



**EVALUACIÓN DE LA INFLUENCIA DE LA RELACIÓN S/I Y LA TEMPERATURA DE
OPERACIÓN SOBRE LA DIGESTIÓN ANAEROBIA DE RESIDUOS DE ALIMENTOS CON UN
INÓCULO DE PROCEDENCIA PSICROFÍLICA**

**Laura Moreno Escandón
Código 2004357
Candidata Maestría en Ingeniería
Área de Énfasis Ing. Sanitaria y Ambiental - 7720**

**Universidad del Valle
Facultad de Ingeniería
Escuela de Ingeniería de Recursos Naturales y del Ambiente
Programa de Posgrados en Ingeniería Sanitaria y Ambiental
Santiago de Cali
2023**



EVALUACIÓN DE LA INFLUENCIA DE LA RELACIÓN S/I Y LA TEMPERATURA DE OPERACIÓN SOBRE LA DIGESTIÓN ANAEROBIA DE RESIDUOS DE ALIMENTOS CON UN INÓCULO DE PROCEDENCIA PSICROFÍLICA

Laura Moreno Escandón
Ingeniera Sanitaria y Ambiental
Código 2004357

Trabajo de Investigación presentado como requisito parcial para optar al título de:

Magíster en Ingeniería - Énfasis en Ingeniería Sanitaria y Ambiental

Directoras:

Prof. Patricia Torres Lozada
Ing. Sanitaria, MSc., PhD.

Ing. Lina Mariana Rodríguez
Est. de Doctorado(c) en Ingeniería - Énfasis en Ing. Sanitaria y Ambiental

Universidad del Valle
Facultad de Ingeniería
Escuela de Ingeniería de Recursos Naturales y del Ambiente
Programa de Posgrados en Ingeniería Sanitaria y Ambiental
Santiago de Cali
2023



ÍNDICE DE ABREVIATURAS

AH:	Actividad Hidrolítica
ALC:	América Latina y el Caribe
AME:	Actividad Metanogénica Específica
BOM:	Biorresiduos de origen municipal
DA:	Digestión Anaerobia
DAP:	Digestión Anaerobia Psicrofílica
DA-RA:	Digestión Anaerobia de Residuos de Alimentos
GM:	Gompertz Modificado
IB:	Índice de Biodegradabilidad
Kg:	Kilogramos
L:	Litros
mg:	Miligramos
mL:	Militros
MO:	Materia Orgánica
PD:	Países Desarrollados
PeD:	Países en Desarrollo
PBM:	Potencial Bioquímico de Metano
PPC:	Producción Pér Cápita
PTAR:	Planta de Tratamiento de Agua Residual
PO:	Primer Orden
RA:	Residuos de Alimentos
RSU:	Residuos Sólidos Urbanos
SV:	Sólidos Volátiles
ST:	Sólidos Totales
TRH:	Tiempo de Retención Hidráulico
TRS:	Tiempo de Retención de Sólidos

RESUMEN

Los residuos sólidos urbanos (RSU) están presentes en la sociedad como resultado de las actividades humanas. Su producción y su composición varían geográficamente, dependiendo de aspectos socioeconómicos y culturales de la población y de las condiciones climáticas de la región y en general están constituidos por componentes orgánicos (principalmente residuos de alimentos - RA y de poda de jardines), papel, metal, vidrio y plásticos. Las prácticas tradicionales de manejo de los RA, asociadas principalmente a la disposición final, causan impactos negativos como disminución de la vida útil de los rellenos sanitarios, generación de gases de efecto invernadero y de lixiviados, entre otros; sin embargo, debido a la alta fracción orgánica de los mismos (aproximadamente 50-60%), éstos pueden ser empleados como fuente de energía, siendo la digestión anaerobia (DA) uno de los principales métodos de manejo con fines de recuperación de energía renovable (biogás, principalmente en forma de metano).

La forma de analizar el potencial de producción de metano de un sustrato es mediante una prueba a escala de laboratorio, denominada Potencial Bioquímico de Metano (PBM), la cual debe contemplar los diferentes factores y variables que inciden sobre el proceso de DA contribuyendo al incremento y/o descenso de la producción de metano. Variables como la relación sustrato/inóculo (S/I) y la temperatura, que tienen gran influencia en el proceso específicamente en la DA bajo condiciones psicrófilas (DAP) han sido poco estudiadas. Por esta razón, en el presente trabajo de investigación se evaluó experimentalmente: la influencia de la temperatura de operación (10, 15 y 27°C) sobre las actividades metabólicas de un inóculo psicrófilo (actividad hidrolítica específica -AHE, actividad acidogénica específica -AAE y actividad metanogénica específica -AME) y ii. el efecto simultáneo de la temperatura de operación (10, 15 y 27°C) y la relación S/I ($0.20, 0.5, 1.0 \text{ gSV}_{\text{sustrato}} \cdot \text{gSV}_{\text{inóculo}}^{-1}$) sobre el PBM, mediante un diseño factorial de variables cuantitativas. Se aplicaron adicionalmente modelos cinéticos de Primer Orden (PO), Gompertz Modificado (GM) y Función Logística (FL) con el fin de determinar la influencia de las distintas condiciones experimentales sobre la constante de hidrólisis (K_h), la tasa máxima de producción ($R_{\text{máx}}$) y la fase de latencia (λ). Los resultados se analizaron mediante un análisis de varianza ANOVA ($p < 0.05$) y la implementación de un modelo de regresión, que corresponde a una superficie de respuesta de segundo orden.

Se encontró que la temperatura influye en la actividad microbiana del inóculo psicrófilo (Valor- $p < 0.05$) con mayor incidencia en la AME y la AHE, siendo vital la caracterización de la calidad del inóculo a la temperatura en la que se va a llevar a cabo el proceso de digestión anaerobia; las mayores actividades del inóculo se presentaron a 27°C (AHE: $0.153 \text{ gDQO}_{\text{glu}}/\text{gSV} \cdot \text{d}$; AAE: $1.945 \text{ gDQO}_{\text{glu}}/\text{gSV} \cdot \text{d}$ y AME: $0.021 \text{ gDQO}/\text{gSV} \cdot \text{d}$).

Los resultados experimentales del PBM y la aplicación de los modelos cinéticos, ratificaron que tanto el proceso de DA empleando un inóculo psicrófilo, como las constantes cinéticas (K_h , $R_{\text{máx}}$ y λ), son influenciadas por la relación S/I y la temperatura de operación, siendo más sensibles a cambios en la temperatura de operación que en la relación S/I. A mayor temperatura y menor relación S/I se observó un mayor rendimiento del proceso (27°C y S/I de 0.20 - Media: $148.9 \text{ mLCH}_4/\text{gSV}$, Error

estándar:4,27). Al disminuir la temperatura de operación de 27°C a 15°C y 10°C, la producción de biometano se redujo un 62,53 % y 73,59 % respecto a 27°C, respectivamente.

Los tres modelos cinéticos mostraron que a mayor temperatura se alcanza un mayor ajuste ($>0,95$), el cual disminuye a medida que decreció la temperatura (15°C: $>0,90$ y 10°C: $>0,83$), lo que indica que los modelos cinéticos aplicados se ajustan mejor a las condiciones de temperatura mesofílica que psicofílica. Respecto a las bajas temperaturas (10 y 15°C), el modelo de GM fue el que presentó mejor ajuste (maximizando R^2 y minimizando el RMSE). En general, la temperatura de operación presentó mayor efecto que la relación S/I sobre la K_h .

Este tipo de trabajos de investigación permiten ampliar la visión relacionada con el efecto simultáneo de dos o más variables sobre el comportamiento de la digestión anaerobia psicofílica, lo anterior con el objetivo de que el proceso biológico pueda ser escalado a futuro y la tecnología se implemente en las regiones más frías y vulnerables económicamente del país como una alternativa de aprovechamiento de residuos orgánicos que permita la obtención de metano sin demandar grandes costos energéticos en sistemas de calefacción; para lo anterior es importante seguir estudiando diferentes tipos de inóculos y parámetros como el tamaño de partícula y tipo de sustrato empleando en la determinación de las actividades metabólicas.

Palabras Clave: Digestión Anaerobia - DA, Inóculo, Modelos Cinéticos, Potencial Bioquímico de Metano - PBM, Relación Sustrato Inóculo - S/I, Residuos de Alimentos - RA, Temperatura Psicofílica.

ABSTRACT

Municipal solid waste (MSW) is present in society as a result of human activities. Its production and composition vary geographically, depending on socioeconomic and cultural aspects of the population and the climatic conditions of the region, and in general it is made up of organic components (mainly food waste - FW and garden pruning waste), paper, metal, glass and plastics. Traditional FW management practices, mainly associated with final disposal, cause negative impacts such as a decrease in the useful life of landfills, generation of greenhouse gases and leachates, among others; however, due to the high organic fraction (approximately 50-60%), these can be used as a source of energy, with anaerobic digestion (AD) being one of the main management methods for renewable energy recovery (biogas, mainly in the form of methane).

The way to analyze the methane production potential of a substrate is through a laboratory scale test, called Biochemical Potential Methane (BMP), which should contemplate the different factors and variables that affect the AD process contributing to the increase and/or decrease of methane production. Variables such as the substrate/inoculum (S/I) ratio and temperature, which have a great influence on the process, specifically in AD under psychrophilic conditions (PAD), have been little studied. For this reason, in the present research work we experimentally evaluated: i. the influence of the operating temperature (10, 15 and 27°C) on the metabolic activities of a psychrophilic inoculum

(specific hydrolytic activity -SHA, specific acidogenic activity -SAA and specific methanogenic activity -SME) and ii. the simultaneous effect of operating temperature (10, 15 and 27°C) and S/I ratio (0.20, 0.5, 1.0 gSV_{substrate}-gSV_{inoculum}⁻¹) on BMP, by means of a factorial design of quantitative variables. First Order (PO), Modified Gompertz (GM) and Logistic Function (FL) kinetic models were additionally applied in order to determine the influence of the different experimental conditions on the hydrolysis constant (Kh), the maximum production rate (R_{max}) and the lag phase (λ). The results were analyzed using an ANOVA analysis of variance (p<0,05) and the implementation of a regression model, which corresponds to a second order response surface.

Temperature was found to influence the microbial activity of the psychrophilic inoculum (p-value < 0,05) with higher incidence in SMA and SHA, being vital the characterization of the inoculum quality at the temperature at which the anaerobic digestion process is to be carried out; the highest inoculum activities were presented at 27°C (SHA: 0,153 gDQOglu/gSV*d; AAE:1,945 gDQOglu/gSV*d and SME:0,021 gDQO/gSV*d).

The experimental results of the BMP and the application of the kinetic models, ratified that both the DA process employing a psychrophilic inoculum and the kinetic constants (Kh, R_{max} and λ), are influenced by the S/I ratio and the operating temperature, being more sensitive to changes in the operating temperature than in the S/I ratio. At higher temperature and lower S/I ratio, higher process performance was observed (27°C and S/I of 0,20 - Mean:148,9 mLCH₄/gSV, Standard error:4,27). By decreasing the operating temperature from 27°C to 15°C and 10°C, the biomethane production was reduced by 62,53 % and 73,59 % with respect to 27°C, respectively.

The three kinetic models showed that at higher temperature a higher fit is reached (>0,95), which decreases as the temperature decreased (15°C: >0,90 and 10°C: >0,83), indicating that the applied kinetic models fit better to mesophilic than psychrophilic temperature conditions. Regarding low temperatures (10 and 15°C), the GM model presented the best fit (maximizing R² and minimizing RMSE). In general, the operating temperature had a greater effect than the S/I ratio on Kh.

This type of research work broadens the vision of the simultaneous effect of two or more variables on the behavior of anaerobic psychrophilic digestion, with the objective that the biological process can be scaled up in the future and the technology can be implemented in the coldest and most economically vulnerable regions of the country as an alternative for the use of organic waste that allows obtaining methane without demanding high energy costs in heating systems; For the above, it is important to continue studying different types of inoculums and parameters such as particle size and type of substrate used in the determination of metabolic activities.

Key Words

Anaerobic Digestion - AD, Inoculum, Kinetic Models, Biochemical Potential of Methane -BPM, Inoculum Substrate Ratio- S/I Ratio, Food Waste- FW, Psychrophilic Temperature



DEDICATORIA

A mi madre, Maricelly Escandón Guarnizo, por su infinito amor y comprensión en cada momento de mi vida. Por mostrarme el lado amable de las personas, inculcarme el amor hacia los demás y la pasión que requiere este mundo.

A mi padre Orlando Moreno González, por inculcarme desde siempre la educación y el amor al conocimiento. Por su incondicional apoyo e impulsarme a dar mi 100% en todos los proyectos que emprendo. Por confiar ciegamente en mis habilidades y enseñarme que los proyectos requieren de dedicación y esfuerzo constante.

A mi hermana, Diana Marcela Moreno Escandón, quien siempre ha sido un ejemplo para mí de lo lejos que puedes llegar si realmente te esfuerzas por alcanzar tus sueños. Gracias por empujarme a ser mejor día a día.

A mis abuelos, Augusto Moreno y Dicla de Moreno, infinitas gracias por estar a mi lado desde el día 1, por apoyarme, cuidarme y siempre estar pendientes de mi salud física y mental. Los amo

A Kevin Foronda Zapata, mil gracias por todo su apoyo en esta etapa; él mejor que nadie sabe de primera mano que no ha sido nada fácil para ninguno de los dos, sacar este proyecto adelante. Gracias por escucharme, guiarme y compartir conmigo tus conocimientos. Pero, sobre todo, gracias por recordarme que soy capaz de todo lo que me proponga y que la vida siempre necesita un poco de locura por más serio que se torne el asunto.

A mi Familia, especial agradecimiento a Francisco Escandón y Amira Escandón por brindarme la posibilidad de continuar con mis estudios y trabajar de manera simultánea, pero sobre todos gracias por creer en mis capacidades y en lo lejos que puedo llegar.



AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mis sinceros agradecimientos a, la Universidad del Valle, especialmente a la Facultad de Ingeniería por la formación académica y personal recibida. Al grupo de investigación de Estudio y Control de la Contaminación Ambiental (ECCA) por brindarme los espacios y tiempos necesarios para el desarrollo del presente trabajo de Maestría.

Agradecimiento a las Dirección General de Investigaciones de la Universidad Santiago de Cali-
Nombre del proyecto: INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA SOBRE LA DIGESTIÓN ANAEROBIA
DE RESIDUOS DE ALIMENTOS No. 820-621120-1587)

A la profesora Patricia Torres Lozada, quien, con su trayectoria profesional, conocimientos y motivación me orientó para sacar adelante este proyecto Investigativo y personal.

Por último, especial agradecimiento a la Ingeniera Lina Mariana Rodríguez Jiménez, por su apoyo continuo en durante la fase experimental, por sus consejos, guía y objetividad durante el desarrollo de este proyecto.

CONTENIDO

ÍNDICE DE ABREVIATURAS	3
RESUMEN	4
ABSTRACT	5
INTRODUCCIÓN	6
1. PLANTEAMIENTO Y JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA.....	8
2. ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN	11
3. REVISIÓN DE LITERATURA.....	19
3.1 Residuos Sólidos Municipales	19
3.2 Bioresiduos (BOM)– Residuos de Alimentos (RA).....	20
3.3 Digestión anaerobia	20
3.3.1 Actividades bioquímicas	22
3.3.1.1 Actividad Hidrolítica (AH)	22
3.3.1.2 Actividad Acidogénica (AA)	22
3.3.1.3 Actividad Metanogénica Específica (AME)	23
3.4 Factores que afectan la Digestión Anaerobia	23
3.4.1 pH	24
3.4.2 Alcalinidad	24
3.4.3 Capacidad Buffer	24
3.4.3.1 Índices	25
3.4.4 Nutrientes	25
3.4.5 Reactores y Tiempo de Retención Hidráulico	26
3.4.6 Espacio de cabeza	27
3.4.7 Inóculo	27
3.4.8 Temperatura	29
3.5 Potencial Bioquímico de metano (PBM)	32
3.5.1 Determinación del PBM	33
3.6 Modelos Cinéticos	36
4. OBJETIVOS	40
4.1 Objetivo General	40
4.2 Objetivos Específicos	40
5. MATERIALES Y MÉTODOS	40
5.1 Fase 1 (Influencia de la temperatura de operación sobre las actividades metabólicas del inóculo de procedencia psicrófila)	41
5.1.1 Caracterización del Inóculo	41
5.1.2 Determinación de las Actividades Metabólicas	42
Análisis estadístico	49
5.2 Fase 2 (Efecto simultáneo de la relación S/I y la temperatura de operación sobre el Potencial Bioquímico de Metano empleando un inóculo de procedencia Psicrófila)	49
5.2.1 Conformación y caracterización del sustrato	49
5.2.2 Influencia de la Relación S/I y la temperatura sobre el PBM	51
Análisis Estadístico	57
5.3 Fase 3	58
5.3.1 Modelos Cinéticos	58
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	59
6.1 Fase 1. Evaluar la influencia de la temperatura de operación sobre las actividades metabólicas del inóculo de procedencia psicrófila.....	59

6.1.1 Caracterización de Inóculo psicofílico.....	59
6.1.2 Incidencia de la temperatura sobre las Actividades metabólicas.....	61
6.2 Fase 2. Efecto simultaneo de la relación S/I y la temperatura de operación sobre el Potencial Bioquímico de Metano empleando un inóculo de procedencia psicofílica	65
6.2.1 Caracterización del Sustrato	65
6.2.3 Influencia de la Relación S/I y la temperatura sobre el PBM	69
6.3 Fase 3. Modelación Cinética	75
CONCLUSIONES	82
RECOMENDACIONES.....	83
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	84

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Comparación de la DA psicofílica, mesofílica y termofílica en términos económicos, demanda y pérdida de calor y tasa de producción de metano.....	9
Tabla 2. Experiencias de DA a temperaturas menores de 27°C empleando RA como sustrato.....	13
Tabla 3. Características recomendadas del inóculo	29
Tabla 4. Rendimientos teóricos de los sustratos comúnmente empleados.....	34
Tabla 5. Modelos cinéticos.....	38
Tabla 6. Fases y actividades para el desarrollo de la investigación.....	41
Tabla 7. Caracterización del inóculo	42
Tabla 8. Composición de solución de nutrientes y otras sustancias recomendadas	43
Tabla 9. Actividades Metabólicas a diferentes temperaturas con los dos inóculos	44
Tabla 10. Composición Residuos de Alimentos	49
Tabla 11. Caracterización del sustrato (RA)	51
Tabla 12. Diseño Experimental para la evaluación simultánea del efecto entre la temperatura y la relación S/I ...	53
Tabla 13. Diseño Control Negativo para cada Inóculo	53
Tabla 14. Diseño Control Positivo para cada Inóculo	54
Tabla 15. Ecuaciones para determinar el PBM a través del método manométrico	56
Tabla 16. Contenido metano (%) reportado en la DA de residuos orgánicos de rápida degradación	57
Tabla 17. Caracterización fisico-química del inóculo psicofílico empleado.	59
Tabla 18. Efecto de la temperatura sobre las actividades metabólicas (AH, AA, AME) empleando un inóculo psicofílico.....	64
Tabla 19. Categorías de los alimentos sin procesar (composición física fina de los RA).....	65
Tabla 20. Caracterización fisicoquímica del sustrato empleado (BOM)	66
Tabla 21. Potencial Bioquímico de Metano Teórico (PBM _{teórico}) por el método de Buswell & Muller	68
Tabla 22. Potencial Bioquímico de Metano Teórico (PBM _{teórico})	68
Tabla 23. Valores de pH, AT, AB, AGVs, I _a , IB y DQO al final del proceso.....	74
Tabla 24. Estimación de los parámetros cinéticos evaluados para ensayos de DAP-RA a diferentes temperaturas de operación y relación S/I: metano	76

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Principales subprocesos, vías y grupos microbianos implicados en la DA de la MO. Adaptado de Roopnarain et al., (2021) y Tiwari et al., (2021).....	21
Figura 2. Factores y variables que influyen en el proceso de DA con RA y BOM	23
Figura 3. Configuración de reactores para biometanización de residuos sólidos. Adaptado de (Angelidaki et al., 2011)	26
Figura 4. Efecto de la Temperatura sobre la tasa de crecimiento (Angelidaki et al., 2003).....	30
Figura 5. Tasa de crecimiento relativa de microorganismos psicrófilos, psicrótrófos mesófilos y microorganismos termófilos en respuesta a la temperatura (adaptado de Wiegand et al., 1990).....	31
Figura 6. Esquema general de interacciones tróficas en la comunidad microbiana metanogénica que se desarrolla a baja temperatura. Flechas continuas: caminos principales; flechas punteadas: vía reducida. ...	32
Figura 7. Botella ámbar de 250mL con un volumen útil de 200mL.....	43
Figura 8. Representación de las unidades experimentales de AH- Inóculo Psicrófilo	44
Figura 9. Montaje AHE	46
Figura 10. Representación de las unidades experimentales de AAE- Inóculo Psicrófilo.....	46
Figura 11. Montaje AAE.....	47
Figura 12. Configuración volumétrica con trampa de NaOH al 3% con medición de CH ₄ en probeta.....	48
Figura 13. Conformación del Sustrato.....	50
Figura 14. Representación de las unidades experimentales de relación S/I.....	52
Figura 15. Unidad Experimental para los ensayos PBM.	54
Figura 16. Manómetro WIKA modelo CPG500	55
Figura 17. Producción de Azúcares Reductores Totales del inóculo psicrófilo a diferentes temperaturas de operación usando celulosa como sustrato	61
Figura 18. Producción de Glucosa del inóculo psicrófilo a diferentes temperaturas de operación	63
Figura 19. Actividad Metanogénica Específica a diferentes temperaturas de operación.....	63
Figura 20. Efecto simultáneo de la Temperatura de operación y la relación S/I sobre el PBM con un inóculo psicrófilo.....	70
Figura 21. El efecto de interacción entre la relación S/I y la temperatura sobre el PBM empleando un inóculo Psicrófilo. A) Superficie de respuesta B) Diagrama de Contorno.....	72
Figura 22. A) Efectos normales (absolutos) estandarizados de la temperatura y la relación S/I sobre el PBM B) Efectos principales en el PBM	73
Figura 23. Modelo de PO	77
Figura 24. Modelo de GM.....	78
Figura 25. Modelo de FL	79

INTRODUCCIÓN

El crecimiento de la población mundial, la migración urbana y los sistemas de transporte, entre otros, son factores claves que implican un aumento del consumo de energía, de la producción de residuos y el agotamiento del agua, etc (Avagyan 2017; Avagyan & Singh 2019). Las formas de gestionar estos problemas son uno de los factores más importantes para garantizar el desarrollo sostenible de las sociedades (Muñoz et al., 2020).

Con relación a los RSU producidos a nivel mundial, alrededor del 80% terminan en sitios de disposición final y se estima que solo el 20% de éstos son rellenos sanitarios seguros (Sandoval-Cobo et al., 2020). En Colombia, el 96% de los RSU recolectados se disponen en alguno de los 321 rellenos sanitarios que hay en todo el territorio nacional (DNP, 2015) y para 2016, alrededor del 38% de éstos tenían menos de 3 años de vida útil (Sandoval-Cobo et al., 2020), los cuales se caracterizaban por generar lixiviados con altas concentraciones de compuestos orgánicos, inorgánicos y xenobióticos (Baderna et al., 2011), además de altas cantidades de nitrógeno amoniacal, metales pesados y sales minerales (Cheng & Chu 2011) causantes de contaminación ambiental y problemas a la salud (Liliana et al., 2014).

Los RA constituyen un 40% de los RSU en países desarrollados y hasta un 75% en países en desarrollo (Cabeza et al., 2016). Según Dhamodharan et al., (2015), cada año se generan 1.300 millones de toneladas de RA. En general, éstos se caracterizan por un alto contenido de humedad (70 a 90%) y de materia orgánica (MO) (SV/ST > 80%) y relaciones C/N que van de 15 a 36 (Zhang et al., 2014; Thi et al., 2015; Parra-Orobio et al., 2018).

Adicionalmente, la crisis energética y el calentamiento global se han convertido en temas centrales en la política energética y las regulaciones de combustibles fósiles, como tal, gran parte de la investigación en las últimas décadas se ha centrado en los recursos de energía renovable (Seetharaman Moorthy K et al., 2019; Dutta R et al., 2020; Akindolire et al., 2022). Actualmente, la producción de biogás, a través de la DA de MO, específicamente de Biorresiduos (BOM), se propone como una tecnología de energía renovable que puede contribuir con el aprovechamiento de MO, la mitigación del cambio climático y reducir la sobreexplotación de combustibles fósiles (Dutta R et al., 2020) (Akindolire et al., 2022).

Para garantizar la estabilidad del proceso de DA, se deben tener en cuenta factores asociados, entre otros, a condiciones ambientales, del sustrato y el inóculo (temperatura, pH, concentración de nutrientes en el medio, relación Sustrato-Inóculo (S/I), etc.). Adicionalmente, la cantidad y calidad del inóculo es un factor que puede variar por su origen y la adaptación de las bacterias al sustrato a degradar (Raposo et al., 2012).

Estudios previos han demostrado que la disminución de la temperatura tiene un efecto perjudicial sobre varios parámetros operativos de DA e impone un fuerte impacto negativo sobre el crecimiento microbiano y la actividad enzimática, lo que se ve reflejado en las tasas máximas de utilización del

sustrato, de crecimiento específico y de producción de biogás (Akindolire et al., 2022; Kettunen & Rintala, 1997); lo contrario ocurre a medida que las temperaturas operativas aumentan. Sin embargo, los costos de producción del proceso también se ven afectados, requiriendo mayor inversión económica para alcanzar altas temperaturas en el proceso (Dev et al., 2019), lo que puede significar una DA poco accesible para comunidades económicamente vulnerables.

Se ha encontrado que las tasas de hidrólisis disminuyen a medida que baja la temperatura y los sólidos en suspensión pueden acumularse posteriormente en los reactores de DA (Elmitwalli et al., 2001; Singh & Viraraghavan 2002; Lew et al., 2003; Keating et al., 2018). En consecuencia, la temperatura es un aspecto de gran interés y alcanzar altas tasas de producción de biogás a temperaturas inferiores a 20°C, sigue siendo un desafío tecnológico. Además, a bajas temperaturas, la comunidad microbiana del inóculo juega un papel muy importante (Petropoulos et al., 2017) ya que la tasa de degradabilidad se ve afectada.

Los microorganismos psicrófilos, sin embargo, han desarrollado una variedad de características adaptativas genotípicas y fenotípicas que les han permitido superar las barreras asociadas con los ambientes fríos. En consecuencia, mucha atención se ha centrado en los microorganismos psicrófilos y sus metabolitos como las enzimas, como herramientas de aumento biológico para la DAP debido a sus importantes beneficios económicos y ambientales. Sin embargo, tales capacidades de bioaugmentación, inherentes a los psicrófilos, no se aprovechan por completo, ya que pocos estudios se han centrado en su impacto en la DAP (Akindolire et al., 2022).

Estudios como los de Raposo et al., (2006), Angelidaki et al., (2009) y Holliger et al., (2016) indican que la calidad del inóculo está relacionada con factores como procedencia, concentración, actividad metanogénica específica (AME), condiciones de preincubación, aclimatación, adaptación y almacenamiento (Parra-Orobio et al., 2018). Si bien la idea de adaptación/aclimatación es extensamente aceptada en la comunidad científica, existen pocos antecedentes en el uso de inóculos adaptados, utilizándose comúnmente inóculos no adaptados en el ensayo de PBM (Raposo et al., 2011). Adicionalmente, autores como Owen et al., (1978), Aquino (2007) y Parra-Orobio et al., (2015) recomiendan definir para cada sustrato e inóculo la relación S/I expresado en términos de $gSV_{\text{sustrato}} \cdot gSV_{\text{inóculo}}^{-1}$ que garantice la mayor producción de metano.

Por lo anterior, en este proyecto se planteó evaluar la influencia de la temperatura sobre las actividades metabólicas de un inóculo psicrófilo, y estudiar, mediante ensayos de PBM, el efecto de la relación S/I y la temperatura de operación (con énfasis en condiciones psicrófilas) sobre el desempeño del proceso de DA- RA en términos de la producción de metano y del comportamiento cinético.

1. PLANTEAMIENTO Y JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA

La producción global RSU es aproximadamente 1.300 millones de toneladas por año y se estima que en 2.025 podría aumentar a 2,2 mil millones toneladas, con un 46% de contenido orgánico (Al Seadi et al., 2013). En el informe del Banco Mundial titulado “What a Waste” del año 2.018, se proyecta que la rápida urbanización, el crecimiento de la población y el desarrollo económico, harán que la cantidad de residuos a nivel mundial aumente 70 % en los próximos 30 años. En el informe del Banco Iberoamericano de Desarrollo “Hacia la valorización de residuos sólidos en América Latina y el Caribe” del 2.022, se estima que en América Latina y el Caribe (ALC) la población alcanzó los 630 millones de habitantes (PNUMA, 2016) y se generaron cerca de 231 millones de toneladas de RSU en 2016 (Kaza et al., 2018), lo cual equivale a una producción per cápita (PPC) promedio de 1 kilogramo por habitante por día.

En el año 2.016 en Colombia, el CONPES 3874 con el cual se estableció la más reciente Política Nacional para la Gestión Integral de Residuos Sólidos, estableció estrategias de minimización, reúso, reciclaje y aprovechamiento de residuos sólidos, superando el modelo lineal de consumo e incentivar la aplicación de los principios de economía circular en el país. Sin embargo, se reconoce que es un proceso que demanda tiempo, principalmente en aspectos de educación, cultura ciudadana, reconversión de procesos y tecnologías, innovación, entre otros, lo cual genera que a la fecha siga primando la disposición final, mayoritariamente en sitios de disposición final autorizados (97,80% de las toneladas correspondientes a 994 municipios), aunque todavía se encuentran 116 municipios disponiendo sus residuos sólidos en sitios como botaderos a cielo abierto y celdas transitorias (2,20%) (DNP, 2019).

La DA aparece como la alternativa más beneficiosa de manejo y valorización (aprovechamiento energético) de esa fracción orgánica que se produce (Komilis et al., 2017) en un mundo donde la globalización ha incrementado la demanda de energía renovable para compensar los combustibles fósiles y mitigar el cambio climático y problemas como la emisión de olores compuestos, cambios en la eutrofización o riesgos para la salud, entre otros (Dev et al., 2019). Sin embargo, la DA todavía presenta desafíos operativos que se ven afectados por parámetros como temperatura, relación S/I, tamaño de partícula, contenido de humedad, ausencia o presencia de pretratamiento, tasa de carga orgánica, tiempo de retención hidráulico, entre otros, lo cual limita el rendimiento de producción de metano (Komilis et al., 2017). Dentro de esos parámetros, aunque la temperatura es una variable ampliamente estudiada, es uno de los asp

ectos críticos en el rendimiento de la producción de biogás, ya que afecta la tasa de hidrólisis inicial de sustratos orgánicos (Mata Alvarez et al., 2000) y la cinética y estabilidad del proceso (Boulalagui et al., 2004; Kim et al., 2006; Labatut et al., 2014).

En la actualidad, la mayoría de los estudios sobre DA-RA hacen referencia principalmente a regímenes de temperatura mesofílicos (20 – 45°C) y termofílicos (45 – 60°C) (Casallas-Ojeda et al., 2020), mientras que se han realizado pocos estudios en el rango psicrófilico ($\leq 20^{\circ}\text{C}$) (Kothari et al., 2014; Kashyap et al., 2003), donde el sustrato es menos disponible y de más difícil degradación por parte de microorganismos; igualmente, en la mayoría de la literatura se discute la DAP con información limitada desde el aspecto ingenieril con respecto a la viabilidad de producción de biometano en regiones frías (Lettinga et al., 2001). Sin embargo, la DA realizada por debajo de 25°C puede jugar un papel importante en cuanto a las limitaciones tecno económicas (Muñoz, 2019).

Para evaluar los límites de temperatura de un proceso de DA se recomienda usar siempre la actividad específica de la biomasa (Petropoulos et al., 2017), donde la metanogénesis es menos sensible a la temperatura que la hidrólisis, la cual puede llegar a ser dos veces más sensible a la temperatura y es la fase crítica en la DA bajo condiciones psicrófilicas lo que conduce a una disminución en la producción de biogás (Dev et al., 2019).

Europa ha sido pionera en la DA-RA, y a partir de 2.010 hubo más de 200 plantas en operación; que han sido fomentadas por las políticas de subsidio público (feed-in-tariff). Sin embargo, debido al deseo de maximizar la producción de biogás/energía, estas plantas de tratamiento se caracterizan por altos costos de implementación y operación, ya que la mayoría de ellas incluyen sistemas de pretratamiento, calentamiento activo y mezcla. El enfoque tecnológico europeo de DA-RA ha demostrado una alta eficiencia, pero también una alta dependencia de los subsidios para ser competitivo en costos (Fagbohunge et al., 2015). Estas soluciones son sofisticadas, costosas y, por lo tanto, no son favorables para su implementación en los países en desarrollo (Martí-Herrero et al., 2019).

El ajuste óptimo de la temperatura del digestor, considerando tanto el rendimiento potencial de biogás como el requerimiento de calor, es uno de los factores más críticos para la viabilidad económica del funcionamiento del digestor en países templados, ya que la mayoría de las temperaturas anuales están por debajo de la condición mesofílica (Chae et al., 2022). Sin embargo, cuando la gestión de residuos se considera la principal preocupación, el uso de soluciones económicas basadas en digestores anaerobios simples puede ser de interés, primando el factor ambiental (Muñoz, 2019). En la Tabla 1 se presenta una tabla comparativa de la relación costo/beneficio de la DA de aguas residuales provenientes de Reactor UASB a diferentes rangos de temperatura.

Tabla 1. Comparación de la DA psicrófilica, mesofílica y termofílica en términos económicos, demanda y pérdida de calor y tasa de producción de metano

Parámetro	DA Psicrófilica	DA Mesofílica	DA Termofílica
Costo Capital (USD)	341,773	435,544	480,643
Costo Operacional (USD y ⁻¹)	127,726	177,518	207,586
Demanda de Calor (kWh y ⁻¹)	0	83,806	470,361
Pérdida de Calor (kWh y ⁻¹)	0	22,228	73,060
Producción de Metano (m ³ kg ⁻¹ VS)	0,42	0,45	0,46

(Dev et al., 2019)

Para viabilizar la DAP, es necesario identificar otras variables y aspectos que afectan el proceso, ya sea positiva o negativamente. Dentro de los aspectos más estudiados se incluye la tasa de Carga Orgánica, seguido del sustrato y los factores ambientales. Por último, está el inóculo, que se asocia principalmente a variables como la mezcla de inóculos, la relación S/I y el pretratamiento, siendo este último uno de los más estudiados (Casallas-Ojeda et al., 2020).

Aunque la aclimatación no es un proceso obligatorio (Raposo et al., 2012), la procedencia del inóculo y la afinidad con el nuevo sustrato son aspectos importantes a tener en cuenta para garantizar tanto menores tiempos de arranque de los reactores, como mayor actividad biológica y por lo tanto mayor producción de metano (Cárdenas et al., 2016). En la DA, los inóculos más empleados han sido los lodos anaerobios procedentes del tratamiento de agua residual doméstica, debido principalmente a su amplia disponibilidad; también se reporta el uso de otros inóculos como estiércol de animales, lodos de plantas de tratamiento de residuos agrícolas, lodos de digestor de excremento de pollo y de la degradación del estiércol porcino y bovino (Lucia Neves et al., 2010); en su mayoría evaluados en su mayoría bajo condiciones mesofílicas y/o termofílicas.

