it in an important carbohydrate source and a other compounds with application in anaerobic digestión. This option has the considerable potential to reduce environmental problems associated with the disposal of FW and to produce methane, which can be a promising alternative to fossil fuel. In this process, the hidrolityc stage has been recognized still a rate-limiting step; due to the complexity of their composition. Therefore, different pretreatment methods of FW have been investigated for enhancing the hydrolysis of FW. This study aims to investigate the effect of enzymatic pretreatment with a multyenzimatic commercial product called BACTOZYME on the hydrolytic step of the FW collected from the cafeteria in the Autonomus Metropolitan University campus Iztapalapa. The studies were performed on batch regime in glass columns with one hundred and fifty grams of minced FW. Were incubated for seven days at 32 °C, without recycled leachate (SR), recirculating 20% (CR20), 45% (CR45) and 100% (CR 100). In the columns that are not added enzyme extract they were called witnesses (T) and which are added enzyme extract was termed them as Ee. The results show that the main effects of Ee were on the rate of hydrolysis of fat and fiber. To perform statistical analysis of the results, it appears that significant differences exist between each of the treatments on these parameters. The best results were at the rate of hydrolysis of the fiber ($0.02\text{g fibra L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$), the production rate of COD ($11\text{ g DQO L}^{-1}\text{d}^{-1}$) and the rate of hydrolysis of fat ($0.04\text{g}_{\text{grasa}}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$) treatment with 20% recirculation of leachate in the presence of enzyme.

1. Introducción.

1.1. La generación de residuos sólidos orgánicos: una problemática de actualidad.

La acumulación de los residuos sólidos urbanos (RSU) está alcanzando niveles críticos en casi todas las regiones del mundo. De estos desechos, los orgánicos requieren ser manejados de forma sustentable para evitar el agotamiento de los recursos naturales, minimizar los riesgos para la salud humana, la contaminación ambiental y mantener un equilibrio global en el ecosistema. La producción de este tipo de residuos es tan alta que se está convirtiendo en una fuente de preocupación en los tiraderos municipales (Bouallagui y col., 2005). La descomposición de dichos residuos en estas condiciones tiene como consecuencia la liberación de metano y dióxido de carbono al medio ambiente, agudizando los problemas de contaminación (Zhu y col., 2009). Por tanto es importante implementar estrategias que permitan mejorar los procesos de tratamiento de estos residuos.

1.1.1. Situación actual de la producción de los residuos sólidos urbanos en la Ciudad de México.

La política en materia de RSU del Gobierno del Distrito Federal, se encamina hacia la prevención y minimización de la generación mediante el conjunto de acciones, operaciones y procesos que permitan disminuir la cantidad de residuos existentes en cada etapa del manejo: generación, almacenamiento, recolección, tratamiento y disposición. En el Distrito Federal se generan cerca de 12,816 toneladas diarias de residuos sólidos urbanos de los cuales el 52 % son de tipo orgánico (Inventario de residuos sólidos 2013, 2014) (Figura 1). Esta proporción representa una oportunidad para darle un tratamiento eficiente a la fracción orgánica.

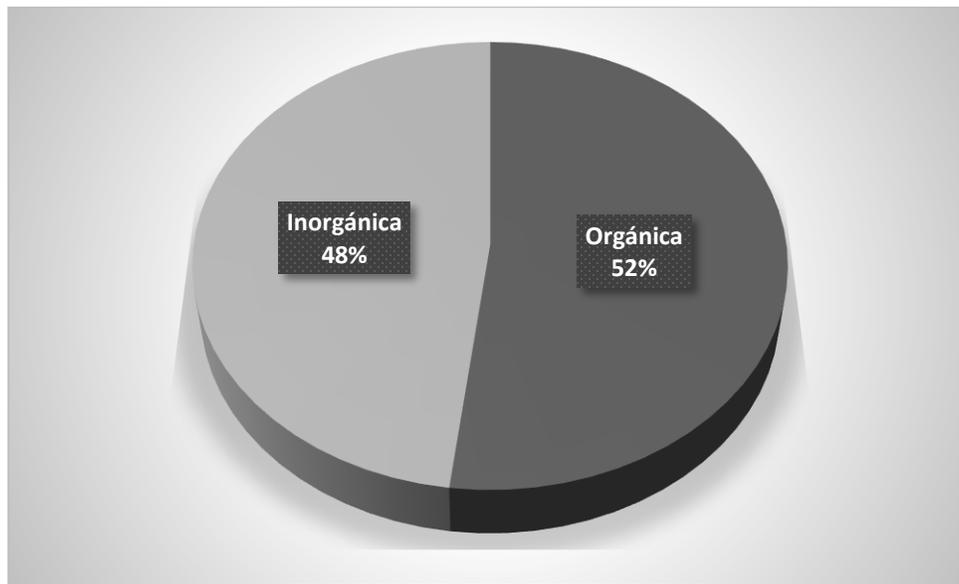


Figura 1. Composición de los residuos sólidos de la Ciudad de México.

(Inventario de residuos sólidos 2013, (2014))

El manejo de los residuos sólidos urbanos cobra una gran relevancia ambiental, en virtud del impacto que tienen sobre los ecosistemas terrestres y acuáticos, con afectaciones a la flora, la fauna y la vida urbana, además de ser una fuente importante de generación de gas metano que influye en el calentamiento del planeta (por ser un gas de efecto invernadero).

En las seis delegaciones en las que se concentran tres quintas partes de la población de la entidad se recolecta el 71% de los residuos. Destaca Iztapalapa, que registra 3,533 toneladas diarias. En el Distrito Federal en promedio se recolectan diariamente 1.9 kilogramos de residuos sólidos urbanos por habitante (Inventario de residuos sólidos 2013, 2014).

1.2. Estrategias de tratamiento de los residuos sólidos urbanos.

Los principales métodos de tratamiento para los residuos sólidos urbanos son: reciclaje, incineración, compostaje y digestión anaerobia que tienen como propósito principal reducir el volumen de los desechos. En el caso del compostaje se produce

un abono para la agricultura y en la digestión anaerobia se produce metano que puede ser usado como combustible.

- Reciclaje.

La separación de materiales existentes en la basura se hace tradicionalmente en forma manual, generalmente en el sitio de disposición final. Este último caso es muy frecuente en casi todos los vertederos de basura de las grandes ciudades y aún de pequeñas poblaciones (Sánchez y col. 2007).

- Incineración.

Con este método se logra una reducción de volumen, dejando un material inerte, alrededor del diez por ciento del inicial. La reducción es obtenida en hornos especiales en los que se puede garantizar aire de combustión, turbulencia, tiempos de retención y temperaturas adecuadas. La técnica de la incineración no es recomendable porque se emiten gases de efecto invernadero durante la combustión, con excepción de su utilización al tratar residuos hospitalarios.

- Compostaje.

El compostaje es el proceso biológico aeróbico, mediante el cual los microorganismos actúan sobre la materia rápidamente biodegradable (restos de cosecha, excrementos de animales y residuos urbanos), permitiendo obtener un abono para la agricultura, es un proceso exotérmico, por generar cierta cantidad de calor, además de producir dióxido de carbono (CO_2) y vapor de agua. El proceso de compostaje puede dividirse en cuatro períodos, atendiendo a la evolución de la temperatura:

Mesofílico. La masa vegetal está a temperatura ambiente y los microorganismos mesófilos se multiplican rápidamente. Como consecuencia de la actividad metabólica la temperatura se eleva y se producen ácidos orgánicos que hacen bajar el pH.

Termofílico. Cuando se alcanza una temperatura de 40 °C, los microorganismos termófilos actúan transformando el nitrógeno en amoníaco y el pH del medio se hace alcalino. A los 60 °C los hongos termófilos se inactivan y aparecen las bacterias esporígenas y actinomicetos. Estos microorganismos son los encargados de descomponer las ceras, proteínas y hemicelulosas. La destrucción de los organismos patógenos se logra manteniendo la temperatura entre 60° y 70° durante 24 horas.

Enfriamiento. Cuando la temperatura es menor a 60 °C, reaparecen los hongos termófilos que reinvaden el mantillo y descomponen la celulosa. Al bajar de 40 °C los mesófilos también reinician su actividad y el pH del medio desciende ligeramente.

Maduración. Es un periodo que requiere meses a temperatura ambiente, durante los cuales se producen reacciones secundarias de condensación y polimerización del humus.

- Digestión anaerobia.

Es el procedimiento por el cual algunos microorganismos en ausencia de oxígeno descomponen la materia orgánica. La digestión anaerobia se lleva a cabo en un biorreactor también llamado digester anaerobio que proporciona las condiciones adecuadas para el crecimiento de las bacterias involucradas en el proceso (Ramírez y col. 2014). La degradación biológica de los residuos sólidos orgánicos en condiciones anaerobias se convierte en biogás con un alto porcentaje de metano. Esta tecnología es esencial en la reducción del volumen de los residuos, eliminación de contaminantes y la posibilidad de utilizar el biogás producido como una fuente renovable de energía.

1.2.1. La digestión anaerobia (DA).

Es un proceso biológico que consiste en cuatro etapas de descomposición de la materia orgánica: la hidrólisis, la acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis (Figura 2).

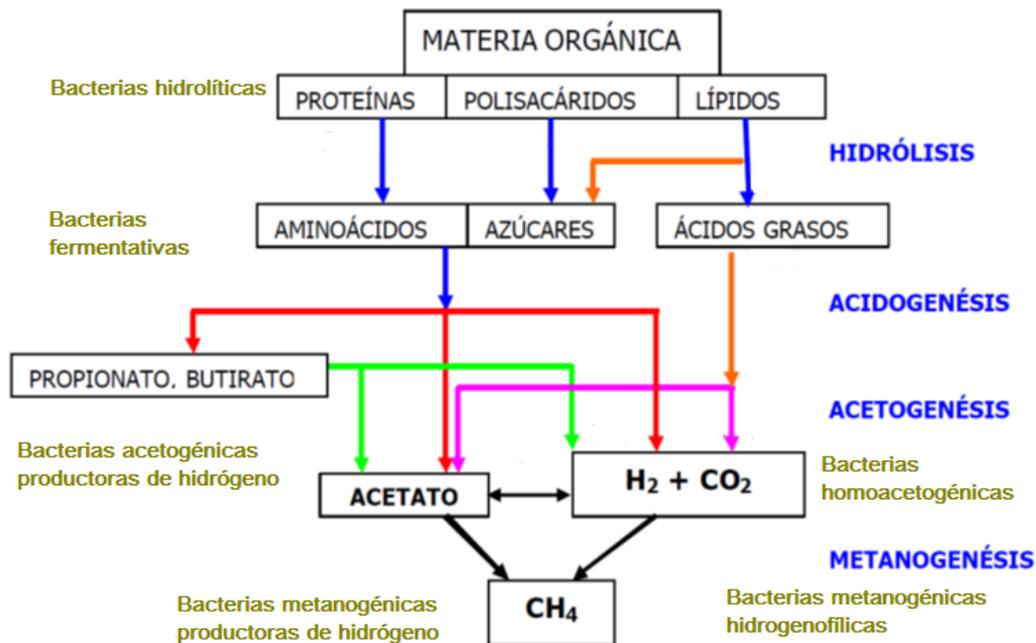


Figura 2. Representación esquemática de la DA (Barlaz, 1989).

En la etapa hidrolítica las bacterias fermentativas convierten la materia orgánica compleja e insoluble en moléculas de bajo peso tales como azúcares, aminoácidos y ácidos grasos volátiles, lo que representa una monomerización de la materia orgánica compleja, por ejemplo la celulosa pasa a azúcares o alcoholes y las proteínas a péptidos o aminoácidos, por la acción de enzimas hidrolíticas tales como las lipasas, proteasas, celulasas secretadas por los microorganismos. La actividad hidrolítica es de vital importancia en los residuos de alto contenido orgánico y esto puede considerarse como la etapa limitante.

En la segunda fase (acidogénesis) las moléculas sencillas son convertidas a ácidos grasos volátiles (AGV), alcoholes, cetonas, aldehídos, agua, formiato, acetato,

dióxido de carbono e hidrógeno por acción de las bacterias acidogénicas, ocasionando que disminuya el pH por valores por debajo de 6.8. Estas moléculas solubles son fermentadas por varios microorganismos formando compuestos que pueden ser utilizados directamente por las arqueas metanogénicas (ácido acético, ácido fórmico, hidrógeno (H_2) y compuestos orgánicos metilados (metanol y metilaminas).

En la tercera fase (acetogénesis), los compuestos orgánicos provenientes de las etapas anteriores son oxidados por las bacterias acetogénicas a ácido acético, hidrógeno y dióxido de carbono que pueden ser utilizados por las arqueas metanogénicas. Los productos formados durante la acetogénesis son debidos a la acción de distintos microorganismos como *Syntrophobacter wolinii*, degradador de propionato y *Syntrophomonas wolfei*, un degradador de butirato. Otras bacterias formadoras de ácido son *Clostridium spp.*, *Peptococcus anaerobius*, *Lactobacillus* y *Actinomyces*.

Bajo condiciones estándar, las reacciones de oxidación de los AGV no son energéticamente sencillas, ya que el H_2 es utilizado como aceptador de electrones en esta fase y por esa razón esta conversión se controla en gran medida por la presión parcial en la mezcla, ya que dependiendo de esta puede no ser viable. Termodinámicamente la reacción y la producción de metano desde H_2 y CO_2 es más favorable.

Finalmente, el metano se produce por las arqueas formadoras de metano (también conocidas como metanógenos) en dos vías posibles, una de ellas por el rompimiento de las moléculas de acetato para generar dióxido de carbono y metano o por la reducción del dióxido de carbono. La formación de metano por la segunda ruta se limita por la cantidad de hidrógeno en los reactores, lo que favorece la reacción de rompimiento del acetato como principal ruta de producción. Las arqueas metanogénicas se dividen en dos grupos, las consumidoras de acetato y las consumidoras de H_2/CO_2 . Algunas arqueas metanogénicas incluyen *Methanobacterium*, *Methanobacillus*, *Methanococcus* y *Methanosarcina*.

Methanosarcina spp. y *Methanothrix spp.* (*Methanosaeta*) son consideradas importantes en la DA como consumidoras de acetato (Molino y col. 2013).

1.2.2. Hidrólisis de la FORSU.

Las reacciones de hidrólisis se realizan con la ayuda de enzimas llamadas hidrolasas. Las reacciones bioquímicas que rompen los polímeros como las proteínas (los enlaces peptídicos entre los aminoácidos), nucleótidos, azúcares complejos, almidón y grasas se catalizan por este tipo de enzimas. Las lipasas, amilasas y peptidasas, hidrolizan grasas, azúcares y proteínas respectivamente. Las enzimas son proteínas que participan en el proceso del metabolismo celular y tienen la función de mejorar la tasa de reacción entre las biomoléculas (Moon y Song, 2011).

La DA comienza con la acción de bacterias que hidrolizan los polímeros orgánicos complejos, tales como los carbohidratos, proteínas, lípidos y grasas, en otros monómeros simples por la acción de enzimas extracelulares, algunos géneros involucrados en esta etapa son *Clostridium*, *Staphylococcus* y *Bacteroides*, entre otros. La DA de la FORSU generalmente tiene un arranque lento debido a esta etapa (Veeken y col., 2000).

La importancia de la hidrólisis de la materia orgánica polimérica a compuestos solubles o monómeros es el paso inicial para la degradación anaerobia de sustratos orgánicos complejos, ya que los microorganismos únicamente pueden utilizar materia orgánica soluble que pueda atravesar su pared celular (Martí, 2002).

Con el objetivo de facilitar la degradación inicial de la materia orgánica contenida en la FORSU e incrementar la velocidad de hidrólisis, se ha ensayado la aplicación de pretratamientos químicos, físicos y biológicos previos al tratamiento anaerobio (Fernández, 2011).

1.3. Tipos de pretratamientos de la FORSU.

La DA de la FORSU representa una opción para su tratamiento, debido a las ventajas que ofrece; sin embargo la hidrolisis de la materia orgánica a

compuestos solubles representa la etapa limitante del proceso. Se han llevado a cabo numerosas investigaciones sobre los pretratamientos que permitan salvar este obstáculo. Los pretratamientos descritos en la tabla 1, incluyen los de tipo mecánico, térmico, químico y biológico y están encaminados a la mejora de la DA de la FORSU; los métodos se comparan en términos de eficiencia y sustentabilidad. (Ariunbaatar y col. 2014; Cesaro y Belgiorno, 2014).

Tabla 1. Principales ventajas y desventajas de los pretratamientos a la FORSU para mejorar la etapa hidrolítica.

Pre-tratamiento	Tecnología	Ventajas	Desventajas
Químicos	Ozonización	<ul style="list-style-type: none"> *Oxidación fuerte asegurando un tiempo de reacción corto. *Mejoramiento de la solubilización. *No hay adición de productos químicos a los residuos. 	<ul style="list-style-type: none"> *Costos de inversión altos. *Posible formación de intermediarios poco degradables. *Aplicación limitada a sistemas de DA húmeda (ST <10 %).
	Tratamiento ácido / alcalino	<ul style="list-style-type: none"> * Bajos costo. *La producción de metano aumenta hasta en un 100%. 	<ul style="list-style-type: none"> *Altos costos de operación si las cantidades de residuos son muy grandes. *Posible formación de compuestos tóxicos.
	Trituración	<ul style="list-style-type: none"> *Tecnología ampliamente difundida y de aplicación a gran escala. *Utilizable en todos los tipos de FORSU. *No hay restricción para su uso en la DA de la FORSU. 	<ul style="list-style-type: none"> *Puede favorecer la acumulación de los AGV, debido a la rápida hidrólisis de los residuos por la disminución excesiva del tamaño de partícula. *La energía de trituración necesaria es directamente proporcional a la disminución del tamaño de partícula requerido.
	Prensas Extrusoras	<ul style="list-style-type: none"> *Ampliamente utilizadas a gran escala. 	<ul style="list-style-type: none"> *Ocasionalmente requiere pretratamientos

		<p>*No hay restricción para su uso en la DA de la FORSU.</p> <p>*Separación de la FORSU húmeda y seca con la consecuente optimización de los procesos aerobio o anaerobio</p>	<p>adicionales para remover impurezas.</p> <p>*Generación de un flujo de masa que necesitan estabilizarse para los subsecuentes procesos biológicos.</p>
	Irradiación térmica/ microondas	<p>*Posibilita la estabilización del proceso anaerobio.</p> <p>*Alta eficiencia en la mejora de la solubilización de la materia orgánica.</p>	<p>* Posible formación de compuestos difíciles de degradar con una disminución del rendimiento global del metano.</p> <p>*Alto consumo de energía para el pretratamiento térmico.</p>
	Ultrasonido	<p>*Alta eficiencia en la solubilización de la materia orgánica y en el rendimiento de metano obtenido en el proceso anaerobio.</p> <p>* Tecnología versátil.</p>	<p>*Aplicación limitada a sistemas de DA húmeda (ST<10 %).</p> <p>*Tecnología de alto consumo de energía.</p>
Biológicos	Acción microbiana /Adición de enzimas	<p>*No hay adición de químicos</p> <p>*Bajos costos de inversión y de operación.</p> <p>*No hay restricción a tecnologías de la DA.</p>	<p>*Largos tiempos de reacción.</p> <p>Bajo incremento en los rendimientos de metano.</p> <p>*Difícil aplicación debido a la complejidad de los sustratos.</p>
Químicos / Físicos	Aireación	<p>*Utilizable en sustratos lignocelulolósicos.</p> <p>*Incremento de un 100% en la producción de metano.</p> <p>*Posibilidad de destruir contaminantes orgánicos no fácilmente degradables.</p>	<p>*Bajos rendimientos con residuos crudos y altos costos de inversión.</p> <p>*Utilización de altas presiones de trabajo (30-250 bar), bajo las cuales la mezcla de reacción es extremadamente corrosiva.</p> <p>*Aplicación limitada a la digestión húmeda (ST <10 %).</p>

	Uso de aditivos	* Se asegura la estabilización de los residuos por la estabilización y la remoción de compuestos inhibitorios	* Poca mejora en la producción de metano.
--	-----------------	---	---

(Ariunbaatar y col. 2014; Cesaro y Belgiorno, 2014)

1.3.1. Pretratamientos biológicos.

La etapa hidrolítica puede mejorarse por medio del incremento de la actividad microbiana por unidad de área de superficie. Este efecto puede alcanzarse no sólo con la inoculación sino también con la adición de enzimas. Así pues los pretratamientos biológicos incluyen tanto el uso de microorganismos con una gran habilidad de degradar los sustratos y la adición de enzimas que realizan las reacciones dentro de los digestores anaerobios (Cesaro y Belgiorno, 2014). Estas enzimas específicamente son peptidasas, carbohidratasas y lipasas. Parawira y col. (2005) reportan que el mejoramiento de la etapa hidrolítica se puede alcanzar estimulando a las poblaciones acidogénicas para producir enzimas más específicas, lo que redundará en una degradación más extensa de los sustratos.

1.3.2. Complejos enzimáticos.

Los extractos enzimáticos tienen muchos beneficios económicos y ambientales en el contexto de la industria de la biocatálisis. Son obtenidos de extractos enzimáticos crudos, generalmente pueden almacenarse por largos periodos de tiempo, son estables y resistentes a la desnaturalización por calor, solventes orgánicos y auto proteólisis, son estables en medio acuoso. Además, tienen altas productividades de catalizador (kg de producto por kilogramo biocatalizador), pueden recuperarse o bien reciclarse. Otra ventaja es que pueden coinmobilizarse dos o más tipos de enzimas para producir extractos multienzimáticos capaces de catalizar distintas biotransformaciones, independientes o secuenciadas en cascada. Se considera a los procesos enzimáticos como generadores de menos residuos indeseables que

los procesos convencionales de rutas sintéticas, más eficientes energéticamente y generan productos de mayor pureza (Sheldon, 2011). El pretratamiento de la FORSU con complejos enzimáticos podría ser más eficiente que con un sólo tipo de enzima (Kim y col., 2006).

1.3.3. Extracto enzimático BACTOZYME.

El extracto enzimático que se aborda en este estudio, es un producto cuya composición, permite la hidrólisis de diferentes compuestos, es producido con base a un proceso de fermentación de diversas sustancias de origen vegetal y agua, de donde se extraen un gran número de enzimas con características muy específicas cada una en particular, por lo que trabajan y reaccionan sobre la gran mayoría de los materiales orgánicos presentes en la naturaleza, como:

- Grasas y aceites (Lipasa)
- Proteínas (Proteasa)
- Celulosa (celulasa)
- Carbohidratos (amilasa)

Este producto acelera los procesos de separación de la materia orgánica compleja, en compuestos simples, la transforma eficientemente en moléculas de fácil asequibilidad para los microorganismos. Lo que facilita la digestión de la materia orgánica disminuyendo el tiempo de degradación. Los polisacáridos, grasas y proteínas, al ser biodegradadas se emulsifican propiciando así una rápida separación de líquidos y sólidos, baja DQO y remueve los malos olores. Este producto actúa en un amplio rango de pH (3.5 a 9.5) y de temperaturas (1 a 50 °C). (www.biozyme.com, 2014).

1.4. Enzimas involucradas en la DA.

Las enzimas son moléculas que catalizan las reacciones bioquímicas. Existen dos tipos de enzimas involucradas en la hidrólisis de los residuos orgánicos las endo y exoenzimas. Las endoenzimas son aquellas que se producen y realizan la degradación de los sustratos dentro de la célula, en tanto las exoenzimas se liberan

al exterior de la célula formando un limo al que se adhieren las moléculas que se degradarán, una vez en contacto con la exoenzima, el sustrato es desintegrado. Una vez solubilizados, entran a la célula y continúan su proceso hidrolítico por la acción de las endoenzimas. El proceso que llevan a cabo las exoenzimas puede durar varias horas dependiendo de la naturaleza del sustrato a degradar. Este es un proceso lento, que limita la tasa global de la digestión anaerobia (Derbal, 2012).

Etapa hidrolítica

Los compuestos orgánicos complejos, como los lípidos, proteínas e hidratos de carbono, son despolimerizados, por acción de enzimas hidrolíticas, en moléculas solubles y fácilmente degradables, como azúcares, ácidos grasos de cadena larga, aminoácidos, alcoholes, etc. (Tabla 2). Se trata de un proceso enzimático extracelular, y las bacterias responsables de su generación son las bacterias hidrolítico-acidogénicas (Fernández y col. 2008).

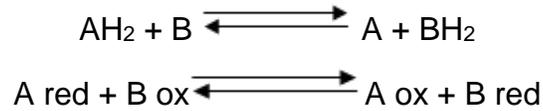
Tabla 2. Exoenzimas y sustratos involucrados en la hidrólisis de la FORSU.

Sustrato degradar	Exoenzima necesaria	Ejemplo	Bacteria	Producto
Polisacáridos	Polisacarolítica	celulasa	<i>Cellulomonas</i>	Azúcares simples
Proteínas	Proteolítica	proteasa	<i>Bacillus</i>	Aminoácidos
Lípidos	Lipolítica	lipasa	<i>Mycobacterium</i>	Ácidos grasos

(Kondusamy y Kalamdhad, 2014)

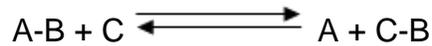
Las enzimas se clasifican en seis clases de acuerdo con las reacciones que catalizan.

1. **Oxidoreductasas.** Catalizan reacciones de óxido-reducción, transfieren hidrógeno (H) o electrones (e-) de un sustrato a otro, según la reacción general:



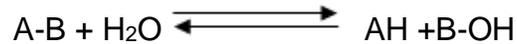
Ejemplos son la succinato deshidrogenasa o la citocromo C oxidasa

2. **Transferasas.** Catalizan reacciones en las que se transfieren grupos funcionales distintos al hidrógeno de un sustrato a otro, según la reacción.



Un ejemplo es la glucoquinasa, que cataliza la reacción de fosforilación de la glucosa a glucosa-6 fosfato.

3. **Hidrolasas.** Catalizan reacciones de hidrólisis, transfieren grupos funcionales o agua.



Un ejemplo es la lactasa, que cataliza la reacción:



4. **Liasas.** Catalizan las reacciones de ruptura, adicionan grupos a los dobles enlaces de las moléculas o remueven grupos de los dobles enlaces.



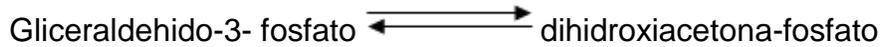
Un ejemplo es la acetato descarboxilasa, que cataliza la reacción



5. **Isomerasas.** Transfieren grupos dentro de las moléculas para formar isómeros.



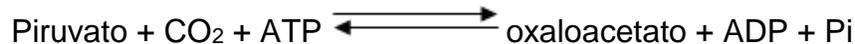
Un ejemplo es la fosfotriosaisomerasa, que catalizan la reacción:



6. **Ligasas.** Forman enlaces C-C, C-S, C-O, y C-N por reacciones de condensación acopladas al rompimiento de una molécula de ATP.



Un ejemplo es la piruvatocarboxilasa, que cataliza la reacción:



(Hicks, 2000)

1.5. Reactor de lecho escurrido.

La DA de los residuos sólidos (RS) presenta ventajas sobre la DA de los residuos líquidos en varios aspectos, incluyendo el volumen menor del reactor, menores requerimientos de energía para el calentamiento y agitación, manejos mínimos de materiales y pérdidas mínimas de energía. El proceso de DA-RS es más utilizada para el tratamiento de la FORSU y otros residuos lignocelulósicos (Nagao y col. 2012). El reactor de lecho escurrido fue conceptualizado por Ghosh en 1981 para el tratamiento de sustratos orgánicos de alta carga y es usado más comúnmente para el tratamiento de la FORSU en configuraciones de una o dos etapas, esto último se ha implementado en estudios más recientes. En este estudio se trabajó con columnas empacadas de FORSU que funcionan de manera similar al reactor de lecho escurrido reportado por Ramírez y col. (2014) y Rodríguez y col.(2015).

1.6. Producción de lixiviados y regímenes de lixiviación.

En la degradación de los residuos sólidos en combinación con la percolación de agua, se promueve la generación de un líquido altamente contaminado llamado lixiviado, que puede contener grandes cantidades de materia orgánica (biodegradable o recalcitrante), nitrógeno en forma de amonio, metales pesados, compuestos orgánicos clorados y sales inorgánicas.

El seguimiento analítico de las características del lixiviado y la composición del biogás producido en cada una de las columnas hace posible vislumbrar las principales fases de la degradación anaerobia y sus características respecto al tiempo. Asimismo observar las ventajas y desventajas de la recirculación del lixiviado sobre la degradación de la FORSU (Francois y col. 2007).

En este proceso el lixiviado es colectado y recirculado a las columnas con la finalidad de incrementar la actividad enzimática y acelerar la descomposición de la materia orgánica. Debido al incremento de la tasa de descomposición, la producción de biogás puede acelerarse. La recirculación de los lixiviados también promueve la sedimentación de los residuos, otras ventajas de recircular los lixiviados son: 1) acelera la descomposición de los residuos lo que repercute en la disminución en la duración del proceso de DA y los costos de manejo; 2) incrementa la producción de biogás; 3) representa un tratamiento para los lixiviados producidos *in situ*, lo cual evita costos de manejo (Mehta y col. 2002).

Con la intención de maximizar la estabilización de los residuos, se opta por la recirculación de los lixiviados, pero frecuentemente se debe ser cuidadoso en la elección de los regímenes de lixiviación. Si se recirculan grandes cantidades, se pueden presentar problemas de saturación, encharcamiento y acidificación. Si bien no existen datos referentes a las cantidades de lixiviado a recircular, es recomendable que se vaya introduciendo poco a poco, ya que de no ser así se pierde la capacidad amortiguante del medio y se inhiben las actividades de las arqueas metanogénicas, en cambio cuando se incrementa paulatinamente el flujo de la recirculación, se puede estabilizar la producción de biogás. Chugh y

colaboradores (2002) en sus investigaciones establecen que la descomposición de los residuos puede mejorarse con un incremento en la humedad, como resultado del incremento de la dilución de productos inhibitorios con lo que se mantienen condiciones ambientales favorables para la distribución uniforme de la humedad y la adición de inóculo y nutrientes (Šan y Onay. 2001). La recirculación de los lixiviados sobre los residuos ha sido puesta a prueba en distintos ensayos a escala piloto (columnas de residuos) como: Chugh y col., 1998; Rodríguez y col., 2000; Youcaï y col., 2002; Sponza y Agdag, 2004.

1.7. Variables del proceso anaerobio.

Para mantener a los microorganismos anaerobios en condiciones de alta actividad metabólica, es necesario controlar las condiciones ambientales en que se encuentran, ya que son sumamente sensibles a los cambios que pudieran suceder; por lo que es necesario mantener las condiciones óptimas para su desarrollo.

1.7.1. Temperatura.

La DA puede llevarse a cabo en tres tipos de condiciones: psicofílicas (por debajo de los 20 °C), mesofílicas (entre 20 a 45 °C, usualmente 35°) o termofílicas (entre 50 y 65 °C, generalmente, 55 °C), pero la temperatura óptima para su funcionamiento depende del tipo de sustrato y el tipo de digester (Monnet, 2003).

1.7.2. Efecto del pH.

El pH es un parámetro muy importante para el proceso de la DA, las variaciones afectan al proceso debido a su influencia directa en el crecimiento de los microorganismos. Varios autores sugieren que el pH óptimo para mejorar la actividad de las bacterias en la hidrólisis y acidogénesis está comprendido entre 4 y 6.5 (Yu y col., 2002). El pH y la temperatura afectan el crecimiento de los

microorganismos y la hidrólisis de la materia orgánica, en particular de las sustancias solubles (Kim y col., 2003). Por ejemplo, a bajos pH y una alta concentración de lípidos, se puede también afectar la hidrólisis por la liberación de AGV no disociados (Palenzuela y col., 1999). Por debajo de un pH 4 la actividad microbiana se reduce, por lo que se convierte en una menor degradación de sustrato y por lo tanto, menos conversión de carbohidratos complejos, proteínas y lípidos (Jiang, 2013). El crecimiento de microorganismos anaerobios como los acetógenos y metanogénicos puede ser inhibido debido a que éstos son muy sensibles a pH ácidos. En la etapa de acetogénesis se puede llegar a la acumulación de grandes cantidades de ácidos orgánicos, que producen pH debajo de 5, predominando más el ácido acético y butírico; sin embargo, a pH 6 se favorece el incremento de los AGV totales, predominando principalmente el butirato (Jiang, 2013).

1.7.3. Efecto de los ácidos grasos volátiles.

La producción de los AGV en el proceso de DA, tiene un papel importante en la cinética total de la degradación de los residuos. Cuando se acumulan a lo largo del proceso, tienden a limitar su funcionamiento. La etapa hidrolítica, puede inhibirse con la acumulación de ácido propiónico. Las altas concentraciones de AGV en los digestores, pueden contribuir a bajar el pH, y con ello inhibir la etapa metanogénica y eventualmente una falla en el reactor. Se considera al ácido propiónico el más tóxico de los AGV, ya que su oxidación a acético es la más lenta (Jha y col. 2011). La Tabla 3 muestra algunas condiciones óptimas para el proceso de la digestión anaerobia.

Tabla 3. Condiciones óptimas requeridas en el proceso de DA.

Parámetros	Condiciones óptimas	Referencias
Temperatura	Rango mesofílico (35-40°C) Rango termofílico (50-65°C)	van Haandel y Lettinga (1994); Arsova (2010)
p H	6.3- 7.8	Xiaojiao y col. (2012)

AGV	$2 - 3 \text{ g L}^{-1}$	Eastman y Ferguson (1981)
-----	--------------------------	------------------------------

(Kondusamy y Kalamdhad, 2014)

2. Antecedentes.

La FORSU se le reconoce como una fuente de compuestos orgánicos biodegradables, de carbono y nutrientes por ejemplo azúcares, almidón, lípidos, proteínas, celulosa y otros compuestos inorgánicos que pueden utilizarse como medio de desarrollo de la DA (Moon y Song. 2005), como se ha mencionado con anterioridad la etapa limitante de la DA en residuos sólidos, es la hidrólisis por lo que se han implementado la adición de enzimas y la recirculación de los lixiviados para mejorar esta etapa.

Kim y col. (2006), en un estudio con FORSU en cultivos por lote y adicionando tres tipos de enzimas comerciales: celulasas (C), proteasas (P) y lipasas (L) para mejorar la etapa hidrolítica, reportan que la mejor proporción de enzima fue de 1:2:1 (C: P: L) con eficiencias de 55% de reducción de los sólidos totales de la FORSU y 45% de DQO producida.

Kim y col. (2011), estudian la hidrólisis de la FORSU agregando distintas combinaciones de enzimas comerciales (glucoamilasas + proteasas y carbohidrasas + proteasas), obteniendo hasta un 20% más en el rendimiento de glucosa, respecto a otros tratamientos sin enzimas.

Moon y Song (2011), prueban el tratamiento de la FORSU aplicando lipasas (L), carbohidrasas (C) y proteasas (P), de manera individual y combinada. En los ensayos con la enzimas individuales la reducción de los SV fue mayor con L, C y P en 29, 11 y 8% respectivamente, mientras que la mejor combinación fue con la combinación de 1:2:1 partes de C:P:L con la cual se obtuvo una reducción de sólidos del 61%.y hasta una producción de 100 gL⁻¹ de DQO.

Kiran y col. (2015), comparan la hidrolisis de la FORSU utilizando pretratamientos con enzimas comerciales y enzimas obtenidas de la fermentación en medio sólido del hongo *A. awamori*, observando que la adición de enzimas mejoran la producción de DQO, biogás y reducción de SV hasta en un 40 % más que sin tratamiento.