No obstante, a pesar del enorme potencial de la DAP, su implementación a gran escala aún se ve obstaculizada por la escasez de información disponible sobre su viabilidad y estrategias de optimización de procesos (Akindolire et al., 2022). Las técnicas de mejora incluyen el pretratamiento del sustrato mediante estrategias como el ultrasonido (McDermott BL et al., 2001), la mejora del diseño del biorreactor, de las condiciones operativas y de la eficiencia de los procesos microbianos (Ciotola RJ et al., 2014).

Si bien la mayoría de los estudios se han centrado en la configuración del proceso y el diseño del digestor; entre los aspectos menos investigados se encuentra el uso de la manipulación microbiana para mejorar el proceso de degradación (Zhang J et al., 2015; Rózylo K et al., 2015) y también variables como el origen del inóculo y relación S/I que influyen en el proceso a bajas temperaturas.

Adicionalmente, de acuerdo con autores como Casallas-Ojeda et al., (2020); Kumar et al., (2016) y Pati et al., (2019) solo el 18% de los estudios sobre DA evalúan el efecto simultáneo de dos o más variables, lo cual reduce la posibilidad de conocer la interacción de múltiples variables sobre el comportamiento del proceso. Por lo tanto, en este estudio se hizo énfasis en las actividades metabólicas y la evaluación simultánea de la influencia de la relación S/I y la temperatura de operación en la DA-RA con un inóculo psicrófilico, lo anterior con el objetivo de lograr un proceso que no requiera de grandes gastos energéticos para alcanzar producción de biogás, ni grandes tiempos de aclimatación de inóculos y permita tratar los RA en zonas de temperaturas bajas.

2. ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN

Desarrollar e implementar sistemas de energía renovable como la producción de biogás a partir de recursos de biomasa, aportará el aumento de la seguridad del suministro energético nacional y disminuirá la dependencia de combustibles importados (Saravanan et al., 2014).

La DA se ha aplicado a varios residuos; los estudios reportan resultados satisfactorios, incluso a escala industrial. Sin embargo, la mayoría de los estudios informan que la operación de la planta DA se lleva a cabo a temperaturas mesofílicas y termofílicas (Dhaked et al., 2010). Independientemente del aumento en la complejidad de la operación, ambos sistemas están limitados por la cantidad de energía requerida para calentar los biorreactores a fin de mantener las altas temperaturas. Además, el aumento de la temperatura hace que el proceso sea más sensible a los cambios ambientales y la inhibición se produce a bajas concentraciones químicas (Rajagopal et al., 2017). En este punto, la DAP puede considerarse como una forma económica y factible de tratar los residuos orgánicos.

La influencia del inóculo en las pruebas de lotes depende principalmente de seis factores: origen / fuente, concentración, actividad, preincubación, aclimatación / adaptación y almacenamiento (Raposo et al., 2012). Aumentar la cantidad relativa de inóculo hará el proceso estable y capaz de alcanzar mayores rendimientos de metano, pero también puede ser menos competitivo en términos de costos de inversión debido al necesario aumento del tamaño del digestor (Chanakya et al., 1997; Di Maria et al., 2012). Autores como Pognani et al., (2015) y Qian et al., (2017) mencionan que la inoculación del reactor con inóculo sólido conduce a una pérdida de la capacidad del volumen del reactor, mientras que el uso de inóculo líquido requiere un tanque de filtrado con aumento de tamaño. Con ambos tipos de inoculación (líquida y sólida) se han alcanzado rendimientos de metano comparables (Quian et al., 2017; Rico et al., 2020).

Las bacterias psicrófilas toleran concentraciones más altas de compuestos inhibidores que las *arqueas* meso o termofílicas. Además, las variaciones de temperatura tienen un efecto menor sobre el rendimiento de metano que otros grupos. Sin embargo, el bajo rendimiento de metano aún representa una barrera importante para seleccionar temperaturas psicrófilas cuando el objetivo principal es la producción de energía, que aunque se ha mejorado en base a diferentes tecnologías como biorreactores anaeróbicos de membrana o digestores anaeróbicos bioelectroquímicos (Park et al., 2018), queda información limitada sobre el funcionamiento satisfactorio de estos digestores cargados con BOM a temperaturas inferiores a 25°C, a escala piloto (Muñoz, 2019).

En Colombia, se encuentran representados la mayor parte de los climas; dada sus condiciones geográficas, los climas templados ocupan las laderas de las tres cordilleras, hasta una elevación de 1.800 a 1.900 msnm y los climas fríos ocupan los niveles superiores a los 2.000 msnm en las tres cordilleras y en la Sierra Nevada de Santa Marta. Los climas secos son típicos del altiplano cundiboyacense y sectores de Nariño. Los más húmedos aparecen en las laderas de la cordillera

oriental, especialmente en el departamento de Cundinamarca. Por esta razón, el 19% de la población, está ubicada en regiones con temperaturas iguales o menores a 15-20°C (DANE, 2017). Por lo tanto, la DAP podría ser más sustentable para estas regiones que las termofílicas o mesofílicas, si esto fuese demostrado científicamente (Dev et al., 2019).

Durante la última década se han realizado ensayos de DAP y a escala de laboratorio para una variedad de flujos de residuos (Connaughton et al., 2006; Enright et al., 2009; McKeown et al., 2012; Gouveia et al., 2015). Sin embargo, a pesar de las ventajas económicas y ambientales, la implementación a gran escala aún no se ha materializado. Adicionalmente, muchos estudios exitosos de DAP se han centrado en aguas residuales poco complejas y, como tales, no abordan el tema de la hidrólisis de sólidos (Petropoulos et al., 2017). Se ha informado que las tasas de hidrólisis disminuyen a medida que bajan las temperaturas y los sólidos en suspensión pueden acumularse posteriormente en los reactores de DA, lo que provoca una reducción en la eficiencia del tratamiento y el lavado de biomasa (Elmitwalli et al., 2001 ; Singh & Viraraghavan 2002 ; Lew et al., 2003 ; Keating et al., 2018).

Los investigadores han avanzado en el aislamiento y caracterización de los arqueas psicrotolerantes y metanogénicas psicofílicas en ambientes naturalmente fríos (Simankova et al., 2003; Zhang et al., 2008). Sin embargo, sólo unas pocas arqueas psicofílicas están en cultivo (Cavicchioli, 2006). Además, el surgimiento de la actividad metanogénica psicofílica, y el papel de los homólogos psicofílicos dentro de biorreactores, sigue sin estar claro. Los ensayos a baja temperatura se han llevado a cabo principalmente en temperaturas entre 10 y 18°C y generalmente por períodos < 600 días. Ninguna investigación hasta donde se conoce ha informado sobre la operación estable a largo plazo (> 1.200 días) de biorreactores anaeróbicos por debajo de 15°C. La operación estable de los biorreactores a temperaturas inferiores sería de gran interés en industrias y regiones donde se descargan aguas residuales frías, incluidas muchas embotelladoras y tiene el potencial de convertirse en un proceso económico y fácil de usar para tratar diferentes tipos de residuos como los residuos de alimentos y residuos de animales en condiciones climáticas del norte (Lo & Liao, 1986; Safley & Weterman, 1994; Sutter & Wellinger, 1987).

En la Tabla 2 se evidencian algunos estudios realizados bajo condiciones psicofílicas donde se evaluó la influencia del tipo de inóculo y la relación S/I con respecto a la producción de biogás.

Tabla 2. Experiencias de DA a temperaturas menores de 27°C empleando RA como sustrato

Sustrato	Tamaño del Reactor (mL)	Espacio de Cabeza (%)	Inóculo	Temperatura (°C)	Método de Medición de gas	S/I (gSV _{ss} ⁻¹ gSV _r ⁻¹)	PMB (mLCH ₄ .gSV ⁻¹)	Referencia
Ra de restaurantes y domésticos	2.060	—	Estiércol Bovino	18,4	Manométrico	—	0,39 m ³ CH ₄ . kg SV ⁻¹	(Safley & Westerman, 1992)
Ra de restaurantes y domésticos	8.000	—	Estiércol Porcino	10 15 20	Manométrico	—	10°C= 0,080 l/g DQO 15°C= 0,218 l/g DQO 20°C= 0,266 l/g DQO	(Massé et al., 2003)
Paja de trigo, puntas de remolacha azucarera ensiladas y cultivos de ley ensilados (cultivo de ley: una mezcla de pasto y trébol)	3.000	20 (600 mL)	Lodo de un digestor anaerobio de una PTAR municipal mesofílica	18	Manométrico	—	151	Bohn et al., (2007)
Acetato; propionato; Almidón.	125	20 (25 mL)	Lodo de un digestor anaerobio de una PTAR municipal mesofílica	4 8 15	Manométrico	—	4°C= 3,84 μmol CH ₄ d ⁻¹ 8°C= 3,54 μmol CH ₄ d ⁻¹ 15°C= 0,23 μmol CH ₄ d ⁻¹	(Bowen et al., 2014)
Estiércol Porcino	1200	20 (200 mL)	Lodo proveniente de un biodigestor de estiércol porcino	25	Manométrico	1,0	327	(Chae et al., 2008)
RA de restaurantes y domésticos	400	N.A	Lodo de la industria agrícola	15 30 50	Manométrico	0,25 0,50 0,75 1,0	15°C y S/I 0,75= 730 mg/L DQO	(P. Kumar et al., 2016)
Agua Residual Doméstica	605	33,8 (205 mL)	Inóculo A= Lodo Reactor UASB psicofílico Inóculo B= Lodo de digestor anaerobio de una PTAR municipal psicofílico Inóculo C= Lodo de digestor anaerobio CSTR mesofílica	15	Manométrico	0,5	Inóculo A= 0,262 m ³ CH ₄ . kg SV ⁻¹ Inóculo B= 0,222 m ³ CH ₄ . kg SV ⁻¹ Inóculo C= 0,185 m ³ CH ₄ . kg SV ⁻¹	(Dolejs et al., 2018)

RA de restaurantes y domésticos	5.000		Lodo proveniente de un biodigestor de estiércol porcino	20	Manométrico	0,5 1,5	S/I (1.5) =53.2 S/I (0.5) =162.8	(Muñoz et al., 2019)
Residuos de Frutas y vegetales	Escala real entre 10m ³ y 20m ³	20	Estiércol bovino	18.2 16.9 14.1 16.8	Manométrico	—	18,2°C= 120 16,9°C=110 14,1°C=120 16,8°C= 150	Martí-Herrero et al., (2019)
RA de restaurantes y domésticos	250	20 (600 mL) 35 (600 mL) 50 (600 mL)	Mezcla de lodo floculento y granular de AR (75:25)	20 30 50	Manométrico	1,0	20°C y espacio de cabeza 20%=47,96	Casallas-Ojeda et al., (2020)
RA de restaurantes y domésticos	250	20 (50mL)	Mezcla de lodo floculento y granular de AR (75:25)	20	Manométrico	1,0	47,96	(Díaz J & Yulieth A, 2021)
Celulosa	100	50 (50mL)	Estiércol porcino psicrófilico	15	Manométrico	1,0	0,40 Nm ³ CH ₄ kg ⁻¹ VS	(Martí-Herrero et al., 2022)
RA de restaurantes y domésticos	2.000	50 (400mL)	Estiércol porcino psicrófilico	13	Manométrico	—	42L CH ₄ /kg SV/día	(Lendormi et al. (2022)

Safley y Westerman (1992) encontraron rendimiento satisfactorio del digestor tanto en condiciones mesofílicas como psicrófilas. Sin embargo, observaron una reducción de la producción de biogás durante temperaturas por debajo a 25°C, encontrando que el rendimiento medio de metano (CH₄) era de 0,39 m³ CH₄ /kg de sólidos volátiles (SV) añadidos. Las concentraciones medias de biogás fueron 68,9% CH₄ y 28,3% dióxido de carbono (CO₂). La tasa de carga durante el período de estudio (31 de octubre de 1988 a 25 de marzo de 1991) fue de 0,12 kg SV/m³ -día.

Por ejemplo, Chae et al., (2008) realizaron pruebas de PBM a 25, 30 y 35°C para estiércol porcino, previa aclimatación a la temperatura de los inóculos. Se usó estiércol porcino digerido de un digestor anaeróbico mesófilo como semilla y se aclimató a 25, 30 y 35°C en forma semicontinua con estiércol porcino crudo durante cuatro semanas hasta alcanzar un estado estacionario. Pero la última prueba de PBM se realizó para las tres temperaturas solo durante 20 días. Los valores de PBM obtenidos a 25, 30 y 35°C fueron 0,327, 0,389 y 0,403 m³ CH₄ kg⁻¹SV, respectivamente.

Algunos estudios como el desarrollado por McKeown et al., (2009) en el tratamiento de una mezcla de ácidos grasos volátiles a 4°C después de una adaptación prolongada (> 1.200 días) no son una prueba definitiva de que la DA puede realizarse a bajas temperaturas ya que se requirió de mucho tiempo de adaptación; por lo contrario, muestran la necesidad de estudio de la selección de inóculos a emplear para evitar periodos de adaptación muy prolongados.

Bohn et al., (2007) indican que los conocimientos de DAP se basan principalmente en la digestión de estiércol y la degradación anaerobia de agua residual de baja o alta carga orgánica y para sustratos sólidos como los RA, puede ocurrir muy poca hidrólisis, lo que podría limitar el rendimiento de metano. Además, la AME de inóculos anaerobios mesofílicos también puede disminuir a bajas temperaturas; la reducción de 33°C a menos de 25°C en la aclimatación de inóculo mesofílico produjo una marcada disminución en el rendimiento de CH₄ de 150 a 50 ml de CH₄ gVS⁻¹; la hidrólisis del sustrato también disminuyó, especialmente cuando la temperatura estaba por debajo de 25°C. La temperatura más baja posible para un funcionamiento estable fue 18°C, cuando fue inferior a 16°C, la metanogénesis y la acidogénesis limitaron la velocidad.

Chae et al., (2008) también investigaron el efecto de la temperatura en la producción de biogás durante la DA empleando como inóculo estiércol porcino, mostrando que la disminución de la temperatura afecta directamente el rendimiento de metano; al pasar de 35°C a 30°C este se redujo un 3% mientras que se observó una reducción del 17,4% cuando la digestión se realizó a 25°C respecto a 35°C. Por último, obtuvieron rendimientos de metano de 327, 389 y 403 mL de CH₄/g de V agregado a 25, 30 y 35°C, respectivamente; con cargas de sustrato a partir del 5% al 20% (V/V).

Massé et al., (2003) evaluaron el rendimiento de un reactor anaerobio por lotes de secuenciación (ASBR) cuando hay una disminución de la temperatura en condiciones psicrófilas. Ejecutando un ASBR a 20°C durante 120 días, bajó la temperatura a 15°C y luego a 10°C. Los autores encontraron que la producción de biogás a 10 y 15°C fue 69,9 % y 18 % menor respecto a 20°C, pero las mediciones de producción de biogás solo duraron 14 días en cada caso y el contenido promedio de

metano en el biogás aumentó significativamente ($P < 0,05$) con la disminución de la temperatura, de $75,5 \% \pm 0,6 \%$ a 20°C a $78,7 \% \pm 2,1 \%$ y $81,3 \% \pm 0,3 \%$ a 15°C y 10°C , respectivamente.

El objetivo principal del estudio de Kumar et al., (2016) fue evaluar la relación S/I óptima y determinar la temperatura óptima para la digestión anaerobia de RA cargados con un contenido total de sólidos de 25 a 50 %. Se incubó en condiciones de temperaturas mesofílica ($30 \pm 2^{\circ}\text{C}$), termofílica ($50 \pm 2^{\circ}\text{C}$) y psicofílica ($15 \pm 2^{\circ}\text{C}$) durante 40, 30 y 60 días respectivamente, obteniendo la producción máxima de metano de 0,88, 0,62 y 0,73 LCH_4/g (DQO) respectivamente para una relación S/I 0,75. En este estudio, la máxima producción de biogás se obtuvo en condiciones mesofílicas, es decir, $30 \pm 2^{\circ}\text{C}$.

Casallas-Ojeda et al., (2020) evaluaron la incidencia simultánea de la temperatura (20 , 35 y 55°C) y espacio de cabeza (20 , 35 y 50%), que puede afectar el pH y por lo tanto el PBM; A temperaturas más altas y espacios de cabeza más pequeños, los fenómenos de inhibición se reducen por el consumo de alcalinidad del bicarbonato y la disminución del pH, lo que resulta en un mayor rendimiento del proceso. A diferencia del estudio anterior, en este caso las condiciones óptimas fueron bajo condiciones termofílicas a una temperatura de $48,9^{\circ}\text{C}$ y un espacio de cabeza del 20% .

Bowen et al., (2014) informaron que la biomasa mesofílica convencional de una planta a escala piloto que trataba aguas residuales domésticas en un clima templado, no se adaptó a las bajas temperaturas incluso después de casi 12 meses de incubación a temperaturas más bajas (4°C). Por tanto, la comunidad microbiana con que se inoculan los reactores juega un papel muy importante (Petropoulos et al., 2017), ya que las alteraciones en su estructura a temperaturas inferiores a 20°C , dan como resultado la inhibición de la DA de los sustratos orgánicos, lo que conduce a un menor rendimiento de biogás.

Lo anterior ocurre, cuando para la DAP no se emplean lodos aclimatados. Por ejemplo, Dolejs et al., (2018) demuestra que ejecutar una prueba de PBM psicofílico usando inóculo aclimatado a condiciones psicofílicas (15°C) (Inóculo A), tiene resultados de actividad similares con respecto a la prueba de PBM a 35°C usando inóculo a 35°C en el tratamiento de aguas residuales (Inóculo C). Cuando se utilizó el inóculo C para realizar la prueba de PBM a 15°C , la producción de biogás se redujo casi a la mitad con respecto a la producción de biogás obtenida con el inóculo aclimatado (Inóculo A).

Así mismo, Martí- Herrero et al., (2022) tuvo como objetivo arrojar luz sobre el establecimiento de una prueba de PBM psicofílico utilizando tres enfoques para la aclimatación del inóculo por debajo de 25°C . El primer ensayo se realizó con muestras de inóculo mesofílico (25°C) y psicofílico (15°C) estabilizadas para digerir la celulosa como sustrato. El segundo se basó en la aclimatación a la temperatura del inóculo solo por tiempo, desde 30 a 10°C y 20°C . El tercero estaba ejecutando un PBM consecutivo bajo temperaturas psicofílicas (23°C). Respecto al primer ensayo, el PBM psicofílico de celulosa que utilizó inóculo psicofílico estabilizado logró un resultado similar al obtenidos bajo condiciones mesófilas con inóculo mesófilo estabilizado. El segundo ensayo, arrojó que el tiempo de aclimatación del inóculo mejora los resultados el PBM frente a los no adaptados (de $0,47$ a $0,55 \text{ Nm}^3 \text{ CH}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ SV}$ a 20°C , de $0,31$ a $0,44 \text{ Nm}^3 \text{ CH}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ SV}$ a 10°C). En conclusión, el PBM

muestra mejores resultados en condiciones psicrófilicas cuando hay aclimatación del inóculo a emplear.

Muñoz et al., (2019), concluyen que a pesar del bajo rendimiento de metano, la DA-RA a temperatura psicrófila es una solución factible, especialmente a baja carga orgánica. Por lo tanto, puede ser utilizado en estrategias descentralizadas para mejorar la gestión de los RSU. Este modo de operación reduce los costos de instalación y la complejidad de la operación del reactor al mismo tiempo que disminuye la DQO del flujo de AR. Igualmente, investigaciones como la de O'Flaherty et al., (2006) concluyen que la DAP es una opción factible, aunque se necesita más investigación para la optimización del proceso (Baek & Pagilla, 2006 y Saady & Massé, 2015).

Díaz J & Yulieth A (2021), emplearon como sustrato los RA y en cuanto al inóculo una mezcla V/V 75/25 de lodo digerido de una Planta de Tratamiento de Agua Residual (PTAR) de origen municipal que opera con una mezcla completa en el rango mesófilico (35°C) (Cárdenas et al., 2016) y lodo de un reactor anaerobio de una central de abasto del Valle del Cauca que trata aguar residual procedente del sacrificio de ganado bovino y porcino (35°C) y lo llevaron a 20°C sin aclimatación para el PBM, reportando una producción de metano igual a $47,96 \pm 16,83$ mL CH₄ /g SV para la relación S/I igual a 1,0.

Lendormi et al., (2022) , probaron la capacidad de diferentes residuos para ser utilizados como inóculo y promover la digestión anaerobia de purines frescos de cerdo a 13°C con un tiempo de aclimatación igual a 104 días. Para ello, recogieron en granjas reales gallinaza almacenada, tres purines porcinos (uno fresco y dos almacenados a corto o largo tiempo) y un inóculo de una planta mesófila de DA que trata purines porcinos. Cada uno se usó como inóculo para poner en marcha reactores de laboratorio que se regularon a 13°C y se llenaron gradualmente mediante la adición semanal de un estiércol porcino fresco para imitar el llenado de los tanques de almacenamiento de estiércol. A continuación, se evaluó el inicio de la DA mediante el seguimiento de la producción de biogás, los intermediarios metabólicos de la DA y la dinámica de la comunidad microbiana. El inóculo más eficiente fue el estiércol de cerdo aclimatado durante 9 meses, obteniendo un rendimiento máximo de metano de 42L de CH₄/kg SV/día. La máxima producción de metano expresada a 13°C fue entre el 55% y el 68% del obtenido a 37°C.

Lo anterior demuestra que la DAP es una opción de valorización de RA que requiere de la atención del mundo académico y conocimiento ingenieril con el fin de mejorar el proceso. En la literatura se mencionan varias estrategias para mejorar la hidrólisis de la materia orgánica, que permiten aumentar la estabilidad del proceso y los rendimientos de metano. Estas estrategias incluyen la optimización de la relación S/I (Raposo et al., 2012), ajuste de pH (Cysneiros et al., 2008), reducción del tamaño de partícula y la aplicación de pretratamientos térmicos, químicos y enzimáticos o biológicos (Torres et al., 2008; Zhang et al., 2014), entre otros. La relación S/I y el régimen de temperatura son parámetros operativos críticos para la producción de metano (Gallipoli et al., 2020).

Aunque autores como Martí-Herrero et al., (2019) y Casallas-Ojeda et al., (2020) en el caso de Latinoamérica han trabajado la DAP, no se han desarrollado estudios donde se haya evaluado



directamente la influencia del tipo de inóculo y la relación S/I de manera simultánea sobre la producción de metano y la cinética del proceso bajo condiciones psicrófilas.

3. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1 Residuos Sólidos Municipales

Los residuos generados por los grupos humanos siempre existieron, pero su presencia, en tanto problema ambiental, fue aumentando con el tiempo. La problemática de los residuos se refiere explícitamente a dos fenómenos íntimamente relacionados: el primero relacionado con la expansión humana que se expresa en la ocupación, explotación y predominio de la especie en prácticamente todos los ecosistemas y rincones del planeta y en segundo lugar la lógica de producción-consumo industrial-capitalista (Le et al., 1991).

La dinámica de generación de residuos varía ampliamente entre países, llegando a ser más notoria la diferencia entre países desarrollados (PD) y en desarrollo (PeD), tanto en términos de cantidad como de calidad. Con relación a esto último, la diferencia principal está asociada al contenido de MO denominada comúnmente BOM, en Colombia el contenido de MO de los RSU es de cerca del 65 % de estos y es la causante de la generación de gases de efecto invernadero y de lixiviados en los rellenos sanitarios (Hoorweg y Bhada-Tata, 2012; Oviedo et al., 2012) (Cadavid-Rodríguez & Bolaños-Valencia, 2015).

Las alternativas limpias, la economía circular y temas relacionados con procesos amigables con el ambiente, han ido teniendo gran aceptación en Colombia, puesto que ya se han creado iniciativas para el establecimiento de políticas de energías renovables como El Plan Energético Nacional 2.006 – 2.025, la Estrategia Nacional de Economía Circular; adicionalmente, el país se comprometió a reducir el 20% de sus emisiones de GEI para el 2030 en el marco de la COP21 de París, 2015, entre otros lineamientos orientados a este tema. Así mismo, la responsabilidad social, el interés económico y la preservación de los recursos naturales son fundamentales en el proceso para un destino final sostenible (Ancu Sierra et al., 2018; Cadavid-Rodríguez & Bolaños-Valencia, 2015; Briceño et al., 2021).

Por lo anterior, se han venido implementando opciones de manejo que incluyen su aprovechamiento. Según el diagnóstico realizado por la Superintendencia de Servicios Públicos Domiciliarios, en 2007 había en el país 34 plantas de manejo de residuos sólidos (PMRS); de estas, 28 aprovechaban la fracción orgánica a través del compostaje (54%), lombricultura (15%) o ambos (31%) (Fernando et al., 2010). De igual manera, la DA es la tecnología más común para producir energía a partir de diferentes tipos de residuos entre los que se encuentran los urbanos, residuos de frutas y hortalizas, cárnicos, residuos agrícolas, macrófitas, y biomasa marina (Owen, 1979; Nallathambi, 1997; Madsen et al., 2011; Nizami et al., 2012; Hidaka et al., 2013), por el hecho de ser capaz de recuperar energía a partir de residuos sólidos orgánicos realizando al mismo tiempo la estabilización de estos. Sin embargo, en el país son pocas las investigaciones que se han desarrollado para la DA de residuos orgánicos frente a la producción científica de los PD; la mayoría de las investigaciones de las que se tiene registro sobre RA en Colombia son desarrolladas a escala de laboratorio, lo que ha limitado el entendimiento operacional de esta tecnología a mayor escala y la incursión en la producción de biogás de manera industrial aunque se presente gran potencial de acuerdo a los tipos de biomasa que se generan (Joe

& Marín, 2019) ; a la fecha no se encontraron publicaciones que reporten potenciales de metano de residuos orgánicos en Colombia, así como su posible aporte energético (Cadavid-Rodríguez & Bolaños-Valencia, 2015).

3.2 Bioresiduos (BOM)– Residuos de Alimentos (RA)

Los BOM son la MO de los RSU y denotan los materiales separados en la fuente y recolectados selectivamente antes de introducirlos a la cadena de manejo de RSU. Proviene de residuos de jardín y de alimentos de las viviendas y de establecimientos comerciales. Se excluyen residuos agrícolas y forestales, estiércoles animales, biosólidos u otros biodegradables (textiles, papel y madera). Dado su elevado contenido de MO tienen alto potencial de producción de CH_4 , mediante la DA; sin embargo, la predominancia de material lignocelulósico dificulta su hidrólisis (Parra-Orobio et al., 2019).

3.3 Digestión anaerobia

Se refiere a la digestión de materia orgánica biodegradable en digestato (aprox 5 %), y principalmente en biogás (aprox 95 %), conformado principalmente por CH_4 (40-70 %) y otros gases como CO_2 (30-50%), H_2O y H_2S ; el proceso involucra procesos metabólicos complejos que ocurren en pasos secuenciales que dependen de la actividad de al menos tres grupos distintos de microorganismos: i) bacterias fermentativas (o acidogénicas), ii) bacterias sintróficas (o acetogénicas) y iii) microorganismos metanogénicos (McInerney & Bryant, 1981 citado por Fan et al., (2020).

La mayoría de los microorganismos acidogénicos fermentan azúcares, aminoácidos y ácidos grasos resultantes de la hidrólisis de MO compleja (carbohidratos, lípidos, proteínas) y, en consecuencia, producen ácidos orgánicos (principalmente acético, propiónico y butírico), alcoholes (etanol), cetonas (acetona) CO_2 e H_2 .

Los microorganismos fermentativos son los primeros en actuar en la etapa secuencial de degradación del sustrato y son los que más se benefician energéticamente. Debido a esto, las bacterias acidogénicas tienen las tasas de crecimiento más altas del consorcio microbiano. De esta manera, la etapa acidogénica solo limitará el proceso si el material a degradar no se hidroliza fácilmente (Aquino & Chernicharo, 2005). Posteriormente se supone la conversión bacteriana de los compuestos intermedios en productos finales más simples, principalmente CH_4 y CO_2 . Las bacterias responsables de este proceso son anaerobias estrictas y se les conoce como metanogénicas formadoras de metano (Cardona & Galindres, 2007).

En general, la etapa limitante del proceso es la metanogénesis y, por tanto, debe ser controlado mediante el pH y la alcalinidad carbonácea (CaCO_3) para evitar acumulación de AGVs (Rodríguez, 2018). Sin embargo, en el caso de RSU como los BOM o RA, la etapa limitante es la hidrólisis, siendo necesaria la aplicación de pretratamientos como la reducción del tamaño de partículas, mediante estrategias como la trituración (Zhang C et al., 2014). La Figura 1 describe las etapas del proceso.

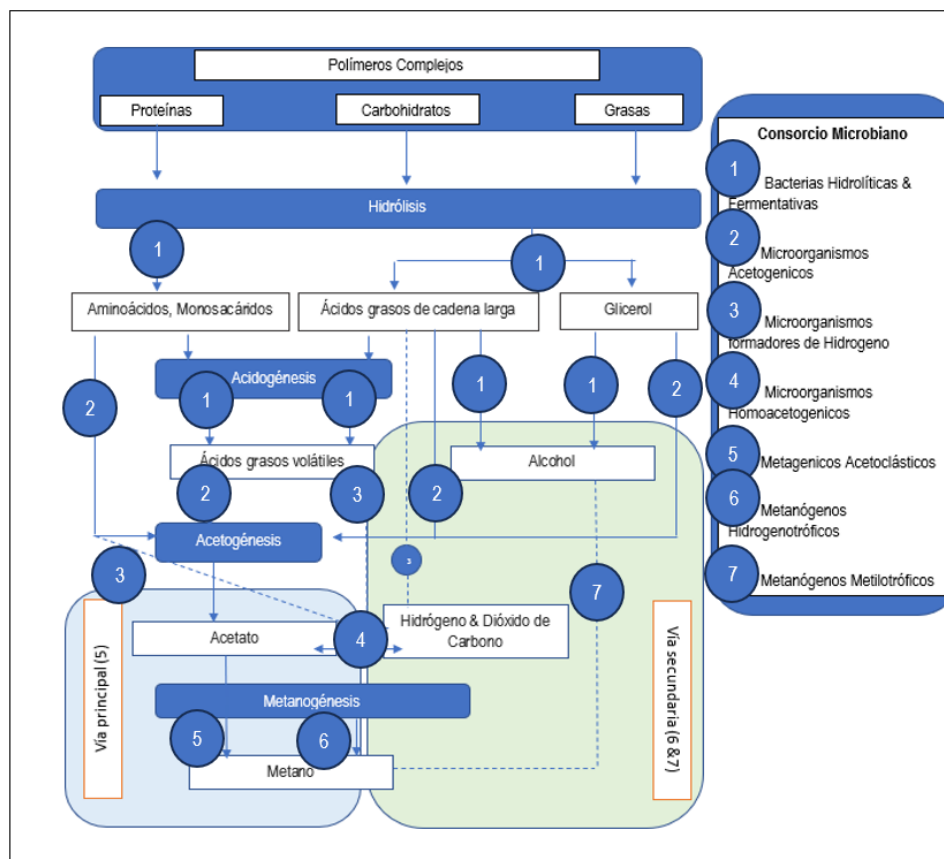


Figura 1. Principales subprocesos, vías y grupos microbianos implicados en la DA de la MO. Adaptado de Roopnarain et al., (2021) y Tiwari et al., (2021)

De acuerdo con la concentración a tratar en términos de materias primas o sólidos totales (ST), existen tres tipos de DA: húmeda (ST <10%), semiseca (ST = 15 – 20%) y seca (ST > 20%) (Di Maria et al., 2017; Nguyen et al., 2016). Comparado con el proceso tradicional de digestión húmeda, las ventajas de la digestión semiseca y seca incluyen un alto volumen de producción de CH_4 , baja demanda de energía para preservar el calor y calentamiento, bajo contenido de humedad en el residuo del biogás, y un procedimiento de tratamiento relativamente fácil, lo que ha hecho que la DA seca y semiseca recientemente hayan ganado más importancia en todo el mundo (Jang et al., 2018; Sukasem et al., 2017).

Las ventajas de la DA seca se han demostrado en condiciones mesófilas y termófilas para la MO de los RSU (15% ST) (Challen Urbanic et al., 2011) y para residuos agrícolas y estiércol de ganado (15-20% TS) (Ahn et al., 2010; Kusch et al., 2008; Di Maria & col. 2012 ; Massé & Saady, 2015) . Según la literatura (Scarlat et al., 2018), la mayoría de las plantas de biogás construidas recientemente en Europa utilizan la tecnología de digestión semiseca o seca.

Los pasos iniciales del proceso de DA siguen siendo los mismos bajo condiciones psicrófilas, mesófilas o termófilas. El aumento de la temperatura favorece la producción de hidrógeno (H_2) por

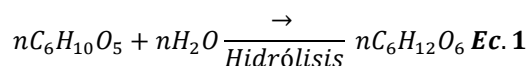
parte de las bacterias sintróficas (Fey A et al., 2000), lo que resulta en el predominio de la vía hidrogenotrófica (Deng Y et al., 2019), mientras que la metanogénesis acetoclástica es más importante tanto en condiciones mesofílicas como psicofílicas (Deng Y et al., 2019; Roopnarain A et al., 2021).

3.3.1 Actividades metabólicas

Para la caracterización de los inóculos, se emplea el análisis de las actividades metabólicas, es decir, actividad hidrolítica, actividad acidogénica y actividad metanogénica (Bernal & Orozco, 2019; Cáceres & Rincón, 2018; Muñoz et al., 2019). A continuación se describe cada una de ellas:

3.3.1.1 Actividad Hidrolítica (AH)

La AH es el primer paso necesario para la degradación anaerobia de sustratos orgánicos complejos, ya que la materia orgánica polimérica no puede ser utilizada directamente por los microorganismos a menos que se hidrolicen en compuestos solubles que puedan atravesar la pared celular. A continuación, en la ecuación 1 se describe la reacción de la fase de hidrólisis, durante la cual enzimas extracelulares son excretadas por bacterias anaerobias facultativas y estrictas, con el fin de transformar materiales orgánicos insolubles y compuestos de alta masa molecular en materiales orgánicos solubles para ser empleados como fuente de energía (Adekunle & Okolie 2015).

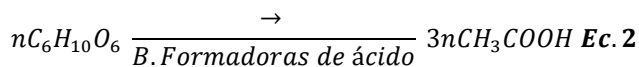


Uno de los factores que influyen en la hidrólisis es el tamaño de las partículas debido fundamentalmente a la disponibilidad de superficie para la adsorción de las enzimas hidrolíticas que se liberan al medio durante el metabolismo y muerte celular y la temperatura (Campaña et al., 2015), donde la etapa de hidrólisis tiende a verse negativamente afectada a medida que la temperatura disminuye.

La tasa de hidrólisis de varios residuos orgánicos depende en gran medida de las características de sustrato a degradar, así como de los parámetros operativos del proceso. Sustratos con estructuras complejas, como material lignocelulósico, son resistentes a la descomposición microbiana y difíciles de hidrolizar, por lo que tales sustratos requieren períodos más largos para la degradación. Además, la digestión de estos sustratos recalcitrantes puede dar lugar a la formación de subproductos tóxicos como derivados del furano, bioalcoholes y compuestos fenólicos que inhiben microorganismos y biocatalizadores enzimáticos (Kim et al., 2014).