Šan y Onay (2001), prueban la frecuencia de la recirculación de lixiviados diluidos (20%) sobre la estabilización de residuos sólidos, y obtienen los mejores resultados

en la estabilización de los residuos, concluyendo que la conversión de DQO a biogás fue de un 35% sin recirculación y de un 71% con recirculación.

Chan y Col. (2002), Observan que con la recirculación de los lixiviados la disminución del volumen de los residuos fue de un 40% mayor que en experimentos sin recirculación.

Sanphoti y col. (2006), experimentan con lixiviados sin diluir y diluidos, controlando el pH. Con una carga de $5 \text{ kg DQO m}^{-3}\text{d}^{-1}$ en términos de la tasa de producción de metano muestran que en el reactor con los lixiviados diluidos presenta un rendimiento ($1.56 \text{ LCH}_4\text{kg ST}^{-1}\text{d}^{-1}$), mientras que el reactor con recirculación sin diluir y en el reactor sin recirculación se obtienen $0.69 \text{ L*kg ST}^{-1}\text{d}^{-1}$ y $0.43 \text{ L*kg ST}^{-1}\text{d}^{-1}$, respectivamente.

Xiaofeng y col. (2014), Prueban distintas cantidades de recirculación de lixiviados y observan el comportamiento del pH y la producción de AGV en la etapa hidrolítica. Reportan que con una recirculación del 21 y 43% de lixiviados el pH desciende de 6.5 a 4.8 y 5.5 respectivamente, esto lo atribuyen a un aumento en la concentración de los AGV.

Ramírez y col. (2014), en un estudio con reactores de lecho escurrido por lote con tiempos de retención de 30 días, con y sin recirculación de lixiviado, reportan que con una recirculación del 10% del lixiviado, se aumenta la producción de AGV y de biogás.

Rodríguez, y col (2015), en un reactor hidrolítico-acidogénico de lecho escurrido en continuo con un tiempo de retención de sólidos de 27 días y recirculando un 20% de los lixiviados, observan un aumento en la velocidad de producción de los AGV y en la degradación de los sólidos volátiles de la FORSU en un 70%.

3. Justificación.

En el proceso de DA, la fase hidrolítica se ve limitada y es necesario mejorar el tiempo en el que se realiza, con la finalidad de optimizar el proceso de digestión anaerobia de la FORSU. Para ello se han aplicado diversos pretratamientos, siendo los enzimáticos los que han dado mejores resultados en la hidrólisis de la FORSU (Kiran y col., 2015). El pretratamiento enzimático de la FORSU tiene como ventajas el aumento de la transformación de la materia orgánica a elementos más fácilmente asimilables por los microorganismos y evitar la generación de malos olores producidos por la descomposición de los residuos (Monnet, 2003). La hidrólisis se lleva a cabo por exoenzimas excretadas por las bacterias fermentativas, que rompen los compuestos de alto peso molecular a compuestos más simples (Kim y col., 2011). Estas enzimas pueden ser celulasas, proteasas y lipasas, que proveen a los extractos enzimáticos muchos beneficios económicos y ambientales en el contexto de la industria de la biocatálisis (Sheldon, 2011). Por lo que es de gran importancia el estudio de los extractos enzimáticos, como BACTO-ZYME, para disminuir los tiempos de hidrólisis de los biopolímeros presentes en la FORSU, ya que hasta el momento se han llevado a cabo diversos estudios sobre la DA de la FORSU en dos etapas (Xu y col., 2011), pero los tiempos de destrucción de sólidos en la primera fase son muy largos (mayores a 20 días). Otra estrategia para mejorar la hidrólisis de la FORSU es la recirculación de los lixiviados generados, ya que se ha reportado que favorecen la compactación de la FORSU y aumentan la velocidad de hidrólisis (Zhang y col., 2007).

4. Hipótesis.

Ha: El pretratamiento enzimático con la recirculación de los lixiviados aumentará la velocidad de hidrólisis de la FORSU.

Ho: El pretratamiento enzimático con la recirculación de los lixiviados no causará efecto significativo sobre la velocidad de hidrólisis de la FORSU.

5. Objetivos.

5. 1. Objetivo General.

Evaluar el efecto de un extracto enzimático (BACTO-ZYME) en la hidrólisis de la FORSU a diferentes condiciones de recirculación de los lixiviados.

5.2. Objetivos particulares.

1. Evaluar el efecto de un extracto enzimático sobre la velocidad de hidrólisis de la FORSU, en reactores por lote sin recirculación de lixiviados.
2. Evaluar la velocidad de hidrólisis de la FORSU en reactores por lote, variando el volumen de lixiviación.
3. Comparar cada uno de los tratamientos respecto a cada uno de los parámetros para elegir el tratamiento que proporcione los mejores resultados.

6. Materiales y métodos.

6.1. Reactores por lote.

El estudio de las cinéticas por lote se llevó a cabo en columnas de vidrio de 200 mL como se muestra en la figura 3. El funcionamiento de estas columnas fue similar a los reactores de lecho escurrido descrito por Rodríguez y col. (2015).

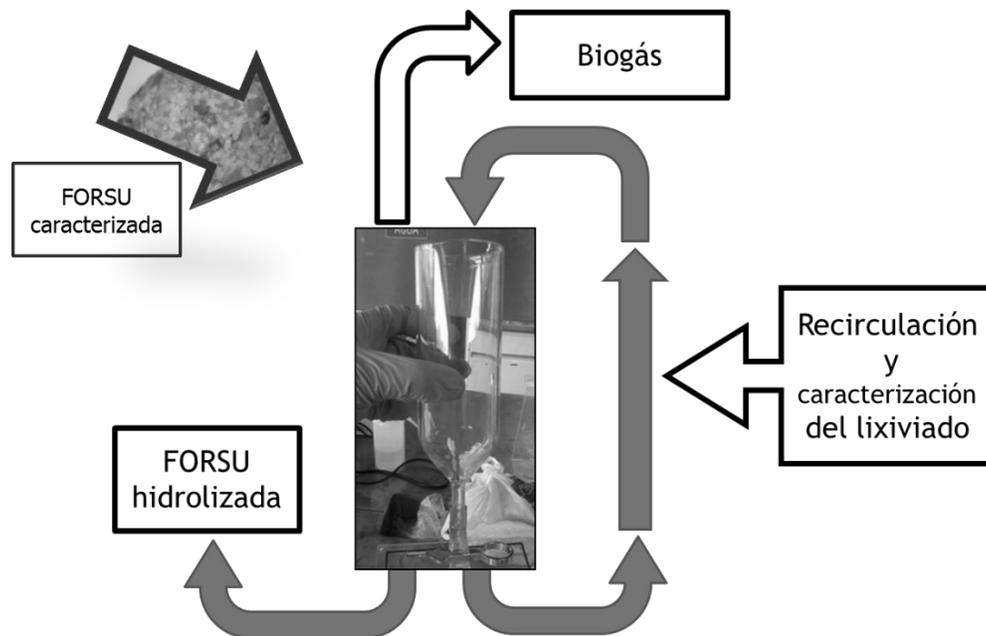


Figura 3. Diseño del reactor en lote.

6.2. Recolección de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos (FORSU).

La FORSU fue recolectada de la cafetería del campus universitario, en la cual se sirven desayunos y comida de lunes a viernes. Esto se realizó principalmente a la hora de la comida, donde se ofrece una mayor variedad de alimentos. Inmediato a esto se trasladó al laboratorio donde se trituró a un tamaño de partícula de 1-5 mm para iniciar con su caracterización.

6.3. Caracterización de la FORSU.

La FORSU colectada y triturada en un molino hasta un tamaño de partícula de 1-5 mm, fue utilizada para su caracterización, determinando los parámetros de pH, humedad, sólidos totales, fijos y volátiles, demanda química de oxígeno (DQO), grasas, fibra y ácidos grasos volátiles (AGV).

6.4. Cinéticas por lote.

Para llevar a cabo el estudio de la hidrólisis de la FORSU se empacaron las columnas de vidrio con 150 g de FORSU triturada y caracterizada. Las cinéticas se llevaron a cabo por duplicado usando dos columnas sin el extracto enzimático y dos columnas con 2.5 mL del extracto enzimático BACTOZYME por cada 150 g de FORSU (según las especificaciones del proveedor), en cada tiempo de muestreo. Las columnas fueron incubadas a 32 °C, durante 7 días, tomando en cuenta que en este tiempo se lleva a cabo principalmente la hidrólisis de los biopolímeros presentes en la FORSU y antes del comienzo de la degradación del material solubilizado que es de 10-15 días, como lo reportan estudios anteriores (Ramírez y col., 2014; Rodríguez y col., 2015). Los lixiviados producidos fueron recolectados diariamente para su cuantificación (Volumen producido, pH, de formación de compuestos solubles (representados como DQO) y AGV). El biosólido (digestato) restante en las columnas fue retirado para cuantificar las diferentes variables de respuesta (pH, sólidos, de formación de compuestos solubles (representados como DQO), grasas y fibra).

Se llevaron a cabo 4 experimentos con distintos regímenes de lixiviación como se ilustra en la tabla 4, cada experimento se hizo con distinto lote de FORSU. El objetivo de recircular el lixiviado fue para aumentar la actividad enzimática y lograr una mejor hidrólisis de la FORSU, como lo reportan varios autores.

Tabla 4. Recirculación de lixiviados.

Recirculación de lixiviado (%)	Agua del grifo (%)	
0	0	Sin recirculación (SR)
20	80	Recirculación 20% (CR20)
45	55	Recirculación 45 % (CR45)
100	0	Recirculación 100% (CR100)

Para calcular la velocidad de hidrólisis de cada uno de los parámetros determinados, se graficaron los datos obtenidos en cada cinética contra el tiempo y a partir de esto se obtuvieron las líneas de tendencia, las cuales representan la velocidad de hidrólisis.

6.5. Técnicas analíticas y equipos experimentales.

Las pruebas analíticas fueron realizadas conforme el Standard Methods (APHA, 2005) y AOAC (1990) y se resumen en la tabla 5:

Tabla 5. Técnicas analíticas empleadas para la caracterización y cuantificación de la FORSU, biosólido y lixiviados.

Parámetro	Biosólido	Lixiviado
Grasas	Extracción etérea	ND
DQO	Reflujo cerrado	Reflujo cerrado
ST, SF,SV	Gravimetría	Gravimetría
Fibra*	Método de hidrólisis ácida y alcalina	ND
AGV	Cromatografía de gases con FID	Cromatografía de gases con FID
p H	Potenciometría	Potenciometría

(APHA, 2005; *AOAC, 1990)

La figura 4 resume el diseño experimental llevado a cabo para cada una de las cinéticas.



Figura 4. Diseño experimental para el pretratamiento enzimático de la FORSU.

6.6. Análisis estadístico.

Se realizaron los cálculos de las medias, desviaciones estándar y el análisis estadístico utilizando el programa SPSS. El análisis de los experimentos reportados en este trabajo corresponden a un diseño completamente al azar con arreglo factorial, por lo tanto, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) con dos factores, el primero de ellos fue la adición del extracto enzimático y el segundo, el porcentaje de la recirculación; así como las pruebas de comparación múltiple de medias por el método de Tukey. El análisis estadístico de los parámetros, se dividió en tres partes:

- a) La obtención de los estadísticos descriptivos
- b) La ANOVA de los dos factores
- c) La comparación múltiple de medias por el método de Tukey.

El primer factor cuenta con dos niveles: presencia o ausencia de extracto enzimático y el segundo con cuatro niveles: 0, 20, 45 y 100% de recirculación. Con las combinaciones de los dos niveles de extracto enzimático (presencia o ausencia) y de los cuatro niveles de recirculación se crearon 8 tratamientos distintos los cuales se definen en la siguiente tabla:

Tabla 6. Diseño estadístico de los experimentos.

Combinaciones	SR Ee	CR20 Ee	CR45 Ee	CR100 Ee	SR T	CR20 T	CR45 T	CR100 T
Extracto enzimático	SI	SI	SI	SI	NO	NO	NO	NO
Recirculación (%)	0	20	45	100	0	20	45	100

Se realizaron dos repeticiones para cada tratamiento. Las variables de respuesta analizadas en la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos (FORSU) fueron:

- Velocidad de hidrólisis de sólidos volátiles
- Velocidad de hidrólisis de DQO
- Velocidad de hidrólisis de fibra
- Velocidad de hidrólisis de grasa

Las variables de respuestas analizadas en la fracción líquida (lixiviados) fueron:

- Volumen de producción de lixiviados ($L d^{-1}$).
- Velocidad de producción de DQO soluble.
- Velocidad de producción de AGV

7. Resultados y Discusión.

7.1. Caracterización de la FORSU.

La tabla 7, muestra los resultados de la caracterización de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos. Es importante resaltar que esta caracterización se realizó con diferentes lotes que corresponden a 6 muestras obtenidas al inicio de cada experimento, dado que para los estudios se utilizó la FORSU de los residuos orgánicos de la cafetería de la UAM-I.

Tabla 7. Caracterización de la FORSU (n = 6).

Parámetros	Unidades	Valores
pH		5.5 ±0.4
Densidad	gcm ⁻³	1.32±0.13
Humedad	%	79±9
Sólidos totales (ST)	gKg ⁻¹	210±16
Sólidos volátiles (SV)	gKg ⁻¹	182±16
DQO	g gST ⁻¹	0.6±0.17
Grasa	gKg ⁻¹	270±14
Fibra	gKg ⁻¹	80±1.6

Se observa que los valores de pH, ST y DQO son similares a los reportados por Rodríguez y col. (2015) quienes trabajaron también FORSU de la cafetería de la UAM-I. Uno de los parámetros más importantes para el desarrollo de la DA en medio sólido es la humedad, en este estudio la humedad fue mayor al 75% considerándose una humedad alta, valor similar a lo reportado por Hernández y col. (2008) quienes mencionan que valores superiores al 70% de humedad favorecen el desarrollo de la DA de la FORSU. Dong y col. (2010) realizaron la caracterización de la FORSU y obtuvieron datos semejantes a los de este estudio: densidad 0.933 gL⁻¹, pH 5.3 y ST 184 gkg⁻¹; las principales diferencias con estos autores es que el contenido de grasa y fibra en sus muestras fueron de 17 g kg⁻¹ y 12 g kg⁻¹ mostrando que para

este estudio la cantidad de grasa es mayor al 25% y la fibra mayor al 8%, y estos dos parámetros al incrementarse afectan de manera importante la hidrólisis de la FORSU. Khalid y col. (2011) mencionan que los factores que afectan en mayor grado el desarrollo de la DA son: la temperatura, que debe estar entre 30-35 °C; la humedad que debe ser mayor al 80%; y el rango de pH debe estar entre 5.5- 6.5, por lo que los valores obtenidos en la caracterización inicial de la FORSU son favorables para la etapa hidrolítica.

7.2. FORSU (fracción sólida)

7.2.1. Perfil de pH en la hidrólisis de la FORSU en los distintos tratamientos.

La figura 5, muestra el comportamiento del pH respecto al tiempo de cada uno de los tratamientos. El pH inicial se encontró en valores cercanos a 6, sin embargo al final de los 7 días de la cinética este disminuyó a valores entre 4 y 5, evidenciando la hidrólisis de los polímeros presentes en la FORSU, estadísticamente no existieron diferencias significativas en este parámetro ($p > 0.01$). Jiang y col. (2013) afirman que el pH óptimo para que se lleve a cabo la hidrólisis debe estar entre 5.5 y 6.5, por lo tanto para las cinéticas realizadas el pH siempre se encontró en el rango adecuado. Durante la hidrólisis de los residuos sólidos, Lu y col. (2007) encontraron que el pH desciende de 6.7 a 4.2 en condiciones mesofílicas con una FORSU similar a la utilizada en este trabajo. Otros autores han reportado que condiciones ligeramente ácidas son óptimas para el buen desarrollo de la hidrólisis. Los microorganismos tienen regiones óptimas de pH y frecuentemente una mínima variación puede inhibir su actividad. La razón podría ser una disminución en la capacidad fermentativa de las bacterias acidogénicas, lo que favorece la actividad de las exoenzimas para la hidrólisis.

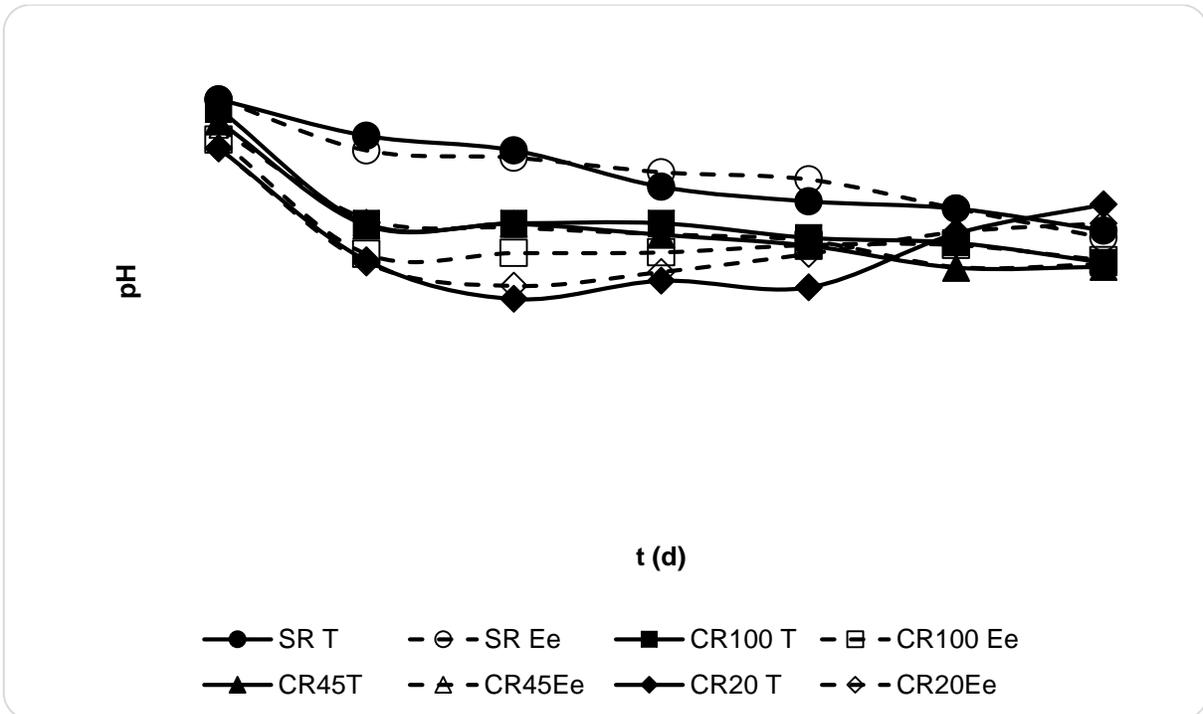


Figura 5. Perfil de pH respecto al tiempo de la hidrólisis en cada uno de los tratamientos.

7.2.2. Hidrólisis de sólidos volátiles.

Para calcular la velocidad de hidrólisis de cada uno de los parámetros determinados, se graficaron los datos obtenidos en cada cinética contra el tiempo y a partir de esto se obtuvieron las líneas de tendencia, las cuales representan la velocidad de hidrólisis.

La figura 6 presenta el perfil de la hidrólisis de los SV, en cada uno de los tratamientos. La variabilidad en la concentración inicial de los SV ($\text{g SV} \cdot \text{g ST}^{-1}$), se debe a que cada uno de los tratamientos estudiados se hicieron con distintos lotes de FORSU y como queda demostrado en la caracterización, la cantidad de los SV presentes en la FORSU depende de los alimentos procesados en la cafetería. Se puede observar que después de 7 días de incubación, los SV en los tratamientos

con y sin extracto enzimático presentan un comportamiento similar, el cual no da lugar a diferencias significativas.

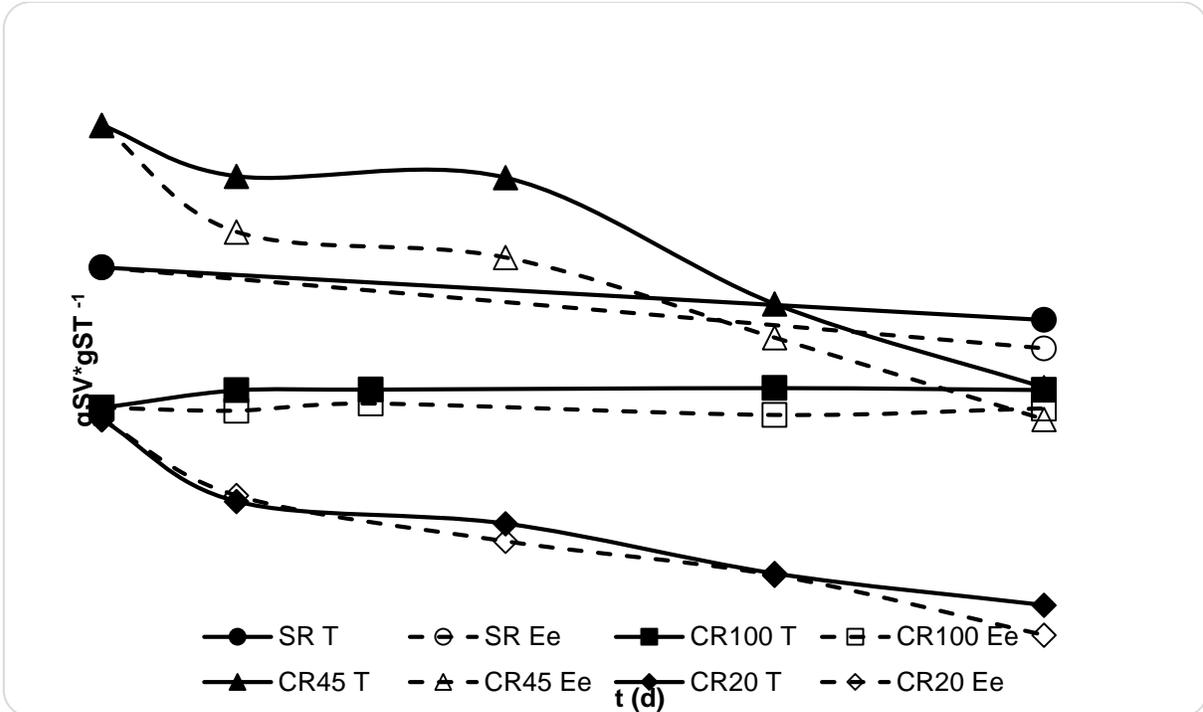


Figura 6. Perfil de la hidrólisis de los SV respecto al tiempo en cada uno de los tratamientos.

La figura 6 muestra las velocidades de hidrólisis de los SV para cada uno de los tratamientos, que fueron calculadas a partir de las pendientes obtenidas en los perfiles de degradación. Se puede observar en primera instancia que las diferencias en los valores iniciales se deben a que en cada cinética se utilizó un lote distinto, cuya composición depende de los alimentos preparados ese día en la cafetería. La mayoría de los tratamientos aplicados se obtuvieron diferencias menores al 20%, al agregar el Ee al compararse con el testigo, se observa que la remoción de grasa en CR100 fue cero. Sin embargo, al trabajar con una recirculación del 20% se observó una diferencia del 85 % entre el testigo y el tratamiento con el Ee. Kim y col. (2006) tratando la FORSU con un extracto enzimático comercial obtuvieron una hidrólisis

de los SV del 32% al compararla con la del testigo, sin embargo tuvieron una menor hidrólisis de los SV que lo obtenido en este trabajo.

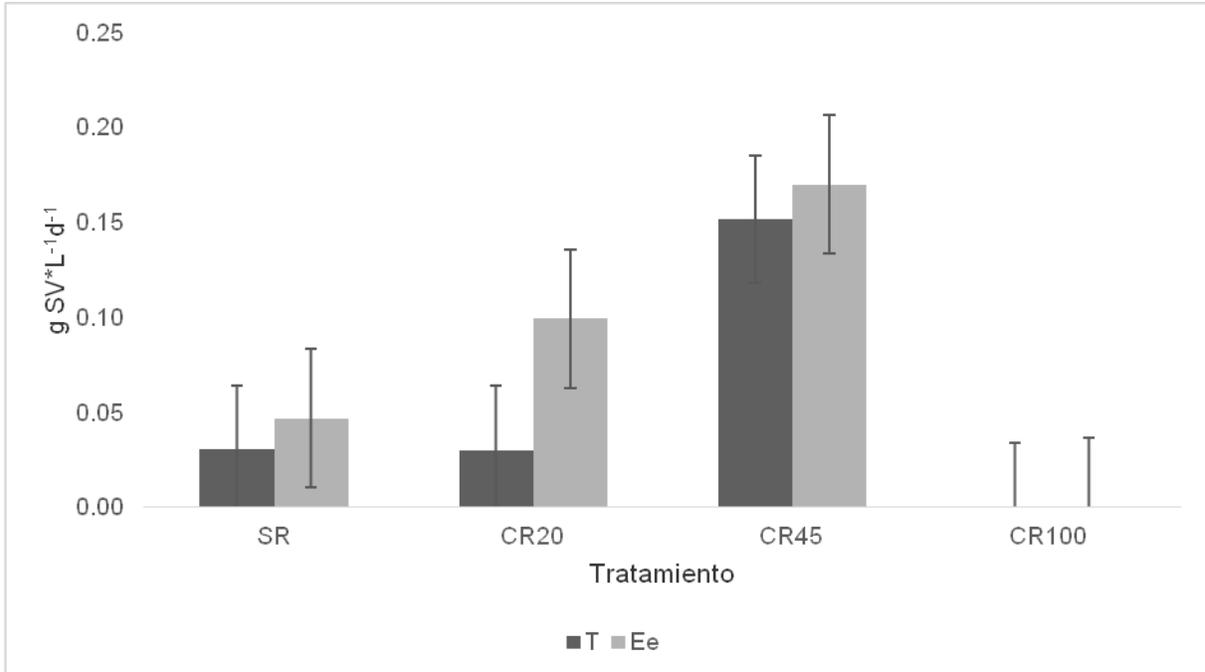


Figura 7. Velocidad de hidrólisis de los SV en cada uno de los tratamientos.

La disminución del volumen de los residuos muestra un perfil similar a la hidrólisis de los sólidos. Jha y col. (2011) presentan como una de las ventajas sobresalientes de la DA, que el volumen de los residuos pueda disminuirse. Rintala y Ahring(1994) junto con Kiran y col. (2015) afirman que la adición de enzimas a los residuos mejora el desarrollo del proceso hidrolítico lo que repercute en una mayor disminución del volumen de los residuos. Chan y col. (2002) observan que con la recirculación de los lixiviados, se mejora el asentamiento de los residuos, lo que repercute en una disminución del volumen que ocupan.

7.2.3. Perfil de formación de compuestos solubles (representados como DQO) en la FORSU.

La figura 8 presenta el perfil de formación de compuestos solubles (representados como DQO) en los sólidos a lo largo del tiempo en cada uno de los tratamientos, pudiéndose observar que los valores iniciales son distintos debido a que se realizaron a partir de diferentes lotes de FORSU y que no existieron diferencias considerables entre los tratamientos con y sin extracto enzimático.

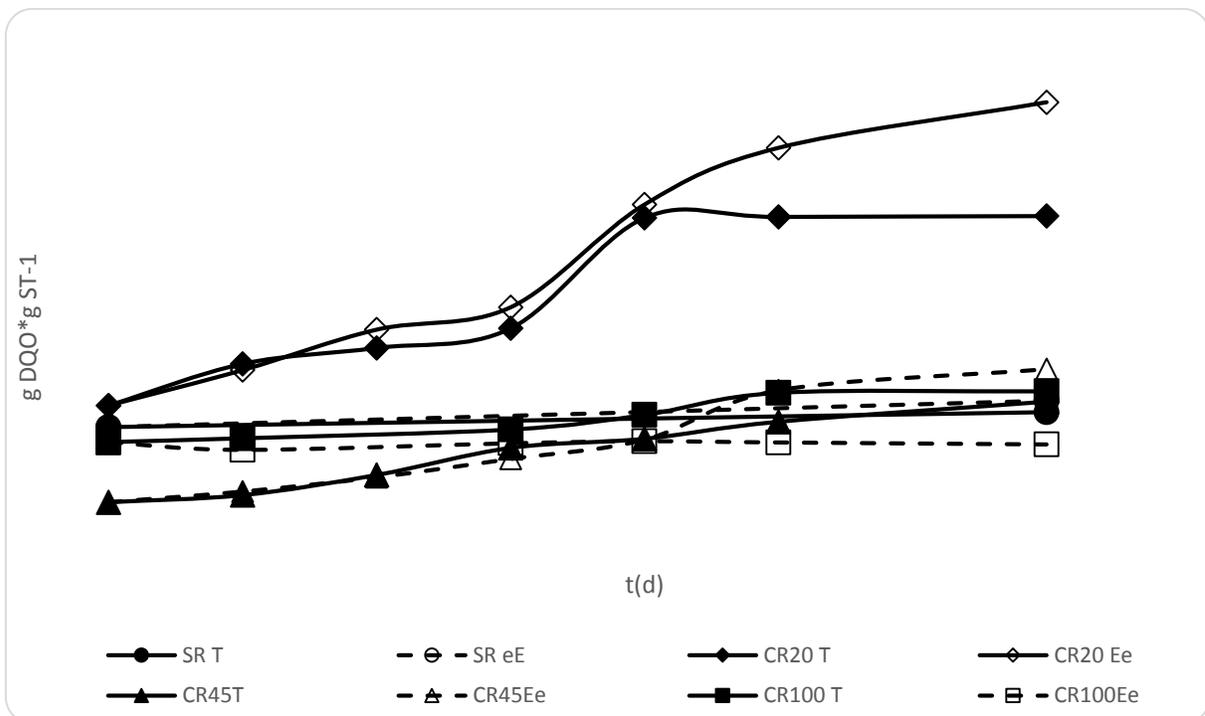


Figura 8. Perfil de formación de compuestos solubles (representados como DQO) en la FORSU en cada uno de los Tratamientos.

En la figura 9 se muestran las velocidades de formación de compuestos solubles (representados como DQO) (calculada de la misma forma que para los SV) en los distintos tratamientos. Se observa que el único tratamiento con diferencia significativa es el tratamiento con una recirculación del 20%, y agregando Ee, ya

que la velocidad de formación de compuestos solubles (representados como DQO) se incrementó en un 36% con respecto al tratamiento testigo. Resultado que confirma que al recircular el 20% del lixiviado se mejora la hidrólisis de la FORSU, como lo reportan algunos autores (He y col., 2005; Ramírez y col., 2014; Rodríguez y col., 2015).

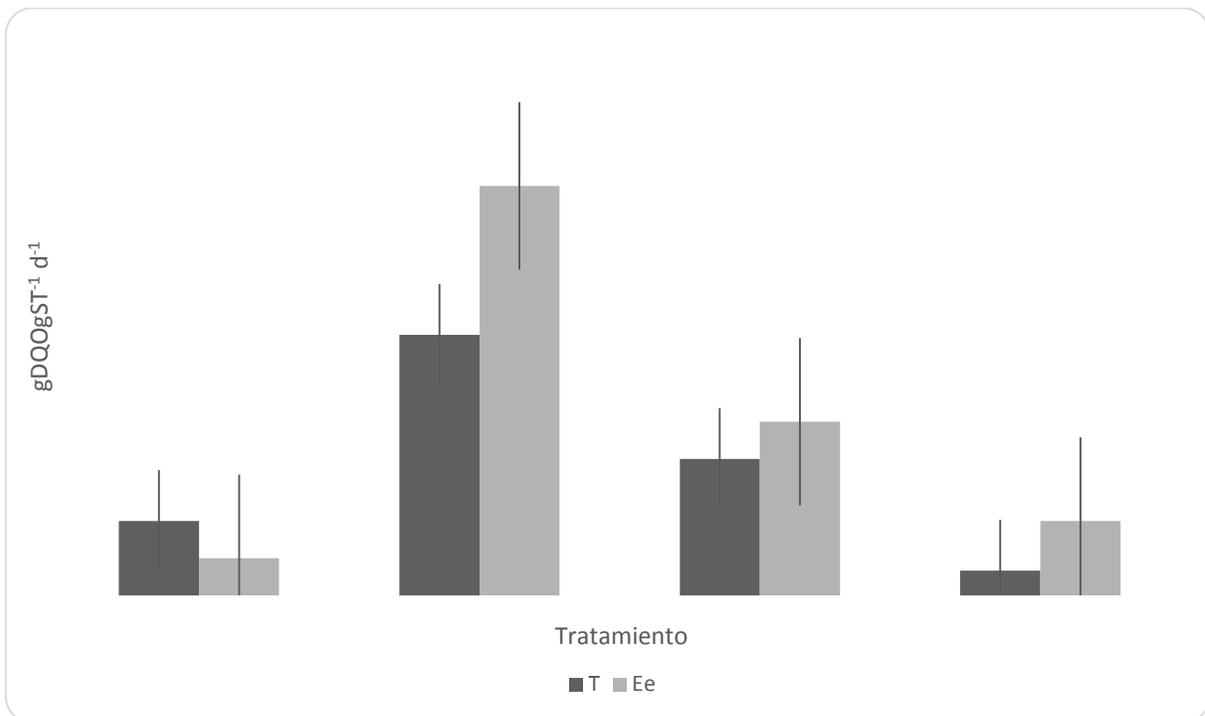


Figura 9. Velocidad de formación de compuestos solubles (representados como DQO) en la FORSU en cada uno de los tratamientos

Kim y col. (2011) mencionan que la recirculación de líquidos a través de la FORSU permite una mayor liberación de materia orgánica biodegradable, lo que se refleja en los valores de formación de compuestos solubles (representados como DQO) tanto en la materia sólida como en los lixiviados obtenidos durante el proceso.

7.2.4. Hidrólisis de la fibra.

La figura 10 muestra la hidrólisis de la fibra a través del tiempo en cada uno de los tratamientos, El contenido de fibra en cada uno de los tratamientos se debe a la composición de los alimentos preparados en la cafetería. Se observa que no existen diferencias considerables entre los valores iniciales y los obtenidos al final de cada tratamiento y con la adición o no de extracto enzimático.