3.3.1.2 Actividad Acidogénica (AA)

Durante la AA, los productos de la hidrólisis son metabolizados en el interior celular, transformando la materia orgánica disuelta en una gran variedad de productos de fermentación. Los productos finales son principalmente AGVs como acetato, propionato, butírico y succinato, además de pequeñas cantidades de otros subproductos importantes para etapas posteriores como ácido láctico y etanol, amoníaco, CO₂ e H₂. La cinética del proceso es relativamente rápida y el pH óptimo es bajo. Estos procesos son la base energética de las poblaciones no metanogénicas (Lübken et al., 2007). A continuación, se presenta la reacción de acidogénesis:



Una fuente adicional de acetato es la conversión homoacetogénica de CO_2 y también se forma H_2 en la fase acidogénica. La etapa final es típicamente acetoclástica.

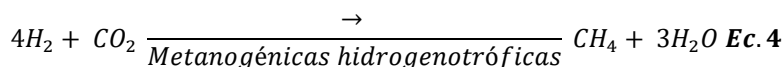
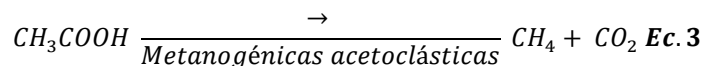
En la comunidad anaeróbica que se desarrolla a bajas temperaturas, el nivel elevado del ácido butírico puede ser una respuesta concreta de la comunidad a la baja actividad de metanógenos acetoclásticos e hidrogenotróficos (O Kotsyurbenko et al., 2005).

3.3.1.3 Actividad Metanogénica Específica (AME)

Durante la metanogénesis, por acción de las *arqueas* metanogénicas se produce el CH_4 , pudiendo ser generado por dos rutas: *i.* fermentando el ácido acético a CH_4 y CO_2 por *arqueas* acetoclásticas metanogénicas (responsables de generar aproximadamente el 70 % de CH_4 y *ii.* usando el CO_2 como fuente de carbono e hidrógeno (H_2) como agente reductor por acción de *arqueas* metanogénicas hidrogenotróficas (Izumi et al. 2010) (Corrales et al., 2015).

Por lo anterior, la AME puede definirse como la máxima capacidad de producción de CH_4 por un grupo de microorganismos anaerobios, realizada en condiciones controladas de laboratorio que permita la máxima actividad bioquímica de conversión del sustrato orgánico a CH_4 (Chernicharo, 2007).

Reacciones de metanogénesis:



3.4 Factores que afectan la Digestión Anaerobia

De acuerdo con autores como Casallas - Ojeda et al., (2020) el proceso de DA es afectado por diversos factores como se muestra en la Figura 2.

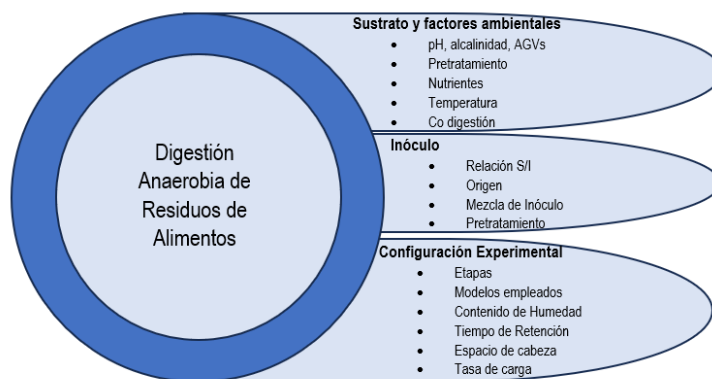


Figura 2. Factores y variables que influyen en el proceso de DA con RA y BOM
Fuente. Casallas - Ojeda et al., (2020)

3.4.1 pH

El pH está asociado a la ocurrencia de fenómenos de acidificación, que afectan negativamente el proceso (Torres & Pérez, 2008); Autores como Buenrostro et al., (2000) citado por (Parra Orobio et al., 2014) afirman que la DA es más eficiente a valores de pH cercanos a la neutralidad, sin embargo diferentes estudios sobre la influencia del pH, indican que no se puede generalizar, debido a aspectos, como las características fisicoquímicas del sustrato, que pueden aportar capacidad buffer (Dinamarca et al., 2003) y a que cada grupo microbiano implicado en la degradación anaerobia tiene un rango de pH óptimo específico (Angelidaki et al., 2003). Angelidaki et al., (2009) afirman que la DA, se puede dar en un pH entre 5,5 y 6,5 unidades, mientras que, otros autores afirman que a pH entre 8,2 a 8,4 unidades el proceso ocurre satisfactoriamente (Parra Orobio et al., 2014) .

3.4.2 Alcalinidad

El principal sistema químico que regula el pH de la DA es el sistema dióxido - bicarbonato. Esto se puede observar a través de la Ecuación 5 de equilibrio (Lorenzo & Obaya, 2006):

$$H^+ = K_1 \times \frac{(H_2CO_3)}{CO_3H^-} \text{ Ec. 5}$$

La concentración de ácido carbónico está relacionada con el porcentaje de CO₂ en el digestor. La concentración del anión bicarbonato es aproximadamente equivalente a la alcalinidad total (AT) para muchos tipos de agua residual que tengan baja concentración de AGVs.

Desde el punto de vista operacional, se debe mantener una alta alcalinidad bicarbonática (AB) en el sistema, para lograr tener una buena capacidad buffer frente a una acumulación excesiva de AGVs. La adición de sustancias que suplementen la AB, como el hidróxido de sodio, el bicarbonato de sodio y la cal, se debe evaluar en términos de aplicabilidad y economía (Chernicharo, 2007).

En los reactores anaerobios, el monitoreo de la AB es más importante que el seguimiento del pH. Esto se explica porque el pH está dado en escala logarítmica, es decir, que un cambio pequeño de esta variable implica el consumo de una gran cantidad de alcalinidad, reduciendo así la capacidad amortiguadora del medio (Chernicharo, 2007).

La menor utilización de AGVs por bacterias sintróficas y metanogénicas es el principal desafío para la digestión anaeróbica en ambientes fríos (Álvarez et al., 2008). La acumulación de AGV disminuye el pH, lo que conduce a la inhibición de los metanógenos neutrofilicos.

3.4.3 Capacidad Buffer

La capacidad Buffer o capacidad de amortiguación proporciona resistencia a cambios grandes y rápidos en pH o cuando se presenta acumulación de AGVs o nitrógeno amoniacal durante la DA y ayuda a mantener una actividad biológica óptima y un proceso estabilizado (Hu et al., 2004). Para su control, es recomendable la determinación de índices asociados a la AT y AB, ya que tienen influencia sobre la producción de CH₄ (Parra Orobio et al., 2016).

3.4.3.1 Índices

Los índices de alcalinidad (índice buffer, índice AI/AP e índice α) son de gran importancia para el control de los procesos anaerobios (Torres & Pérez, 2008). La medición de la relación entre la alcalinidad debida a los AGVs (AI) y la AT, es usualmente empleada para el control de la estabilidad del proceso anaerobio y se conoce como el índice buffer ($I\beta$) (Speece, 1996). Según Rojas (2004) su adecuada variación está entre 0,20 y 0,30, lo que indica que por lo menos el 60% de la AT tiene que estar en forma de AB, mientras que valores menores a 0,20 indican subalimentación y mayores a 0,35, principios de acidificación. Por otro lado, se encuentran otros índices que se utilizan para el control de la capacidad buffer del sistema, éstos son el índice α y el índice AI/AB. El primero corresponde a la relación entre la AB y la AT, recomendándose valores superiores a 0,5 durante el arranque (Pérez et al., 2008). El índice AI/AB, corresponde a la relación entre la alcalinidad debida a los AGVs y la alcalinidad bicarbonática. Cuando los valores de este índice son superiores a 0,30, indica que hay disturbios en el proceso. En las Ecuaciones 6 a 8 se pueden evidenciar los cálculos de cada uno de los índices:

$$IB = \frac{V_2}{V_1 + V_2} \text{ Ec. 6} \qquad \frac{AI}{AB} = \frac{V_2}{V_1} \text{ Ec. 7} \qquad \alpha = \frac{V_1}{V_1 + V_2} \text{ Ec. 8}$$

Donde:

V_1 = primer volumen titulado hasta un pH de 5,75und

V_2 =segundo volumen titulado hasta un pH de 4,3und

3.4.4 Nutrientes

Para un buen crecimiento de los microorganismos se debe tener los nutrientes necesarios, los cuales si no están presentes en el sustrato, deben compensarse agregando pequeñas cargas al sistema. Pueden dividirse en dos grupos: los macronutrientes (nitrógeno, fósforo y azufre), que se requieren en mayor proporción y los micronutrientes (Chernicharo, 2007). El nitrógeno en forma de amonio y el nitrógeno orgánico, son las principales formas usadas por los microorganismos. Respecto al Fósforo, los microorganismos lo necesitan específicamente como ortofosfato inorgánico, el cual es incorporado a las células por medio de enzimas llamadas fosfatasas. Además, usan el sulfuro como requerimiento de azufre, el cual es necesario para la síntesis de proteínas y se requiere en iguales cantidades que el Fósforo. Los requerimientos de micronutrientes son más difíciles de determinar. Elementos como hierro, cobalto, níquel y molibdeno son requeridos para el crecimiento y constitución de las células microbianas metanogénicas (Chernicharo, 2007).

La forma tradicional de analizar la presencia de niveles adecuados de nutrientes en el proceso de DA es a través de la relación carbono/nitrógeno (C/N), para la cual no existe un valor fijo establecido. Sin embargo, autores como Maraño et al., (2012) afirman que el valor más apropiado está entre 20 y 30. Cuando el C/N es bajo, se favorece el aumento de los niveles de NH_3 , haciendo inviable el proceso de DA. Ariunbaatar et al., (2015) informó un valor de 3,8 g/L para la concentración inhibitoria de NH_3 , mientras que Hansen et al., (2004) indicaron un valor de 1,1 g/L. Sin embargo, las condiciones óptimas dependen de las características del sustrato y del inóculo, así como de las condiciones de pH y

temperatura, por lo que este comportamiento debe investigarse y valores potencialmente inhibidores debe identificarse para diferentes escenarios.

Igualmente, el inóculo puede aportar nitrógeno para mejorar la relación C/N del sustrato rico en carbohidratos, además, éste puede introducir una mayor cantidad y diversidad de microorganismos en la etapa inicial del proceso anaerobio (Walkins et al., 2015). Consecuentemente, un adecuado inóculo puede acortar el tiempo de arranque en la digestión anaerobia, acelerar la biodegradación y elevar la producción de biogás (Quintero M, 2011).

3.4.5 Reactores y Tiempo de Retención Hidráulico

En términos generales, la mayoría de las plantas de DA son ya sea reactor de tanque agitado continuo (CSTR) o fujo ascendente anaeróbico reactor de mando de lodos (UASB), que se utiliza para material particulado y corrientes orgánicas solubles, respectivamente (Romero-Güiza et al., 2016). Las cuales se caracterizan porque en cada generación se reduce el tiempo de retención hidráulico (TRH) y mejora el contacto entre el inóculo y el sustrato, lo cual significa menores volúmenes de reactor, costos más bajos, sistemas más estables y de más fácil operación (Díaz-Báez, 2002). La Figura 3 presenta la Configuración de reactores para biometanización de residuos sólidos.

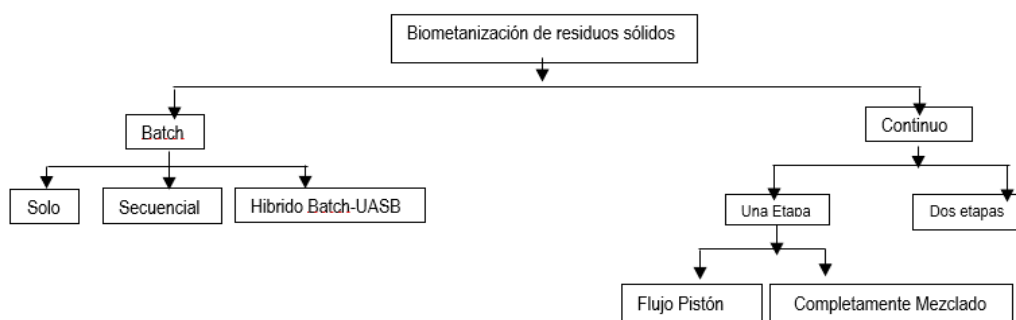


Figura 3. Configuración de reactores para biometanización de residuos sólidos. Adaptado de (Angelidaki et al., 2011)

El tiempo de retención hidráulico (TRH) es un parámetro muy importante, que depende del tipo de reactor utilizado. Un factor importante para considerar en la operación de un CSTR es el tiempo de retención de sólidos (TRS), que es igual al TRH, lo cual, en principio, permite el lavado de la biomasa que no puede crecer a la tasa de dilución aplicada, especialmente cuando se opera a una alta tasa de dilución (es decir, bajo TRH) (Olmos K, 2018). Se ha reportado que la disminución en el porcentaje de remoción de MO y la acumulación de ácidos AGVs en reactores UASB podría deberse al bajo tiempo de contacto entre el inóculo y el sustrato producto de la disminución en el TRH.

En los sistemas de mezcla completa el TRH coincide con el tiempo de retención celular (TRC), por lo que el tiempo de retención deberá ser suficientemente largo para permitir el desarrollo de la población bacteriana. La fracción de MO degradada aumenta al aumentar el TRH; sin embargo, la producción volumétrica de CH_4 (producción por unidad de reactor) disminuye, una vez superado el óptimo. Es por tanto necesario determinar para cada tipo de residuo y de digestor el tiempo de retención que optimiza el proceso (Díaz-Baez et al., 2002). En general, cuanto mayor es la duración del TRH, menor es la diferencia entre las velocidades de degradación a diferentes temperaturas (Fannin, 1987).

3.4.6 Espacio de cabeza

Este factor es especialmente importante cuando las mediciones de biogás se realizan mediante el método manométrico, que consiste en introducir la aguja de un manómetro a través de un tapón de goma y convertir la presión medida en volumen de biogás producido mediante una serie de ecuaciones (Cardenas-Cleves et al., 2016; Aquino, 2007; Mao et al., 2015).

De acuerdo con autores como Angelidaki et al., (2009), Holliger et al., (2016) y Valero et al., (2016), el espacio de cabeza puede inhibir el proceso por alteraciones en el pH ya que a mayor presión parcial de CO₂ en el espacio de cabeza, hay mayor presencia de carbono orgánico disuelto en solución, y en consecuencia, menor concentración de CO₂ en el biogás, por lo que bajo espacio de cabeza favorece el aumento de la presión parcial y la solubilización del CO₂. Además, debido a que el carbono orgánico es un componente amortiguador (es decir, contribuye al equilibrio del pH al evitar las disminuciones como consecuencia de los AGVs producidos por la descomposición de la MO), evita la inhibición del proceso causado por la muerte de microorganismos como Archaea metanogénico, que son responsables de la producción de metano y son muy sensibles a los cambios de pH (Ohemeng-Ntiamoah et al., 2019; Budzianowski, 2016; Hafner, S. D., & Astals, S. (2019). Casallas-Ojeda et al., 2020 mediante revisión encontró valores entre el 20 y el 50% del volumen útil de los reactores (Myszograj et al., 2018; Zhang, L., & Jahng, D. (2012)).

3.4.7 Inóculo

El uso de inóculos microbianos es un muy factor importante en el proceso de DA ya que aporta los microorganismos al reactor (preferiblemente anaerobios como un digestor anaerobio activo y estable que digiere MO compleja (Neves et al., 2004); de su calidad, origen y aclimatación dependerá en gran medida la tasa de producción de metano y el periodo de producción del mismo. Por lo que es importante elegir un inóculo adecuado de acuerdo con las características del sustrato a ser empleado, con el objetivo de así optimizar el proceso e incrementar la producción de CH₄ (Varnero et al., 2014; Nakasima-López et al., 2017).

Según Holliger et al., (2016), el inóculo no debe aportar más del 20% de la producción total de metano del reactor e idealmente debería tener un pH entre 7 – 8,5 unidades. Normalmente los inóculos se caracterizan en términos de parámetros fisicoquímicos que permitan identificar el contenido de biomasa activa (SV/ST) y de análisis de la actividad metanogénica específica (AME) para determinar su potencial de producción de CH₄ (Torres P, 2010).

Los tipos de inóculos más comúnmente empleados son i. lodos del digestor de las estaciones depuradoras de agua residual (EDAR), ii. lodos de plantas de tratamiento de residuos agrícolas, iii. lodos de residuos biológicos (Koch et al., 2019), iv. lodo de digestores de excrementos de pollo y v. lodo de degradación de estiércol porcino y bovino Mirmohamadsadeghi et al., 2019).

La DA-RA está influenciada por diferentes factores, en donde la relación S/I es un parámetro significativo que se basa en los SV y se encarga de dar origen a una población óptima de microorganismos en el proceso de DA (Mirmohamadsadeghi et al., 2019) llegando a ser considerado por autores como Ma,X et al., (2019) como el factor más importante para mejorar el rendimiento de

metano y la estabilidad del digestor; los valores de esta relación dependen de las características del sustrato y del inóculo, además del tipo de unidades usadas para su determinación, las cuales se pueden expresar en $\text{gDQO}_{\text{sustrato}} \cdot \text{gSV}_{\text{inóculo}}^{-1}$ y $\text{gSV}_{\text{sustrato}} \cdot \text{gSV}_{\text{inóculo}}^{-1}$, esta última considerada la más utilizada (Angelidaki & Sanders, 2004; Corsino et al., 2021).

Autores como Raposo et al., (2006) recomiendan emplear proporciones entre 0,5 y 1,0 $\text{gVS}_{\text{sustrato}} \cdot \text{gVS}_{\text{inóculo}}^{-1}$. La relación S/I propuesta por Owen y col. (1987) es aproximadamente 1,0 $\text{gVS}_{\text{sustrato}} \cdot \text{gVS}_{\text{inóculo}}^{-1}$. En cuanto a la concentración de inóculo, algunos autores recomiendan un rango óptimo entre 2 y 5 g SVL^{-1} de lodo cuando el ensayo se lleva a cabo en agitación y con acetato como sustrato. Si el ensayo se conduce sin agitación, la concentración de lodo debe ser alrededor de 2 g SVL^{-1} para reducir los problemas de difusión del sustrato (Aquino et al., 2007).

En la DA mesofílica cuando se utilizan proporciones S/I bajas la producción elevada de metano puede verse comprometida y adicionalmente, una gran cantidad de inóculo aumentará la incertidumbre sobre los resultados (Hansen et al., 2004). En proporciones más altas, la tasa de producción de metano comienza a declinar, aunque de manera constante, lo que, según autores como Hansen et al., (2004), puede deberse a la acumulación de AGVs y la baja capacidad buffer de los reactores.

Alteraciones en la estructura de la comunidad microbiana a temperaturas por debajo de 20°C se producen por la inhibición de la DA de sustratos orgánicos, lo que conduce a un menor rendimiento de biogás (Mao et al., 2015). Chowdhury et al., (2019) indican que las *arqueas* metanogénicas son más sensibles a temperaturas más bajas que otros microorganismos presentes en un digestor anaeróbico. A medida que disminuye la temperatura, aumenta la energía libre de Gibbs de degradación de AGVs, lo que conduce a una mayor sensibilidad de las bacterias sintróficas a las bajas temperaturas; existen disponibles diferentes metodologías avanzadas que permiten evaluar los consorcios microbianos en los inóculos anaeróbicos: hibridación fluorescente in situ (FISH, por sus siglas en inglés), electroforesis en gel de gradiente desnaturante (DGGE, por sus siglas en inglés), reacción en cadena de polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés), entre las más importantes (Khan et al., 2018; Bres et al., 2022).

También se ha informado de que una disminución en la relación de metanogénesis hidrogenotrófica/acetoclástica a temperaturas por debajo de 15°C aumenta la tasa de metanogénesis acetoclástica, debido al aumento de las bacterias que pueden sintetizar acetato (homoacetógenas) en ambientes fríos. La diversa actividad metabólica permite a las bacterias homoacetogénicas competir con los metanógenos fermentativos e hidrogenotróficos por sustratos comunes a bajas temperaturas. El predominio de las primeras da como resultado la degradación de los sustratos orgánicos, lo que conduce a concentraciones más altas de acetato que el H_2 u otros productos metabólicos intermedios, lo que es importante ya que las altas concentraciones de acetato regulan la vía de producción de metano a través de la metanogénesis acetoclástica (Scherer P et al., 2009).

Aunque la aclimatación no es un proceso obligatorio (Raposo et al., 2012), la procedencia del inóculo y la afinidad con el nuevo sustrato son aspectos importantes a tener en cuenta para garantizar tanto menores tiempos de arranque de los reactores, como mayor actividad biológica y por lo tanto mayor producción de metano (Cárdenas et al., 2016).

Las actividades psicrófilas más elevadas deben obtenerse a partir de inóculos adaptados y aclimatados al frío, ya que el PBM está limitado a la adaptación del inóculo a las condiciones del ensayo (González- Martínez, 2021). Solo los microorganismos adaptados al frío (psicrófilos) pueden llevar a cabo sus actividades metabólicas constantemente a temperaturas por debajo de 20 °C a través de mecanismos en evolución para hacer frente a las limitaciones termodinámicas que lo acompañan. Los microorganismos adaptados logran el éxito fisiológico y ecológico en ambientes fríos basado en características únicas en su membrana, proteínas, lípidos y respuestas genéticas a los cambios térmicos. (p. ej., proteasas, lipasas y celulasas) en microorganismos psicrófilos y psicrotolerantes hacen posibles aplicaciones biotecnológicas como la DAP (Dev et al., 2019).

En un estudio pionero, Xing et al., (2010) utilizaron inóculo adaptado al frío (sedimento del lago) e informaron un tratamiento exitoso y tasas específicas de producción de metano en un reactor que operaba a 15°C. Más recientemente, Keating et al. (2018) reportaron haber empleado una semilla derivada originalmente de un lodo mesófilo (operado a 32°C) para tratar con éxito un agua residual simulada en un reactor de membrana a escala de banco a solo 6°C. Lamentablemente, en este estudio no se informaron tasas específicas.

Para que un inóculo sea considerado de buena calidad y pueda utilizarse en un ensayo de PBM, Holliger et al., (2016) recomiendan los siguientes valores de parámetros operacionales (Tabla 3).

Tabla 3. Características recomendadas del inóculo

Parámetro	Unidad	Rango recomendado
Actividad Metanogénica Específica (AME)	gDQO/gSSV.d	>0,1
pH	und	7-8,5
AGVs	gCH ₃ COOH/L	<1
N-NH ₄	gN-NH ₄ /L	<2,5
Alcalinidad	GCaCO ₃ /L	>1,5
Concentración	gSV/L	15-20

Fuente. Holliger et al., (2016)

3.4.8 Temperatura

Se lleva a cabo generalmente en dos rangos de temperatura 25 - 40°C (rango mesófilico) y 44 - 57°C (rango termófilico) (Igoni et al., 2008) considerándose temperaturas óptimas de 35 y 55°C, respectivamente para cada uno de los rangos (Juanga, 2005), afectando principalmente las tasas de crecimiento de bacterias (Figura 4) y también parámetros físicos tales como tensión superficial, viscosidad y propiedades de transferencia de masa (Angelidaki et al., 2003).

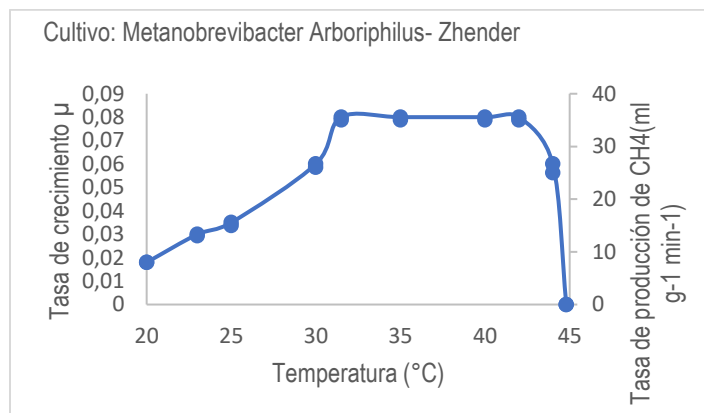


Figura 4. Efecto de la Temperatura sobre la tasa de crecimiento (Adaptado de Angelidaki et al., 2003)

Además, la temperatura tiene un fuerte efecto sobre la concentración de amoníaco libre (NH_3), el inhibidor real en lugar del amonio NH_4^+ (Hashimoto, 1986); la concentración de NH_3 aumenta con el aumento de la temperatura; por lo tanto, se requiere una cuidadosa consideración al aumentar la temperatura de digestión con el fin de mejorar el rendimiento de metano debido al aumento simultáneo de la inhibición por NH_3 (Chae KJ et al., 2008).

Así mismo, a bajos rangos psicrófilicos, se pueden llegar a presentar tasas máximas de metano al igual que en rangos de temperatura mesófilicas, pero la eficiencia y tasa de digestión disminuyen significativamente conforme lo hace la temperatura (Angelidaki et al., 2003; Rodríguez, 2011). A rangos de temperaturas bajas se han presentado menores problemas de estabilidad (Muñoz, 2018; Dev et al., 2019).

La viabilidad de la DAP no está únicamente relacionada con la configuración del proceso, sino también en gran medida con la tolerancia al frío de los consorcios microbianos. Los microorganismos adaptados al frío incluyen tanto los microorganismos psicrófilicos amantes del frío y los psicrótróficos adaptables al frío, ambos se han identificado como los principales impulsores de la DAP (Figura 5). Los psicrófilicos tienen una temperatura óptima de crecimiento a 15°C o menos, y una temperatura máxima de crecimiento del orden de 20°C o menos, mientras que los psicrótróficos muestran la capacidad de crecer a temperaturas inferiores a 15°C , pero sus tasas máximas de crecimiento son a temperaturas óptimas superiores a 20°C . Estos grupos de microorganismos que poseen capacidades de degradación mejoradas en condiciones de frío, así como sus enzimas activas en frío, presentan un enfoque prometedor para resolver problemas prácticos relacionados con la DAP y mejorar la eficiencia.

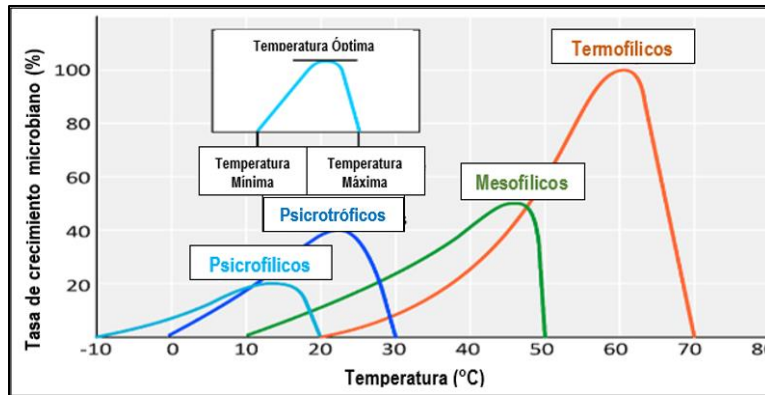


Figura 5. Tasa de crecimiento relativa de microorganismos psicrofílicos, psicrotróficos mesofílicos y microorganismos termofílicos en respuesta a la temperatura (adaptado de Wiegand J et al., 1990).

La temperatura puede cambiar libremente e influir en el interior de la célula microbiana y no está regulada por la comunidad microbiana. Esto implica que la diferencia en la adaptación a la temperatura de los microorganismos puede reorganizar considerablemente sus relaciones tróficas y afectar el funcionamiento de toda la comunidad. Las diferentes respuestas de los microorganismos a las bajas temperaturas pueden causar un desequilibrio. En consecuencia, al comprender el funcionamiento de una comunidad metanogénica a bajas temperaturas, es necesario saber cuáles partes de sus cadenas tróficas están alteradas, qué grupos de microorganismos están especialmente influenciados por las bajas temperaturas, y qué grupos de microorganismos se vuelven determinantes (O Kotsyurbenko et al., 2005).

A bajas temperaturas, la formación de interacciones sintróficas en la comunidad anaeróbica puede ser una etapa crítica para lograr el equilibrio metabólico y puede tardar mucho tiempo.

Así, a pesar de la existencia de algunas peculiaridades en la degradación de la MO en varios ecosistemas fríos, el funcionamiento de la comunidad anaeróbica microbiana puede ser representada por un esquema general (Figura 6). Donde se muestran los principales flujos de MO en una comunidad metanogénica que se desarrolla a baja temperatura, así como los principales grupos microbianos que se involucran en la degradación de esta materia; una característica específica de este esquema es la presencia indispensable de microorganismos homoacetogénicos, que no son tan importantes en las comunidades microbianas mesofílicas ni termofílicas y puede estar ausente en los esquemas simplificados que describen interacciones microbianas en dichas comunidades pero si cobran gran importancia en climas fríos. El cuello de botella en las interacciones tróficas es la degradación de AGVs sintróficos altamente impedida a baja temperatura.

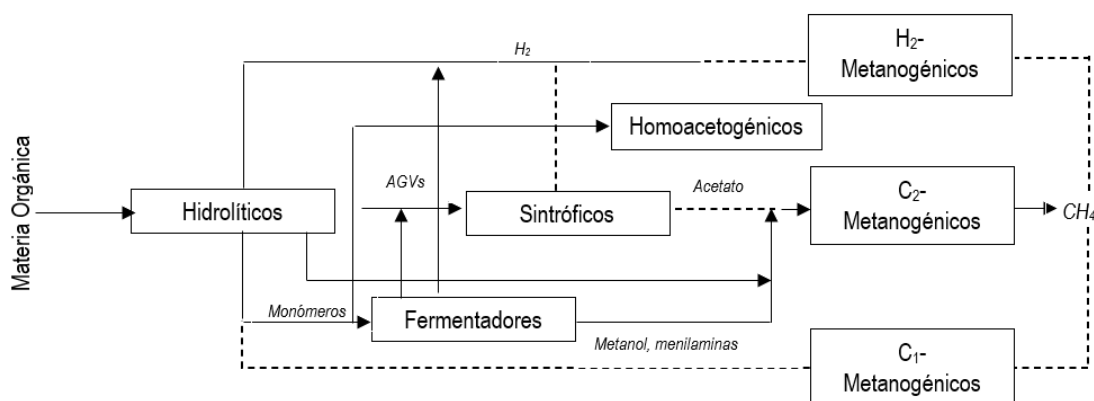


Figura 6. Esquema general de interacciones tróficas en la comunidad microbiana metanogénica que se desarrolla a baja temperatura. Flechas continuas: caminos principales; flechas punteadas: vía reducida.
Fuente. O Kotsyurbenko et al., (2005).

3.5 Potencial Bioquímico de metano (PBM)

Para la evaluación del potencial de aplicación de la DA de un determinado sustrato, se utilizan los ensayos de PBM, los cuales permiten determinar a escala de laboratorio el potencial de metano, la biodegradabilidad de un sustrato líquido o sólido (Angelidaki et al., 2009; Cárdenas-Cleves et al., 2016; Filer et al., 2019) y el efecto de diferentes estrategias para la optimización del proceso (Lesteur et al., 2010); sin embargo, dado que éste no es un método estandarizado, la comparación y validez de los resultados dependen de las condiciones aplicadas.

Probablemente uno de los protocolos estándar más utilizados para las pruebas de PBM es el publicado por el Grupo de Trabajo sobre Biodegradación, Actividad e Inhibición Anaeróbica (ABAI) de la Asociación Internacional del Grupo de Digestión Anaerobia (IWA) en 2009. En 2015, un grupo de 40 investigadores que trabajan constantemente con las pruebas de PBM, incluidos los miembros del grupo ABAI de la IWA, destacaron la necesidad de una mayor estandarización de las pruebas de PBM (Holliger et al., 2016) debido a la variabilidad de los resultados dependiendo de las configuraciones experimentales, análisis de datos y presentación (Ohemeng-Ntiamoah et al., 2019; Stanescu et al., 2019).

Los métodos experimentales convencionales para medir el PBM se basan típicamente en métodos volumétricos donde el biogás o metano es desplazado en un recipiente externo mientras se mantiene la presión constante, o mediciones de acumulación de presión dentro de un espacio de cabeza de botella con un volumen y temperatura fija. Estos métodos se conocen como volumétrico y manométrico, respectivamente (Raposo et al., 2012).

El método volumétrico puede presentar errores en la medición relacionados con la solubilidad del biogás en el líquido utilizado para el desplazamiento o evaporación del líquido para extensos periodos de medición (Walker et al., 2009) mientras que el método manométrico puede ser afectado por sobrepresiones, temperatura y relación de la fase líquida/gaseosa (Rozzi & Remigi, 2004), además, dependiendo de la sustancia desplazante o el uso o no de perlas de NaOH, requiere de un análisis

posterior por cromatografía de gases para conocer el contenido de metano (Cárdenas et al., 2016). La medición gravimétrica también es posible y tiene algunas ventajas sobre los enfoques convencionales, incluida la precisión incluso en presencia de fugas (Bres et al., 2022).

De acuerdo con Owen et al., (1979) la degradación completa de la MO biodegradable se lleva a cabo en aproximadamente 30 días. Si bien no se propone establecer una duración fija para el ensayo de PBM, debido a que este parámetro depende del tipo de sustrato empleado, se recomienda considerar algunos indicadores reportados como suspender el ensayo cuando la producción diaria de biogás es equivalente al 1% del volumen total producido hasta ese momento o cuando la presión al interior del reactor no varía en más de 5 HPa, en caso de emplear el método manométrico.

3.5.1 Determinación del PBM

El PBM se expresa generalmente en términos de $mLCH_4gSV^{-1}$ y se puede determinar de forma teórica ($PBM_{teórico}$) o experimental (PBM_{exp}). En el primer caso, el potencial metanogénico teórico puede ser determinado conociendo la composición elemental, la composición química o la DQO de la muestra. Estos métodos teóricos asumen que el sustrato es completamente degradado y que es despreciable el uso del sustrato por los microorganismos como fuente de energía (Jingura & Kamusoko, 2017). El contenido de biogás y el $PBM_{teórico}$ basado en la composición elemental (C, H, O, S y N) de una muestra puede ser calculado mediante la ecuación de Buswell & Muller, (1952) (Ecuación 9 y Ecuación 10 respectivamente):

$$PBM_{teórico}(mLCH_4gSV^{-1}) = C_aH_bO_c + \left(a - \frac{b}{4} - \frac{c}{2}\right)H_2O \rightarrow \left(\frac{a}{2} + \frac{b}{8} - \frac{c}{4}\right)CO_2 + \left(\frac{a}{2} + \frac{b}{8} - \frac{c}{4}\right)CH_4 \text{ Ec. 9}$$

$$PBM_{teórico}(mLCH_4gSV^{-1}) = \frac{\left(\frac{a}{2} + \frac{b}{8} - \frac{c}{4}\right) \times 22,4}{(12a + b + 16c)} \text{ Ec. 10}$$

Cuando las proteínas están presentes en el sustrato, el NH_3 es liberado y debe ser considerado para calcular el $PBM_{teórico}$, acorde a la ecuación de Boyle (Nielfa et al., 2015; Raposo et al ;2011; Tabatabaei & Ghanavati,2018) (Ecuaciones 11, 12 y 13):

$$C_aH_bO_cN_d + \left(a - \frac{b}{4} - \frac{c}{2} + \frac{3d}{4}\right)H_2O \rightarrow \left(\frac{a}{2} + \frac{b}{8} - \frac{c}{4} - \frac{3d}{8}\right)CH_4 + \left(\frac{a}{2} - \frac{b}{8} + \frac{c}{4} + \frac{3d}{8}\right)CO_2 + dNH_3 \text{ Ec. 11}$$

$$PBM_{teórico}(mLCH_4gSV^{-1}) = \frac{22,4 \times a}{(12a + b + 16c + 14d)} \text{ Ec. 12}$$

$$Metano (mLCH_4gSV^{-1}) = \frac{22,4 \times \left(\frac{4a + b - 2c - 3d}{8}\right) 1000}{12a + b + 16c + 14d} \text{ Ec. 13}$$

Donde:

n : Número de moles de carbono

a: Número de moles de hidrógeno

b: Número de moles de oxígeno

c: Número de moles de nitrógeno

22,4: Volumen (L) ocupado por un gas ideal a condiciones estándar de temperatura (273K) y presión (1atm)

1000: Factor de conversión del volumen de L a mL 12, 1, 16, 14:

Peso molecular del carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno, respectivamente

Para el cálculo de los coeficientes de Buswell se hace uso de la ecuación 14:

$$n, a, b, c = \frac{\sum M_s \times \%X}{2(PM)} \text{ Ec. 14}$$

Donde:

$\sum M_s \times \%X$: Sumatorio de la cantidad en peso para cada sustrato por el porcentaje correspondiente al elemento a calcular

PM: Peso molecular del elemento

La ecuación 13 considera que todo el contenido de materia orgánica presente en el sustrato es biodegradable y se convierte en CH₄, lo cual bajo condiciones reales no se cumple, ya que el sustrato tiene tanto materia biodegradable como no biodegradable y adicionalmente el CH₄ no es el único subproducto, debido a que parte de la materia orgánica se emplea para la formación de nueva biomasa y hay generación de CO₂. Por lo anterior, al calcular el valor del PBM_{teórico} se sobreestima la producción real que se obtiene de forma experimental; sin embargo, este valor proporciona una aproximación a la producción de CH₄ que podría obtenerse del sustrato (Cárdenas et al., 2016).

Otra forma de determinar el PBM_{teórico} es mediante la composición bioquímica de la muestra, determinando el porcentaje de proteínas, carbohidratos, lípidos y AGV y considerando los PBM_{teóricos} de estos componentes. En la Tabla 4, se muestran los PBM_{teóricos} de los sustratos más comunes.

Tabla 4. Rendimientos teóricos de los sustratos comúnmente empleados

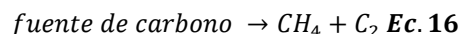
Sustrato	Composición	PBM _{teórico} (mLCH ₄ gSV ⁻¹)
Carbohidratos	(C ₆ H ₁₀ O ₅) _n	415
Proteínas	C ₅ H ₇ NO ₂	496
Lípidos	C ₅₇ H ₁₀₄ O ₆	1014
Etanol	C ₂ H ₆ O	730
Acetato	C ₂ H ₄ O ₂	373
Propionato	C ₃ H ₆ O ₂	530

Nota. El PBM_{teórico} está expresado en condiciones normales (1atm, 273 K) Fuente. (Beily et al., 2022)

El PBM_{teórico} de la muestra sustrato se calcula mediante la siguiente ecuación (Jingura & Kamusoko, 2017; Tabatabaei & Ghanavati, 2018):

$$PBM_{teórico} (mLCH_4 gSV^{-1}) = 415 (\%carbohidratos) + 496 (\%proteinas) + 1014 (\%lipidos) + 370 (AGV) \quad \text{Ec. 15}$$

Por último, el $PBM_{teórico}$ puede ser calculado conociendo la concentración de la DQO de la muestra. Este método asume que 1 mol de CH_4 requiere 2 moles de O_2 para oxidar el C a CO_2 con producción simultánea de un mol de H_2O . Cada gramo (g) de CH_4 equivale a 4g de DQO (Jingura & Kamusoko, 2017):



El volumen de CH_4 producido teóricamente en condiciones estándares de presión y temperatura (1atm, 273 K) por cada g de DQO puede ser calculado, a través de la siguiente expresión (Tabatabaei & Ghanavati, 2018):

$$V (mLCH_4) = \frac{n_{CH_4} \times R \times T}{P} \quad \text{Ec. 18}$$

$$n_{CH_4} = \frac{DQO (g)}{64 (\frac{g}{mol})} \quad \text{Ec. 19}$$

Por lo tanto:

$$1 g DQO = 350 mL CH_4 (1atm, 273K) \quad \text{Ec. 20}$$

Donde:

R : la constante de los gases ideales (82,0576 atm. mL/mol.K)

T : la temperatura (K)

P : la presión atmosférica (atm)

Conociendo la masa de DQO y de SV agregados al reactor puede calcularse el PBM teórico ($mLCH_4 gSV^{-1}$) de la muestra utilizando esta equivalencia.

En el caso del PBM experimental (PBM_{exp}), la prueba generalmente se realiza a condiciones controladas de temperatura (35 a 37°C) (Ohemeng-Ntiamoah & Datta, 2019), ya que se consideran las temperaturas óptimas para la DA (Akindolire et al., 2022). En consecuencia, en los digestores habitualmente instalados en los llamados PD y en las plantas industriales de biogás se imprimen grandes cantidades de energía térmica para alcanzar estas temperaturas (Wu et al., 2021); sin embargo, las tecnologías de biogás más difundidas en el mundo son los digestores de bajo costo (África: (Kemausuor et al., 2018, Mutungwazi et al., 2018; Latin América: Garfí et al., 2016; Martí-Herrero et al., 2014; Asia: Cheng et al., 2013) que se caracterizan por la ausencia de dispositivos de mezcla activa y/o calentamiento activo y funcionan en condiciones psicrófilas (Martí-Herrero, 2022).

En ese contexto, la prueba PBM_{exp} se establece principalmente para condiciones mesófilas y no existe un método adecuado para estimar los sustratos potenciales de metano a temperaturas más bajas y, por tanto, se ha establecido la importancia de la aclimatación a la temperatura y el TRH

apropiado; aun así, no existe un procedimiento estandarizado para adaptar el inóculo para ejecutar una prueba de PBM psicrófila. Si bien para la prueba de PBM mesófila existe un procedimiento adecuado para la preparación y el mantenimiento del inóculo metanogénico (Steinmetz et al., 2016), es necesario comprender las condiciones y singularidades para la preparación del inóculo y el desarrollo de una prueba de PBM en condiciones psicrófilas (Martí-Herrero, 2022).

En general, los métodos teóricos son predictivos (valor teórico) y, por tanto, deberán ser ajustados con el ensayo experimental del PBM (Nielfa et al., 2015). Existen varias formas propuestas para relacionar el PBM con la biodegradabilidad. Algunos consideran el índice de biodegradabilidad (IB), como la remoción de materia orgánica (calculada a través de la remoción de SV); otros lo relacionan con el $PBM_{teórico}$, calculado en base a la composición elemental, la composición química o la DQO de la muestra (Bres et al., 2022).

A continuación, el IB puede ser calculado como la relación del PBM_{exp} y el $PBM_{teórico}$ como se expresa en la Ecuación 21 (Sobotka et al., 1983).

$$IB (\%) = \frac{PBM_{exp} \times 100}{PBM_{teórico}} \text{ Ec. 21}$$

Este tipo de ensayo se lleva a cabo como factibilidad técnica y económica a priori de la implementación de plantas de biogás, permitiendo estimar el balance energético, condiciones operativas, el tamaño de los reactores y otros equipamientos (Holliger et al., 2016). Dentro de sus múltiples aplicaciones, el ensayo de PBM comúnmente se utiliza para: a- determinar la biodegradabilidad anaeróbica y la máxima producción de metano (o potencial energético) de residuos orgánicos; b- evaluar el efecto de la codigestión de diferentes sustratos y definir la relación óptima entre el sustrato y el cosustrato; c- determinar la cinética de degradación, que mediante el uso de diferentes modelos matemáticos, permite predecir el funcionamiento de digestores a escala real; d- determinar variables de diseño y parámetros operativos para el escalamiento (scaling up); e- Evaluar sustancias inhibitorias del proceso anaeróbico (Tabatabaei & Ghanavati, 2018).

3.6 Modelos Cinéticos

Los modelos cinéticos son una importante herramienta que se utiliza para evaluar aspectos de bioprocesos y optimización de sistemas biológicos. La DA es un bioproceso complejo y no lineal, lo cual ha llevado que en las últimas dos décadas se hayan utilizado diferentes enfoques para su modelación, identificación de parámetros y validación, con una gran variabilidad de los resultados reportados, incluso bajo las mismas condiciones operativas y ambientales (Rivera et al., 2009).

El modelo cinético más utilizado es el modelo de primer orden (PO), ya que permite establecer la tasa de degradación del sustrato en la DA, específicamente la tasa de hidrólisis; sin embargo, este modelo no puede evaluar algunos aspectos de gran importancia durante la puesta en marcha y operación (Angelidaki & Sanders, 2004; Hidalgo & Martín, 2014). Por tanto, la predicción del comportamiento de la biomasa y su relación con los subproductos de la DA, principalmente la producción de CH_4 , ha provocado la necesidad de aplicar otros modelos cinéticos que también evalúen otras características

importantes como la duración de la fase retardo, que es un parámetro importante en DA y está asociado con las etapas acidogénicas y acetogénicas (Aldin et al., 2011).

Otros modelos que se han aplicado en prueba por lotes son: la función de transferencia (FT), función logística (FL), Gompertz modificado (GM) y Gompertz Remodificado (GRM). La FT o curva de reacción se utiliza principalmente para fines de control y considera que cualquier proceso podría analizarse como un sistema que recibe entradas y generar resultados; La FL asume que la producción de metano es proporcional al tamaño de la población microbiana y al sustrato digerible (Li et al., 2012). Por último, el modelo de GM asume que la tasa de producción de metano es proporcional a la actividad microbiana, pero ésta proporcionalmente disminuye con el tiempo de retención de sólidos-TRS, que puede interpretarse como una pérdida de eficiencia en la tasa de conversión del sustrato a lo largo del tiempo (Donoso-Bravo et al., 2010); mientras que el modelo GMR se emplea cuando se observa inhibición en el proceso de DA asumiendo que la producción de metano refleja el crecimiento bacteriano; en la DA-RA es de gran utilidad, considerando la importante fracción lignocelulósica que pueden llegar a presentar este tipo de residuos (Maitan-Alfenas et al., 2015, Ravindran & Jaiswal, 2016; Plagiaccia et al., 2019).

Aunque el modelo de GM es uno de los modelos cinéticos más aplicados en el estudio de factores que afectan a la DA de RA, presenta varios inconvenientes que afectan la predicción de la producción de metano. Autores como Donoso-Bravo et al. (2010) reportan que este modelo tiende a dar valores ligeramente superiores sin dar una explicación biológica (negativo fase de retraso) y Li et al. (2011) argumentan que este modelo puede modificarse cuando la relación S/I es superior a 0,7 (Parra-Orobio et al., 2017).

La .

Tabla 5, presenta las ecuaciones y variables de diferentes modelos cinéticos aplicados en la DA de RA.

Tabla 5. Modelos cinéticos

Modelo	Ecuación		Referencia
Cinética de Primer Orden (PO)	$PBM = P_{max}(1 - e^{-kt})$ Ec. 22	PBM : Potencial Bioquímico de CH ₄ acumulado (mL CH ₄ g SV ⁻¹) P_{max} : PBM teórico del sustrato (RA) (mL CH ₄ g SV ⁻¹) e (Valor exponencial de 1) = 2,7183 R_{max} : Tasa máxima de producción de CH ₄ (mLCH ₄ g SV ⁻¹) t : Tiempo de ensayo (d) λ : Fase de Latencia (d) K : Constante de hidrólisis (d ⁻¹) K1 : Constante de hidrólisis de fracción de fácil degradación (d ⁻¹) K2 : Constante de hidrólisis de fracción de difícil degradación (d ⁻¹) X : Fracción fácilmente biodegradable del sustrato	Nielfa et al., (2015)
Modificada Gompertz (MG)	$PBM = P_{max} e \left\{ -e \left[\frac{R_{max} e}{P_{max}} (\lambda - t) + 1 \right] \right\}$ Ec. 23		Donoso-Bravo et al. (2010)
Función Logística (FL)	$PBM = \frac{P_{max}}{1 + e \left(\frac{4 R_{max} (\lambda - t)}{P_{max}} + 2 \right)}$ Ec. 24		
Función Transferencia (FT)	$PBM = P_{max} \left(1 - e \left(\frac{-R_{max} (\lambda - t)}{P_{max}} \right) \right)$ Ec. 25		
Gompertz ReModificado (GRM)	$PBM =$ $PBM_{01} e \left\{ -e \left[\frac{R_{1max} e^1}{PBM_{01}} (\lambda_1 - t) + 1 \right] \right\} +$ $PBM_{02} e \left\{ -e \left[\frac{R_{2max} e^1}{PBM_{02}} (\lambda_2 - t) + 1 \right] \right\}$ Ec. 26		Kim et al. (2003); Cadavid-Rodríguez et al. (2013)

Múltiples trabajos de investigación se han propuesto para efectuar seguimiento del comportamiento cinético de la producción del biogás, mediante estos modelos matemáticos, buscando comprender la cinética de reacciones bioquímicas enzimáticas desarrolladas por las bacterias anaeróbicas en las etapas de DA, sin embargo, estos trabajos se han centrado en condiciones mesofílicas y termofílicas y, aún se requiere la optimización del proceso a través de la modelación con métodos bien establecidos para valores del coeficiente cinético microbiano, como la tasa máxima de crecimiento microbiano (m_{max}) y la fluctuación con la temperatura, el coeficiente de rendimiento microbiano (Y) y la constante de semisaturación del sustrato (K_s) bajo condiciones de DAP (Madani-Hosseini et al., 2014).

Para DA, los valores cinéticos de m_{max} , K_s , Y y X son interdependientes, lo que hace que su estimación sea difícil, desafiante y tediosa (Bahn et al., 1996; Harjunkoski & Grossmann, 2001).

La selección de un conjunto apropiado de ecuaciones es importante en la estimación de los diferentes parámetros cinéticos. Autores como Pham et al., (2014), desarrollaron modelos cinéticos para predecir producción de metano en digestores de biogás bajo condiciones psicrófilas ($<20^{\circ}\text{C}$) y psicotróficas ($20-30^{\circ}\text{C}$). Los modelos desarrollados se basaron en datos obtenidos en digestores anaeróbicos por lotes a escala de laboratorio en Dinamarca, donde se determinó la producción específica de metano a partir de estiércol de cerdo (3,18 % de materia seca; MS) y estiércol de vaca (7,72 % de MS) a los 5, 10, 15, 20, 25 y 30°C . En la predicción utilizando los datos medios agrupados para cada semana, el R^2 de la producción prevista frente a la medida fue de 0,79 y aplicaron el modelo de Chen y Hashimoto para predecir la tasa específica de producción de metano al extender la temperatura a rangos de temperaturas psicrófilas utilizando datos de laboratorio.

Por otro lado, cabe destacar que la tasa de hidrólisis (k_h) depende en gran medida de las condiciones experimentales, a saber, temperatura, pH, tamaño de partícula, condiciones de agitación, relación inóculo / sustrato, lo que dificulta cualquier comparación con los valores de la literatura existente.

En los sistemas DA, generalmente se usan dos ecuaciones para predecir dependencia de la temperatura, a saber, la de Arrhenius (Ecuación 27) y la ecuación de la raíz cuadrada (Ecuación 28). De acuerdo con la primera, la velocidad de reacción se duplica aproximadamente para un aumento de temperatura de 10°C (Madani-Hosseini et al., 2014).

$$K = A e^{\frac{-E_a}{R \times T}} \quad \text{Ec. 27}$$

donde K es la velocidad de reacción, A es una constante, R es la constante universal gas universal ($0.008314 \text{ kJ/mol K}$), T es la temperatura (K) y E_a es la energía de activación (kJ/mol).

La ecuación de la raíz cuadrada es más simple y puramente descriptiva de la evolución de la tasa de crecimiento microbiano respecto la temperatura (Ratkowsky et al., 1982). La ecuación de la raíz cuadrada describe una adaptación a la temperatura inferior a la óptima del crecimiento microbiano en cultivo puro.

$$\sqrt{K} = b(T - T_{min}) \text{ Ec. 28}$$

donde K es la tasa de reacción (o tasa de crecimiento en el caso de los microorganismos) a la temperatura T (K), T_{min} es la temperatura mínima aparente para el crecimiento (K), y b es el coeficiente de regresión.

En la mayoría de los modelos DA, la ecuación de Arrhenius se aplicó a la tasa de crecimiento, m (Siegrist et al., 2002; Sinechal et al., 1979; Srisertpol et al., 2010), m_{max} (Angelidaki & Ahring, 1993; Hashimoto, 1983), K_s (Dague et al., 1998; Siegrist et al., 2002), la K_h, la tasa de mortalidad, K_d (Donoso-Bravo et al., 2009; McKinney, 1963; Siegrist et al., 2002; Veeken & Hamelers, 1999), las constantes de inhibición, K_i (Siegrist et al., 2002), y Y (McKinney, 1963). Sin embargo, en algunos casos, la ecuación de la raíz cuadrada proporcionó una mejor predicción de la temperatura que Arrhenius.

Con inóculos granulares adaptados a 10°C durante 235 días, la dependencia de la temperatura para la conversión metanogénica del acetato fue bien descrita por la ecuación de Arrhenius, pero la ecuación de la raíz cuadrada predijo mejor el propionato y butirato (Rebac et al., 1995). En otro estudio, la ecuación de Arrhenius fue un mal predictor de la dependencia de la temperatura para la actividad metanogénica de un inóculo adaptado a temperaturas más bajas de 5 -29°C (Kettunen & Rintala, 1997).

4. OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar la influencia de la relación S/I y la temperatura de operación en la digestión anaerobia de residuos de alimentos con un inóculo de procedencia psicofílica.

Objetivos Específicos

- Evaluar la influencia de la temperatura de operación sobre las actividades metabólicas (hidrolítica, acidogénica y metanogénica) del inóculo de procedencia psicofílica.
- Determinar el efecto simultáneo de la relación S/I y la temperatura de operación sobre el Potencial Bioquímico de Metano (PBM) de residuos de alimentos, empleando un inóculo de procedencia psicofílica.
- Determinar el efecto simultáneo de la relación S/I y la temperatura de operación sobre el proceso de digestión anaerobia de residuos de alimentos mediante modelos cinéticos, empleando un inóculo de procedencia psicofílica.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

Con el propósito de cumplir con los objetivos trazados, se desarrolló una metodología que consta de cinco (5) etapas fundamentales, acompañadas de una revisión constante de literatura. La Tabla 6 muestra la relación entre los objetivos y fases con sus respectivas actividades requeridas para el desarrollo de la investigación.

Tabla 6. Fases y actividades para el desarrollo de la investigación

Objetivo General		
Evaluar la influencia de la relación S/I y la temperatura de operación en la digestión anaerobia de residuos de alimentos con un inóculo de procedencia psicrófila.		
Objetivos Específicos		
Evaluar la influencia de la temperatura de operación sobre las actividades metabólicas (hidrolítica, acidogénica y metanogénica) del inóculo de procedencia psicrófila.	Determinar el efecto simultáneo de la relación S/I y la temperatura de operación sobre el PBM de residuos de alimentos, empleando un inóculo de procedencia psicrófila.	Determinar el efecto simultáneo de la relación S/I y la temperatura de operación sobre el proceso de digestión anaerobia de residuos de alimentos mediante modelos cinéticos, empleando un inóculo de procedencia psicrófila.
Principales Actividades		
Fase 1	Fase 2	Fase 3
Caracterizar el Inóculo en términos de variables fisicoquímicas.	Conformar y caracterizar el sustrato (RA).	Identificación de parámetros asociados a modelos cinéticos semi-empíricos empleados en ensayos PBM.

Determinar las Actividades metabólicas del inóculo (hidrolítica: AH, acidogénica: AA y metanogénica: AME) a tres temperaturas (10, 15 y 27°C).	Montaje de unidades experimentales de los ensayos PBM para la evaluación simultánea de la relación S/I y la temperatura de operación con los tres niveles definidos (S/I: 0,20-0,50-1,0) y (T: 10, 15, 27°C) respectivamente con el inóculo de procedencia psicofílica.	Emplear al menos dos modelos cinéticos que permitan evaluar tanto la cinética del material de rápida como de lenta degradación con el inóculo de procedencia psicofílica en las diferentes condiciones experimentales.
	Monitoreo diario de la producción de biogás (método manométrico)	
	Medición parámetros finales claves (pH, AGVs, alcalinidad, SV, ST, DQO)	

A continuación, se describe cada una de las fases de las etapas experimentales y el manejo de los resultados.

5.1 Fase 1 (Influencia de la temperatura de operación sobre las actividades metabólicas del inóculo de procedencia psicofílica)

5.1.1 Caracterización del Inóculo

La naturaleza (procedencia, calidad y cantidad) del inóculo es una variable que afecta la determinación del PBM. En este estudio se estudió un inóculo proveniente de un reactor anaerobio de agua residual doméstica de un municipio con temperatura <20°C. Las respectivas muestras del inóculo se caracterizaron físico-químicamente por triplicado según APHA y WEF (2005), Aquino et al., (2007), ICONTEC (2004), ICONTEC, (2011) y Hu, Wang & Yu (2004) midiendo las variables presentadas en la Tabla 7.

Tabla 7. Caracterización del inóculo

Parámetro	Técnica de Análisis	Unidades
pH (<i>in situ</i>)	4500- H ⁺ -SM	Und
Alcalinidad total (AT)	Titulación	mg CaCO ₃ /L-1
Alcalinidad bicarbonática (AB)	Titulación	mg CaCO ₃ /L-1
Sólidos totales (ST)	Gravimetría	mg·L-1
Sólidos volátiles (SV)	2540E- SM	mg·L-1
Aluminio	Espectrofotométrico	mg L-1
Demanda Química de Oxígeno (DQO)	Reflujo abierto y titulación	mg·L-1
Carbono Orgánico Total (COT)	Combustión de alta temperatura	%
Ácidos Grasos Volátiles	Volumétrico (Destilación)	mg·L-1
Nitrógeno Amoniacal	Destilación preliminar- Volumétrico	mg·kg-1
Nitrógeno Kjendahl	Semi micro Kjeldhal- Destilación y volumétrico	mg·kg-1

Fósforo Reactivo Total (leído como ortofosfato)	Colorimétrico (Cloruro estannoso)	mg·L ⁻¹
Hierro Total	Digestión microondas y espectrometría de A.A em llama directa Aire-Acetileno	mg·L ⁻¹
Níquel Total	Digestión microondas y espectrometría de A.A em llama directa Aire-Acetileno	mg·L ⁻¹
Cobalto Total	Digestión microondas y espectrometría de A.A em llama directa Aire-Acetileno	mg·L ⁻¹
Potasio Total	Digestión microondas y espectrometría de A.A em llama directa Aire- Acetileno	mg·L ⁻¹
Sodio Total	Digestión microondas y espectrometría de A.A em llama directa Aire- Acetileno	mg·L ⁻¹
Calcio Total	Digestión microondas y espectrometría de A.A em llama directa Aire-Acetileno	mg·L ⁻¹
Zinc Total	Digestión microondas y espectrometría de A.A em llama directa Aire- Acetileno	mg·L ⁻¹
Magnesio Total	Digestión microondas y espectrometría de A.A em llama directa Aire-Acetileno	mg·L ⁻¹
Fósforo Total	Colorimétrico	mg·L ⁻¹
Molibdeno	A.A- Llama óxido Nitroso- Acetileno	mg·L ⁻¹
Amonio	Cálculo	mg·L ⁻¹

El procedimiento y análisis de los resultados obtenidos en la caracterización físico-química del inóculo, se realizó a través de herramientas de estadística descriptiva tales como la media aritmética (μ), la desviación estándar (σ) y el coeficiente de variación (Parra-Orobio et al., 2020).

5.1.2 Determinación de las Actividades Metabólicas

Un indicador importante de la calidad del inóculo son sus actividades metabólicas (hidrolítica-AHE, acidogénica-AAE y metanogénica-AME) con diferentes sustratos estándares como glucosa, almidón, propionato, butirato, acetato y H_2 / CO_2 . Para la determinación de las actividades metabólicas AHE y AAE en las diferentes condiciones experimentales, se emplearon botellas ámbar de 250mL (Figura 7) con un volumen útil de 200mL, en las cuales se adicionó el sustrato asociado a cada tipo de actividad bioquímica (celulosa y glucosa respectivamente), inóculo, macro y micronutrientes, elementos traza, extracto de levadura y solución de bicarbonato (Porrier, 2005) como se indica en la Tabla 8. Para la AME se emplearon botellas ámbar con un volumen útil igual a 110mL.



Figura 7. Botella ámbar de 250mL con un volumen útil de 200mL

Tabla 8. Composición de solución de nutrientes y otras sustancias recomendadas

Solución	Compuesto	Concentración	Unidades
Macronutrientes	NH ₄ Cl	170	g/L
	NaHCO ₃	1000	mg/L
	KH ₃ PO ₄	37	g/L
	MgSO ₄ .4H ₂ O	9	g/L
	CaCl ₂ .2H ₂ O	8	g/L
Micronutrientes	FeCl ₃ .6H ₂ O	2000	mg/L
	ZnCl ₂	50	mg/L
	CuCl ₂ .2H ₂ O	30	mg/L
	MnCl ₂ .2H ₂ O	500	mg/L
	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	90	mg/L
	AlCl ₃ .6H ₂ O	20	mg/L
	CoCl ₂ .6H ₂ O	2000	mg/L
	NiCl ₂ .6H ₂ O	50	mg/L
	H ₃ BO ₃	50	mg/L
	Na ₂ SeO ₃ .5H ₂ O	100	mg/L
	EDTA	1000	mg/L
	HCL 36 %	1	mg/L
Otros	Extracto de levadura (fuente de vitaminas)	0,2	g/L
	Agente reductor (Na ₂ SO ₃ .7H ₂ O)	100	g/L
	Indicador de Potencial Redox RESARZURINA	0,5	g/L

Fuente: Prabhudessai V et al., (2013), Torres & Pérez (2010), Angelidaki et al., (2009),

El montaje experimental se realizó en dos temperaturas psicrófilas (10°C y 15°C), que fueron controladas usando dos incubadoras memmert, las cuales manejan una distribución uniforme de la temperatura y una mesófila (27°C), que fue usada con el objetivo de identificar el comportamiento del inóculo psicrófilo a una temperatura mesófila. Los ensayos de las actividades metabólicas fueron realizados por triplicado durante un transcurso de 30 días (AHE y AAE) y 16 días (AME); tiempo durante el cual se tomaron muestras 1 vez al día. La Tabla 9 sintetiza las características de los ensayos de esta etapa.

Tabla 9. Actividades Metabólicas a diferentes temperaturas con los dos inóculos

Actividad Metabólica	Temperatura °C	Inóculo Psicrófilo
		Número de Replicas
Actividad Hidrolítica Específica (AHE)	10	3
	15	3
	27	3
Actividad Acidogénica Específica (AAE)	10	3
	15	3
	27	3
	10	3

Actividad Metanogénica Específica (AME)	15	3
	27	3

Nota. Cada condición evaluada contó con el respectivo control negativo (inóculo + agua destilada) para restar la producción endógena al finalizar el ensayo (Cárdenas-Cleves et al., 2018); 36 unidades experimentales

A continuación se describen cada una de las actividades metabólicas:

- **Actividad Hidrolítica Específica (AHE)**

La hidrólisis puede ser la etapa limitante en el caso de la degradación anaerobia de sustratos complejos como los RA, por lo que es importante realizar el ensayo de AHE. En este caso se utilizó como sustrato la celulosa, siguiendo el protocolo de Soto et al., (1993), el cual se recomienda ya que es un polisacárido que emula los compuestos orgánicos complejos que se pueden encontrar en el sustrato (RA) (Porrier, 2005).

Teniendo en cuenta los SST de los dos tipos de inóculos y para conseguir una concentración constante de 2 gSSV/L en todas las unidades experimentales (Porrier, 2005), en todos los casos se adicionó un volumen determinado de inóculo igual a 8,44 mL; en el caso del sustrato, para obtener una concentración final de 1,5 g/L, se realizó homogeneización mediante agitación suave e incubación a la temperatura seleccionada (Ver Figura 8).

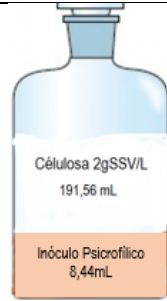
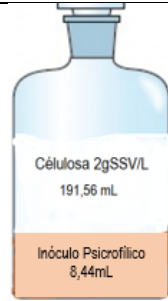
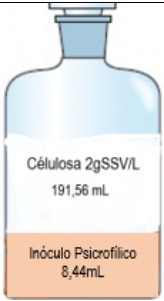
Reactor			
	Temperatura (°C)	10	15

Figura 8. Representación de las unidades experimentales de AH- Inóculo Psicofílico

Diariamente se tomó 1 mL de muestra con el objetivo de determinar la concentración de celulosa remanente en los reactores, la cual se obtuvo de la diferencia entre la determinación de azúcares totales (At - método colorimétrico de Dubois et al., 1956) y azúcares reductores (Ar - método colorimétrico de ácido dinitrosalicílico (DNS)) (Miller, 1959), que se precisan a continuación.

Cuantificación de Azúcares Totales (At): Se requirió solución de fenol al 5% y solución de sulfato de hidracina (5 gramos en 1 L de ácido sulfúrico concentrado). Se colocó 1,0 mL de muestra (tomando en consideración el rango lineal del método) en un tubo de vidrio Pyrex de pared gruesa; 1,0 mL de solución de fenol al 5% y se añadieron rápidamente 5,0 mL de sulfato de hidracina. Se mezcló en un vortex y se incubó en la oscuridad por 45 minutos; finalmente se realizó la lectura a 490nm en el espectrofotómetro Prove 600, frente a un blanco en el que se reemplaza la muestra por agua destilada. La concentración de At de la muestra se determina a partir de la ecuación que relaciona la absorbancia

con la concentración del patrón, obtenida de la recta de calibrado, considerando el factor de dilución correspondiente (Dubois et al., 1956).

Cuantificación de Azúcares Reductores (Ar): El ensayo DNS se basó en la digestión ácida con un reactivo mezcla (composición 10,6 g de ácido dinitrosalicílico; 19,6 g de hidróxido de sodio; 306 g de tartrato sódico y potásico; 7,6 mL de fenol; 8,3 g de metabisulfito sódico; y 1416 mL de agua destilada) (Miller, 1959). Se tomaron 1,0 mL de la muestra y 1,0 mL del reactivo DNS, los cuales se colocaron en un tubo de ensayo en baño de agua a 100 °C por 5 min. En este lapso el ácido 3,5 dinitrosalicílico fue reducido por los Ar que entran en contacto con el mismo, ocasionando un cambio de color con variaciones de amarillo hasta café (Ávila et al., 2012). Se enfrió hasta lograr temperatura de ambiente y se adicionaron 10 mL de agua destilada. Se agitó y se realizó la lectura a 540 nm en el espectrofotómetro Prove 600 (Cortes et al., 2015).

El valor de la AHE (gcelulosa degradado/gSSV·d) se obtuvo del cociente entre la pendiente máxima de consumo/producción de sustrato (Ecuación 29) y el valor de biomasa (SSV) empleada en el ensayo (APHA-AWWA-WPCF, 1998).

$$AHE = P \times FC \times \frac{V_{inóculo}}{gSSV_{inóculo}} \times 24 \quad \text{Ec. 29}$$

Donde:

AHE: Actividad (gDQO/gSSV.d)

P: pendiente (g/L.h)

FC: Factor de conversión (gDQO/g Glucosa) (1.067)

$V_{inóculo}$: Volumen agregado de inóculo (L)

gSSV: Masa agregada de inóculo (g/L)

La Figura 9 muestra el montaje del ensayo de AHE



Figura 9. Montaje AHE

- **Actividad Acidogénica Específica (AAE)**

Al igual en que en la AHE, para conseguir una concentración constante de 2 gSSV/L en todas las unidades experimentales (Porrier, 2005) y con cada inóculo, se adicionó un volumen de 8,44 mL del

inóculo. En este caso de la AAE, el sustrato utilizado fue glucosa (Soto et al., 1993) debido a que es el principal compuesto intermedio de la DA de los carbohidratos complejos, manejando una concentración de glucosa igual a 1,5 gSSV/L en cada una de las botellas y se realizó homogeneización mediante agitación suave e incubación a la temperatura seleccionada (Ver Figura 10).

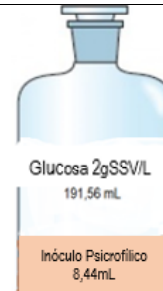
Reactor			
Temperatura (°C)	10	15	27

Figura 10. Representación de las unidades experimentales de AAE- Inóculo Psicofílico

Se tomó diariamente 1 mL de muestra con el objetivo de determinar de manera periódica la glucosa remanente en las botellas por medio del ensayo DNS (Miller, 1959) siendo el mismo valor al de Ar.

El valor de la AAE (glucosa degradada/gSSV·d) se obtuvo del cociente entre la pendiente máxima de desaparición de glucosa (Ecuación 30) y el valor de SSV empleados en el ensayo, definidos como aquellos que volatilizan a una temperatura inferior a 550°C (APHA-AWWA-WPCF, 1998). Para estos análisis se utilizaron los métodos 209 A, 209 C y 209 D, descritos en el Standard Methods (APHA-AWWA-WPCF, 1998).

$$AAE = P \times FC \times \frac{V_{inóculo}}{gSSV_{inóculo}} \times 24 \quad \text{Ec. 30}$$

Donde:

AAE: Actividad (gDQO/gSSV.d)

P: pendiente (g/L.h)

FC: Factor de conversión (gDQO/g Glucosa) (1.067)

$V_{inóculo}$: Volumen agregado de inóculo (L)

gSSV: Masa agregada de inóculo (g/L)

La Figura 11 muestra el montaje del ensayo de AAE



Figura 11. Montaje AAE

- **Actividad Metanogénica Específica (AME)**

El metano puede producirse por dos vías: (i) metanogénesis acetoclástica (acetato hendido en CH_4 y CO_2), que en los digestores convencionales representa aproximadamente el 70% del metano producido, y (ii) metanogénesis hidrogenotrófica (H_2 y CO_2 combinados para formar CH_4 y H_2O). La vía acetotrófica para la metanogénesis mediante la oxidación del acetato en CO_2 e H_2 está cobrando importancia (Ho et al., 2014).

La AME brinda una aproximación sobre la efectividad metabólica que tiene la población metanogénica en estudio frente al sustrato suministrado, dando como resultado la producción de biogás, conformado principalmente por metano si se garantizan condiciones alcalinas. Para tal fin, se usa una solución desplazante (solución NaOH al 3%) en el caso volumétrico (Field, 1987).

Con base a Astals et al., (2015) y Soto et al., (1993), cada botella se llenó con una cantidad designada de inóculo diluido igual a 10 g SV L^{-1} y como fuente de sustrato se empleo una concentración de acetato de Sodio (Ac) 2 g L^{-1} . Luego se enjuaga con gas nitrógeno (N_2) al 99,99 % durante 1 min (4 L min^{-1}). Después del lavado, las botellas se sellaron rápidamente con un tapón de goma y sello de engaste de aluminio.