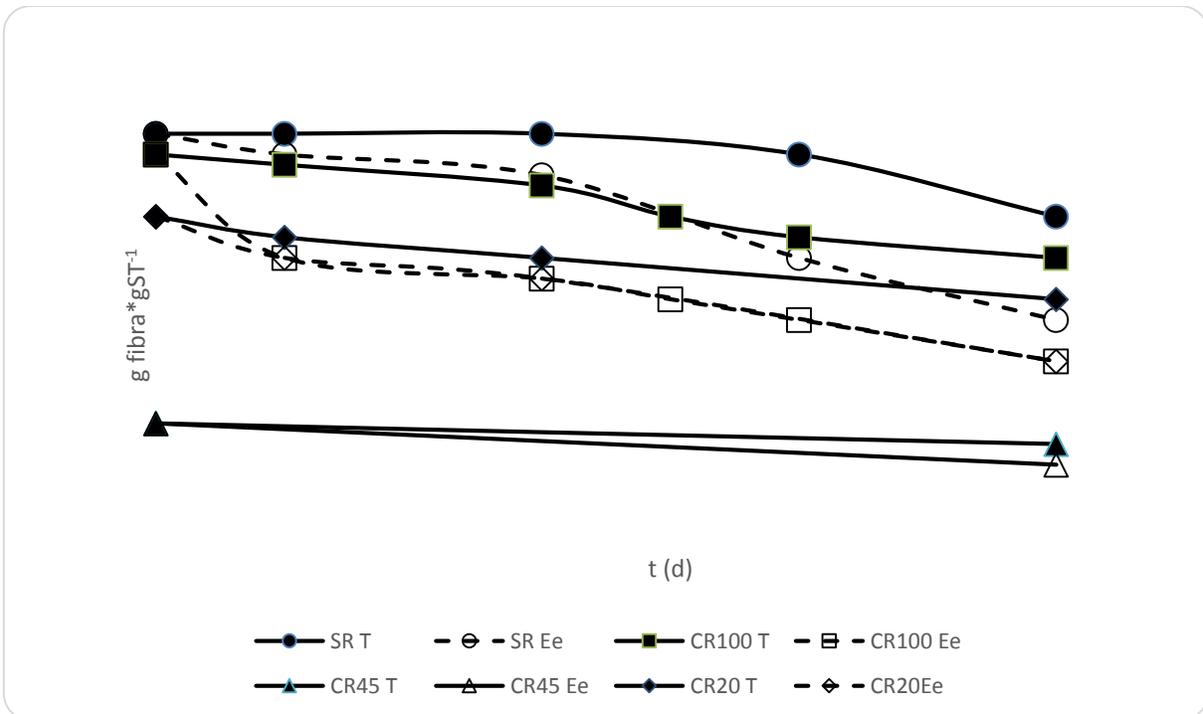


Figura 10. Perfil de la hidrólisis de la fibra en cada uno de los tratamientos a través del tiempo.

La figura 11 muestra las velocidades de hidrólisis de la fibra en los distintos tratamientos. El comportamiento que se observa es que la velocidad de hidrólisis es mayor en los tratamientos con Ee, siendo el mejor tratamiento con un 20% de recirculación de lixiviado, con una velocidad 2 veces mayor que la del testigo. Las ventajas de la recirculación de los lixiviados tienen que ver con la distribución de los nutrientes y enzimas, control del pH, dilución de los compuestos inhibidores, reciclado y redistribución de los microorganismos (Bilgili y col. 2007). Xiaofeng y col. (2014) mencionan que cuando el lixiviado se recircula en exceso (más del 50 %),

se promueve la etapa acidogénica de la FORSU y que con recirculaciones del 21 al 43% mejoran la etapa hidrolítica de la FORSU. Rodríguez, y col (2015), recirculando un 20% de los lixiviados, lograron un 70% de degradación de los sólidos volátiles de la FORSU en un tiempo mayor a 20 días.

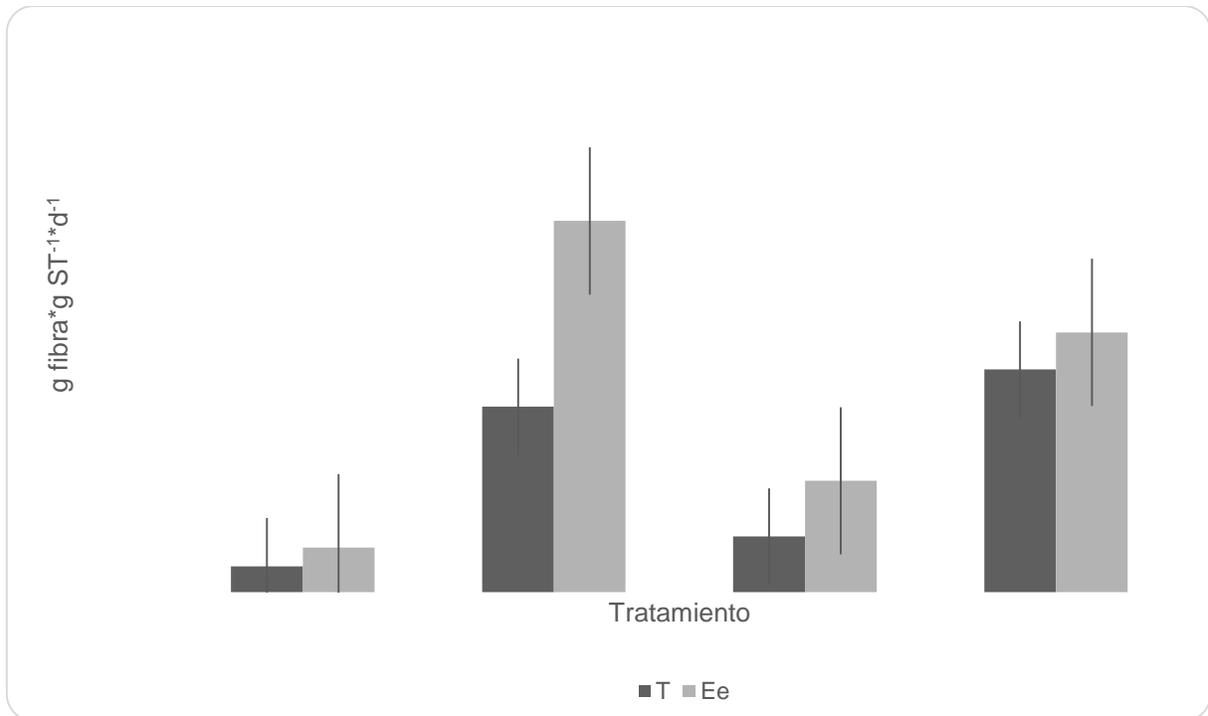


Figura 11. Velocidades de hidrolisis de la fibra en cada uno de los tratamientos.

7.2.5. Hidrólisis de la grasa.

El contenido de grasa en la FORSU de la cafetería presentó valores altos ($\geq 27\%$), lo que significa que es necesario hidrolizarla para que se lleve a cabo adecuadamente la DA, ya que puede ser un inhibidor. La figura 12 muestra el perfil de la hidrólisis de la grasa en los diferentes tratamientos.

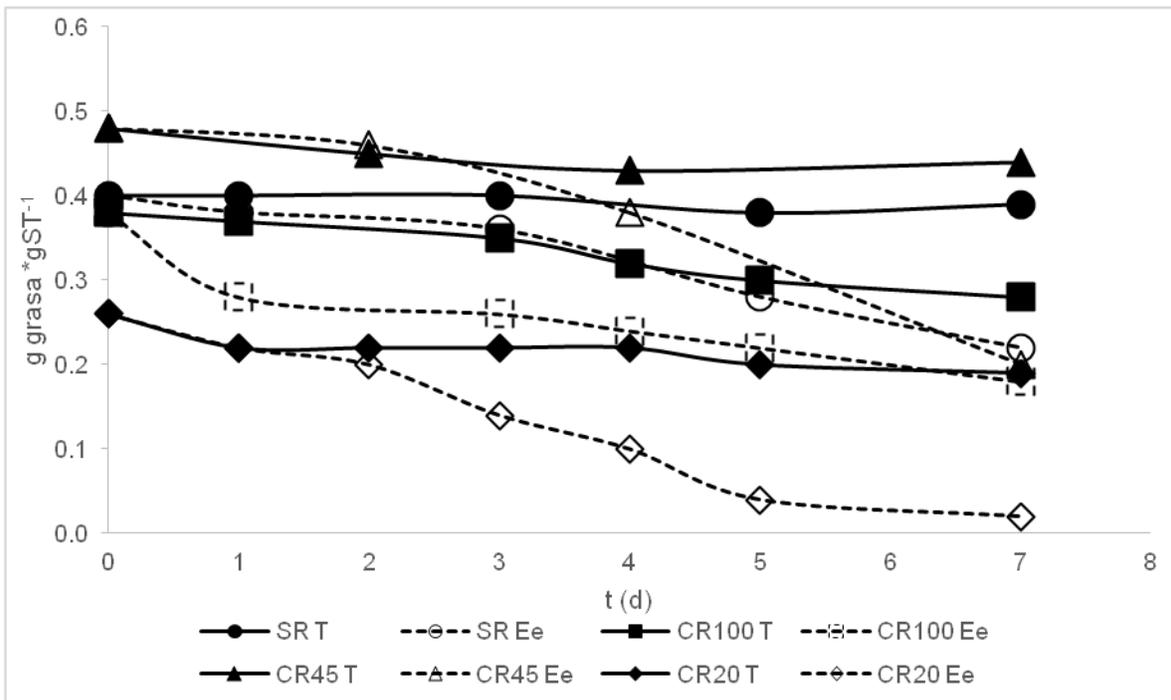


Figura 12. Perfil de la hidrólisis de la grasa respecto al tiempo en cada uno de los tratamientos.

Se puede observar que después de 7 días de incubación, los lotes con Ee agregado muestran una mayor hidrólisis de este parámetro. Para representar de una mejor manera la hidrólisis de este parámetro, se calcularon las líneas de tendencia que representan las velocidades de hidrólisis en cada uno de los tratamientos.

La figura 13 muestra las velocidades de hidrólisis obtenidas en los distintos tratamientos. Se observa que al adicionar el extracto enzimático se favorece la

hidrólisis de las grasas, ya que las velocidades en los distintos tratamientos son mayores que la de los testigos. Sin embargo, la influencia de la recirculación es menos significativa ($p < 0.01$) ya que la diferencia en la velocidad de hidrólisis del tratamiento sin recirculación (SR) comparado con el testigo es del 96 %. Cabe aclarar que el objetivo de recircular distintos volúmenes de lixiviado fue porque en el tratamiento SR se observó la presencia de una nata de grasa en el lixiviado, sugiriendo un arrastre de la grasa presente en la FORSU sin que se hubiera hidrolizado, sin embargo al recircular el 100% del lixiviado también se regresaba la grasa que pudiera haber en él y el resultado fue una velocidad de hidrólisis 2 veces mayor en el tratamiento con el extracto enzimático comparado con el testigo, lo que confirma la acción hidrolítica del extracto enzimático sobre la grasa. Cirne y col. (2007), Palatsi y col. (2009) mencionan que la abundancia de grasa en la FORSU representa problemas operacionales en el proceso de la digestión anaerobia, por lo que es importante establecer procesos que permitan su degradación y la adición de extractos enzimáticos son una buena alternativa.

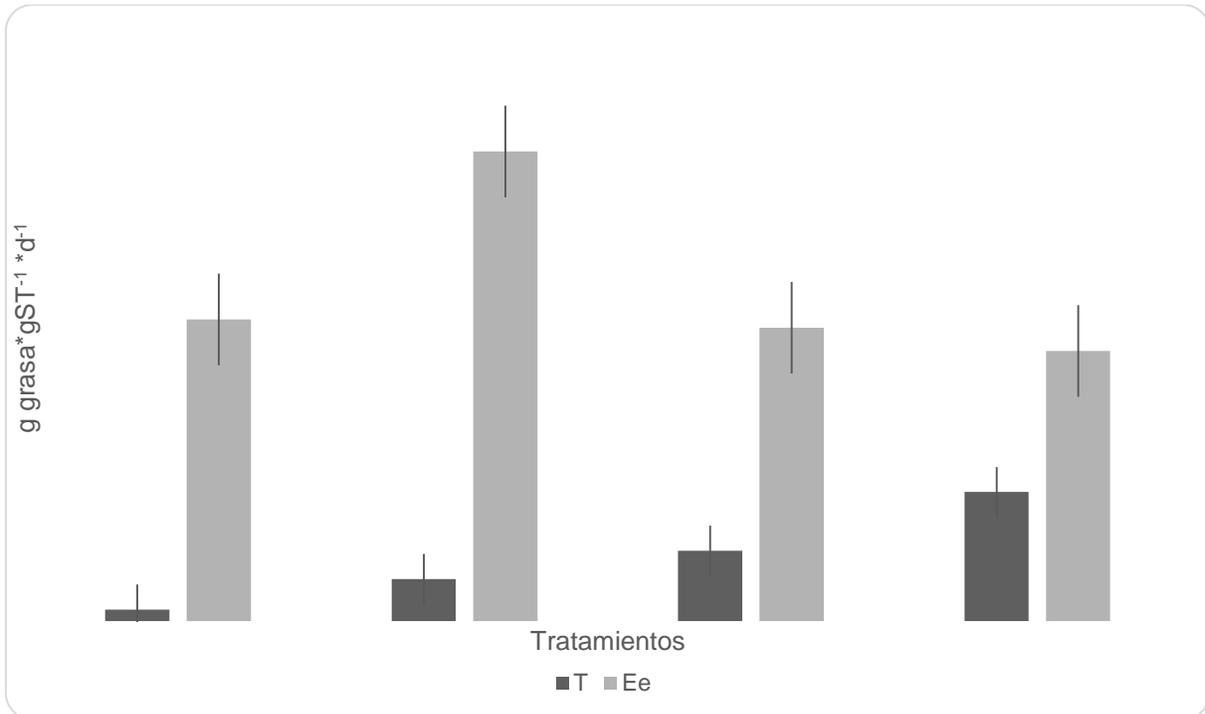


Figura 13. Velocidad de hidrólisis de la grasa en cada uno de los tratamientos.

7.3. Lixiviados.

Francois y col. (2007) refieren que el seguimiento de los parámetros en los lixiviados producidos de la FORSU coadyuva a la interpretación del proceso de la DA. En este caso el aumento en la formación de compuestos solubles (representados como DQO) se debe a que está en curso la etapa hidrolítica de los residuos. El pH de los lixiviados generados no presentan cambios significativos (3.8 -4.1) debido al tiempo de degradación de los residuos es muy corto (7 días) y sólo se está estudiando la etapa hidrolítica. La mayoría de los trabajos reportan una disminución en el pH y aumento considerable de los AGV en los lixiviados a partir del día 10 de degradación (Ramírez y col., 2014; Rodríguez y col., 2015).

7.3.1. Volumen acumulado de lixiviados.

La evaluación del volumen de lixiviado producido es un indicador del grado de hidrólisis de la fracción orgánica de los residuos.

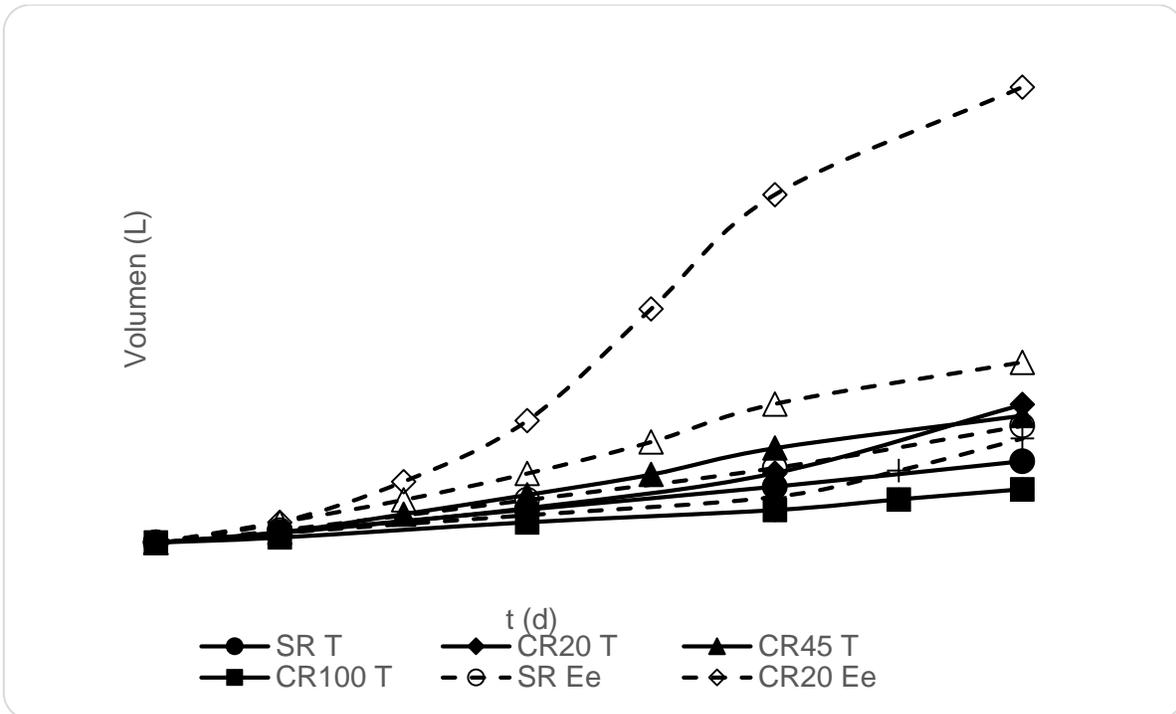


Figura 14. Perfil de lixiviados acumulados a través del tiempo en cada uno de los tratamientos.

Se observó que este parámetro se incrementó con el tiempo en todos los tratamientos (ver figura 14). Se observa que en el tratamiento CR20 con el extracto enzimático, se produjo la mayor cantidad de lixiviado (≥ 1 L) que fue 100% mayor al del testigo, confirmando una mayor hidrólisis de la FORSU en este tratamiento. Chan y col. (2002) en experimentos realizados en columnas con y sin recirculación, observan que la producción de lixiviados en columnas con recirculación se incrementa hasta en un 400% más respecto a columnas sin recirculación, debido a una mayor hidrólisis de la FORSU. La figura 15 muestra las velocidades de producción de lixiviados en cada uno de los tratamientos pudiéndose observar que la velocidad de producción de lixiviados fue mucho mayor en el tratamiento CR20 y que los demás tratamientos tienen comportamientos muy parecidos.