La producción de biogás y la composición se determinaron usando un manómetro y un cromatógrafo de gases, respectivamente. La acumulación volumétrica de biogás se calculó a partir del aumento de la presión del gas y la concentración de CH_4 en el espacio de cabeza expresado en gramos de demanda química de oxígeno (gDQO) en condiciones estándar (0°C , 1 bar); se aplicaron correcciones para el gas removido durante muestreo.

La Figura 12 muestra el montaje de la AME.



Figura 12. Configuración volumétrica con trampa de NaOH al 3% con medición de CH₄ en probeta

Considerando la reacción de combustión del metano y asumiendo una oxidación completa del mismo, un mol de CH₄ consume dos moles de O₂. Por lo tanto, a condiciones normales de temperatura y presión (T=273°K; P=1atm), 22,4 litros de metano corresponden a 64 g de DQO, es decir, 0,35 litros de CH₄ por gramo de DQO_{removida}. Esta relación permite estimar la fracción de MO convertida en metano a partir del volumen de metano producido en el reactor, por unidad de tiempo. Como esta relación es válida para condiciones normales de temperatura y presión, para cualquier otra condición, el volumen obtenido debe ser corregido (Foresti, 1994). El factor de corrección por temperatura y presión puede calcularse así (Ecuación 31):

$$k(t) = \frac{P \times K}{R \times (273 + t)} \text{ Ec. 31}$$

Donde:

K(t)= factor de corrección (g DQO/L)

P= presión atmosférica (atm)

R= constante de los gases (0,08206 atm*L/mol°K)

K= carga orgánica digerida correspondiente a una mol de CH₄ (64 gDQO/mol)

t= temperatura operacional del montaje (°C)

El volumen teórico de metano puede calcularse con la Ecuación 32:

$$V_{CH_4} = \frac{DQO_{CH_4}}{K(t)} \text{ Ec. 32}$$

Donde:

V_{CH₄}= volumen teórico de metano producido (L)

DQO_{CH₄}= carga de DQO removida en el reactor y convertida en metano (gDQO)

K(t)= factor de corrección (g DQO/L)

Teniendo en cuenta la producción de metano, el cálculo de la actividad metanogénica específica (AME) se efectúa a partir de la siguiente ecuación:

$$AME \left(\frac{gDQO}{gSTV} * d \right) = \frac{m \times 24}{V_{CH_4} \times M} \text{ Ec. 33}$$

Donde:

m= pendiente máxima en la curva de producción de metano (Vol. Acumulado CH₄ vs tiempo de ensayo)

M=masa de lodo (volumen de lodo adicionado*Concentración inicial Lodo (g)

Análisis estadístico

Con el objetivo de realizar el análisis estadístico de la influencia de las temperaturas de operación (10, 15 y 27°C en el caso de estudio) sobre la respectiva actividad metabólica, en el análisis de los datos colectados se empleó un análisis de varianza con un factor (ANOVA).

Los valores de la AME se determinaron como la pendiente de un lineal ajuste de regresión (Analysis Toolpak en Microsoft Excel 2010) aplicado a la producción acumulada de metano (eje y) y el tiempo (eje x) para subconjuntos de datos sobre los cuales se calculó la tasa de producción de metano aproximadamente constante. El error estándar en la pendiente fue calculado por la herramienta Microsoft Excel usando técnicas analíticas normales.

Los análisis estadísticos se llevaron a cabo empleando el programa de libre distribución R versión 4.2.2 (R Development Core Team, 2022).

5.2 Fase 2 (Efecto simultáneo de la relación S/I y la temperatura de operación sobre el Potencial Bioquímico de Metano empleando un inóculo de procedencia Psicrofílica)

5.2.1 Conformación y caracterización del sustrato

El sustrato se conformó recolectando RA de diferentes hogares de la ciudad de Santiago de Cali, los cuales presentaron la composición mostrada en la

Tabla 10 y que representan la fracción de RA presentes en los RSU de municipios en los que se realizan prácticas de recolección en la fuente y de recolección selectiva (Soto-Paz et al., 2019; Casallas-Ojeda et al., 2020). Adicionalmente, para garantizar muestras representativas y homogéneas del sustrato, se siguieron las recomendaciones de Sakurai., (2000) tomando muestras perimetrales para la conformación de muestras integradas de aproximadamente 2 kg

Tabla 10. Composición Residuos de Alimentos

RA	%
Cáscaras de plátano y patata	56
Cáscaras de frutas cítricas	25
Cáscaras de frutas no cítricas	8,2
Fibras y minerales (cáscaras de huevo, apio y hierbas, entre otros)	8,2
Otros tipos de hierbas (cilantro, acelga y cidra, entre otros)	3,2

Fuente. Soto-Paz et al., 2019; Casallas-Ojeda et al., 2020.

Teniendo en cuenta que de acuerdo con autores como Angelidaki et al., (2009), el tamaño de partícula influye en la superficie del sustrato disponible para la acción de los microorganismos hidrolíticos responsables de la solubilización del sustrato, lo que puede afectar la velocidad de producción de biogás (Bres et al., 2022); los RA fueron sometidos a un pretratamiento mecánico, utilizando una trituradora CB15 Waring Commercial, a una velocidad de 15800 rpm, durante un minuto (velocidad estándar del equipo), garantizando tamaños de partículas inferiores a 6mm de acuerdo con Holliger et al., (2016), que recomiendan tamaños menores de 10 mm (como diámetro o longitud). La Figura 13 muestra las etapas de conformación del sustrato, que fue caracterizado por triplicado según APHA & WEF (2005), Aquino et al., (2007), ICONTEC (2004) e ICONTEC, (2011) midiendo las variables presentadas en la Tabla 11.



Figura 13. Conformación del Sustrato

Donde:

- 1: Pretratamiento mecánico de los RA
- 2: Conformación de la muestra de acuerdo con la Tabla 11.
- 3: Mezcla homogénea de la muestra
- 4: Cuarteo tomando muestras perimetrales para la conformación de muestras integradas de aproximadamente 2 kg.

Tabla 11. Caracterización del sustrato (RA)

Parámetro	Método	Unidades
pH (<i>in situ</i>)	4500- H ⁺ -SM	und
Humedad	NTC 5167	%
Alcalinidad Total (AT)	Titulación	mg CaCO ₃ · L ⁻¹
Alcalinidad Bicarbonática (AB)	Titulación	mg CaCO ₃ · L ⁻¹
Sólidos Totales (ST)	Gravimetría	mg · L ⁻¹
Sólidos Volátiles (SV)	2540E- SM	mg · L ⁻¹
Demanda Química de Oxígeno (DQO) Total	Standard methods	mg O ₂ L ⁻¹
Nitrógeno amoniacal	SM 4500-NH ₃ B, C	mg · kg ⁻¹
Fósforo total (PT)	4500-P- SM	mg · kg ⁻¹
Fibra cruda	A.O.A.C 962.09	%
Contenido Celular	VAN-SOEST	%
Celulosa	VAN-SOEST	%
Lignina	ASTM C25-11	%
Hemicelulosa	VAN-SOEST	%
Almidón	Hidrólisis Ácida	mg · L ⁻¹
Extracto etéreo	USP 42	mg · L ⁻¹
Proteínas	Análisis proximal	%
Carbohidratos	Análisis proximal	%
Zinc (Zn)	Absorción Atómica	mg · L ⁻¹
Aluminio (Al)	Absorción Atómica	mg · L ⁻¹
Magnesio (Mg)	Absorción Atómica	mg · L ⁻¹
Cobalto (Co)	Absorción Atómica	mg · L ⁻¹
Níquel (Ni),	ICP	mg · L ⁻¹
Molibdeno (Mo)	Absorción Atómica	mg · L ⁻¹
Sodio (Na)	Absorción Atómica	mg · L ⁻¹
Potasio (P)	Absorción Atómica	mg · L ⁻¹
Azúcares reductores (monosacáridos, glucosa, galactosa, fructosa)	NTC 4355	%
Ácido acético	Cromatografía de Gases	mg · L ⁻¹
Ácido propiónico	Cromatografía de Gases	mg · L ⁻¹
Ácido isobutírico	Cromatografía de Gases	mg · L ⁻¹

5.2.2 Influencia de la Relación S/I y la temperatura sobre el PBM

Para definir la condición de la relación S/I con que se alcanza la mejor tasa de producción de metano en cada temperatura evaluada, se realizaron ensayos PBM, que fue la variable respuesta de este estudio. Autores como Raposo et al., (2006) recomiendan emplear relaciones S/I entre 0,5 y 1,0; sin embargo, Raposo et al. (2006) y Parra-Orobio et al., (2015) recomiendan definir la relación S/I a medida que aumenta la producción de metano, considerando la producción potencial de AGVs y su

capacidad de amortiguamiento. En este estudio se evaluaron tres relaciones, entre 0,20 y 1,0 ($\text{gVS}_{\text{substrato}} \cdot \text{gVS}_{\text{inoculo}}^{-1}$). La Figura 14 presenta un esquema de las relaciones evaluadas.

Reactor			
Reactor	1	2	3
Relación S/I ($\text{gVS}_{\text{substrato}} \cdot \text{gVS}_{\text{inoculo}}^{-1}$)	0,20	0,50	1,0

Figura 14. Representación de las unidades experimentales de relación S/I

Actualmente no existe un consenso unánime y general entre los investigadores con respecto al modo, intensidad y patrón de agitación. Pues, así como existen estudios que señalan que la agitación aumenta la producción de biogás, existen estudios que reportan lo contrario. Sin embargo, las investigaciones recomiendan que, durante la puesta en marcha del proceso, la intensidad de la agitación debe ser baja, para permitir el crecimiento de los microorganismos anaerobios y aliviar el proceso de inestabilidades; en el presente estudio se realizó agitación manual antes de la medición del biogás (J. Lindmark et al., 2014).

Autores como Raposo et al., (2011) indican que para la prueba de PBM, la concentración inicial de inóculo oscila entre 1 gSVL^{-1} y $56,5 \text{ gSVL}^{-1}$; VDI 4630 (2016) sugiere emplear un rango de entre 15 y 20 g SV^{-1} ; Filler et al., (2019) sugieren $15 - 20 \text{ gSV}^{-1}$ y Holliguer et al., (2016) una concentración total de SV de 20 a 60 gVS^{-1} .

La experiencia práctica ha demostrado que el nivel de concentración de inóculo afecta la tasa de biodegradación; normalmente cuanto mayor sea la concentración de inóculo, más rápida será la conversión anaeróbica del sustrato y más rápido se completará la prueba (Raposo et al., 2012). Por lo anterior, para obtener diferentes valores de la relación S/I, en el presente estudio en todas las unidades experimentales se mantuvo fija la concentración del inóculo, la cual correspondió a $26,0 \text{ gSV} \cdot \text{L}^{-1}$ para PBM y se modificó la concentración del sustrato en términos de gSV en cada unidad experimental. Para determinar la cantidad de sustrato e inóculo que se encontraron en el volumen útil del reactor, se aplicaron las Ecuaciones 34 y 35.

$$V_s = \frac{V_{\text{reactor}} \times SV_{\text{reactor}}}{SV_{\text{total}}} \quad \text{Ec. 34}$$

Donde V_s corresponde al volumen que se debe adicionar de sustrato (L); V_{reactor} es el volumen útil del reactor (L); SV_{reactor} son los sólidos totales volátiles presentes en el reactor ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) y SV_{total} los sólidos totales volátiles del sustrato ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$).

$$V_l = \frac{V_{\text{reactor}} \times SV_{\text{reactor}}}{SV_{\text{inoculo}}} \quad \text{Ec. 35}$$

Donde V_i es el volumen a adicionar de inóculo (L); $V_{reactor}$ es el volumen útil del reactor (L); $SV_{reactor}$ los sólidos totales volátiles presentes en el reactor ($g \cdot L^{-1}$) y $SV_{inóculo}$ los sólidos totales volátiles del inóculo ($g \cdot L^{-1}$).

En esta etapa se manejó un pH constante cercano a la neutralidad (7,0 und) según lo recomendado por Foster (2005) y Abdulkarim & Abdullahi (2010). Se realizó un diseño factorial de variables cuantitativas utilizando metodología de superficie de respuesta (Montgomery, 2004) en el que se evaluó la incidencia simultánea de dos variables: temperatura (N°1) y relación S/I (N°2). Cada factor se evaluó en tres niveles correspondientes a los valores mínimo, intermedio y máximo (los valores normalizados serán -1, 0, +1, respectivamente), para tener un diseño factorial 3^2 y poder lograr el análisis de los efectos de cada factor de interés, de manera simultánea (Montgomery, 2004).

A fin de comparar el PBM de los tratamientos con el sustrato de composición conocida (RA), se elaboró un control tanto positivo como negativo que consistió en una unidad experimental alimentada con una solución de celulosa e inóculo+ agua destilada, respectivamente; para descartar el biogás producido a partir de la MO residual contenida en el lodo anaerobio adicionado como inóculo (González-Sánchez et al., 2015). Para un total de 45 unidades experimentales.

En la Tabla 12 se presenta el diseño experimental y las Tabla 13 y Tabla 14 presentan las características del diseño experimental de los controles positivo y negativo respectivamente.

Tabla 12. Diseño Experimental para la evaluación simultánea del efecto entre la temperatura y la relación S/I

Tratamiento	Variables Naturales			Variables Codificadas		Réplicas
	Inóculo	Variable N°1 Temperatura (°C)	Variable N°2 Relación S/I ($gSV_{sustrato} : gSV_{inoculo}^{-1}$)	X1	X2	Und
T1	Psicrofílico	10	0,20	-1	-1	3
T2	Psicrofílico	10	0,50	-1	0	3
T3	Psicrofílico	10	1,0	-1	+1	3
T4	Psicrofílico	15	0,20	0	-1	3
T5	Psicrofílico	15	0,50	0	0	3
T6	Psicrofílico	15	1,0	0	+1	3
T7	Psicrofílico	27	0,20	+1	-1	3
T8	Psicrofílico	27	0,50	+1	0	3
T9	Psicrofílico	27	1,0	+1	+1	3

Tabla 13. Diseño Control Negativo para cada Inóculo

Control Positivo (Inóculo + celulosa)	Temperatura (°C)	Réplicas
1	10	3
2	15	3
3	27	3

Tabla 14. Diseño Control Positivo para cada Inóculo

Control Negativo (Inóculo + agua destilada)	Temperatura (°C)	Réplicas
1	10	3
2	15	3
3	27	3

La disponibilidad de nutrientes y micronutrientes es clave para el desarrollo de la población microbiana y en particular de la población metanogénica (Romero – Guiza et al., 2016). En los ensayos de PBM, ésta fue suplida de acuerdo con lo sugerido por Torres & Pérez (2010) y Angelidaki et al., (2009), en la Tabla 8.

Los ensayos PBM se realizaron en incubadoras digitales refrigeradas para DBO de 216 litros. La frecuencia de medición fue de 1 día de por medio para cada una de las condiciones (Porrier, 2005 , Rubén et al., 2022) ; sin embargo, esta frecuencia se ajustó de acuerdo con el comportamiento de las unidades experimentales. La Figura 15 muestra las características de la unidad experimental para los ensayos PBM.

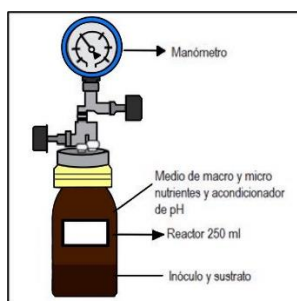


Figura 15. Unidad Experimental para los ensayos PBM.

Fuente: Adaptado de Cárdenas- Cleves et al., (2016)

En cada reactor se dejó un espacio de cabeza del 50 % del volumen total para el almacenamiento del biogás (Casallas-Ojeda et al., 2020, Myszograj et al., 2018). Para la cuantificación del biogás se empleó un manómetro WIKA, modelo CPG500 (Ver Figura 16) y los ensayos de PBM se realizaron por triplicado. La medición del biogás se suspendió cuando la producción diaria fue equivalente al 1% del volumen total producido hasta ese momento o cuando la presión al interior del reactor no varió en más de 5 HPa (Filer et al., 2019).



Figura 16. Manómetro WIKA modelo CPG500

Considerando que autores como Bolaños & Sandoval (2022) reportan que el método manométrico con perlas de NaOH presenta un 33% menos de producción de CH_4 comparado con el método manométrico sin perlas y Alfonso & Tello (2013) señalan el incremento de pH mediante la adición de NaOH desestabilizando el proceso de DA, lo que ocasiona un bajo rendimiento de producción de biogás y calidad del mismo, durante el presente estudio no se hizo uso de perlas de NaOH para capturar el CO_2 en las unidades experimentales.

Para determinar el volumen de metano a condiciones estándar, se aplicó desde la Ecuación 34 a la Ecuación 43 (Tabla 15) sugeridas por Aquino et al., (2007), Ortiz (2011) y Giménez et al., (2012), donde se consideró la proporción de CH_4 disuelto. De igual manera, se determinó el PBM teórico de acuerdo con Buswell (Ecuación 44) y el Índice de Biodegradabilidad % B del sustrato de acuerdo Sobotka et al., (1983), con el fin de observar el valor teórico de biogás y metano, la máxima producción y la facilidad de ser transformada la MO presente en los RA mediante DA; la información se complementó mediante la revisión de literatura.

Tabla 15. Ecuaciones para determinar el PBM a través del método manométrico

Ecuación	Parámetro	Finalidad
$\text{Ec. 36 } n_{CH_4} = \frac{\Delta P \times V_l}{R \times T_e}$ $\text{Ec. 37 } V_{CH_4 CE} = \frac{n_{CH_4} \times R \times T_{CE}}{P_{CE}}$ $\text{Ec. 38 } H_{CH_4} = 10^{\frac{-675,74}{T_e} + 6,88}$ $\text{Ec. 39 } X_{CH_4 \text{ disuelto}} = \frac{\Delta P}{H_{CH_4}}$ $\text{Ec. 40 } M_{CH_4 \text{ disuelto}} = \frac{M_{H_2O} \times X_{H_2O CH_4 \text{ disuelto}}}{1 - X_{CH_4 \text{ disuelto}}}$ $\text{Ec. 44 } n_{CH_4 \text{ disuelto}} = M_{CH_4 \text{ disuelto}} \times V_u$ $\text{Ec. 42 } V_{CH_4 \text{ disuelto } CE} = \frac{n_{CH_4 \text{ disuelto}} \times R \times T_e}{\Delta P}$ $\text{Ec. 43 } V_{TCH_4 CE} = V_{CH_4 CE} + V_{CH_4 \text{ disuelto } CE}$ $\text{Ec. 44 } PBM = \frac{V_{TCH_4 CE}}{gSV}$ $\text{Ec. 45 } PBM_{\text{disuelto}} = \frac{V_{CH_4 \text{ disuelto}}}{gSV}$	n_{CH_4} = Moles de CH ₄ (mol) ΔP = Incremento de la presión en el reactor (atm) V_l = Volumen libre (L) R = Constante de los gases ideales (atm*L*K ⁻¹ mol ⁻¹) T_e = Temperatura del experimento (K) $V_{CH_4 CE}$ = Volumen de CH ₄ condiciones estándar (L) T_{CE} = Temperatura a condiciones estándar (K) P_{CE} = Presión a condiciones estándar (atm) H_{CH_4} = Constante de Henry para el CH ₄ (atm) $X_{CH_4 \text{ disuelto}}$ = Fracción molar de CH ₄ disuelto $M_{CH_4 \text{ disuelto}}$ = Concentración molar de CH ₄ disuelto (mol*L ⁻¹) M_{H_2O} = Concentración molar del agua (mol*L ⁻¹) $n_{CH_4 \text{ disuelto}}$ = Moles de CH ₄ disuelto (mol) V_u = Volumen del reactor (L) $V_{CH_4 \text{ disuelto } CE}$ = Volumen de CH ₄ disuelto (L) $V_{TCH_4 CE}$ = Volumen total de CH ₄ condiciones estándar (L) PBM = Potencial Bioquímico de Metano (L*gSV ⁻¹) PBM_{disuelto} = Potencial Bioquímico de Metano disuelto (L*gSV ⁻¹)	Ec.35 - Ec.36 Determinar el volumen de metano a condiciones estándar Ec.37 - Ec.41 Determinar el volumen de metano disuelto Ec.42 Determinar volumen total de metano a condiciones estándar Ec.43 - Ec.44 Determinar el Potencial Bioquímico de Metano total y disuelto

En la siguiente página la Tabla 16 presenta el contenido de metano (%) reportado en diferentes estudios de DAP.

Tabla 16. Contenido metano (%) reportado en la DA de residuos orgánicos de rápida degradación

Sustrato	Inóculo	Relación S/I (g SV* gSV-1)	Temperatura (°C)	Producción de metano (mL/gSV)	Contenido metano (%)	Referencia
Residuos de comida y residuos verdes (paisajísticos)	Lodo de un digestor de AR mezclado con residuos de alimentos	—	25	23 L/semana	65	(Khalil et al., 2016)
Residuos de comida	Lodo de un digestor de ARD	1,0	20	401	64-69	(Rajagopal et al., 2017)
Residuos de Comida	Lodo psicrófilico de un digestor de residuo porcícola	1,5	18	115	45,3	Muñoz et al., (2019)
Residuos de comida	Residuos bovinos	1,0	27-15	418,3 a 13,9	58,9	(Choudhary et al., 2020)
Residuos de Comida y Agua residual	Lodo de un digestor de ARD	1,0	20	164	66	(Bardi & Aminirad, 2020)
Residuos de frutas y verduras	Residuos bovinos	—	21	0,34 m ³ /kgVS	43	(Martí-Herrero et al., 2019)

Finalmente, con el objetivo de tener un mayor número de elementos de análisis y comparación de los resultados de los estudios, en cada una de las unidades experimentales se determinó el pH, Alcalinidad (total y bicarbonática), DQO y AGVs al final del ensayo. La medición de los índices de alcalinidad (I_a y I_B) se realizó de acuerdo con lo sugerido por Ripley et al., (1986), los cuales se fundamentan en la determinación de las alcalinidades total y bicarbonática y la alcalinidad debida a los AGVs. El índice α corresponde a la relación entre la alcalinidad bicarbonática y la alcalinidad total (Jenkins et al., 1983) el cual se determina de la siguiente manera:

$$I \propto \frac{V_1}{V_1 + V_2} \quad \text{Ec. 46}$$

El índice tampón (I_B) es la relación entre la alcalinidad debida a los AGV y la alcalinidad total (Rojas, O, 1987), éste se halla por medio de la siguiente expresión matemática:

$$IB = \frac{V_2}{V_1 + V_2} \quad \text{Ec. 47}$$

Análisis Estadístico

Para el análisis estadístico de la influencia de manera simultánea de la relación S/I y la temperatura de operación sobre la variable respuesta PBM empleando un inóculo psicrófilico, se realizó un análisis de varianza ANOVA ($p < 0,05$) (Shen & Zhu, 2016). En el siguiente modelo de regresión, que corresponde a una superficie de respuesta de segundo orden (en el modelo de regresión, se incluyeron los términos lineales, cuadráticos y de interacción para los factores), se presentan las variables ajustadas:

$$\mu y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_3 x_1 x_2 + \beta_4 x_1^2 + \beta_5 x_2^2 \quad \text{Ec. 48}$$

donde μy es la variable predicha a partir de la superficie de respuesta (variable dependiente PBM); X_1 y X_2 son las variables independientes: temperatura ($^{\circ}\text{C}$) y relación S/I ($\text{gSV}_{\text{sustrato}} \text{gSV}_{\text{inoculo}}^{-1}$) respectivamente; β_0 corresponde a un coeficiente constante, β_1 y β_2 son los coeficientes lineales; β_{11} y β_{22} son los coeficientes cuadráticos; β_{12} es la interacción de los coeficientes; y ε es el error residual. Todos los valores de β tienen las unidades de cada una de las variables a predecir (PBM) (Parra-Orobio et al., 2020).

5.3 Fase 3

5.3.1 Modelos Cinéticos

Teniendo en cuenta que los modelos cinéticos de PO (Ec. 22), GM (Ec. 23) y FL (Ec.24) son los más empleados para simular la generación experimental de la acumulación de CH_4 en el proceso de la DA-RA, éstos fueron los seleccionados en este estudio, los cuales describen de manera sencilla y rápida los mecanismos de degradación a partir de resultados experimentales disponibles siguiendo las recomendaciones de Bong et al., (2017); Ali et al., (2019), Maddela et al., (2021) y Shi et al., 2022).

Para cada ensayo, los parámetros cinéticos (P_0 ; k ; K_{max} y λ) fueron estimados mediante regresión no lineal. Se utilizó el algoritmo de Levenberg-Marquard para determinar los parámetros numéricos en el modelado (Software Statistica 10.0). Los parámetros cinéticos se estimaron para cada ensayo usando regresión no lineal. Además, el coeficiente de determinación (R^2) (valor maximizado, cercano a 1) y el error cuadrático medio (RMSE) fueron empleados para indicar la “bondad de ajuste” de cada modelo a los datos experimentales. Los cálculos de los parámetros cinéticos se determinaron considerando un intervalo de confianza entre el 90 a 95 %, con el propósito de identificar el modelo cinético que presentara mayor ajuste al comportamiento de los datos experimentales (Shi et al., 2022).

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Fase 1. Evaluar la influencia de la temperatura de operación sobre las actividades metabólicas del inóculo de procedencia psicrófila.

6.1.1 Caracterización de Inóculo psicrófilo

La procedencia del inóculo y la afinidad con el nuevo sustrato son aspectos importantes a tener en cuenta para garantizar tanto menores tiempos de arranque de los reactores como mayor actividad biológica y, por lo tanto, mayor producción de metano (Cárdenas et al., 2016). En la Tabla 17 se presenta la caracterización físico- química del inóculo empleado.

Tabla 17. Caracterización físico-química del inóculo psicrófilo empleado.

Parámetro	Inóculo psicrófilo Temperatura origen < 20°C	Unidades
pH (in situ)	7,35	und
Alcalinidad Total (AT)	1.845	mg/L CaCO ₃
Alcalinidad Bicarbonática (AB)	750	mg/L CaCO ₃
Sólidos Totales (ST)	38.102	mg·L ⁻¹
Sólidos Volátiles (SV)	25.826	mg·L ⁻¹
Aluminio	<0,05	mg Al/L
Demanda Química de Oxígeno (D.Q. O)	4.918	mg O ₂ /L
Carbono Orgánico Total (COT)	2.320	mg COT/L
Ácidos Grasos Volátiles (AGVs)	53,33	mg/L
Nitrógeno Amoniacal	49,6	mg N/L
Nitrógeno Kjendahl	65,0	mg N/L
Fósforo Reactivo Total (ortofosfato)	11,23	mg P/L
Hierro Total	31,19	mg Fe/L
Magnesio Total	35,8	mg Mg/L
Níquel Total	0,26	mg Ni/L
Cobalto Total	0,46	mg Co/L
Potasio Total	22,5	mg K/L
Sodio Total	239,7	mg Na/L
Calcio Total	161,6	mg Ca/L
Magnesio Total	35,8	mg Mg/L
Zinc Total	0,70	mg Zn/L
Fósforo Total	14,63	mg P/L
Molibdeno	<0,500	mg Mo/L
Amonio	63,8	mg NH ₄ ⁺ /L

El inóculo presentó un pH alcalino de 7,35 unidades, encontrándose entre los valores típicos para los lodos provenientes de digestores anaerobios de las PTAR's municipales conforme con las caracterizaciones fisicoquímicas reportadas por Parra-Orobio et al., (2018) y Astals et al., (2020).

Igualmente, se encuentra dentro de los rangos sugeridos por Raposo et al., (2012) y Holliger et al., (2016) para ser utilizado en los ensayos de PBM.

De acuerdo con Metcalf & Eddy (2003) y Veluchamy & Kalamdhad, (2017), la AT (1.845 mg CaCO_3/L) del inóculo se encuentra dentro del rango recomendado (1.000 - 5.000 mg CaCO_3/L) para optimizar el rendimiento en la producción de CH_4 ; sin embargo, más que la AT es la AB la que garantiza la capacidad buffer; respecto, a la AB del inóculo (750 mg CaCO_3/L), se encuentra por debajo de los valores reportados por Parra- Orobio et al., (2016) y Díaz J & Yulieth A (2021) entre un 977,95 y 1.277,01 mg CaCO_3/L para inóculos de digestores anaerobios mesofílicos. Por otro lado, el índice alfa (α) o relación AB/AT igual a 0,41, es menor al 0,6 recomendado por Rozzi, (1986) para el arranque y adecuado desarrollo del proceso. En estos casos, varios autores recomiendan la adición de una solución buffer de bicarbonato de sodio con el fin de incrementar la alcalinidad y ajustar el pH a un valor adecuado para la digestión anaerobia (Castillo M et al., 2003).

Por otro lado, la concentración de AGVs (53,33 mg/L) exhibió un valor por debajo de 1.000 mg/L, condición que podría favorecer un buen funcionamiento del digestor (Rajagopal et al., 2017; Bardi & Aminirad, 2020). En este estudio, la relación SV/ST fue de aproximadamente 0,68 lo que indica una alta disponibilidad de biomasa activa para tratamientos biológicos (Torres et al., 2004; Liu et al., 2016)

Con relación al nitrógeno, el inóculo presentó una predominancia de nitrógeno amoniacal Total, que es una combinación del nitrógeno amoniacal libre (NH_3) y el nitrógeno amónico ionizado (NH_4^+); la acumulación del primero produce problemas serios de inhibición en las *arqueas* metanogénicas, o incluso puede llegar a inactivarlas, especialmente a las metanogénicas acetoclásticas (Martínez-Campesino, 2014). Esto causa una acumulación de ácidos grasos y una caída drástica de pH en el reactor; en general se cree que concentraciones de NH_3 por debajo de 200 mg N/L son beneficiosas para los procesos anaeróbicos (Chen et al., 2008), por lo anterior el inóculo estaría aportando al proceso de DA nitrógeno como nutriente esencial en el crecimiento del consorcio microbiano.

Los nutrientes pueden convertirse en el recurso limitante para el crecimiento y síntesis de los microorganismos (Metcalf & Eddy, 2003; Parra-Orobio et al., 2018). Varios estudios han demostrado que la adición de Na^+ , Ca^{+2} , y Mg^{+2} resultaron ser antagonistas a la inhibición de amoníaco, un fenómeno en el que la toxicidad de un ion se reduce por la presencia de otros iones y se ha observado que la combinación de estos nutrientes condujo a incrementos mayores de producción de metano en comparación con la producción cuando se añadía únicamente el ion sodio (Chen et al., 2008, Martínez-Campesino, 2014), ion predominante en el presente estudio (239,7mg Na/L) junto al calcio (161,6 mg Ca/L). Así mismo, respecto al P (14,63 mg/L) es un elemento clave ya que conforma el ATP, principal fuente de energía para las funciones celulares estando dentro del rango recomendado por Metcalf & Eddy, (1995); el inóculo empleado presenta mayor aporte de nutrientes que lo reportado por autores como Parra-Orobio et al., 2014, siendo importante caracterizar el contenido nutricional del inóculo a emplear para poder tomar decisiones.

En general, el aporte nutricional del inóculo es clave en la influencia que tiene sobre el desempeño de los microorganismos, independientemente de la temperatura operacional y la fase del proceso de DA que se esté llevando a cabo (Espitia & Ruiz, 2022).

6.1.2 Incidencia de la temperatura sobre las Actividades metabólicas

El primer paso de la DA es la desintegración o la solubilización de sustratos sólidos poliméricos, como proteínas, carbohidratos y lípidos, en moléculas más simples como aminoácidos, azúcares, ácidos grasos volátiles de cadena larga y alcoholes (Roopnarain et al., 2021). La Figura 17 muestra los resultados de generación de azúcares reductores totales (fracción soluble) a partir de la celulosa (fracción lentamente hidrolizable) a las diferentes condiciones de temperatura evaluadas (10, 15 y 27°C). Considerando que la AHE se determina con base en la mayor pendiente (m), es decir, con base a la velocidad de reacción (Hu et al., 2004), utilizando los resultados obtenidos, se calcularon los valores de AHE (Tabla 18). En general, se observa que los picos más altos se alcanzan en menor tiempo en el orden de temperatura de $15 > 27 > 10^\circ\text{C}$. A 15°C la mayor velocidad de reacción se alcanza en el cuarto y quinto día, mientras que a 27°C se registra entre el sexto y séptimo día. Finalmente, a 10°C se requieren trece días adicionales para alcanzar la máxima pendiente con respecto a 15°C . Este fenómeno estaría relacionado por una mayor población inicial de bacterias psicotolerantes que se adecuaron más rápidamente a la temperatura de 15°C , lo que puede estar asociado a que la temperatura de origen del inóculo era de 17°C . Sin embargo, la mayor AHE se alcanzó a 27°C ($0,153 \text{ gDQO}_{\text{glu}}/\text{gSV} \cdot \text{d}$), siendo un 38 y 52 % mayor que a 15 y 10°C , lo cual refleja el efecto del incremento de la temperatura en una mayor actividad microbiana hidrolítica y cinética de reacción; este aspecto es muy importante durante el proceso DA de RA en que la hidrólisis es el paso limitante para sustratos con un alto contenido de materia orgánica particulada (Benavides et al., 2013, García & Gómez, 2016).

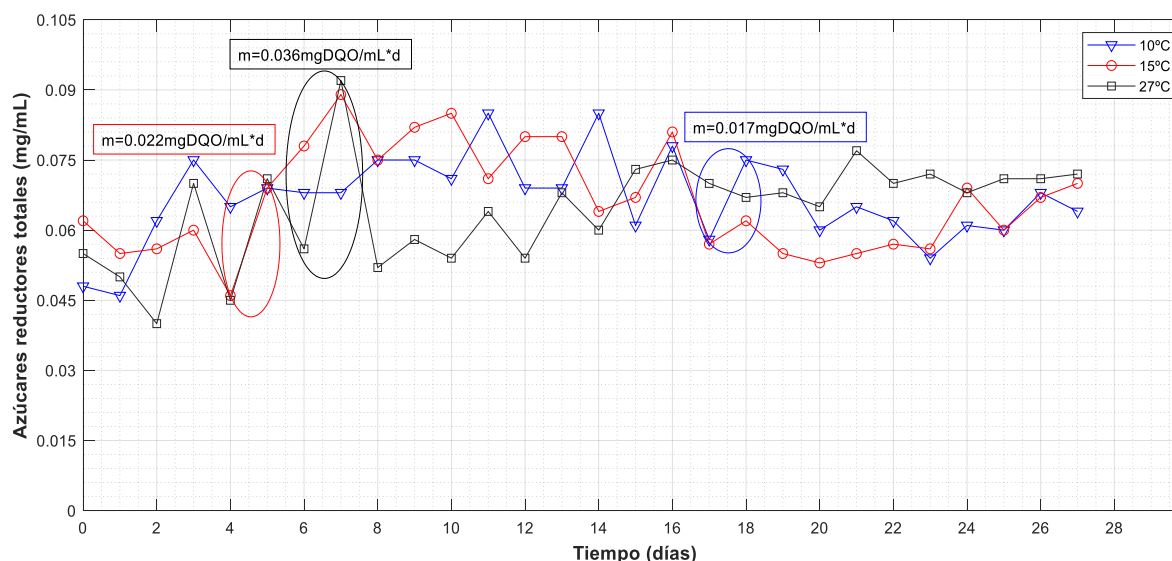


Figura 17. Producción de Azúcares Reductores Totales del inóculo psicrófilico a diferentes temperaturas de operación usando celulosa como sustrato

Díaz & García, (2021) reportan valores de AHE de $0,26 \text{ gDQO}_{\text{glu}}/\text{gSV}\cdot\text{d}$ empleando una mezcla de lodo digerido de una PTAR de origen municipal y lodo de un reactor anaerobio de una central de abasto del Valle del Cauca que trata AR procedente del sacrificio de ganado bovino y porcino en el rango mesofílico (35°C). Por otro lado, Porrier, (2005) reportaron valores similares a 15°C utilizando almidón ($0,23 \text{ gDQO}_{\text{glu}}/\text{gSVd}$), lo cual estaría asociado a que la tasa de degradación de los almidones es relativamente mayor en comparación con carbohidratos estructurales como la celulosa y la hemicelulosa (Bernal & Martínez, 2005). Sin embargo, autores como Castro, (2012) reportan rangos de AHE ($0,015 - 0,060 \text{ gDQO}_{\text{glu}}/\text{gSV}\cdot\text{d}$) para excretas bovinas (inóculo) a 39°C , que son inferiores a los valores de AH alcanzada en este estudio para todas las temperaturas evaluadas.

Estos resultados sugieren que, aunque la temperatura favorece la actividad hidrolítica, aspectos como la procedencia del inóculo y el tipo de sustrato inciden en la determinación de la AHE, por tanto, es necesario seguir explorando estudios sobre estos y otras variables como el tamaño de partícula que afecta la cristalinidad y polimerización del sustrato, ya que autores como Ma et al., (2022) indican que cuanto mayor sea la polimerización, más difícil se vuelve la degradación de la celulosa, afectando la AHE del inóculo, especialmente a temperaturas psicofílicas, la cual ha sido poco abordada (Casallas-Ojeda et al., 2020 y Rodríguez-Jiménez et al., 2022).

En el presente estudio la mejor condición para el inóculo psicofílico en la AAE se presentó para la temperatura de 27°C ($1,945 \text{ gDQO}_{\text{glu}} \text{ gSV}\cdot\text{d}^{-1}$), valor similar al reportado por Álzate & Quintero, (2016) utilizando estiércol de ganado ($1,96 \text{ gDQO}/\text{gSV}\cdot\text{d}^{-1}$). Se destaca la AAE mantenida por el inóculo a 15°C ($1,621 \text{ gDQO}_{\text{glu}} \text{ gSV}\cdot\text{d}$), que es solamente 15,6% inferior a la temperatura máxima evaluada (27°C), lo que coincide con lo reportado por Porrier, (2005) y puede deberse a que las bacterias acidogénicas son las más abundantes y pueden moverse en rangos de temperatura más amplios, siendo menos sensibles que las bacterias hidrolíticas. Por otro lado, estudios realizados por Regueiro et al., 2012 reportan valores entre 1,39 y $2,21 \text{ gDQO}_{\text{glu}} \text{ gSV}\cdot\text{d}$ (rango similar a los reportados en el presente estudio, Tabla 18) a 37°C para lodos de 6 reactores anaerobios de AR. En contraste, Quintero et al., (2012) empleando lodos de AR no aclimatados como inóculo reportan a 15°C un valor de $0,21 \text{ gDQO}_{\text{glu}}/\text{gSVd}^{-1}$ similar a los obtenidos para sacarosa a 8°C por Rebac et al., (1998).

Es importante tener en cuenta a la hora de implementar la DAP, que las bajas temperaturas tienden a estimular el crecimiento de bacterias acidificantes que permiten mayor transformación de moléculas solubles a ácido láctico y AGVS, y, por ende, puede ocurrir una acumulación de éstos que cause una posible inhibición del proceso global de DA (Tang et al., 2016, Jiang et al., 2013).

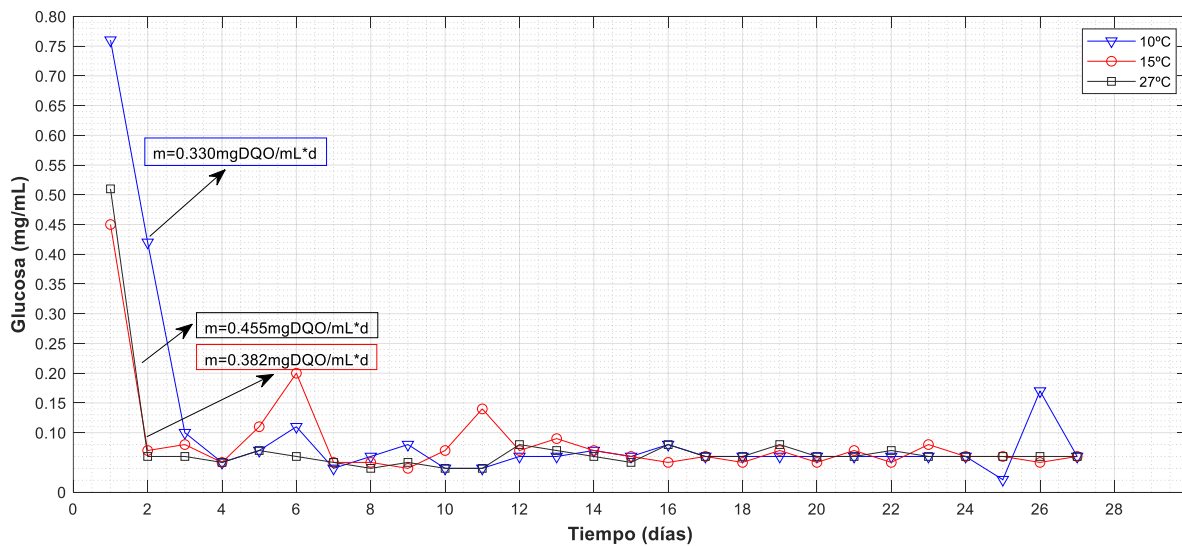


Figura 18. Producción de Glucosa del inóculo psicrófilico a diferentes temperaturas de operación

La glucosa es utilizada por el consorcio microbiano para obtener energía vía glucolítica, con el objeto de que la oxidación resulte equilibrada dos tercios de la glucosa se transforman en propionato y un tercio en acetato (Ac) (Metzler, 1981); este último es el principal precursor de la actividad metanogénica y en entornos naturales a baja temperatura, la vía de degradación del Ac depende de la temperatura ambiente; en ambientes psicrófilicos, se realiza principalmente mediante metanógenos acetoclásticos, lo que ha llevado a proponer que la homoacetogénesis también sea una vía bioquímica importante durante la metanogénesis a baja temperatura (O Kotsyurbenko et al., 2001). En la Figura 19 se presenta la AME del inóculo evaluado a las tres temperaturas empleando Ac como sustrato.

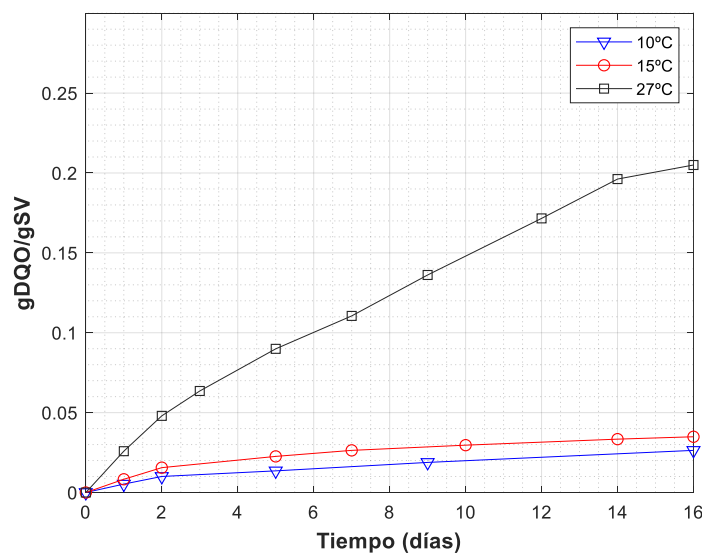


Figura 19. Actividad Metanogénica Específica a diferentes temperaturas de operación

En condiciones psicrófilas según Dev et al., (2019), ocurren limitaciones de transferencia de masa debido a un aumento en la viscosidad del sustrato, y un aumento en el ensuciamiento de la membrana, dando como resultado la reducción en la tasa de generación de CH_4 debido a la inactivación del consorcio de las *arqueas* metanogénicas. Lo anterior, se evidencia con los valores bajos de AME a 10 y 15°C y podría indicar que la capacidad metanogénica del inóculo tiene una relación directa con la temperatura (Elena & Martínez, 2012; Angelidaki et al., 2003; Rodríguez, 2011.). Estudios realizados por Regueiro (2012) indican un rango de AME de 0,010 a 0,33 g DQO/gSV*d para 27°C, rango que se cumple en el presente estudio con un AME igual a 0,021 gDQO/gSV*d para la misma temperatura y superior a lo observado por Quintero et al., (2012) (0,017 gDQO/gSV*d) para lodos de la PTAR a 39°C. La Tabla 18 sintetiza el efecto de la temperatura sobre las actividades metabólicas (AHE, AAE, AME) del inóculo psicrófilo evaluado y los resultados del análisis de varianza, donde se sugiere un efecto significativo de la temperatura sobre todas las actividades metabólicas (Valor-p < 0,05).

Tabla 18. Efecto de la temperatura sobre las actividades metabólicas (AH, AA, AME) empleando un inóculo psicrófilo

Actividad Metabólica	Temperatura (°C)			Análisis Estadístico	
	10	15	27	Estadístico F	Valor-p < 0,05
AHE (gDQO _{glu} /gSV*d)	0,073	0,094	0,153	2,881	0,0371
AAE (gDQO _{glu} /gSV*d)	1,403	1,621	1,945	4,689	0,0096
AME (gDQO/gSV*d)	0,0050	0,0078	0,021	8,80	0,0020

Las actividades metabólicas rigen las velocidades de reacción de cada etapa de la DA, por esto es necesario tener un equilibrio entre estas (Alzate, 2015). Los resultados de las actividades metabólicas (AHE, AAE y AME) indican que la temperatura tuvo un mayor efecto sobre la AME ($p = 0,0020$) para las temperaturas evaluadas, siendo la AME de 27 °C un 62% y 76,19% mayor que para 15 y 10 °C. Estos resultados sugieren que a una mayor temperatura se alcanzarían mayores tasas de producción de CH_4 , así como un mayor rendimiento final. Cuando se evalúan inóculos psicrófilos debido a su versatilidad metabólica con microorganismos psicrotolerantes, los homoacetógenos pueden competir con éxito con las bacterias fermentadoras y las *arqueas* metanogénicas hidrogenotróficas, teniendo valores similares en algunos casos a los encontrados en la literatura a 27°C, ya que pueden crecer en una amplia gama de temperaturas ambientales (hasta 30–35 °C) (Simankova et al., 2003); sin embargo, es claro que los valores encontrados son mucho más bajos que los reportados en la literatura empleando inóculo mesófilos a temperatura superiores a los 35°C.

6.2 Fase 2. Efecto simultaneo de la relación S/I y la temperatura de operación sobre el Potencial Bioquímico de Metano empleando un inóculo de procedencia psicrófila

6.2.1 Caracterización del Sustrato

Las características físico-químicas de los RA varían mucho debido a los diferentes hábitos alimenticios. Debido a esta naturaleza heterogénea, es una tarea crucial cuantificar la mayor cantidad de parámetros posibles debido a la naturaleza dinámica y sensible del proceso biológico. La Tabla 19 presenta los datos de la subcategoría de alimentos sin procesar, relacionado con la composición física fina de los RA.

Tabla 19. Categorías de los alimentos sin procesar (composición física fina de los RA)

Tipo	Residuo de cascara	Cantidad Total (gr)	Porcentaje (%)
Carbohidratos	Cáscaras de Papa	10.080	56
	Cáscaras de Plátano verde		
Frutas no cítricas	Cáscaras de Mango	1.440	8
	Cáscaras de Banano		
	Cáscaras de Tomate de árbol		
	Cáscaras de Papaya		
	Cáscaras de Melón		
	Cáscaras de Curuba		
Frutas cítricas	Cáscaras de Lulo	4.500	25
	Cáscaras de Naranja		
	Cáscaras de Mandarina		
	Cáscaras de Limón		
	Cáscaras de Maracuya		
	Cáscaras de Piña (Oro miel)		
Fibras y minerales	Cáscaras de Zanahoria	1.440	8
	Cáscaras de Tomate		
	Restos de Cebolla Cabezona		
	Cáscaras de Zapayo		
	Cáscaras de Pepino Cohombo		
	Cáscaras de Huevo		
Otros tipos	Cilantro	540	3
	Acelga		
	Espinaca		

Las características físico-químicas iniciales del sustrato empleado para este estudio se presentan en la Tabla 20, expresadas como un valor promedio con su respectivo número de datos (n=3).

Tabla 20. Caracterización fisicoquímica del sustrato empleado (BOM)

Parámetro	BOM	Unidades
pH (<i>in situ</i>)	5,34	und
Humedad	83,05	%
Alcalinidad Total (AT)	3.050	mg CaCO ₃ /L-1
Alcalinidad Bicarbonato (AB)	---	mg CaCO ₃ /L-1
Sólidos Totales (ST)	181.165,28	mg·L-1
Sólidos Volátiles (SV)	159.626,75	mg·L-1
Relación SV/ST	0,88	—
Demanda Química de Oxígeno (DQO) Total	215.978,11	mg O ₂ L -1
Nitrógeno amoniacal	<0,1	%
Fósforo total (PT)	8,3	ppm
Fibra cruda	4,14	%
Celulosa	15,16	%
Lignina	4,64	%
Hemicelulosa	25,65	%
Contenido Celular	54,55	%
Almidón	1,3	%
Extracto etéreo	1,78	%
Proteínas	6,15	%
Carbohidratos	71	%
Zinc (Zn)	0,37	mg·100g-1
Aluminio (Al)	2,54	mg·100g-1
Magnesio (Mg)	14,52	mg·100g-1
Cobalto (Co)	<0,01	mg·100g-1
Níquel (Ni),	0,07	mg·100g-1
Molibdeno (Mo)	<0,005	ppm
Sodio (Na)	3,51	mg·100g-1
Potasio (P)	243,35	mg·100g-1
Azúcares reductores (monosacáridos, glucosa, galactosa, fructosa)	<0,1	%
Ácido acético	7558,24 ± 25,4	mg·L-1
Ácido propiónico	2670,35 ± 12,7	mg·L-1
Ácido isobutírico	291,41 ± 10,6	mg·L-1

En general, los valores de pH, Humedad, AT y AB son típicos de residuos rápidamente acidificables como lo evidenciaron otros autores como Parra-Orobio et al., (2015); Sánchez-Reyes et al., (2016); Cárdenas-Cleves et al., (2018); Kumar et al., (2019) y Díaz & García, (2021) en estudios de DA de BOM y RA. Se han reportado valores de pH de 4,2 (Zhai et al., 2015; Zhang et al., 2013) y 3,51 (Rincón-Ramírez et al., 2014). El pH ácido de los RA de este estudio (5,34), está ligado a la descomposición de los mismos y su alto contenido de humedad (83,05%), ya que la mayor proporción corresponde principalmente a residuos frescos como vegetales y frutas que presentan gran contenido

de agua), lo cual favorece la fase de hidrólisis que es la etapa inicial del proceso de DA (Peralta & Serrano, 2019), causando además un aumento de la producción de AGVs y ausencia de AB.

Autores como Panigrahi & Dubey, (2019) mencionan que un pH ácido llevaría a la modificación del equilibrio termodinámico del sistema y la inhibición del proceso, por lo que se confirma la necesidad de realizar el ajuste del pH a un intervalo de 6,5 - 7,5 und empleando un alcalinizante que permita aumentar la capacidad para neutralizar la acidez asociada a los AGVs (Raposo et al., 2012; Muñoz et al., 2019).

En este estudio, el conjunto de compuesto lignocelulósicos (celulosa (15,16%), lignina (4,64%) y hemicelulosa (25,65%)) obtenido es superior al estimado por Parra-Orobio et al., (2016) y Torres Lozada et al., (2020) para este tipo de residuos, que han sido separados en el origen y que cuentan con una recolección selectiva. Deublein & Steinhauser, (2011) encontraron que solo alrededor del 50% de la celulosa fue degradada a través de la DA, transcurridos 30 días del proceso (Díaz & García, 2021).

La relación SV/ST del sustrato (0,88) junto con las otras variables indicadoras de MO (DQO, COT) ratifican el alto contenido orgánico del sustrato, que se asocia con las características predominantes identificadas en la caracterización de la composición física (Lawal-Akinlami & Shanmugam, 2017). La literatura muestra porcentajes de proteínas y carbohidratos, contenidos en RA (expresados en base SV), que oscilan entre 13,1% - 27,17% y 41,4% - 61,7% respectivamente (Li, Y et al., 2016; Han, G et al., 2016; Tian, H et al., 2015). El análisis del sustrato utilizado en este estudio mostró un bajo contenido de proteína (aprox. 6,15%), mientras que presentó un contenido de carbohidratos (71%) superior a lo que indican autores como Zhang et al., (2014) y Muñoz, (2019), quienes reportan 55,2% y 27,8% en base seca, respectivamente. Estas diferencias pueden explicarse por los diferentes hábitos alimenticios (% cáscaras de papa) que influyen en gran medida en la producción de biogás; de acuerdo con autores como Muñoz, (2019) los sustratos ricos en carbohidratos fácilmente degradables producen el potencial de metano más alto; sin embargo, es importante resaltar que la composición de los carbohidratos presentes en los RA, presenta un contenido de material tanto de rápida como de lenta degradación, cuyas velocidades de degradación son diferentes (Parra-Orobio et al., 2014; Camacho-Muñoz & Hoyos-Concha, 2014)

El uso de RA como sustrato del proceso de DA, permite una alta transformación de los mismos en ácidos grasos de cadena corta (AGVs) como son el acético, propiónico e isobutírico que reportan valores iguales a $7.558,24 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $2.670,35 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ y $291,41 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ respectivamente; éstos son los precursores de las fases ligadas a la producción de metano (Sundberg et al., 2011). Estos resultados son similares a los reportados por Parra et al., (2014), quienes encontraron con una concentración total de $10.595,52 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de AGVs. En general, autores como Lorenzo & Obaya (2006), indican que mientras más complejo sea el residuo, más AGVs se producen y mayor será la producción de CH_4 ; sin embargo, para lograr este equilibrio debe garantizarse una adecuada capacidad buffer en el sistema. A partir de la composición físico-química del sustrato y mediante el uso de las Ecuaciones 5

y 6 (Buswell & Muller (1952) (método 1)), se estimó la producción teórica de metano (bajo condiciones estándar). Utilizando los coeficientes de Symonds and Buswell presentados en la Tabla 21

Tabla 21. Potencial Bioquímico de Metano Teórico ($PBM_{teórico}$) por el método de Buswell & Muller

COEFICIENTE	ELEMENTO	Peso molecular de cada elemento	% Componente	Mol Elemento	Relación Molar
a	C	12,010	42,96%	0,035	32,241
b	H	1,0079	5,51%	0,054	45,040
c	O	15,999	41,09%	0,025	21,160
d	N	14,006	1,70%	0,001	1

Una vez obtenidos los respectivos valores en la relación molar, se reemplazan en la ecuación

$$C_{32,241}H_{45,040}O_{21,160}N + \left(32,241 - \frac{45,040}{4} - \frac{21,160}{2} + \frac{3}{4}\right)H_2O$$

De acuerdo con esta ecuación, el $PBM_{teórico}$ es 460,15 mL CH_4 /gSV; sin embargo, este método asume que todos los electrones donados son exclusivamente empleados para la energía metabólica, por lo que la síntesis celular no se toma en cuenta (Labatut et al., 2011); adicionalmente, bajo condiciones reales el sustrato contiene tanto material biodegradable (en el caso de los RA, además está fracción contiene material de rápida y lenta degradación), como no biodegradable y el CH_4 no es el único subproducto. Por tanto, este valor sobreestima la producción real que se obtiene de forma experimental, que además está influenciada por diferentes variables y factores (Casallas-Ojeda et al., 2020, Cárdenas-Cleves et al., 2016). De acuerdo con lo anterior, se decidió aplicar otros dos métodos de determinación del $PBM_{teórico}$. mediante las ecuaciones 15, 18, 19 y 20 (Tabla 22) bajo condiciones estándar.

Tabla 22. Potencial Bioquímico de Metano Teórico ($PBM_{teórico}$)

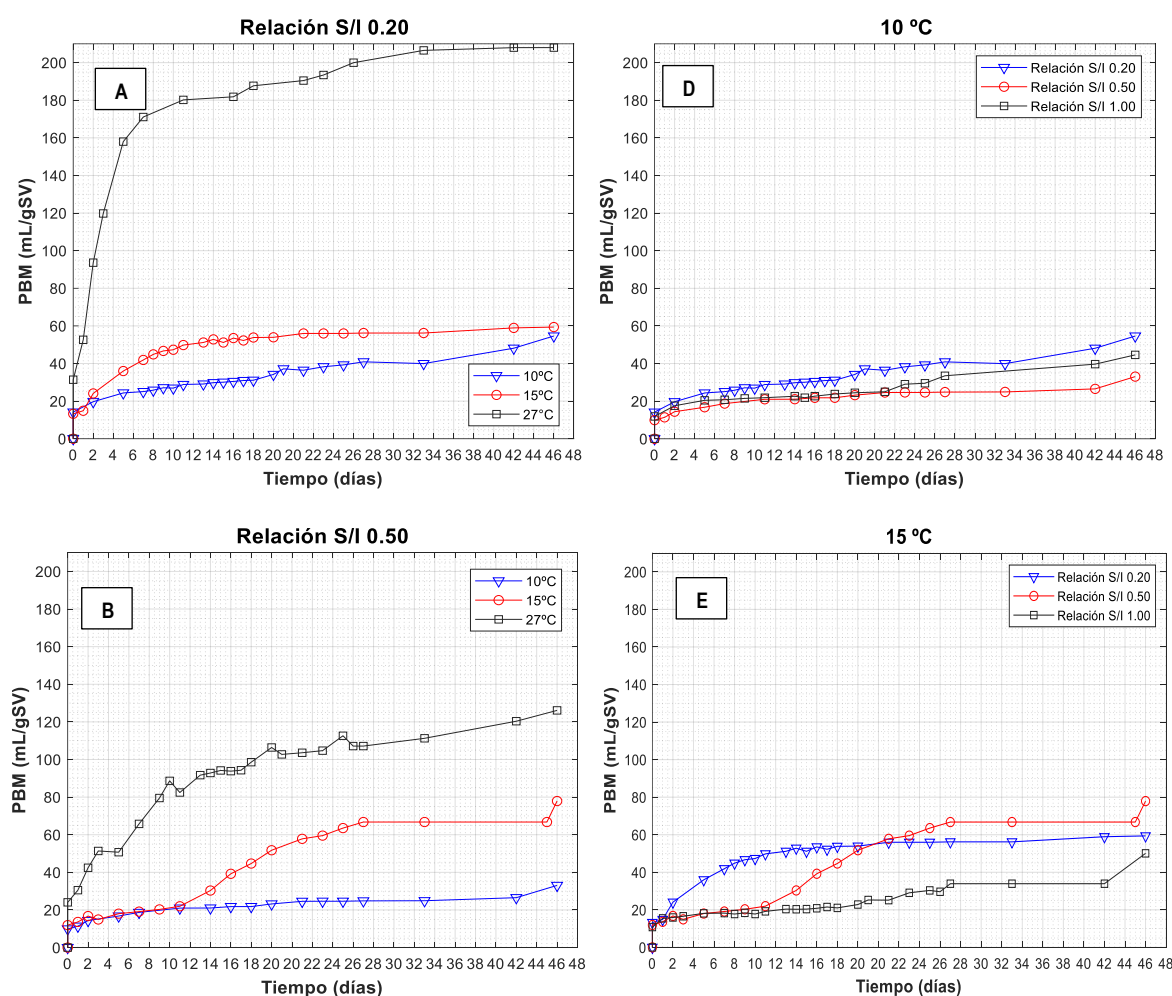
Método empleado	$PBM_{teórico}$ (mL CH_4 /gSV)
Método 1 (Buswell & Muller, 1952)	460,15
Método 2 (Composición bioquímica) (Tabatabaei & Ghanavati, 2018; Jingura & Kamusoko, 2017)	343,20
Método 3 (DQO) (Tabatabaei & Ghanavati, 2018; Jingura & Kamusoko, 2017)	530,33

Kumar et al., (2019), encontraron un rango de valores de $PBM_{teórico}$ similares (entre 346-548 mL CH_4 /gSV). Sin embargo, autores como Parra Orobio (2014) y Casallas -Ojeda et al., (2020), que trabajaron con sustratos de la misma composición a los de este estudio, reportan experimentales del orden de 240 y 127 mL CH_4 /gSV, respectivamente, valores muy por debajo del $PBM_{teórico}$ del presente estudio, lo que sugiere que el método 2 (composición bioquímica) fue el más próximo aunque, como

se mencionó anteriormente, son muchos los factores y variables (ej: la variabilidad de la composición de la muestra y la cantidad añadida de RA, las características de calidad y cantidad del inóculo, entre otros) que hacen que la estimación teórica difiera de la producción real. Por tanto, dado que diferentes factores y variables inciden en el proceso de DA, éstas deben ser evaluadas simultáneamente para encontrar condiciones óptimas (Casallas-Ojeda et al., 2020, Costa et al., 2016).

6.2.3 Influencia de la Relación S/I y la temperatura sobre el PBM

La Figura 20 ilustra el comportamiento del PBM durante los 48 días (1.162 horas) que se llevó a cabo el proceso de DAP-RA en todas las condiciones de relación S/I y temperatura evaluadas.



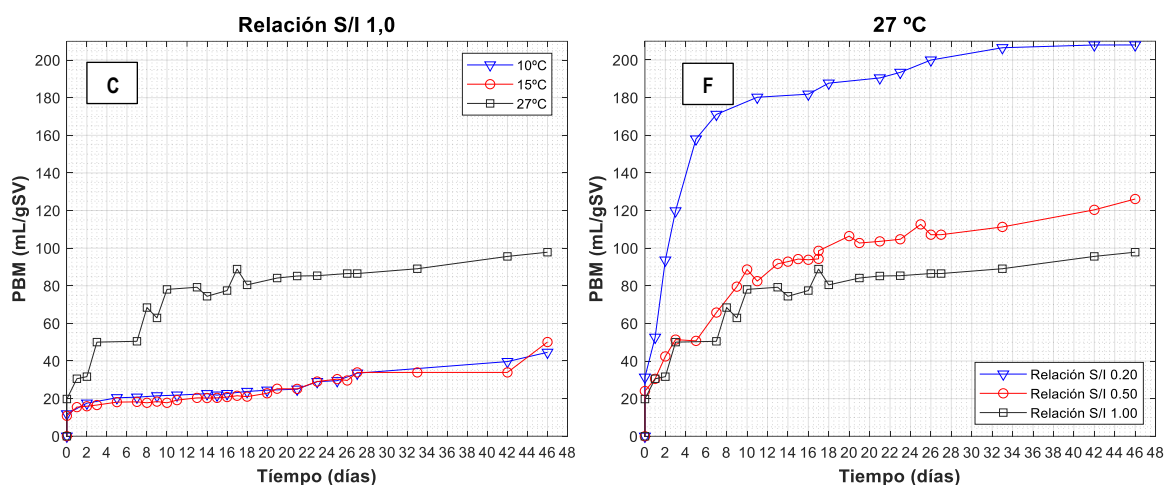


Figura 20. Efecto simultáneo de la Temperatura de operación y la relación S/I sobre el PBM con un inóculo psicófilico

Las Figura 20 (A, B y C), muestra que al emplear una relación S/I mayor ($1,0 \text{ gSV}_{\text{sustrato}} \cdot \text{gSV}_{\text{inoculo}}^{-1}$) a 10°C y 15°C no se presentan diferencias significativas en la producción de PBM y la producción de metano alcanzada es más baja en comparación con la producción a 27°C . Al disminuir la relación S/I, se observa que la producción de metano va aumentando, siendo mayor a 27°C . En síntesis, son más adecuadas las relaciones S/I bajas (entre $0,20$ y $0,50 \text{ gSV}_{\text{sustrato}} \text{ gSV}_{\text{inoculo}}^{-1}$) para minimizar la inhibición del proceso DA y asegurar así una mayor eficiencia, lo cual coincide con lo reportado por autores como Corsino et al., (2021) y Chynoweth et al. (1993, 2001); Slimane et al., (2014), quienes encontraron que la producción de biogás aumentó a medida que la relación S/I disminuyó (<1).

Con relación a la Figura 20 (D, E y F), se evidencia que a medida que disminuye la temperatura de operación durante la DA-RA la relación S/I tiene menor influencia sobre el PBM y el rango de producción de metano a 10°C para las tres relaciones S/I evaluadas es la menor, mientras que al incrementar la temperatura a 27°C , el rango es mucho mayor; lo anterior indica que posiblemente en la DAP la relación S/I tiene menor incidencia que en la DA mesofílica.

Leung & Wang, (2016) indican que en comparación con los rendimientos de metano producidos en un rango mesofílico ($>28^\circ\text{C}$), donde un PBM de RA puede alcanzar alrededor de $440\text{--}480 \text{ mLCH}_4/\text{gSV}$, el sustrato bajo temperaturas psicofílicas tarda más tiempo en degradarse, produciendo menos metano. Con respecto a la DAP, los estudios han reportado una producción de biogás que oscila entre 250 y 460 mL/gSV con una composición de biogás con un $63,1 - 66,8 \%$ de CH_4 (Lou et al., 2012). Muñoz et al., (2019), reportaron una producción de biogás a 18°C de aproximadamente 115 mL/gSV , con un contenido promedio de CH_4 y CO_2 en el biogás del orden $54,6 \%$ y $45,3 \%$ respectivamente, a los 84 días de medición.

La Figura 20 (D y E), indica que en la presente investigación a 10 y 15°C se obtuvo una producción de biogás máxima de $54,62$ y $77,91 \text{ mL/gSV}$ empleando relaciones S/I de $0,20$ y $0,50 \text{ gSV}_{\text{sustrato}}$

$\text{gSV}_{\text{inoculo}}^{-1}$ respectivamente y al elevar la temperatura de operación a 27°C (Ver Figura 20.F) se alcanzó una producción de CH_4 de 207,98 mL/gSV a una relación S/I de 0,20, que fue la que mostró los mejores resultados de PBM, alcanzando un porcentaje de biodegradabilidad calculado mediante la ecuación 21 (Sobotka et al., 1983) igual a 60,60%. Comparado con otros autores, la menor producción a 10 y 15°C obtenida en la presente investigación puede explicarse con los resultados de las actividades metabólicas, donde los resultados de la DNS reflejaron que la tasa de unión microbiana al sustrato depende del tipo de bacterias que contiene el inóculo y la adaptación de éstas a las temperaturas psicofílicas, principalmente durante la AHE y AME lo que se ve reflejado en la menor producción del PBM (Colos-Arango, 2015).

Adicionalmente, se observó que la temperatura tiene un efecto sobre la fase de crecimiento e incremento de producción de CH_4 ; para la temperatura de 10°C e independientemente de la relación S/I, la fase de crecimiento presentó una duración entre 6 y 8 días (144 y 192 horas) y posterior a ese tiempo no se presentó un incremento significativo en la producción de CH_4 hasta el día 42 (1.008 horas) puesto que ya se había empezado a presentar una estabilización, mientras que cuando se incrementó la temperatura a 27°C para una relación S/I 0,20, la producción fue aproximadamente durante 14 días (336 horas) y a relaciones S/I mayores (0,50 y 1,0 $\text{gSV}_{\text{sustrato}} \text{gSV}_{\text{inoculo}}^{-1}$), la producción duró 20 días (480 horas). Los resultados obtenidos coinciden con lo reportado por Chen & Hashimoto (1996) quienes afirman que esta fase es más corta para las relaciones más bajas que corresponden a las de menor concentración de sustrato.

De acuerdo con el modelo de regresión (Ecuación 36), la variabilidad del PBM se puede explicar en un $R^2 = 80,92\%$ con la superficie de respuesta ajustada (Ver Figura 21.A), la cual está representada por la siguiente ecuación:

$$PBM = 29,8 + 0,38 * Temp - 69,8 * S/I - 5,062 * Temp * S/I + 0,1863 * Temp^2 + 93,9 * S/I^2$$

El análisis ANOVA se ajustó al modelo de regresión para la interacción de dos variables, la cual ha sido ampliamente utilizada por autores como Li et al., (2015) y Oliveira, Alves y Costa (2015). El análisis muestra que la temperatura de operación tiene el impacto más significativo en el proceso, con un coeficiente de 0,38 en comparación con el coeficiente de relación S/I de -69,8 y el coeficiente de interacción entre las dos variables (-5,062) que son menos significativos.

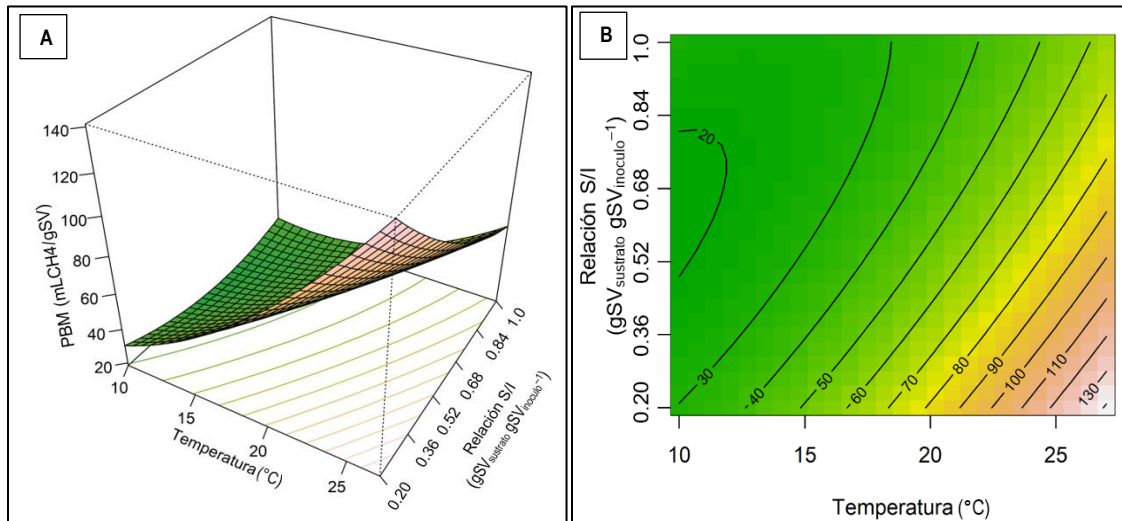


Figura 21. El efecto de interacción entre la relación S/I y la temperatura sobre el PBM empleando un inóculo Psicrófilico. **A)** Superficie de respuesta **B)** Diagrama de Contorno

Se destaca que el área delimitada por las más altas temperaturas (entre 22,5 y 27 °C) y menores relaciones S/I (entre 0,2 y 0,4 gSV_{sustrato}·gSV_{inoculo}⁻¹) corresponden a las condiciones en las cuales el PBM obtuvo valores superiores a 100 mLCH₄/gSV. En el diagrama de contorno (Figura 21.B) se evidencia que, el PBM se maximiza a mayor temperatura (máxima temperatura evaluada: 27°C) y baja relación S/I (Mínima relación S/I evaluada: 0,20) con Media=148 mLCH₄/gSV, Error estándar=4,27.