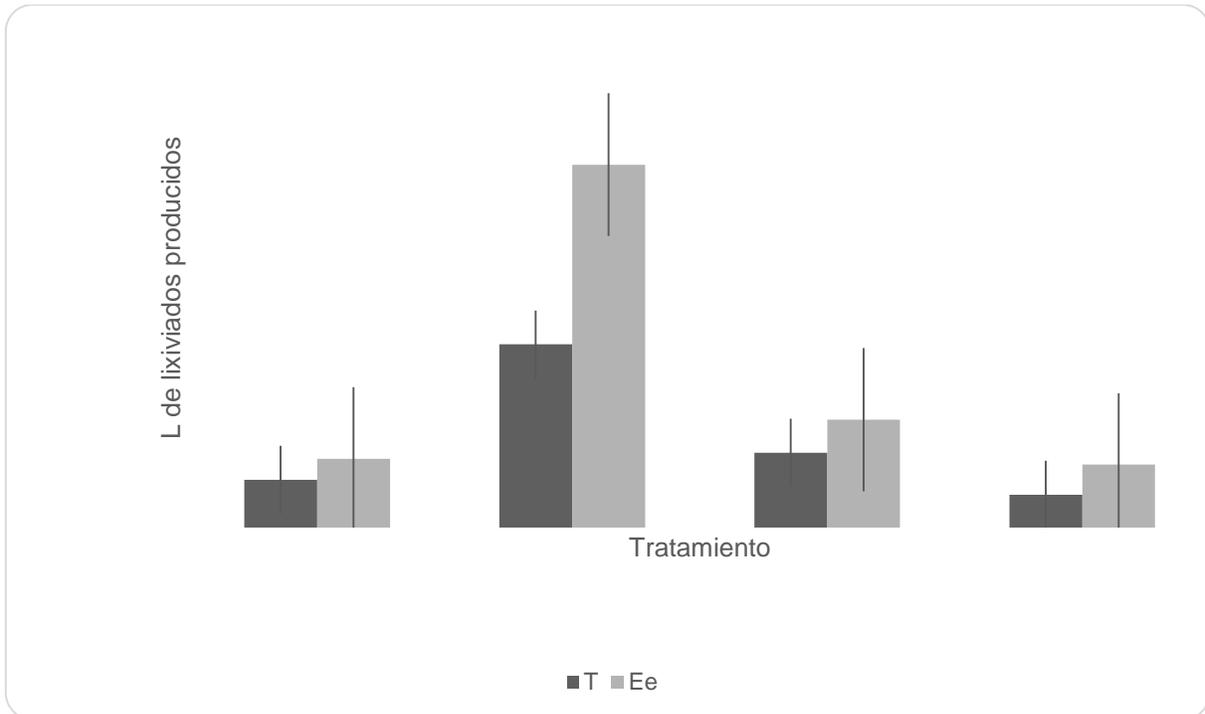


Figura 15. Velocidad de producción de lixiviados en cada uno de los tratamientos.

7.3.2. Velocidad de compuestos solubles (representados como DQO) en los lixiviados.

La figura 16 muestra la velocidad de compuestos solubles (representados como DQO) en los lixiviados producidos, pudiéndose observar que aumento con el tiempo y que en general la diferencia entre los tratamientos con y sin enzima agregada es menor que la diferencia registrada entre el tratamiento CR20 con y sin enzima, la diferencia entre ambos tratamientos es de casi un 60%.

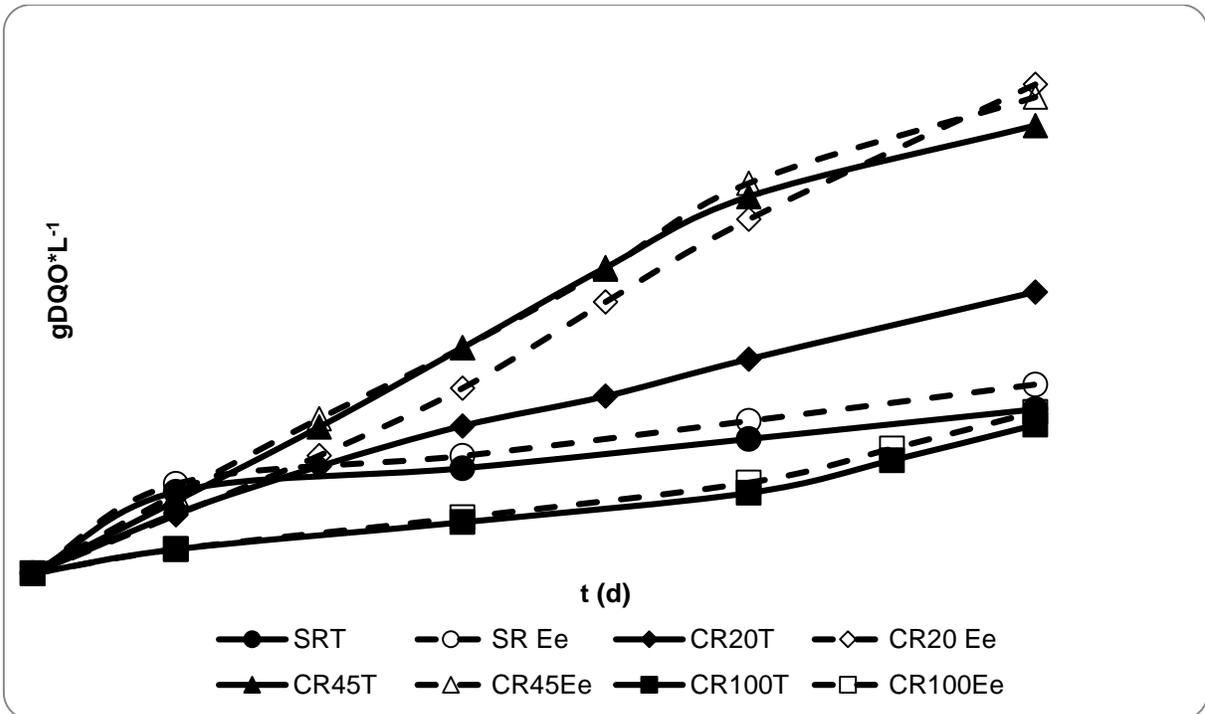


Figura 16. Perfil de formación de compuestos solubles (representados como DQO) en los lixiviados a través del tiempo.

La figura 17 muestra la velocidad de formación de compuestos solubles (representados como DQO). El tratamiento CR20 presenta la mayor velocidad, observándose que en el tratamiento con enzima es 2 veces mayor que el testigo.

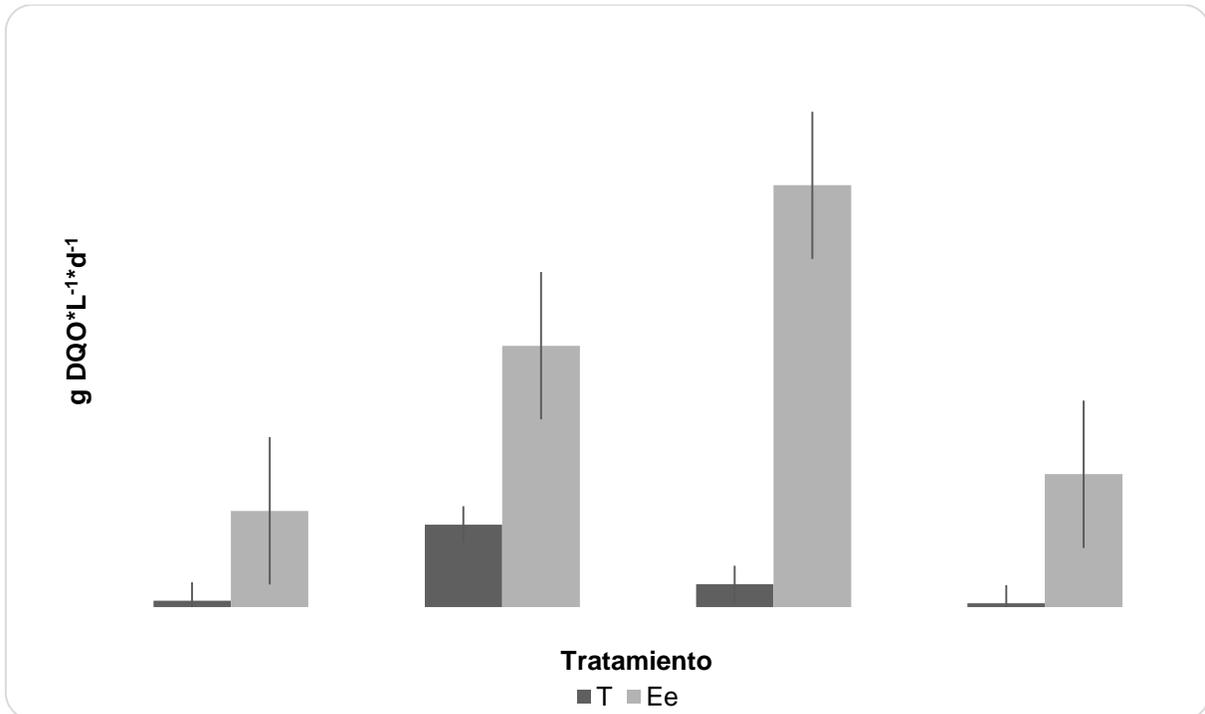


Figura 17. Velocidad de compuestos solubles (representados como DQO) en lixiviados.

La velocidad de formación de compuestos solubles (representados como DQO) en lixiviados permite distinguir las fases de la degradación de los residuos. Durante la etapa hidrolítica, la degradación de los carbohidratos tiene que ver con una gran producción de compuestos de cadena corta (como los AGV acético) lo que produce en una DQO alta (Francois y col. 2007). Hernández y col. (2008) mencionan que en las etapas iniciales de la DA, se generan AGV, los cuales son los principales responsables de los altos niveles de la DQO y al mismo tiempo de la baja del pH en los lixiviados. Xiaofeng y col. (2014) observan valores semejantes a los obtenidos en este estudio en lo que respecta a la DQO, argumentando que el aumento en la DQO se debe a la acumulación de diversas sustancias producidas a partir de los polímeros de carbohidratos, proteínas y grasas presentes en la FORSU.

7.3.3. AGV acumulados en los lixiviados producidos.

La figura 18 presenta los AGV acumulados a lo largo del tiempo, no existen diferencias importantes entre los tratamientos con y sin enzima, a excepción del tratamiento CR20 ya que la diferencia entre ambos es de más del 5 % y la producción en CR20 Ee es mucho mayor que en todos los demás tratamientos.

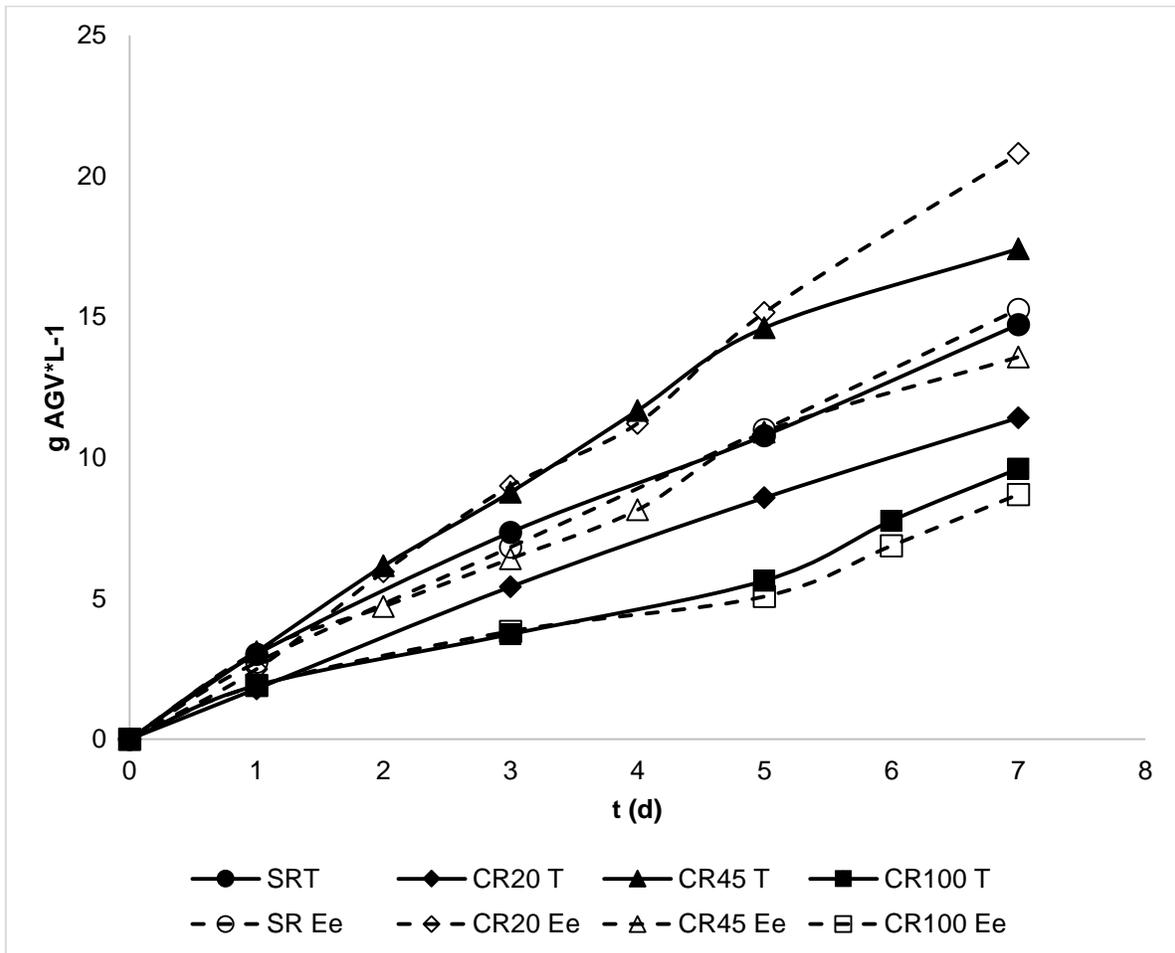


Figura 18. Perfil de producción de los AGV en los lixiviados a través del tiempo.

Como puede observarse en la figura 19, la producción de AGV en los distintos tratamientos es muy parecido debido al periodo de tiempo en el que se realizaron los experimentos. Hernández y col. (2008) en sus experimentos realizados con

recirculación de lixiviados, observan que los parámetros que mayor influencia en la etapa hidrolítica son la DQO soluble, los SV y ST, pero no los AGV.

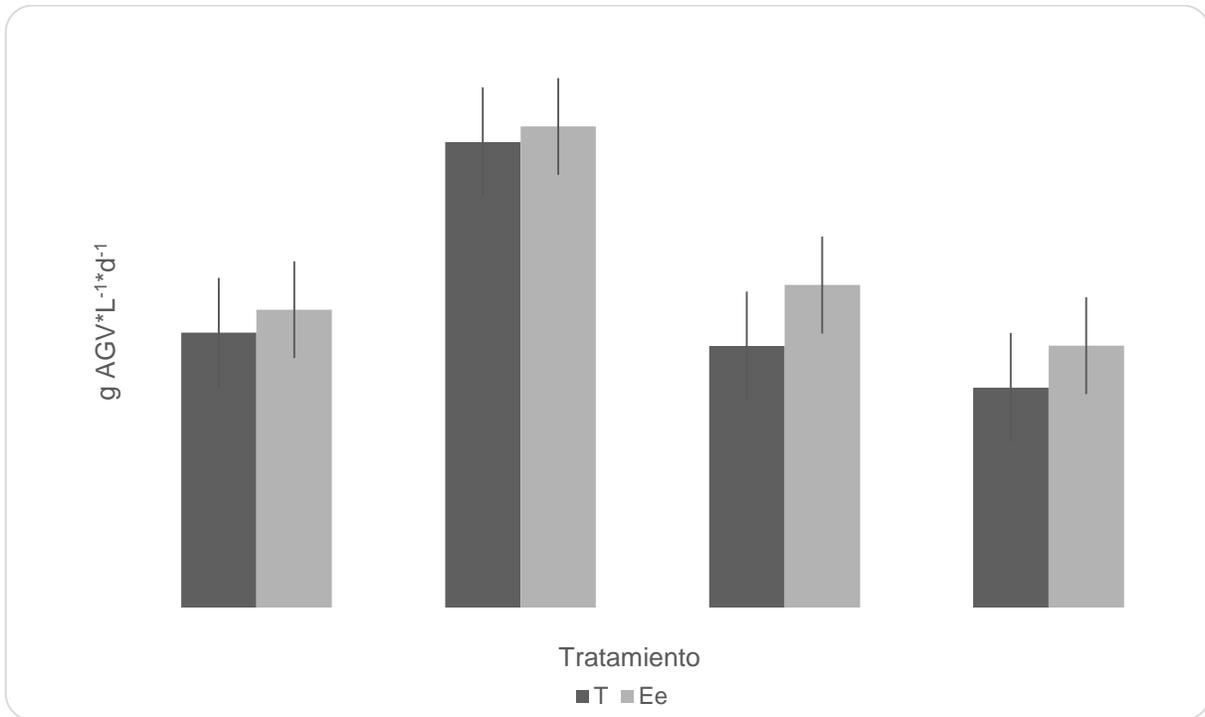


Figura 19. Velocidad de producción de AGV en lixiviados.

Capítulo 8. Análisis estadístico.

8.1. FORSU (fracción sólida).

La medición de los distintos parámetros en cada uno de los experimentos con y sin recirculación de lixiviados y con y sin adición de enzimas, se analizaron estadísticamente con una $P < 0.05$. A partir de ello se ha podido observar el comportamiento de los parámetros de velocidad de formación de compuestos solubles (representados como DQO) en la FORSU, velocidad de hidrólisis de fibra, velocidad de hidrólisis de la grasa y velocidad de hidrólisis de sólidos volátiles y en los lixiviados producidos.

El análisis estadístico de la velocidad de hidrólisis de sólidos volátiles muestra que tanto la recirculación de lixiviados como la adición de enzimas no muestran un efecto significativo sobre la velocidad de hidrólisis de los sólidos volátiles.

Respecto a la velocidad de formación de compuestos solubles (representados como DQO) en la FORSU, al realizarse el análisis de varianza con dos factores, puede observarse que tanto los factores principales (Presencia de extracto y Recirculación) como la interacción entre ellos, tiene un efecto significativo sobre velocidad de formación de compuestos solubles (representados como DQO). Para saber cuál fue el mejor tratamiento se realizó el análisis de varianza para evaluar las diferencias entre los 8 tratamientos y posteriormente un análisis de comparación múltiple de medias por el método de Tukey. Según los análisis anteriores, se observa que en el tratamiento que existe un mayor efecto sobre la velocidad de formación de compuestos solubles (representados como DQO) es CR20, por consiguiente si lo que se busca es aumentar la velocidad de formación de compuestos solubles (representados como DQO), lo ideal es usar el tratamiento B, es decir, aplicar el extracto enzimático y un 20% de recirculación.