Este resultado es consistente con la figura de probabilidad normal de los efectos estandarizados (Figura 22.A) con un nivel de confianza del 95%, es decir, que empleando el inóculo psicrófilico el PBM alcanzado transcurrido los 48 días de medición, muestra una relación directamente proporcional entre la temperatura y el PBM e inversamente proporcional con la relación S/I (Figura 22.B).

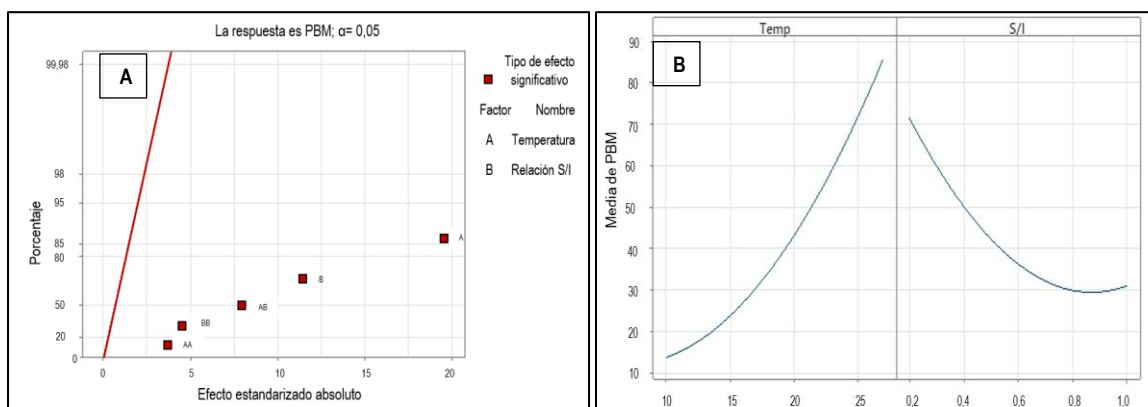


Figura 22. A) Efectos normales (absolutos) estandarizados de la temperatura y la relación S/I sobre el PBM
B) Efectos principales en el PBM

En general, cuando se cambia la temperatura de una prueba de condiciones mesofílica a psicrófila, hay un impacto negativo en las tasas de generación de metano asociado al consumo de MO (Feller, 2017). En este estudio, la disminución de la temperatura de 27°C a 15°C y 10°C, causó una reducción en la producción de biometano del orden de 62,53 % y 73,59 % respectivamente, respecto a 27°C. Estos resultados coinciden con lo encontrado por autores como Chae et al., (2008) que también investigaron el efecto de la reducción de la temperatura sobre la producción de biogás; pasando de 35 a 30°C y de 30 a 25°C encontraron que la producción de biometano se redujo en un 3% y un 17,4%, respectivamente. Massé et al. (2003) también evaluarón el rendimiento de un reactor por lotes secuenciales (ASBR) y pasando de 20°C a 15°C y luego a 10°C, encontraron una reducción en la producción de biogás de 18 % y 69,9 % respecto a la condición de 20°C.

Algunos estudios recomiendan la aplicación de estrategias de aclimatación del inóculo durante la fase de inicio de la DAP e indican que se obtienen resultados prometedores cuando la temperatura de aclimatación del inóculo se considera en la prueba de PBM psicrófila y se piensa en la DA como una oportunidad de tratamiento de RA y no solo como un medio para la producción de biogás y para potencializar su aplicación (Collins G et al., 2006; Bialek K et al., 2011). Lendormi et al., (2022) también indican que si se requiere realizar un proceso de DA a temperaturas distintas a las consideradas más favorables (mesofílicas y termofílicas), es necesario adaptar o redefinir los principios de una DA cuando se aplica a condiciones psicrófilas (Martí- Herrero et al., 2022).

Dolejs et al., (2018) encontraron que usando inóculo aclimatado a condiciones psicrófilas (15°C), se alcanzaron resultados de actividad similares con respecto a la prueba de PBM a 35°C en el tratamiento de aguas residuales.

Así mismo, los resultados reportados por Martí-Herrero et al., (2022) muestran que cuando un inóculo mesofílico se aclimata a condiciones psicrófilas (10°C), los resultados de PBM son del orden de 72 % (10°C) respecto a 37°C, mientras que, sin aclimatación, los resultados son apenas del orden de 51 %.

Adicional al seguimiento de la producción de metano en cada una de las condiciones evaluadas, también se realizó la caracterización físico-química de cada uno de los reactores al final del proceso (Tabla 23).

Tabla 23. Valores de pH, AT, AB, AGVs, α , IB y DQO al final del proceso

Tratamiento	Inóculo	Temp (°C)	S/I ($\text{gSV}_{\text{sus}}^{\text{trato}} \cdot \text{gS}_{\text{V}_{\text{inoculo}}}^{-1}$)	pH (und)	AT (mg $\text{CaCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$)	AB (mg $\text{CaCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$)	AGV's ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	AAG vs (mg CaC $\text{O}_3 \cdot \text{L}^{-1}$)	IB	α	DQO (mg/L)
T1	Psicrofílico	10	0,20	6,28	6.950	4.250	3.336	2.700	0,388	0,612	3.738
T2	Psicrofílico	10	0,50	6,03	7.735	4.750	7.458	2.985	0,386	0,614	7.558
T3	Psicrofílico	10	1,0	6,10	7.325	4.800	8.040	2.525	0,345	0,655	13.178
T4	Psicrofílico	15	0,20	6,1	10.200	6.860	5.658	3.340	0,327	0,673	5.878
T5	Psicrofílico	15	0,50	6,25	8.640	6.170	8.418	2.470	0,286	0,714	6.458
T6	Psicrofílico	15	1,0	5,15	7.000	4.250	11.580	2.750	0,393	0,607	16.648
T7	Psicrofílico	27	0,20	7,32	5.635	3.750	8.208	1.885	0,335	0,665	7.498
T8	Psicrofílico	27	0,50	6,10	6.200	3.950	7.752	2.250	0,363	0,637	6.858
T9	Psicrofílico	27	1,0	5,19	8.250	5.000	7.104	3.250	0,394	0,606	16.018

*AAGVs (Alcalinidad por AGVs)

En el presente estudio, a pesar de que se garantizó al inicio del proceso un rango de pH inicial de 6,8 a 7,5 und, considerado óptimo para una máxima producción de CH_4 (Mosey & Fernandes 1988; Mata-Álvarez et al., 2000; Liu et al., 2008; Zhang et al., 2015; Anwar et al., 2016), el pH de todos los reactores con excepción de los tratamientos T6 y T9 varió entre 6,0 y 7,5 und (Tabla 23), lo cual puede estar asociado a que en estos se presentó la relación S/I más alta de las evaluadas ($1 \text{ gSV}_{\text{sustrato}} \text{ gSV}_{\text{inoculo}}^{-1}$), lo cual coincide con autores como Parra- Orobio et al., (2020); otra posible hipótesis que también podría explicar la disminución del pH en estos reactores es la acumulación de AGVs que pueden desequilibrar el proceso; igualmente las altas concentraciones de AGVs son consistentes con la alta presencia de bacterias acidogénicas, que en el caso de T6 coinciden con la mayor AA, por lo que se recomienda evaluar con más detalle estos factores en futuras investigaciones.

La medición de los índices de alcalinidad (índice tampón (B) e índice alfa (α)) se basó en la determinación de las alcalinidades total, bicarbonática y debida a los ácidos grasos volátiles. Se conoce que la adecuada variación del índice B está en el rango 0,20-0,40, lo que indica que por lo menos el 60 % de la alcalinidad total del sistema tiene que estar en forma de alcalinidad bicarbonática (Rozzi, 1994). La Tabla 23, muestra que empleando un inóculo psicrofílico a bajas temperaturas el índice B de todos los tratamientos se encuentra entre 0,25-0,40, que ratifica que la AT durante el ensayo, fue en gran proporción debida a la AB, permitiendo así que los reactores contaran con suficiente capacidad buffer. De igual forma, respecto al índice α se recomiendan valores de 0,7 alcanzándose condiciones estables, lo cual permite concluir que transcurridas 1.162 horas todas las configuraciones evaluadas presentaron condiciones estables.

Por último, el monitoreo de la DQO es importante porque es un indicador de cuánta MO se está degradando para ser convertida en biogás (Nayono et al. 2010); se evidenció que respecto a la medición final de DQO la relación S/I tuvo una incidencia directa ya que a mayor relación S/I se presentó un menor aprovechamiento y biodegradabilidad del sustrato ($>DQO$), lo cual coincide con la menor producción de PBM a mayor S/I. Lo anterior sugiere un mejor funcionamiento cuando es agregado un mayor volumen de inóculo y menor cantidad de sustrato en el reactor, coincidiendo con lo reportado por autores como Sánchez-Reyes et al., (2016).

6.3 Fase 3. Modelación Cinética

Se han utilizado una variedad de métodos en la identificación de parámetros cinéticos, debido a que el proceso de DA se caracteriza por su alta complejidad y no linealidad. Esto provoca variabilidad en los valores de los parámetros reportados en diferentes estudios, incluso cuando se tuvo el mismo funcionamiento y condiciones ambientales (Madani-Hosseini et al., 2014).

En la Tabla 24 se presentan los resultados obtenidos y se muestra la bondad del ajuste. En ésta se observa que no todas las aplicaciones fueron satisfactorias, sin embargo, los parámetros de todos los modelos cinéticos se validaron con base en los valores de las funciones de error R^2 y RMSE; el coeficiente de correlación informado, cuando correspondía, a mayor temperatura indicó un ajuste excelente ($>0,95$) mientras que a medida en que decreció la temperatura el ajuste fue menor ($15^{\circ}C$: $>0,90$ y $10^{\circ}C$: $>0,83$). Lo anterior indica, que los modelos cinéticos aplicados se ajustan mejor a condiciones de temperatura mesofílica que psicrófilica; en este último caso de los tres modelos aplicados, el de GM fue el que presentó el mejor ajuste (maximizando R^2 y minimizando el RMSE), coincidiendo con lo indicado por autores como Martí Herrero et al., (2022), Casallas-Ojeda et al., (2020) y Díaz & García (2021).

En las Figuras 23, 24 y 25, se presenta la predicción de producción de metano para cada una de las condiciones de tratamiento evaluadas mediante los tres modelos cinéticos.

Tabla 24. Estimación de los parámetros cinéticos evaluados para ensayos de DAP-RA a diferentes temperaturas de operación y relación S/I: metano

Temperatura (°C)	10			15			27		
Relación S/I ($gSV_{\text{sustrato}} \cdot gSV_{\text{inoculo}}^{-1}$)	0,20	0,50	1,0	0,20	0,50	1,0	0,20	0,50	1,0
Tratamiento	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9
Pmax (mLCH ₄ /gSV) experimental	54,62	33,055	44,608	59,375	77,913	50,079	207,988	126,106	97,837
Primer Orden (PO)									
Pmax (mLCH ₄ /gSV)	45,03	24,28	38,89	55,91	89,69	40,78	196,4	111,9	87,93
Kh (d ⁻¹)	0,087	0,319	0,067	0,208	0,040	0,054	0,310	0,137	0,181
R ²	0,75	0,73	0,85	0,97	0,95	0,58	0,99	0,94	0,95
RMSE	5,556	4,00	5,225	3,284	5,608	6,054	8,591	8,505	7,415
Gompertz modificado (GM)									
Pmax (mLCH ₄ /gSV)	47,2	26,86	39,27	55,25	76,16	92,97	192,4	111,6	86,88
Rmax (mLCH ₄ /gSV.d)	1,585	1,206	1,321	6,046	2,656	0,7179	48,08	6,995	8,392
λ (d)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,52	0,00	0,31	0,00	0,00
R ²	0,86	0,91	0,85	0,97	0,97	0,85	0,98	0,95	0,95
RMSE	5,11	3,548	5,502	3,608	5,027	3,574	11,36	8,199	8,686
Función Logística (FL)									
Pmax (mLCH ₄ /gSV)	154,3	79,21	156,60	165,5	221,8	191,3	579,3	332	263,7
Rmax (mLCH ₄ /gSV.d)	3,112	3,139	2,147	14,66	7,578	2,217	106,6	17,1	17,36
λ (d)	24,26	10,94	40,42	6,97	22,96	54,24	3,93	10,76	6,88
R ²	0,86	0,82	0,84	0,96	0,97	0,86	0,96	0,94	0,92
RMSE	4,211	3,344	4,111	3,319	4,157	3,61	13,23	8,068	7,723

Figura 23. Modelo de PO

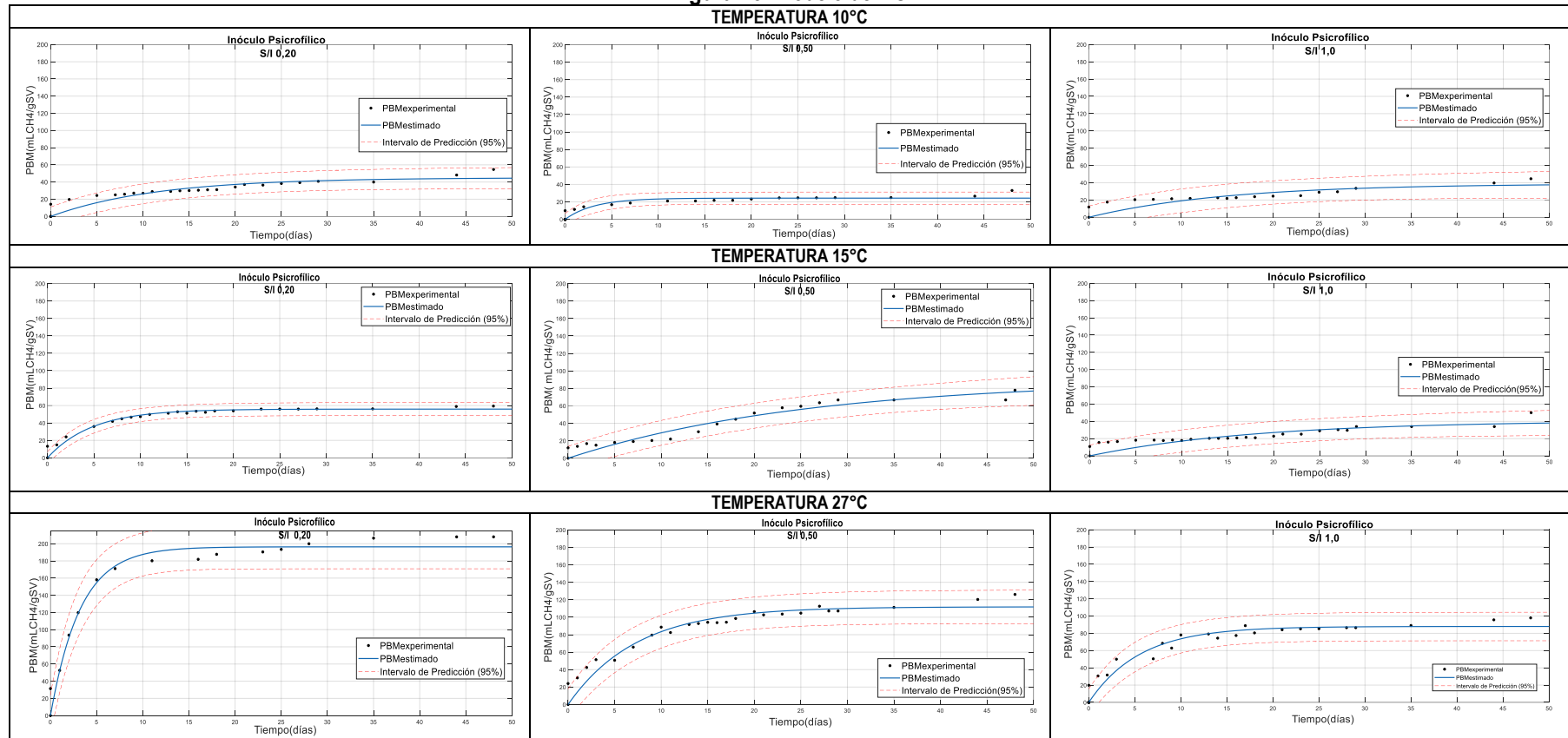


Figura 24. Modelo de GM

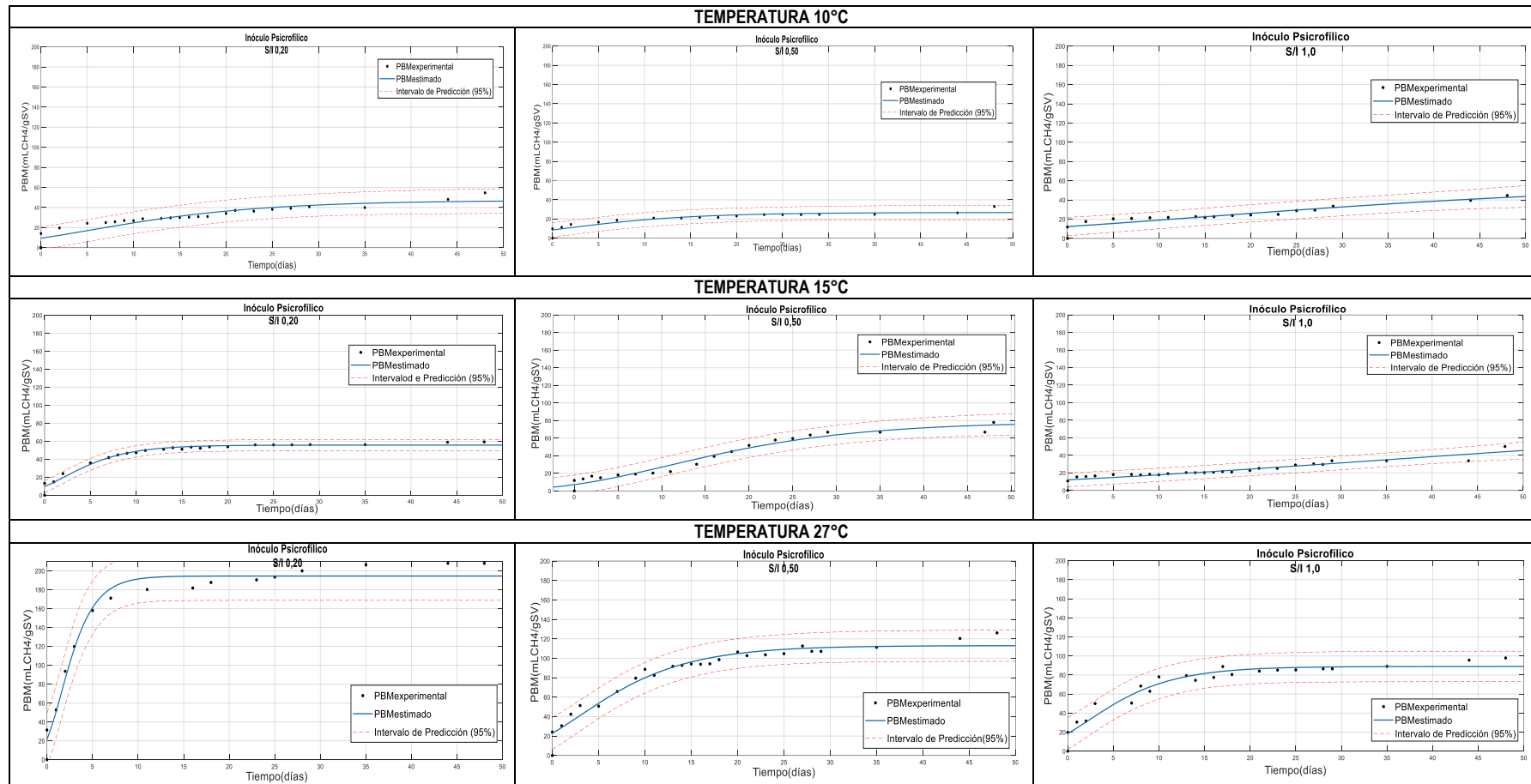
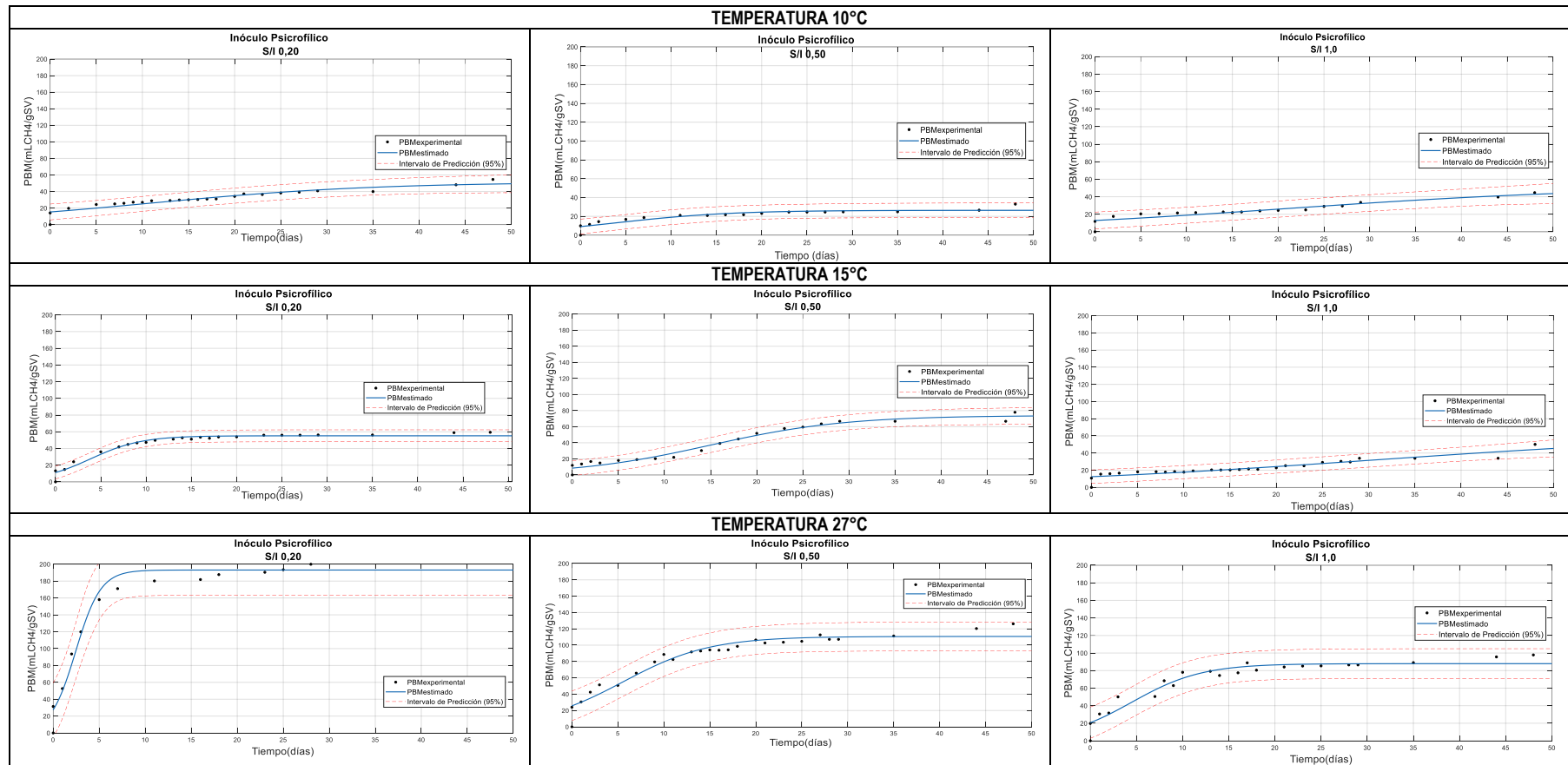


Figura 25. Modelo de FL



Parámetros cinéticos como la constante de hidrólisis (K_h), la fase de latencia (λ) y la tasa máxima de producción metano ($R_{m\acute{a}x}$) podrían verse significativamente influenciados por la relación S/I y la temperatura (Hobbs et al., 2018). Dentro de este estudio, con relación al modelo cinético de PO, los valores de K_h están en el rango reportado para sustratos ricos en carbohidratos como los RA (0,002–0,30 d⁻¹) (Aldin et al., 2011); ésta variable se vio afectada tanto por la relación S/I, lo cual coincide con Hidalgo & Martín (2014), Parra-Orobio et al., (2018) y Cárdenas- Cleves et al., (2018), como por la temperatura de operación. Sin embargo, se encontró que aunque los dos factores presentan un efecto significativo sobre la K_h ($p < 0,05$), la temperatura es el factor que más afecta este parámetro cinético (mayor temperatura= mayor K_h) (Pan et al., 2019) a excepción de T2 donde se obtuvo un $K_h=0,30$ d⁻¹ a 10°C pero el modelo bajo esta condición presenta un ajuste igual a $R^2=0,73$ y $RMSE=4,0$ lo cual indica una alta variabilidad que hace que la predicción del metano, así como la bioquímica de este tratamiento posiblemente no sea confiable y no puede extrapolarse a condiciones de reactores a escala piloto y real.

El hecho de que la relación S/I igual a 1,0 gSV_{sustrato}·gSV_{inoculo}⁻¹ pueda haber afectado la hidrólisis, puede estar relacionado a factores como la predominancia de material particulado, altos niveles de sólidos totales y la acumulación de AGVs(Sundberg et al., 2011).

En términos de λ , se evidencia que el modelo cinético de GM no refleja la realidad biológica del proceso, puesto que se encontraron valores de λ nulos (0 días), lo que indica que no hubo un periodo mínimo de adaptación enzimática al sustrato, sino que la biodegradación de los RA ocurrió de manera instantánea, lo cual no tiene un significado biológico válido (Parra-Orobio et al., 2017; Bedoić et al., 2020), en contraste, los tratamientos T5 y T7 presentaron valores mayores (0,52d⁻¹ y 0,31d⁻¹) y coinciden con las condiciones óptimas de producción de metano a 15 y 27°C.

Esta variabilidad y diferencia de comportamientos de λ , está más relacionada con la afinidad del inóculo y con el sustrato que con la temperatura (Martí Herrero et al., 2022); en este estudio, los valores de λ obtenidos no reflejan cambios significativos en el tiempo. Con el fin de contrastar los resultados de λ se aplicó el modelo de modelo FL, donde se evidencia que el modelo no se ajusta al comportamiento experimental observado ya que arroja valores de λ entre 3,93 d⁻¹ y 54,24d⁻¹; Teniendo en cuenta que este modelo cinético presenta un incremento exponencial inicial hasta alcanzar una estabilización final en el nivel máximo de producción y además asume que la tasa de producción de biogás es proporcional a la cantidad de gas ya producido, la tasa máxima de producción y la capacidad máxima de producción de biogás (Donoso-Bravo et al., 2010), al aplicar dicho modelo en el presente estudio se sobreestiman todos los parámetros cinéticos, lo cual se ve reflejado en mayor medida en el $P_{m\acute{a}x}$ donde a menor temperatura se presentó un incremento entre el valor experimental y $P_{m\acute{a}x}$ del orden de 64,79 y 67,60% a 10°C y 15°C respectivamente.

Con relación a la producción máxima de metano ($P_{m\acute{a}x}$) a diferencia del FL, el modelo de GM mostró una diferencia mínima entre el $P_{m\acute{a}x}$ experimental y los estimados para todos los tratamientos.

Sin embargo, comparado con el valor de $PBM_{teórico}$ (343,20 mL CH_4 /gSV) obtenido utilizando la composición del sustrato (en términos de carbohidratos, proteínas y lípidos en el RA) se evidencia que experimentalmente el modelo FL a 27°C y relación 0,20 presenta el valor más cercano al teórico, siendo, solamente 3,26% inferior al teórico ($R^2=0,94$). Lo anterior, señala que debido a la complejidad de este proceso el $PBM_{teórico}$ sobreestima la producción de metano y se deben aplicar y tener en cuenta los resultados de diferentes modelos como se realizó en este estudio.

Emplear un inóculo psicrófilico aclimatado a bajas temperaturas por un tiempo produce un incremento de PBM (P_{max}) lo cual se observa a temperatura psicrófila igual a 15°C y relación S/I 0,50, lo anterior coincide con autores como Marti Herrero et al., (2022) quienes afirman que la aclimatación a lo largo del tiempo en rangos psicrófilos/psicotrópicos a 10°C y 20°C puede hacer que la producción de metano sea 1,6 y 1,2 veces mayor. Con respecto a la tasa máxima de producción de CH_4 (R_{max}) al aumentar la temperatura de un inóculo psicrófilico, se aumenta su velocidad y potencial para generar metano considerablemente. Se alcanzaron valores máximos de R_{max} a 27°C y relación S/I 0,20 (48,08 mL CH_4 /gSV*d y 106,6 mL CH_4 /gSV*d) mediante GM y FL, respectivamente, lo que refleja una correlación positiva entre el R_{max} y la temperatura y coincide con lo reportado por Muñoz (2019) y Dev et al., (2019), quienes indican que la disminución de la temperatura hasta cierto punto tiene incidencia principalmente sobre el metabolismo y rendimiento de las *archaeas* metanogénicas. Interesantemente, las mayores tasas de producción de metano se obtuvieron en las bajas relaciones S/I, lo cual indica menores problemas de adaptación de los microorganismos al sustrato. De esta manera, Kaffle & Chen, (2016) y Cao et al., (2019) mencionan que un valor más alto de R_{max} significan normalmente una mayor producción de CH_4 , lo cual es consistente con los resultados obtenidos para condiciones óptimas en el PBM.

Existe muy poca literatura sobre la utilización de modelos cinéticos a temperaturas psicrófilicas empleando RA en el proceso de DA ya que en los pocos estudios realizados en estas condiciones prima la implementación de estiércol vacuno y porcino, lo que representa una gran limitación al momento de comparar los resultados de los parámetros cinéticos (Choudhary et al., 2020). Estos resultados sugieren que se requieren aplicar varios modelos cinéticos que se complementen entre sí y aunque la cinética de los modelos probados tiene beneficios en términos de predicción de la producción de metano y su relación con el comportamiento de la biomasa, es necesario incorporar otro tipo de modelos dinámicos que permitan predecir no solo la producción de metano, sino también la generación o transformación de otras sustancias o variables operativas (eliminación de DQO, nitrógeno amoniacal, alcalinidad, AGV, entre otros parámetros como el comportamiento térmico) (Sossa et al., 2018, Liotta et al., 2015, Rajagopal et al., 2017).

CONCLUSIONES

- La fracción orgánica biodegradable presente en los residuos de alimentos (RA) es significativa, lo que ratifica su potencial uso como fuente de energía renovable, a partir de procesos de digestión anaerobia; esta estrategia de aprovechamiento permitirá aportar a la minimización de los impactos ambientales causados por su disposición directa en sitios de disposición final. Sin embargo, características como el bajo pH (5,34) y los altos contenidos de carbohidratos de lenta degradación como lignina (4,64%), celulosa (15,16%) y hemicelulosa (25,65 %), indican la necesidad de acondicionar el sustrato, ya que se pueden presentar problemas de inhibición tanto en la tasa de hidrólisis como de producción de metano.
- Los resultados de las actividades metabólicas del inóculo a 10, 15 y 27°C, indicaron que la temperatura tiene un efecto significativo sobre las mismas (valor $-p < 0,05$), siendo las actividades hidrolítica y metanogénica las más influenciadas por la temperatura.
- La relación S/I influyó sobre la digestión anaerobia de los RA, siendo las relaciones menores a $1,0 \text{ gSV}_{\text{sustrato}} \cdot \text{gSV}_{\text{inoculo}}^{-1}$ las que permitieron un mejor desempeño del proceso; con valores mayores, el proceso se desestabiliza debido a la ocurrencia de procesos de acidificación por acumulación de los AGV's que no logran ser estabilizados por la capacidad buffer del sistema.
- La disminución de la temperatura de operación del proceso de 27°C a 15°C y 10°C, genera una disminución de la producción de biometano del orden de 62,53 % y 73,59 % respectivamente, respecto a 27°C, lo cual evidencia que la temperatura tiene un efecto sobre la fase de crecimiento e incremento de producción de CH_4 .
- El análisis de efecto simultaneo de la temperatura y la relación S/I, mostró que la temperatura de operación tiene mayor incidencia sobre el proceso de digestión anaerobia que la relación S/I. La condición óptima encontrada dentro de las evaluadas fue la de 27°C y 0,20 $\text{gSV}_{\text{sustrato}} \cdot \text{gSV}_{\text{inoculo}}^{-1}$, con la cual se alcanzó un PBM experimental de 207,98 mL/gSV; sin embargo, este valor mostró una diferencia del orden de 39,40% inferior al de la producción teórica (343,20 mL/gSV), lo cual se debe a diversos aspectos como calidad, complejidad y cantidad del sustrato y del inóculo, temperatura de operación, entre otros. Por tanto, todos los factores deben ser controlados en conjunto para garantizar la eficiencia de los mecanismos enzimáticos de los microorganismos involucrados en la digestión anaerobia a bajas temperaturas.
- El resultado de los modelos cinéticos implementados en el estudio mostró que el modelo de Gompertz Modificado para la temperatura de 27°C, presentó el mejor ajuste ($>0,95$), mientras que a medida que decreció la temperatura, el ajuste fue menor (15°C: $>0,90$ y 10°C: $>0,83$). La constante de hidrólisis K_h está más relacionada con la temperatura de operación que con la relación S/I, mientras que la fase de latencia λ tiene mayor relación con la afinidad entre el sustrato y el inóculo que con la temperatura a la que se lleve a cabo el proceso de digestión anaerobia.
- Teniendo en cuenta que la selección de un inóculo depende del origen, la afinidad con el sustrato y las características del mismo, este trabajo de investigación permitió conocer el efecto de la temperatura sobre las actividades metabólicas como herramienta para la

selección de inóculos en la digestión anaerobia psicrófila de residuos de alimentos; al mismo tiempo, se conoció el efecto simultáneo de las diferentes variables evaluadas (temperatura y relación S/I) sobre la producción de metano bajo condiciones psicrófilas. Lo anterior representa una contribución sobre los criterios de decisión encaminados hacia su aplicación en sistemas a gran escala en las regiones frías y templadas de la región, así como un aporte sobre las estrategias de minimización de la contaminación ambiental por la disposición a cielo abierto de residuos sólidos orgánicos.