En la velocidad de hidrólisis de la fibra el análisis estadístico y el análisis de varianza muestran que ninguno de los factores tiene efecto sobre la velocidad de hidrólisis de la fibra (en todos los casos el valor de p es igual o mayor a 0.05), por lo tanto, da igual usar enzima o no, o aplicar recirculación o no, la velocidad de hidrólisis no se modifica: este resultado se corroboró al realizar el análisis de Tukey. El cual muestra

que sólo se formó un solo grupo con todos los tratamientos, lo que demuestra que no existe diferencia significativa entre cada uno y en la adición o no del Ee.

Respecto a la hidrólisis de la grasa se observa que la presencia o ausencia de extracto enzimático no tiene efecto sobre la velocidad de hidrólisis de la grasa, pero tanto el porcentaje de recirculación como la interacción entre ambos factores sí afectan dicho parámetro. Pero para elegir el mejor tratamiento se realizó el análisis de Tukey, el cual muestra que la mejor combinación entre los factores fue el tratamiento de aplicar el extracto enzimático y usar un 20% de recirculación (CR20). Estos resultados coinciden con lo que se encontró para la velocidad de producción de DQO soluble, en donde este tratamiento también resultó ser el mejor (CR20).

8.2. LIXIVIADOS.

Los parámetros que se midieron en los lixiviados fueron la velocidad de producción de AGV, de compuestos solubles (representados como DQO) y de volumen obtenido. De la misma forma que en la fracción sólida, se realizó el análisis estadístico, la prueba de ANOVA y la prueba de Tukey, para determinar cuál es el mejor tratamiento.

En la velocidad de producción de compuestos solubles (representados como DQO) a partir del análisis estadístico y de la prueba de ANOVA se observó que esta variable es afectada por los dos factores principales (presencia de extracto enzimático y recirculación) por la interacción entre ellos. La prueba de Tukey mostró que todos los tratamientos dan lugar a velocidades significativamente distintas, sin embargo si lo que se busca es la mayor velocidad, el mejor tratamiento nuevamente es CR20 Ee (Con enzima y con 20% de recirculación).

La velocidad de producción de lixiviados (Ld^{-1}). Al igual que en la variable anterior, ésta también es afectada por ambos factores y por la interacción entre ellos. Sin embargo, en este caso los resultados de la prueba de Tukey indican la formación de 4 grupos dentro de los cuales las velocidades no son significativamente distintas.

Maestría en Biotecnología

De nueva cuenta la recirculación con el 20% de los lixiviados ofrece las mayores velocidades de producción de lixiviados, pero la prueba CR20 Ee, es donde se obtuvo el mejor resultado.

En la velocidad de producción de AGV, se observó a partir del análisis estadístico y la ANOVA que existieron diferencias significativas entre los tratamientos, teniendo efecto la recirculación de lixiviados y la adición de enzimas y la interacción entre ellos. Para elegir el mejor tratamiento se realizó la prueba de Tukey y a partir de los resultados obtenidos se observa que CR20 con y sin adición de enzimas son los mejores tratamientos, aunque el tratamiento CR20 Ee es en el que se obtuvo la mayor velocidad de producción de AGV.

El análisis estadístico completo se presenta en el anexo 2 de este documento.

9. Conclusiones

En este trabajo se evaluó el efecto de un extracto enzimático comercial sobre la hidrólisis de la FORSU obtenida de la cafetería del campus, utilizando distintas diluciones de lixiviado para mejorar el proceso y conforme a los resultados obtenidos se pueden obtener las siguientes conclusiones:

- La adición del extracto enzimático favoreció principalmente las velocidades de formación de compuestos solubles (representados como DQO) y la hidrólisis de las grasas la FORSU.
- La recirculación del lixiviado favoreció la formación de compuestos solubles (representados como DQO) y la hidrólisis de la grasa en la fracción sólida y la velocidad de producción de AGV en los lixiviados.
- La adición de BACTOZYME y la recirculación de un 20% de lixiviado presentó la mayor eficiencia en las velocidades de hidrólisis.
- El análisis estadístico de los experimentos muestra que el tratamiento con los mayores rendimientos para los parámetros cuantificados, fue con recirculación del 20% de lixiviado y aplicando el extracto enzimático.

Recomendaciones

El trabajo a futuro propuesto, a partir de los resultados anteriores es conocer la composición cuantitativa y cualitativa del extracto enzimático, ya que de esta manera se podrá dirigir de manera más adecuada la hidrólisis de la FORSU puesto que debido a la complejidad de su composición se requiere darle tratamiento a ciertos parámetros problemáticos como la fibra, ya que esta representa un punto importante en el inicio del proceso de la digestión anaerobia.

10. Referencias bibliográficas

APHA, AWWA, WPCF. 2005. Standard Methods for the examination of water and wastewater. 17th. Ed. American public health Association, Washington D.C. USA.

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

Barlaz, M. A.; Schaefer, D. M.; Ham, R. K. (1989). "Inhibition of methane formation from municipal refuse in laboratory scale lysimeters". *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 20-21, 181-205.

Bilgili, M. S.; Demir, A., Özkaya B. (2007) Influence of leachate recirculation on aerobic and anaerobic decomposition of solid wastes. *Journal of Hazardous Materials* 143 177–183.

Bouallagui, H., Touhami, Y., Cheikh, R.B., Hamdi, M., (2005). Bioreactor performance in anaerobic digestion of fruit and vegetable wastes. *Process Biochem.* 40, 989–995.

Cesaro, A.; Belgiorno, V. (2014) Pretreatment Methods to improve anaerobic biodegradability of organic municipal solid waste fractions. *Chemical Engineering Journal.* 240, 24-37.

Chan, G.Y.S.; Chu, L.M.; Wong, M.H.; (2002) Effects of leachate recirculation on biogas production from landfillco-disposal of municipal solid waste, sewage sludge and marinesediment. *Environmental Pollution* 118 393–399.

Chugh, S., Pullammanappallil, P., Rudolph, V., (1998). Effect of recirculated leachate volume on MSW degradation. *Waste Management and Research* 6 (16), 564–573.

Cirne,DG., Paloumet, X., Bjornsson, I., Alves, MM., Mattianson, B. (2007) Anaerobic digestion of lipid rich waste-effect of lipid concentration. *Renew. Energ.* 32, 965-875.

Derbal K., Bencheikh-LeHocine M. and Meniai Abdesslam H. (2012). Production of Biogas from Sludge Waste and Organic Fraction of Municipal Solid Waste,

Biogas, Dr. Sunil Kumar (Ed.), ISBN: 978-953-51-0204-5, InTech, DOI:
10.5772/32718. Available from:

<http://www.intechopen.com/books/biogas/production-of-biogas-from-sludge-waste-and-organic-fraction-of-municipal-solid-waste>.

Dong, L.; Zhenhong, Y.; Yongming, S. (2010) Semi-dry mesophilic anaerobic digestion of water sorted organic fraction of municipal solid waste (WS-OFMSW) *Bioresource Technology* 101, 2722–2728.

Fernández-G., L.A., Álvarez G., C., Sales M., D.; Romero G., L.I. (2011) Biological pretreatment applied to industrial organic fraction of municipal solid wastes (OFMSW): Effect on anaerobic digestion. *Chemical Engineering Journal*. 172,321-325.

Fernández J., Pérez M., Romero L. (2008). "Effect of substrate concentration on dry mesophilic anaerobic digestion of organic fraction of municipal solid waste (OFMSW). *Bioresource Technology*, 99(14):6075-6080.

Francois, V.; Feuillade, G.; Matejka, G.; Lagier, T.; Skhiri N. (2007) Leachate recirculation effects on waste degradation: Study on columns. *Waste Management* 27, 1259–1272.

Gaceta oficial del Distrito Federal, Órgano del Gobierno del Distrito Federal. Décima séptima época, No. 925. 13 de septiembre de 2010.

http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/lb/ciencias_quimicas_y_farmaceuticas/schmidth02/parte03/01.html

He, R.; Shen, D.; Wang, J.; He, Y.; Zhu Y. (2005) Biological degradation of MSW in a methanogenic reactor using treated leachate recirculation. *Process Biochemistry* 40, 3660–3666.

Hernández. B., M. C.; Márquez, B.L.; González, P.D.J.; Buenrostro, D.O. (2008) The effect of moisture on the anaerobic degradation of municipal solid waste from Metepec (México). *Waste Management* 28, 514–520.

Hicks, J.J. (2000) *Bioquímica*. Mc.Graw Hill Interamericana. Health Group. P.p. 95-96.

- INEGI (2013). Anuario Estadístico y geográfico por entidad federativa 2013.
- Inventario de residuos sólidos de la Ciudad de México 2013 (2014) Secretaría del medio ambiente del D.F.
- Jha, A. K.; Li, J.; Nies, L.; Zhang L. (2011) Research advances in dry anaerobic digestion process of solid organic wastes. *African Journal of Biotechnology* Vol. 10(65), pp. 14242-14253.
- Jiang Y., Zhang Y., Li K., Wang Q., Gong Ch. y Li M. (2013). Volatile fatty acids production from food waste: Effects of pH, temperature, and organic loading rate. *Bioresource Technology* 143, 525–530
- Khalid, A.; Arshad, M.; Anjum, M.; Mahmood, T.; Dawson, L. (2011) Review. The anaerobic digestion of solid organic waste. *Waste Management* 1737–1744.
- Kiran, E. U.; Trzcinski, A. P.; Liu, Y. (2015) Enhancing the hydrolysis and methane production potential of mixed food waste by an effective enzymatic pretreatment. *Bioresource Technology* 183 47–52.
- Kim C.; Gomec C.; Ahn Y.; Speece R. (2003) Hydrolysis and acidogenesis of particulate organic material in mesophilic and thermophilic anaerobic digestion. *Environmental Technology* 24, 1183-1190
- Kim, H. J.; Kim, S. H.; Choi, Y. G.; Kim, G. D.; Chung, T. H. (2006) Effect of enzymatic pretreatment on acid fermentation of food waste. *J Chem Technol Biotechnol* 81:974–980.
- Kim, J. H.; Lee, J. C.; Pak, D. (2011) Feasibility of producing ethanol from food waste. *Waste Management* 31 2121–2125.
- Kondusamy, D., Kalamdhad, A. (2014) Pre-treatment and anaerobic digestion of food waste for high rate methane production – A review. *J. Env. Chem. Eng.* 1821-1830.
- Lu F., He P., Hao L., Shao L. (2008). Impact of recycled effluent on the hydrolysis during anaerobic digestion of vegetable and flower waste. *Water Science Technology* 58(8)1637-43. doi: 10.2166/wst.2008.511

- Martí, O. N. (2002), Phosphorus precipitation in anaerobic digestion process. Dissertation.com. Boca Ratón Flo. E.U. p.p. 5-6.
- Mehta, R.; Barlaz, M. A.; Yazdani, R.; Augenstein, D.; Bryars, M.; Sinderson, L. (2002). Refuse Decomposition in the Presence and Absence of Leachate Recirculation. *J. Environ. Eng.* 128:228-236.
- Monnet, F. (2003) An introduction to anaerobic to anaerobic digestion of organic waste. Final report. Remade Scotland. Pp 2.
- Molino, A.; Nanna, F.; Ding, Y.; Bikson, B.; Braccio, G. (2013) Biomethane production by anaerobic digestion of organic waste. *Fuel* 103, 1003–1009.
- Moon H. C.; Song, I. S. (2011) Enzymatic hydrolysis of food waste and methane production using UASB bioreactor. *International Journal of Green Energy*, 8: 361–371.
- Nagao, N.; Tajima, N.; Kawai, M.; Niwa, C.; Kurosawa, N.; Matsuyama, T.; Yusoff, F.M.; Toda, T. (2012) Maximum organic loading rate for the single-stage wet anaerobic digestion of food waste, *Bioresour. Technol.* 118 210–218, doi:[http://dx. doi.org/10.1016/j.biortech.2012.05.045](http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2012.05.045). 22705526.
- Palatsi, J., Laurent, M., Andres, M.V., Flotats, X., Nielsen, H.B., Angelidaki, I. (2009) Strategies for recovering inhibition caused by long chain fatty acids in anaerobic thermophilic biogas reactors. *Bioresour Technol.*, 100, 4588-4596.
- Palenzuela R., A., Zeeman, G., Lubberding, H.J., Lettinga, G. and Alaerts, G.J., 1999. Effects of NaCl and NH₄⁺ on the degradation of proteins in lipids in fish processing wastewater, Proc. of the Regional Symposium in Chemical Engineering, B.P. Smila Beach Hotel, Songkhla, Thailand, (1), 22–24
- Parawira W, Murto M, Read JS, Mattiasson B. (2005) Profile of hydrolases and biogas production during two-stage mesophilic anaerobic digestion of solid potato waste. *Process Biochem*; 40:2945–52.

- Pohland, F.G.(1975) Sanitary Landfill Stabilization with Leachate Recycle and Residual Treatment, US Environmental Protection Agency-600/2-75-043, pp. 67–80.
- Ramírez V.F.; Rodríguez P.R.; de Jesús, R. A.; Martínez V.F.J.; Rodríguez, P.S.; Monroy H.O. (2014) Two-phase anaerobic digestion of municipal organic solid wastes. *Journal of advances in biotechnology*, Vol 3., No 2. P.p. 210-218.
- Rintala, J. A.; Ahring, B. K. (1994) Thermophilic anaerobic digestion of source-sorted household solid waste: the effects of enzyme additions. *ApplMicrobiolBiotechnol* 40:916-919.
- Rodriguez, I.J.; Castrillon, P. L.; Maranon, M.E.; Sastre, A.H. (2000). A comparative study of the leachates produced by anaerobic digestion in a pilot plant and at a sanitary landfill in Asturias, Spain. *Waste Management and Research* 18, 86– 93.
- Rodríguez P.R.; Rodríguez, P.S.; Monroy, H.O.; Ramírez, V.F. (2015) Effect of organic loading rate on the performance of two stages anaerobic digestion of organic fraction of the municipal solid waste (OFMSW). *Water Science & Technology*. In press.
- Šan, I.; Onay, T.T. (2001) Impact of various leachate recirculation regimes on municipal solid waste degradation. *Journal of HazardousMaterials* B87 259–271.
- Sánchez Olgún, G. Gordillo Martínez, A. J., Hernández Muñoz, A., Cabrera Cruz, R. B. E. Aportación a la gestión de los RSU: Caso de los municipios de Actopan, San Salvador y El Arenal del Estado de Hidalgo (México). *Tecno ambiente: Revista profesional de tecnología y equipamiento de ingeniería ambiental*, ISSN 1133-4665, Año nº 17, N° 171, 2007, págs. 31-36.
- Sanphoti, N.; Towprayoon, S.; Chaiprasert, P.; Nopharatana, A. (2006) The effects of leachate recirculation with supplemental water addition on methane production and waste decomposition in a simulated tropical landfill. *Journal of Environmental Management*, 81, 27–35.
- Sheldon, A.R. (2011) Characteristic features and biotechnological applications of cross-linked enzyme aggregates (CLEAs). *ApplMicrobiolBiotechnol* 92:467–477.

Sonia, M.T., Wan, J., Tam, N., (2001) Extracellular enzyme profiles during co-composting of poultry manure and yard trimmings. *Process Biochemistry* 36 (8–9), 813–820.

Speece, R.E. (1996) *Anaerobic Biotechnology for Industrial Wastewaters*, ArchaePress, Nashville, TE, USA, pp. 394–400.

Sponza, D.T., Agdag, O.N., (2004). Impact of leachate recirculation and recirculation volume on stabilization of municipal solid wastes in simulated anaerobic bioreactors. *Process Biochemistry*, 1–9.

www.biozyme.com, 2014

Veeken, A.; Kalyuzhnyi, S.; Scharff, H.; Hamelers, B.(2000) Effect of p H andVFAonhydrolysis oforganicsolidwaste. *J. Environ. Eng.*, 126(12): 1076-1081.

Xiaofeng, L.;Shuangyan, Z.;Delai, Z.; Jingping, Z.; Li, L.(2014) Anaerobic co-digestion of food waste and landfill leachatein single-phase batch reactors. *Waste Management* 34 2278–2284.

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

Xu, S.Y.; Karthikeyan, O. P.; Selvam, A.; Wong, J.W.C.; (2014) Microbial community distribution and extracellular enzyme activities in leach bed reactor treating food waste: Effect of different leachate recirculation practices. *Bioresource Technology* 168, 41–48.

Youcai, Z.;Luochun, W.; Renhua, H., Dimin, X.; Guowei, G. (2002) A comparison of refuse attenuation inlaboratory and field scale lysimeters. *Waste Management* 22 29–35

Yu H. y Fang H. (2002). Acidogenesis of dairy wastewater at various pH levels. *Water Science and Technhology* (45) 201-206

Zhang, B.; He, P.; Lu, F.; Shao, L.; Wang, P. (2007) Extracellular enzyme activities during regulated hydrolysis of high-solid organic wastes. *Water research* 41 4468– 4478.

Zhu, B., Gikas, P., Zhang, R., Lord, J., Jenkins, B., Li, X., (2009). Characteristics and Biogas production potential of municipal solid wastes pretreated with a rotary drum reactor. *Bioresour. Technol.* 100, 1122–1129.

11. ANEXOS.

11.1. Cuantificación de la fibra cruda.

En este método se determina la fibra común como pérdida por calcinación del residuo de las digestiones ácida y alcalina de la muestra. El método es aplicable a materiales fibrosos.

Reactivos.

- Solución de ácido sulfúrico 0.255 ± 0.005 N (1.25 g de H_2SO_4 /100 mL de agua)
- Solución de hidróxido de sodio 0.313 ± 0.005 N (1.25 g de H_2SO_4 /100 mL de agua libre de Na_2CO_3). La concentración de ambas soluciones debe verificarse por titulación.
- Alcohol etílico al 95%, metanol o isopropanol.
- Fragmentos de porcelana para regular la ebullición.

Aparatos.

- Aparato digestor con vasos de 600 mL. (Labconco, corp)
- Aparato de filtración con embudo de Büchner y filtros de tela resistente al ácido y al alcalí.
- Bomba de vacío.
- Parrilla de calentamiento.

Procedimiento.

La muestra desengrasada molerla perfectamente y cribarla en la criba de 1mm (Willemill)

Digestión ácida.

- Pesar con exactitud 2.0 g de la muestra seca y desengrasada con éter etílico y colocarla en un vaso Berzelius de 600 mL. Evitar contaminación de la fibra con papel u otro material fibroso.
- Agregar 200 mL. de ácido sulfúrico 1.25% hirviendo y un trozo de crisol roto. Colocar el vaso inmediatamente en el digestor precalentado y hervir

exactamente 30 minutos, rotando el vaso para mantener las partículas sólidas dentro de la solución.

- c) Pasado el tiempo filtrar la muestra en los filtros de tela colocados dentro del embudo de Büchner y lavar con 4 porciones de agua hirviendo de 50 mL. cada una.

Digestión alcalina.

- a) Transferir el residuo filtrado al mismo vaso, añadir 200 mL. de la solución NaOH 1.25% hirviendo y hervir exactamente 30 minutos.
- b) Filtrar como se hizo en la digestión ácida. Lavar con una porción de 25 ml de H₂SO₄ 1.25%, tres porciones de 50 mL de agua y 25 mL. de alcohol. Secar el residuo sobre el filtro de tela por 15 minutos en la estufa a 60° C. Transferir el residuo seco a un crisol a peso constante. Registrar el peso del crisol y el crisol +residuo para los cálculos posteriores.

Secado y calcinación.

- a) Secar el crisol de porcelana y su contenido a 130 ±2 °C por dos horas. Enfriar en el desecador y pesar.
- b) Calcinar a 600 ±15 °C por 30 minutos. Enfriar en la estufa por 30 minutos, pasar al desecador, dejar enfriar otros 30 minutos y pesar.

Calculo

%fibra cruda en muestra seca y desengrasada =C

$$C = \frac{(\text{Peso del crisol con residuo seco} - \text{Peso después de la calcinación}) \times 100}{\text{Peso de la muestra}}$$

(Método adaptado del sugerido por la A.O.A.C.1990)

11.2. Tablas del análisis estadístico de los parámetros medidos.

11.2.1. FORSU.

11.2.1.1. Velocidad de formación de compuestos solubles (representados como DQO).

a) Estadísticos descriptivos.

La tabla 8 muestra los estadísticos descriptivos correspondientes a la velocidad de formación de compuestos solubles (representados como DQO)

Tabla 8. Estadísticos descriptivos de la velocidad de producción de DQO en la FORSU.

Estadísticos descriptivos

Variable Dependiente: velocidad de formación de compuestos solubles (representados como DQO)

EXTRACTO ENZIMÁTICO	RECIRCULACIÓN	Mean	Std. Deviation	N
SI	0	.850000000	.0707106781	2
	20	11.100000000	.1414213562	2
	dimension2 45	3.700000000	.1414213562	2
	100	4.060000000	.1414213562	2
	Total	4.927500000	4.0361783551	8
NO	0	.550000000	.0707106781	2
	20	6.900000000	.1414213562	2
	dimension1 dimension2 45	2.720000000	.0000000000	2
	100	2.475000000	.0353553391	2
	Total	3.161250000	2.4770745274	8
Total	0	.700000000	.1825741858	4
	20	9.000000000	2.4276188608	4
	dimension2 45	3.210000000	.5716642371	4
	100	3.267500000	.9189622771	4
	Total	4.044375000	3.3612001205	16

Comparación múltiple de medias por el método de Tukey

Para saber cuál fue el mejor tratamiento se hizo un nuevo análisis de varianza para evaluar las diferencias entre los 8 tratamientos y posteriormente un análisis de comparación múltiple de medias por el método de Tukey.

Los resultados mostraron la formación de 5 grupos, dentro de los cuales no hubo diferencia significativa.

Grupo 1: Tratamientos E y A

Grupo 2: Tratamientos H y G

Grupo 3: Tratamientos C y D

Grupo 4: Tratamiento F

Grupo 5: Tratamiento B

Tanto los factores principales (Presencia de extracto y Recirculación) como la interacción entre ellos, tienen un efecto significativo sobre la velocidad de formación de compuestos solubles (representados como DQO). Si lo que se busca es encontrar el tratamiento dónde se encuentre la mayor velocidad de formación de compuestos solubles (representados como DQO), lo ideal es usar el tratamiento B, es decir, aplicar el extracto enzimático y un 20% de recirculación (CR20 Ee).

11.2.1.2. Velocidad de hidrólisis de fibra.

A) Estadísticos descriptivos.

La tabla 11 muestra los estadísticos descriptivos correspondientes a la velocidad de hidrólisis de la fibra.

Tabla 9. Estadísticos descriptivos de la velocidad de hidrólisis de la fibra en la FORSU.

Estadísticos descriptivos
Variable Dependiente: VELOCIDAD DE HIDRÓLISIS DE LA FIBRA

EXTRACTO ENZIMÁTICO	RECIRCULACIÓN		Mean	Std. Deviation	N
SI		0	.000000900	.000000000	2
		20	.000011000	.0000127279	2
		dimension2 45	.000003300	.0000038184	2
		100	.000009900	.0000001414	2
		Total	.000006275	.0000067930	8
NO		0	.000000200	.000000000	2
		20	.000009900	.0000001414	2
		dimension1 dimension2 45	.000001000	.0000000000	2
		100	.000006500	.0000007071	2
		Total	.000004400	.0000042802	8
Total		0	.000000550	.0000004041	4
		20	.000010450	.0000073763	4
		dimension2 45	.000002150	.0000025736	4
		100	.000008200	.0000020067	4
		Total	.000005338	.0000055697	16

Análisis de varianza con dos factores de la velocidad de hidrólisis de la fibra.

Ninguno de los factores tiene efecto sobre la velocidad de hidrólisis de la fibra (en todos los casos el valor de p es igual o mayor a 0.05), por lo tanto, da igual usar enzima o no, o aplicar recirculación o no, la velocidad de hidrólisis no se modifica. Este resultado se comprobó al hacer el análisis de Tukey.

Comparación múltiple de medias por el método de Tukey.

Para determinar en cuál tratamiento se obtienen los mejores resultados de la hidrólisis de la fibra. Este análisis se muestra en la tabla 13. **VELOCIDAD DE HIDRÓLISIS DE LA FIBRA**

Tukey HSD^a

DIFERENCIA ENTRE TRATAMIENTOS		N	Subset for alpha = 0.05	
			1	
	NO-0	2		.000000200
	SI-0	2		.000000900
	NO-45	2		.000001000
	SI-45	2		.000003300
dimension1	NO-100	2		.000006500
	SI-100	2		.000009900
	NO-20	2		.000009900
	SI-20	2		.000011000
	Sig.			.393

Como puede verse solo se formó un grupo, y éste incluyó a todos los tratamientos que se probaron.

11.2.1.3. Velocidad de hidrólisis de la grasa.

a) Estadísticos descriptivos

La tabla 10 muestra los estadísticos descriptivos correspondientes a los datos obtenidos de los datos de la velocidad de hidrólisis de la grasa. **Tabla 10.** Estadísticos descriptivos de la velocidad de hidrólisis de la grasa en la FORSU.

Estadísticos Descriptivos

Variable Dependiente: Velocidad de hidrólisis de la grasa.

EXTRACTO ENZIMÁTICO	RECIRCULACIÓN	Mean	Std. Deviation	N	
SI	0	.000001100	.0000001414	2	
	dimension 2	20	.000051000	.0000014142	2
		45	.000003050	.0000000707	2
		100	.000009450	.0000007778	2
		Total	.000016150	.0000217705	8
NO	0	.000003050	.0000000707	2	
	dimension 2	20	.000010950	.0000127986	2
		45	.000005900	.0000001414	2
		100	.000016400	.0000192333	2
		Total	.000009075	.0000102877	8
Total	0	.000002075	.0000011295	4	
	dimension 2	20	.000030975	.0000242886	4
		45	.000004475	.0000016480	4
		100	.000012925	.0000118156	4
		Total	.000012613	.0000168498	16

Análisis de varianza con dos factores:

ANOVA de la velocidad de hidrólisis de la grasa en la FORSU.

Tests of Between-Subjects Effects

Variable Dependiente: VELOCIDAD DE HIDRÓLISIS DE LA GRASA

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	3.722E-9 ^a	7	5.318E-10	7.931	.005
Intercept	2.545E-9	1	2.545E-9	37.961	.000
EXTRACTO	2.002E-10	1	2.002E-10	2.986	.122
RECIRCULACIÓN	2.058E-9	3	6.860E-10	10.232	.004
EXTRACTO * RECIRCULACIÓN	1.464E-9	3	4.880E-10	7.278	.011
Error	5.364E-10	8	6.705E-11		
Total	6.804E-9	16			
Corrected Total	4.259E-9	15			

a. R cuadrada = .874 (R cuadrada ajustada = .764)

Comparación múltiple de medias por el método de Tukey.

Para determinar en cuál tratamiento se obtienen los mejores resultados de la hidrólisis de la grasa. Este análisis se muestra en la tabla 16. La presencia o ausencia de extracto enzimático no tiene efecto sobre la velocidad de hidrólisis de la grasa, pero tanto el porcentaje de recirculación como la interacción entre ambos factores sí afectan dicho parámetro. Según el análisis de

Tukey la mejor combinación entre los factores fue el tratamiento B, es decir, aplicar el extracto enzimático y usar un 20% de recirculación (CR20 Ee).

11.2.1.4. Velocidad de hidrólisis de sólidos volátiles.

A) Análisis estadístico

Tabla 11. Estadísticos descriptivos de la velocidad de la hidrólisis de los SV en la FORSU.

Estadística Descriptiva
Variable Dependiente: VELOCIDAD DE HIDRÓLISIS DE SÓLIDOS VOLÁTILES.

EXTRACTO ENZIMÁTICO	RECIRCULACIÓN		Media	DesviaciónEstándar	N
SI	0		.015000000	.000000000	2
	dimension 2	20	.199000000	.000000000	2
		45	.170500000	.0007071068	2
		100	.000000000	.000000000	2
		Total	.096125000	.0955232769	8
NO	0		.009500000	.0007071068	2
	dimension 2	20	.030000000	.000000000	2
		45	.153000000	.0014142136	2
		100	.000000000	.000000000	2
		Total	.048125000	.0657624241	8
Total	0		.012250000	.0032015621	4
	dimension 2	20	.114500000	.0975721955	4
		45	.161750000	.0101447852	4
		100	.000000000	.000000000	4
		Total	.072125000	.0830107423	16

Análisis de varianza con dos factores:

Pruebas del efecto de ambos factores

Variable Dependiente: VELOCIDAD DE HIDRÓLISIS DE SÓLIDOS VOLÁTILES.

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.103 ^a	7	.015	39374.762	.000
Intercept	.083	1	.083	221952.667	.000
EXTRACTO	.009	1	.009	24576.000	.000
RECIRCULACIÓN	.074	3	.025	66187.778	.000
EXTRACTO * RECIRCULACIÓN	.020	3	.007	17494.667	.000
Error	3.000E-6	8	3.750E-7		
Total	.187	16			
Corrected Total	.103	15			

a. R Cuadrada = 1.000 (R Cuadrada Ajustada= 1.000)

Comparación múltiple de medias por el método de Tukey.

VELOCIDAD DE HIDRÓLISIS DE SÓLIDOS VOLÁTILES

Tukey HSD^a

DIFERENCIA ENTRE TRATAMIENTOS	N	Subset for alpha = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
SI-100	2	.000000000						
NO-100	2	.000000000						
NO-0	2		.009500000					
SI-0	2			.015000000				
NO-20	2				.030000000			
NO-45	2					.153000000		
SI-45	2						.170500000	
SI-20	2							.199000000
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

Tanto los factores principales como la interacción entre ellos tienen un efecto significativo sobre la velocidad de hidrólisis de los sólidos volátiles. La mejor velocidad de hidrólisis de los sólidos volátiles se registró utilizando el tratamiento B (con extracto enzimático y un 20% de recirculación) (CR20 Ee).

11.2.2. LIXIVIADOS

11.2.2.1. VELOCIDAD DE PRODUCCIÓN DE AGV (g AGV*L⁻¹ *d⁻¹)

a) Estadísticos descriptivos:

Tabla 12. Estadísticos descriptivos de la velocidad de producción de AGV en los lixiviados.

Estadísticos Descriptivos								
Variable Dependiente: Lixiviados; velocidad producción de AGV(g AGV*L ⁻¹ *d ⁻¹)								
EXTRACTO ENZIMÁTICO		RECIRCULACIÓN		Mean	Std. Deviation	N		
dimension1	SI	dimension 2	0	.500000000	.000000000	2		
			20	3.150000000	.0707106781	2		
			45	.550000000	.0707106781	2		
			100	.675000000	.0353553391	2		
			Total	1.218750000	1.1946121606	8		
			0	.350000000	.0707106781	2		
	NO	dimension 2	20	1.300000000	.000000000	2		
			45	.375000000	.0353553391	2		
			100	.435000000	.0494974747	2		
			Total	.615000000	.4255416716	8		
			Total	dimension 2	0	.425000000	.0957427108	4
					20	2.225000000	1.0688779163	4
	45	.462500000			.1108677891	4		
	100	.555000000			.1429452109	4		
	Total	.916875000	.9207005938	16				

Análisis de varianza con dos factores:

PRUEBAS DEL EFECTO DE AMBOS FACTORES

Variable Dependiente: Lixiviados; velocidad producción de AGV ($\text{g AGV} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	12.695 ^a	7	1.814	727.269	.000
Intercept	13.451	1	13.451	5393.707	.000
EXTRACTO	1.458	1	1.458	584.684	.000
RECIRCULACIÓN	9.162	3	3.054	1224.684	.000
EXTRACTO *	2.075	3	.692	277.383	.000
RECIRCULACIÓN					
Error	.020	8	.002		
Total	26.166	16			
Corrected Total	12.715	15			

a. R Cuadrada = .998 (R Cuadrada Ajustada = .997)

Comparación múltiple de medias por el método de Tukey.

DISMINUCIÓN DE VOLUMEN (%)							
Tukey HSD ^a							
DIFERENCIA ENTRE TRATAMIENTOS	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
NO-100	2	.950000000					
SI-100	2	2.000000000					
NO-0	2		14.50000000				
SI-0	2			19.50000000			
NO-20	2				24.50000000		
NO-45	2					49.00000000	
SI-45	2					51.50000000	
SI-20	2						80.50000000
Sig.		.836	1.000	1.000	1.000	.111	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

La velocidad de producción de AGV es afectada tanto por los factores principales como por la interacción entre ellos. La mayor velocidad se obtuvo con el tratamiento B (Agregando Ee y con el 20% de recirculación) (CR20 Ee).

11.2.2.2. Velocidad de formación de compuestos solubles (representados como DQO) ($\text{g DQO} \cdot \text{s} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$).

a) Estadísticos descriptivos

Tabla 13. Estadísticos descriptivos de la velocidad de formación de compuestos solubles (representados como DQO).

Descriptive Statistics

Variable Dependiente: LIXIVIADOS; velocidad de formación de compuestos solubles (representados como DQO) (g DQO s*L⁻¹ *d⁻¹).

EXTRACTO ENZIMÁTICO	RECIRCULACIÓN	Mean	Std. Deviation	N
SI	0	1.950000000	.0707106781	2
	20	25.360000000	.0848528137	2
	dimension2 45	6.650000000	.2121320344	2
	100	3.550000000	.0707106781	2
	Total	9.377500000	10.0290745193	8
NO	0	1.110000000	.0141421356	2
	20	6.135000000	.0494974747	2
	dimension1 dimension2 45	4.185000000	.0212132034	2
	100	2.900000000	.1414213562	2
	Total	3.582500000	1.9616956951	8
Total	0	1.530000000	.4867579823	4
	20	15.747500000	11.0997038249	4
	dimension2 45	5.417500000	1.4284811281	4
	100	3.225000000	.3862210075	4
	Total	6.480000000	7.5953591094	16

Análisis de varianza con dos factores:

Pruebas entre los dos efectos.

Variable Dependiente: LIXIVIADOS velocidad de formación de compuestos solubles (representados como DQO) (g DQO s*L⁻¹ *d⁻¹).

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	865.257 ^a	7	123.608	11592.790	.000
Intercept	671.846	1	671.846	63010.213	.000
EXTRACTO	134.328	1	134.328	12598.181	.000
RECIRCULACIÓN	488.452	3	162.817	15270.088	.000
EXTRACTO * RECIRCULACIÓN	242.477	3	80.826	7580.363	.000
Error	.085	8	.011		
Total	1537.189	16			
Corrected Total	865.342	15			

a. R Squared = 1.000 (Adjusted R Squared = 1.000)

Comparación múltiple de medias por el método de Tukey.

LIXIVIADOS VELOCIDAD 2 (gDQO/L *d)

Tukey HSD^a

DIFERENCIA ENTRE TRATAMIENTOS	N	Subset for alpha = 0.05								
		1	2	3	4	5	6	7	8	
NO-0	2	1.110000000								
SI-0	2		1.950000000							
NO-100	2			2.900000000						
SI-100	2				3.550000000					
NO-45	2					4.185000000				
NO-20	2						6.135000000			
SI-45	2							6.650000000		
SI-20	2								25.36000000	
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.