RECOMENDACIONES

- 1) Dado que las actividades metabólicas de un inóculo están asociadas al tipo de sustrato empleado, es importante considerar en estos ensayos, la aplicación de soluciones que representan la composición real del sustrato a evaluar en el proceso de digestión anaerobia. Adicionalmente, para complementar el análisis de las comunidades microbianas y dinámica poblacional de las arqueas metanogénicas y particularmente de las comunidades psicrotolerantes del inóculo, es recomendable evaluar la aplicación de herramientas como programas ION TORRENT PERSONAL GENOME MACHINE METHODS AND TECHNOLOGIES que aportarían al análisis de los principales componentes de la comunidad microbiana y junto con la dinámica de las familias dominantes de bacterias y arqueas, permitiría proponer diferentes vías metabólicas para la aclimatación de las comunidades microbianas.
- 2) Durante la actividad metanogénica específica (AME) un posible inconveniente del acetato sódico (Ac) es la posible interacción entre el sodio y el inhibidor de la prueba. Este fenómeno podría controlarse seleccionando una sal de Ac para comprobar la inhibición de un catión específico; la sal de acetato debe coincidir con el catión investigado (ejemplo, acetato de potasio para evaluar la inhibición del potasio).
- 3) Realizar estudios que permitan evaluar el efecto simultáneo de dos o más variables como el tipo de inóculo, sustrato, tamaño de partícula, y concentración de sólidos sobre el proceso de DAP, de tal manera que permita maximizar su potencial para la generación de bioenergía y aportar criterios de decisión respecto a la viabilidad técnico-económica.
- 4) Estandarizar el protocolo metodológico para determinar las actividades metabólicas de acuerdo con la temperatura en que se va a llevar a cabo el proceso de DA, ya que el emplear protocolos a 35°C, no permite conocer o aproximarse al comportamiento del proceso bajo condiciones psicrófilas puesto que se conoce que la temperatura tiene un efecto sobre el método del ácido 3,5 dinitrosalicílico DNS empleado para medir azúcares reductores totales.
- 5) Igualmente, es indispensable estandarizar el Protocolo de Potencial Bioquímico de Metano para la digestión anaerobia de residuos de alimentos en diferentes condiciones, incluidas las psicrófilas ya que la insuficiencia de estudios limita comparar y analizar los resultados obtenidos.

- 6) En el marco de los aspectos abordados en este estudio, se sugiere evaluar más relaciones S/I para conocer con mayor precisión su incidencia en la DAP, así como el efecto de la aclimatación de los inóculos a bajas temperaturas.
- 7) Modelos como el ADM1 pueden ser una opción confiable en para evaluar la DAP y la formación de otras sustancias durante el proceso, así como profundizar en la sistematización y modelación bajo condiciones psicrofílicas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdulkarim, B. I. & Abdullahi, M. E. (2010). Effect Of Buffer (NaHCO_3) And Waste Type In High Solid Thermophilic Anaerobic Digestion. *International Journal of Chemtech Research*, 2,2.
- Adekunle KF, Okolie JA (2015) A Review of Biochemical Process of Anaerobic Digestion. *Adv Biosci Biotechnol* 06:205–212. <https://doi.org/10.4236/abb.2015.63020>
- Ahn HK, Smith MC, Kondrad SL, White JW (2010) Evaluation of biogas production potential by dry anaerobic digestion of switchgrass-animal manure mixtures. *Appl Biochem Biotechnol* 160(4):965–975
- Akindolire, M. A., Rama, H., & Roopnarain, A. (2022). Psychrophilic anaerobic digestion: A critical evaluation of microorganisms and enzymes to drive the process. In *Renewable and Sustainable Energy Reviews* (Vol. 161). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2022.112394>
- Aldin, S., Nakhla, G., & Ray, M. (2011). Modeling the influence of particulate protein size on hydrolysis in anaerobic digestion. *Industrial and Engineering Chemistry Research* 50 (18), 10843- 10849.
- Aldin, S. (2010). The Effect of Particle Size On Hydrolysis And Modeling Of Anaerobic Digestion. Thesis Doctor, University of Western Ontario
- Alfonso, P., & Tello, B. (2013). Tutor académico: Daniel Prats Rico Tutor de empresa: Abel Seller Suárez septiembre 2013 Estudio de los efectos del pH extremo por adición de NaOH sobre la producción y calidad del biogás y otros parámetros de la digestión anaerobia urbana Máster en Gestión Sostenible y Tecnologías del Agua Instituto Universitario del Agua y de las Ciencias Ambientales TRABAJO FIN DE MÁSTER.
- Ali, A., Mahar, R. B., Abdelsalam, E. M., & Sherazi, S. T. H. (2019). Kinetic Modeling for Bioaugmented Anaerobic Digestion of the Organic Fraction of Municipal Solid Waste by Using Fe_3O_4 Nanoparticles. *Waste and Biomass Valorization*, 10(11), 3213-3224. [Doi.org/10.1007/s12649-018-0375-x](https://doi.org/10.1007/s12649-018-0375-x)
- Al Seadi, T., Owen, N., Hellström, H., Kang, H. (2013). Source separation of MSW: an overview of the source separation and separate collection of the digestible fraction of household waste, and other similar wastes from municipalities, aimed to be used as feedstock for anaerobic digestion in biogas plants. IEA Bioenergy Task 37 Energy from Biogas Report (2013).
- Alzate, M., 2015. Identificación de grupo tróficos presentes en el estiércol bovino usado para la digestión anaerobia de sobrantes alimenticios de restaurantes. Universidad Industrial de Santander
- Ancu Sierra; Bossa Caamaño; Vives Bonnet (2018) Energías limpias alternativas para el desarrollo organizacional. Universidad Cooperativa de Colombia. Facultad de Ciencias Administrativas, contables y comercio Internacional. Programa Administración de empresas.



- Angelidaki, I., Karakashev, D., Batstone, D. J., Plugge, C. M., & Stams, A. J. M. (2011). Biomethanation and its potential. *Methods in Enzymology*, 494, 327–351. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385112-3.00016-0>
- Angelidaki and Sanders. (2004). Assessment of the anaerobic biodegradability of macropollutants. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 3, 117–129.
- Angelidaki, I., Alves, M., Bolzonella, D., Borzacconi, L., Campos, J. L., Guwy, A. J., Kalyuzhnyi, S., Jenicek, P., & Lier, J. B. Van. (2009). Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: a proposed protocol for batch assays. 927–934. <https://doi.org/10.2166/wst.2009.040>
- Angelidaki, I., Ahring, B.K., 1993. Thermophilic anaerobic digestion of livestock waste: the effect of ammonia. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 38, 560-564
- Anwar, N., Wang, W., Zhang, J., Li, Y., Chen, C., Liu, G., & Zhang, R. (2016). Effect of sodium salt on anaerobic digestion of kitchen waste. *Water Science and Technology*, 73(8), 1865–1871. <https://doi.org/10.2166/wst.2016.035>
- APHA. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater; American Public Health Association: Washington, DC, USA, 2012; ISBN 978-0875532356.
- APHA-AWWA-WPCF (1998) Standard methods for examination of water and wastewater., 20th Ed. Washington
- APHA, A.W.W.A., & WEF(2005). Standard methods for the examination of water & wastewater. Washington DC: American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation.
- Aquino, S. F., & Stuckey, D. C. (2007). Bioavailability and toxicity of metal nutrients during anaerobic digestion. *Journal of environmental engineering*, 133(1), 28-35.
- Aquino, S. F. de, & Chernicharo, C. A. L. (2005). Acúmulo de ácidos graxos voláteis (AGVs) em reatores anaeróbios sob estresse: causas e estratégias de controle. *Engenharia Sanitaria e Ambiental*, 10(2), 152–161. <https://doi.org/10.1590/s1413-41522005000200009>
- Aquino, S. F., Chernicharo, L. C. A., Foresti, E., & Florencio, D. S. M. d. L. (2007). Metodologias para determinação da atividade metanogênica específica (AME) em lodos anaeróbios. *Eng. Sanit. Ambient.*, 12, 192–201. <https://doi.org/10.1590/S1413-41522007000200010>.
- Ariunbaatar Javkhan Efecto del nitrógeno amoniacal en la digestión anaeróbica de una y dos etapas de los residuos de alimentos Volumen 38, Abril 2015 , Páginas 388-398 <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2014.12.001>
- Astals, S., Batstone, D. J., Tait, S., & Jensen, P. D. (2015). Development and validation of a rapid test for anaerobic inhibition and toxicity. *Water Research*, 81, 208–215. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.05.063>
- Avagyan AB (2017) Environmental building policy by the use of microalgae and decreasing of risks for Canadian oil sand sector development. *Environ Sci Pollut Res Int* 24(25):20241–20253. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9864-x>
- Avagyan AB, Singh B (2019) Biodiesel: feedstocks, technologies, economics and barriers. Assessment of environmental impact in producing and using chains Springer book. Springer ISBN 978-981-13-5745-9 ISBN 978-981-13-5746-6. <https://doi.org/10.1007/978-981-13-5746-6>
- Ávila, R., Rivas, B., Hernández, R., y Chirinos, M. (2012). Contenido de azúcares totales, reductores y no reductores en Agave cocui Trelease. *Multiciencias*, 12(2), pp. 129-135. <https://www.redalyc.org/pdf/904/90424216002.pdf>
- Baderna D, Maggioni S, Boriani E, Gemma S, D. Of. Molteni M, Lombardo A, et al. A combined approach to investigate the toxicity of an industrial landfill's leachate: chemical analyses, risk assessment and in vitro assays. *Environ Res.* 2011;111(4):603-13.
- Bahn, O., Haurie, A., Kypres, S., Vial, J-P., 1996. A Decomposition Approach to Multiregional Environmental Planning: a Numerical Study. Springer

- Bardi, M. J., & Aminirad, H. (2020). Synergistic effects of co-trace elements on anaerobic co-digestion of food waste and sewage sludge at high organic load. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(15), 18129-18144. Doi.org/10.1007/s11356-020-08252-y.
- Bedoic, R., Špehar, A., Puljko, J., Čuček, L., Ćosić, B., Pukšec, T., & Duić, N. (2020). Opportunities and challenges: Experimental and kinetic analysis of anaerobic co-digestion of food waste and rendering industry streams for biogas production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 130, 109951. Doi.org/10.1016/j.rser.2020.109951
- Bello Gil, Daniel; Carrera Bocourt, Emilia; Díaz Maqueira, Yuset Determinación de azúcares reductores totales en jugos mezclados de caña de azúcar utilizando el método del ácido 3,5 dinitrosalicílico ICIDCA. *Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, vol. XL, núm. 2, mayo-agosto, 2006, pp. 45-50 Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar Ciudad de La Habana, Cuba
- Benavides, J.M.S. Yáñez, R.A.C. Villanueva, R.C. Martínez, Comparación de la producción de CH₄ por sustrato fácilmente hidrolizable vs sustrato metanogénico, *Biológicas Rev La DES Ciencias Biológico Agropecu. Univ. Michoacana San Nicolás Hidalgo* 12 (2013) 158–161
- Bernal, Lilia; Martínez Barajas, Eleazar (2005). Una nueva visión de la degradación del almidón. Departamento de Bioquímica- Facultad de química UNAM
- Bialek K, Kim J, Lee C, Collins G, Mahony T, O'Flaherty V: Quantitative and qualitative analyses of methanogenic community development in high-rate anaerobic reactors. *Water Res* 2011, 45:1298-1308
- Bolaños, M., & Sandoval, L. (2022). EVALUACIÓN DE LA INFLUENCIA DE MÉTODOS VOLUMÉTRICOS Y MANOMÉTRICOS SOBRE LA ESCUELA DE INGENIERÍA DE RECURSOS NATURALES Y DEL AMBIENTE-EIDENAR INGENIERÍA SANITARIA Y AMBIENTAL.
- Bong, C. P. C., Lim, L. Y., Lee, C. T., Ho, W. S., & Klemes, J. J. (2017). The Kinetics for Mathematical Modelling on the Anaerobic Digestion of Organic Waste—A Review. *Chemical Engineering Transactions*, 61, 1669-1674. Doi.org/10.3303/CET1761276
- Bohn, I., Björnsson, L., & Mattiasson, B. (2007). Effect of temperature decrease on the microbial population and process performance of a mesophilic anaerobic bioreactor. *Environmental Technology*, 28(8), 943–952. <https://doi.org/10.1080/09593332808618843>
- Bouallagui, H., Touhami, Y., Ben Cheikh, R. & Hamdi, M. (2005). Bioreactor Performance in Anaerobic Digestion Of Fruit And Vegetable Wastes. *Process Biochemistry*, 40,3, 989-995.
- Bouallagui, H., Haouari, O., Touhami, Y., Ben Cheikh, R., Marouani, L., & Hamdi, M. (2004). Effect of temperature on the performance of an anaerobic tubular reactor treating fruit and vegetable waste. *Process Biochemistry*, 39(12), 2143-2148. Doi.org/10.1016/j.procbio.2003.11.022.
- Bowen, E. J., Dolfing, J., Davenport, R. J., Read, F. L., & Curtis, T. P. (2014). Low-temperature limitation of bioreactor sludge in anaerobic treatment of domestic wastewater. *Water Science and Technology*, 69(5), 1004–1013. <https://doi.org/10.2166/wst.2013.821>
- Bres, P., Beily, M., & Crespo, D. (2022). Ensayo potencial bioquímico metanogénico. Una metodología clave para conocer la energía de las biomásas.
- Budzianowski, W. M. (2016). A review of potential innovations for production, conditioning and 871 utilization of biogas with multiple-criteria assessment. *Renewable and sustainable energy reviews*, 54, 872 1148-1171 873
- BUENROSTRO, O.; BERNACHE, G.; CRAM, S.; BOCCO, G. 2000. Análisis de la generación de residuos sólidos en los mercados municipales de Morelia, México. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 15(1):27-32.
- Buswell, A. M. & Mueller, H. F. (1952). Mechanism of methane fermentation. *Industrial & Engineering Chemistry*, 44(3), 550–552.
- Cabeza, I.; Thomas, M.; Vásquez, A; Acevedo, P.; Hernández, M. 2016. Anerobic Co-Digesión of Organic Residues from Different Productive Sectors in Colombia. *Biomethanation Potential Assessment. Chemical Engineering Transactions*. 49:385-390. <https://doi.org/10.3303/CET1649065>

Cáceres, K., & Rincón, A. (2018). Evaluación del potencial bioquímico de metano del agua residual de la upb seccional bucaramanga, variando las condiciones iniciales de ph y materia orgánica. karen tatiana cáceres cáceres alejandro rincón perez trabajo de grado presentado para optar por el título de ingeniero ambiental.

Cadavid-Rodríguez S, L., & Valencia -Bolaños, I. (2015). Aprovechamiento de residuos orgánicos para la producción de energía renovable en una ciudad colombiana, 46, 23–28. www.revistas.unal.edu.co/energetica

Cadavid-Rodríguez, L. S., & Horan, N. (2013). Cinética de producción e hidrólisis de metano en la degradación anaeróbica de cribados de aguas residuales. *Ciencia y tecnología del agua*, 68(2). <https://doi.org/10.2166/wst.2013.267>

Camacho-Muñoz, Ricardo, & Hoyos-concha, Jose Luis. (2014). biodegradación anaerobia de un material biodegradable bajo digestión anaerobia termófila. *biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial*, 12(2), 20-29. retrieved september 02, 2023, from http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s1692-35612014000200003&lng=en&tng=es.

Campaña, H., Airasca, A., Uribe Echevarría, M., Monserrat, V., & Benedetti, P. (2015). Enzimas Como Indicadores Bioquímicos De Evolución De Procesos De Digestión Anaeróbica. VIII CAIQ2015 y 3 JASP, 10. http://www.aaiq.org.ar/SCongresos/docs/06_029/papers/06c/06c_1788_617.pdf

Cárdenas, L. M., Parra, B. A., Torres, P., & Vásquez, C. H. (2016). Perspectivas del ensayo de Potencial Bioquímico de Metano - PBM para el control del proceso de digestión anaerobia de residuos Perspectives of Biochemical Methane Potential - BMP test for control the anaerobic digestion process of wastes Perspectivas do t. *Revista ION*, 29(1), 95–108. <http://dx.doi.org/10.18273/revion.v29n1-2016008>

Cárdenas-Cleves, L. M., Marmolejo-Rebellón, L. F., & Torres- Lozada, P. (2018). Improvement of the biochemical methane potential of food waste by means of anaerobic co-digestion with swine manure. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 35(4), 1219–1229. <https://doi.org/10.1590/0104-6632.20180354s20170297>.

Cardona J, Galindres G (2007) Estudio de viabilidad del sistema de cogeneración de la Ptar Cañaveralejo. Trabajo de grado para optar al título de Ingeniero Mecánico. Universidad Autónoma de Occidente. Facultad de Ingeniería-Programa Ingeniería Mecánica

Casallas-Ojeda, M. R., Marmolejo-Rebellón, L. F., & Torres-Lozada, P. (2020). Evaluation of simultaneous incidence of head space and temperature on biochemical methane potential in food waste. *Cogent Engineering*, 7(1). <https://doi.org/10.1080/23311916.2020.1729514>

Cavicchioli, R., 2006. Cold-adapted archaea. *Nature ReviewsMicrobiology* 4 (5), 331–343.

Cazier, E.; Trably, E.; Steyer, J & Escudie, R. (2015). Biomass hydrolysis inhibition at high hydrogen partial pressure in solid-state anaerobic digestion. *Bioresource Technology*, 190, 106-113.

Chae, K. J., Jang, A., Yim, S. K., & Kim, I. S. (2008). The effects of digestion temperature and temperature shock on the biogas yields from the mesophilic anaerobic digestion of swine manure. *Bioresource Technology*, 99(1), 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.11.063>

Challen Urbanic JM, VanOpstal B, Parker W (2011) Anaerobic digestion of the organic fraction of municipal solid waste (OFMSW)—full scale vs laboratory results. *J Solid Waste Technol Manag* 37(1):33–39. doi:10.5276/ jswtm.2011.33

Chanakya, H.N., Venkatsubramaniam, R., Modak, J., 1997. Fermentation and methanogenic characteristics of leafy biomass feedstocks in a solid phase biogas fermentor. *Bioresour. Technol.* 62, 71e78. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(97\)00139-9](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(97)00139-9).

Chauca Espinoza, Karen, Grosso Gamboa, César A, Cabrera Matara, José, León Torres, Carlos, Arellano Barragán, Julio, Rodríguez, Carlos Norberto, & Pretel Sevillano, Orlando. (2017). Extracción de azúcares reductores totales ART por métodos físicos y químicos de planta de Zea mays (Poaceae) "maíz amarillo duro. *Arnaldoa*, 24(1), 289-300. <https://dx.doi.org/10.22497/arnaldoa.241.24112>

Chen, Y.,Cheng, J. J., & Creamer, K, S. (2008). Inhibition of anaerobic digestion process: A review, 99, 4044-4064. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.01.057>

Chen, Y. R., Hashimoto, A. G. & Verel, V. H. (1981). Theoretical Aspects of Methane Roduction: State of The Art. In: *Livestock Waste: A Renewable Resources*. Proceedings Of the Fourth International Symposium of Livestock Wastes. Transaction Of Asae, Usa, 86-91.

- Chen, Y. R., Hashimoto, A. G. & Verel, V. H. (1981). Theoretical Aspects of Methane Reduction: State of The Art. In: *Livestock Waste: A Renewable Resource*. Proceedings Of the Fourth International Symposium of Livestock Wastes. Transaction Of Asae, Usa, 86-91.
- Chernicharo, C. (2007). *Principios de tratamiento biológico de aguas residuales*. Universidad Federal de Minas Gerais. Vol V. Brasil
- Cheng, S., Li, Z., Mang, H.P., Huba, E.M., 2013. A review of prefabricated biogas digesters in China. *Renew. Sust. Energ. Rev.* 28, 738–748. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2013.08.030>.
- Cheng CY, Chu LM. Fate and distribution of nitrogen in soil and plants irrigated with land fill leachate. *Waste Manag.* 2011;31(6):1239-49.
- Choudhary, A., Kumar, A., Govil, T., Sani, R. K., Gorky, N., & Kumar, S. (2020). Sustainable Production of Biogas in Large Bioreactor under Psychrophilic and Mesophilic Conditions. *Journal of Environmental Engineering*, 146(3), 04019117. [Doi.org/10.1061/\(ASCE\)EE.1943-7870.0001645](https://doi.org/10.1061/(ASCE)EE.1943-7870.0001645)
- Chowdhury, B., Lin, L., Dhar, B.R., Islam, M.N., McCartney, D., Kumar, A., 2019. Enhanced biomethane recovery from fat, oil, and grease through co-digestion with food waste and addition of conductive materials. *Chemosphere* 236, 124362
- Chynoweth DP, Turick CE, Owens JM, Jerger DE, Peck MW (1993) Biochemical methane potential of biomass and waste feedstocks. *Biomass Bioenergy* 5:95–111
- Chynoweth DP, Owens JM, Legrand R (2001) Renewable methane from anaerobic digestion of biomass. *Renew Energy* 22:1–8
- Ciotola RJ, Martin JF, Tamkin A, Castaño JM, Rosenblum J, Bisesi MS, et al. The influence of loading rate and variable temperatures on microbial communities in anaerobic digesters. *Energies* 2014;7:785–803. <https://doi.org/10.3390/en7020785>
- Collins G, McHugh S, Connaughton S, Enright AM, Kearney A, Scully C, Mahony T, Madden P, O'Flaherty V: New low temperature applications of anaerobic wastewater treatment. *J Environ Sci Health A* 2006, 41:881-895.
- Colos- Arango, A (2015). Relación entre el potencial bioquímico de metano y la actividad enzimática medida con la técnica de Miller en inóculos anaerobios de purín de vacuno Universitat Politècnica de València, España
- Connaughton S, Collins G, O'Flaherty V. Development of microbial community structure and activity in a high-rate anaerobic bioreactor at 18°C. *Water Res* 2006;40:1009–17
- Cortes, W., Ibla, J., Calderón, L., y Herrera, A. (2015). Cuantificación de azúcares reductores en las cáscaras de naranja y banana. *Revista de Tecnología*, 12(2), pp. 72-76. <https://doi.org/10.18270/rt.v12i2.772>
- Corrales Lucia, Romero Diana, Macias Johanna, & Vargas Aura. (2015). *Anaerobic bacteria: processes they perform and their contribution to life sustainability on the planet*. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca. Bogotá, Colombia.
- Corsino, S. F., Torregrossa, M., & Viviani, G. (2021). Biomethane production from anaerobic co-digestion of selected organic fraction of municipal solid waste (Ofmsw) with sewage sludge: Effect of the inoculum to substrate ratio (ISR) and mixture composition on process performances. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(24). <https://doi.org/10.3390/ijerph182413048>
- Costa JC, Oliveira J V., Alves MM (2016) Response surface design to study the influence of inoculum, particle size and inoculum to substrate ratio on the methane production from *Ulex* sp. *Renew Energy* 96:1071–1077. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2015.10.028>
- D'Amico S, Collins T, Marx JC, Feller G, Gerday C: Psychrophilic microorganisms: challenges for life. *EMBO Rep* 2006, 7:385-389.
- Dague, R.R., Banik, G.C., Ellis, T.G., 1998. Anaerobic sequencing batch reactor treatment of dilute wastewater at psychrophilic temperatures. *Water Environ. Res.* 70, 155-160
- DANE (2017) Departamento Administrativo Nacional de Estadística
- Deng, L., Liu, Y., Zheng, D., Wang, L., Pu, X., Song, L., Wang, Z., Lei, Y., Chen, Z., Long, Y., 2017. Application and development of biogas technology for the treatment of waste in China. *Renew. Sustain. Energy Rev.* <https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.11.265>

- Deublein, D., & Steinhauser, A. (2011). *Biogas from Waste and Renewable Resources: An Introduction*. Wiley
- Dev, S., Saha, S., Kurade, M. B., Salama, E. S., El-Dalatony, M. M., Ha, G. S., Chang, S. W., & Jeon, B. H. (2019). Perspective on anaerobic digestion for biomethanation in cold environments. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 103(December 2018), 85–95. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.12.034>
- DHAMODHARAN, K.; KUMAR, V.; KALAMDHAD, A.S. 2015. Effect of different livestock dungs as inoculum on food waste anaerobic digestion and its kinetics. *Bioresource Technology*. 180:237-241. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.12.066>
- Dhaked RK, Singh P, Singh L (2010) Biomethanation under psychrophilic conditions. *Waste Manag* 30(12):2490–2496. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2010.07.015>
- Díaz, J., & García, A. (2021). INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA SOBRE LA GENERACIÓN DE GAS METANO A PARTIR DE LA DIGESTIÓN ANAEROBIA DE RESIDUOS DE ALIMENTOS JACKELINE DÍAZ VARGAS-201510267 ANA YULIETH GARCÍA GARCÍA-201525711 UNIVERSIDAD DEL VALLE FACULTAD DE INGENIERÍA ESCUELA DE INGENIERÍA DE RECURSOS NATURALES Y DEL AMBIENTE PROGRAMA ACADÉMICO DE INGENIERÍA SANITARIA Y AMBIENTAL SANTIAGO DE CALI 2021.
- Díaz, B.(2002). Digestión anaerobia: una aproximación a la tecnología. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. Retrieved from http://bdigital.unal.edu.co/43178/11/Digestion_anaerobia_Part2.pdf
- Di Maria, F., Sordi, A., Micale, C., 2012. Optimization of solid state anaerobic digestion by inoculum recirculation: the case of an existing mechanical biological treatment plant. *Appl. Energy* 97, 462e469. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2011.12.093>
- Di Maria, F., Barratta, M., Bianconi, F., Placidi, P., Passeri, D., 2017. Solid anaerobic digestion batch with liquid digestate recirculation and wet anaerobic digestion of organic waste: comparison of system performances and identification of microbial guilds. *Waste Manage.* 59, 172–180. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2016.10.039>
- DINAMARCA, S.; AROCA, G.; CHAMY, R.; GUERRERO, L. 2003. The Influence of pH in the hydrolytic stage of anaerobic digestion of the organic fraction of urban solid waste. *Water Sci. & Techn.* 48(6):294-254.
- Dolejs, P., El Tayar, G., Vejmelkova, D., Pecenka, M., Polaskova, M., & Bartacek, J. (2018). Psychrophilic anaerobic treatment of sewage: Biomethane potential, kinetics and importance of inoculum selection. *Journal of Cleaner Production*, 199, 93–100. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.07.134>
- Donoso-Bravo, A., Mailier, J., Martin, C., Rodríguez, J., Aceves-Lara, C.A., Wouwer, A.V., 2011. Model selection, identification and validation in anaerobic digestion: a review. *Water Res.* 45, 5347e5364.
- Donoso-Bravo, A., Pérez-Elvira, S.I., Fdz-Polanco, F., 2010. Application of simplified models for anaerobic biodegradability tests. Evaluation of pre-treatment processes. *Chem. Eng. J.* 160, 607e614.
- Donoso-Bravo, A., Retamal, C., Carballa, M., Ruiz-Filippi, G., Chamy, R., 2009. Influence of temperature on the hydrolysis, acidogenesis and methanogenesis in mesophilic anaerobic digestion: parameter identification and modeling application. *Water Sci. Technol.* 60, 9e17.
- DNP. CONPES 3874 Política Nacional para la Gestión Integral de Residuos Sólidos. Bogotá, DC: Departamento Nacional de Planeación; 2016 [in Spanish]
- DNP. (2019). Disposición Final de Residuos Sólidos. Informe Nacional - 2018. Superintendencia de Servicios Públicos Domiciliarios, 1–97.
- Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., and Smith F. (1956) Colorimetric method for determination of sugar and related substances. *Analytical Chemistry*, **28** (3), 350-355)
- Dutta R. Use of clean, renewable and alternative energies in mitigation of greenhouse gases. *Encycl Renew Sustain Mater* 2020:821–34. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-803581-8.11048-3>

Elena, B., & Martínez, M. (2012). EVALUACION DE LA DIGESTION ANAEROBIA COMO ALTERNATIVA DE ESTABILIZACION DE BIOSOLIDOS PRODUCIDOS EN LA PLANTA DETRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES DE LA UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA Facultad de TECNOLOGIA Programa TECNOLOGIA QUIMICA JOHN MARIO MOSQUERA CALLE 1088254490.

Elmitwalli TA, Soellner J, De Keizer A et al. Biodegradability and change of physical characteristics of particles during anaerobic digestion of domestic sewage. *Water Res* 2001;35:1311–7.

Enright A-M, McGrath V, Gill D et al. Effect of seed sludge and operation conditions on performance and archaeal community structure of low-temperature anaerobic solvent-degrading bioreactors. *Syst Appl Microbiol* 2009;32:65–79

Espitia G, Ruiz N. Desarrollo de una propuesta de digestion anaerobia en dos fases para la obtencion de biogas mediante residuos citricos fundacion universidad de america facultad de ingenierias programa de ingeniería química bogotá d.c. 202

Fagbohunbe, I.C. Dodd, B.M. Herbert, H. Li, L. Ricketts, K.T. Semple, High solid anaerobic digestion: operational challenges and possibilities, *Environ. Technol. Innovat.* 4 (2015) 268e284.

Fan, Y., Lv, M., Niu, X., Ma, J., & Zhang, D. (2020). The key step of gaseous phosphorus release in anaerobic digestion. *Process Safety and Environmental Protection*, 137, 238–245. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2020.02.035>

Fannin; K.F. (1987).—«Start-up, operation, stability and control». En: «Anaerobic digestion of biomass».—Eds.: D.P. Chynoweth and R. Isaacson, Elsevier Applied Science, 171-196FAO. (2011). Manual de biogás.

Feller, G., 2017. Cryosphere and psychrophiles: insights into a cold origin of life? *Life* 7 (2), 25. <https://doi.org/10.3390/life7020025>

Feller G. y Gerday C. 2003. Psychrophilic enzymes: hot topics in cold adaptation. *Microbiology Nature Reviews* 1: 200-208.

Fernanda, L., Vargas, B., Daniela, K., & González, D. (2021). CODIGESTIÓN ANAEROBIA PARA EL APROVECHAMIENTO ENERGÉTICO DE LOS RESIDUOS ORGÁNICOS GENERADOS EN LA FINCA “LAS HUERTAS”, VEREDA “EL HATILLO” (GUATAVITA, CUNDINAMARCA).

Fey A, Conrad R. Effect of temperature on carbon and electron flow and on the archaeal community in methanogenic rice field soil. *Appl Environ Microbiol* 2000; 66:4790–7.

Field J. Arranque y operación de sistemas de flujo ascendente con manto de lodo UASB. Universidad del Valle, CVC y Universidad Agrícola de Wageningen. 1987

Filer, J., Ding, H. H., & Chang, S. (2019). Biochemical Methane Potential (BMP) Assay Method for Anaerobic Digestion Research. *Water*, 11(921). <https://doi.org/10.3390/w11050921>

Fisgativa, H., Tremier, A., & Dabert, P. (2016). Characterizing the variability of food waste quality: A need for efficient valorisation through anaerobic digestion. *Waste Management*, 50, 264-274. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2016.01.041>

Foresti, E., Florêncio, L., VanHaandel, A., Zaiat, M., & Cavalcanti, P. (1999). Tratamento de Esgotos Sanitários Por Processo Anaeróbico EDI Disposição Controlada No Solo. Rio de Janeiro: Fundamentos Do Tratamento Anaeróbico. PROSAB.

Foster, C. T. (2005). Digestión Anaerobia Termofílica Seca De Residuos Sólidos Urbanos: Estudio De Las Variables Del Proceso En El Arranque Y Estabilización Del Bio-Reactor. Tesis Doctoral, Universidad De Cádiz

Fuentes, L., & Ossa, M. (2015). Influencia de la Procedencia del Inóculo de PTARs Municipales sobre la Digestión Anaerobia de la Fracción Orgánica de Residuos Sólidos Municipales. Universidad del Valle

Gallipoli, A., Braguglia, C. M., Gianico, A., Montecchio, D., & Pagliaccia, P. (2020). Kitchen waste valorization through a mild-temperature pretreatment to enhance biogas production and fermentability: Kinetics study in mesophilic and thermophilic regimen. *Journal of Environmental Sciences (China)*, 89, 167–179. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2019.10.016>

García & Gómez, 2016) Evaluación de la producción de biogás a partir de residuos vegetales obtenidos en la central de abastos de Bogotá mediante digestión anaerobia. Fundación Universidad de América Facultad de ingeniería programa de ingeniería química Bogotá d.c 2016

Garfi, M., Martí-Herrero, J., Garwood, A., Ferrer, I., 2016. Household anaerobic digesters for biogas production in Latin America: a review. *Renew. Sust. Energ. Rev.* 60 <https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.01.071>

G. C. Banik , T. Viraraghavan & R. R. Dague (1998) Low Temperature Effects on Anaerobic Microbial Kinetic Parameters, *Environmental Technology*, 19:5, 503-512, DOI: 10.1080/09593331908616706

Giaquinto L, Curmi PMG, Siddiqui KS, Poljak A, DeLong E, DasSarma S, Cavicchioli R: The structure and function of cold shock proteins in archaea. *J Bacteriol* 2007, 189:5738-6574.

Giménez, J. B., Martí, N., Ferrer, J. & Seco, A. (2012). Methane Recovery Efficiency In A Submerged Anaerobic Membrane Bioreactor (Sanmbr) Treating Sulphate-Rich Urban Wastewater: Evaluation Of Methane Losses With The Effluent. *Bioresoruce Technology*, 118, 67-72.

González Jorge, Beltrán Yaima, González Lisbet, & Hernández Janet. (2021). Digestión anaerobia de suero de queso utilizando inóculo de estiércol porcino a diferentes relaciones inóculo- sustrato. Editorial Feijóo, UCLV.

González-Sánchez, M. E., Pérez-Fabiel, S., Wong-Villareal, A., Bello-Mendoza, R., & Yáñez-Ocampo, G. (2015). Residuos agroindustriales con potencial para la producción de metano mediante la digestión anaerobia. *Revista Argentina de Microbiología*, 47(3), 229–235. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2015.05.003>

González-Herrera et al. / Centro Azúcar Vol 48, No. 3, Julio-Septiembre 2021 (pp. 11-20) . Recibido: Julio 22, 2020; Revisado: Noviembre 12, 2020; Aceptado: Enero 8, 2021

González-Martínez, S. (2021). Methane Production from the Organic Fraction of Municipal Solid Waste Under Psychrophilic, Mesophilic, and Thermophilic Temperatures at Different Organic Loading Rates. *Waste and Biomass Valorization*. [Doi.org/10.1007/s12649-021-01354-9](https://doi.org/10.1007/s12649-021-01354-9).

Gouveia J, Plaza F, Garralon G et al. Long-term operation of a pilot scale anaerobic membrane bioreactor (AnMBR) for the treatment of municipal wastewater under psychrophilic conditions. *Bioresour Technol*, 2015;185:225–33.

Hafner, S. D., & Astals, S. (2019). Systematic error in manometric measurement of biochemical methane potential: Sources and solutions. *Waste Management*, 91, 147-155

Hansen, T.L., Schmidt, J.E., Angelidaki, I., Marca, E., Jansen, J.L.C., Mosbaek, H., Christensen, T.H.: Method for determination of methane potentials of solid organic waste. *Waste Manag.* 24(4), 393–400 (2004)

Han, G., Shin, S.G., Lee, J., Lee, C., Jo, M., Hwang, S.: Mesophilic acidogenesis of food waste-recycling wastewater: effects of hydraulic retention time, pH, and temperature. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 180(5), 980–999 (2016) 17.

Harjunkski, I., Groosmann, I.E., 2001. A decomposition approach for the scheduling of a Steel plant production. *Comput. Chem. Eng.* 25,1647-1660

Hashimoto, A.G., 1989. Effect of inoculum/substrate ratio on methane yield and production rate from straw. *Biol. Wastes* 28, 247–255. [http://dx.doi.org/10.1016/0269-7483\(89\)90108-0](http://dx.doi.org/10.1016/0269-7483(89)90108-0)

Hashimoto, A.G., 1983. Thermophilic and mesophilic anaerobic fermentation of the swine manure. *Agr. Wastes* 6, 175-191

Hidaka, T., Arai, S., Okamoto, S., y Uchida, T. (2013). Anaerobic co-digestion of sewage sludge with shredded grass from public green spaces. *Bioresource Technology*. 130, 667-672.

- Hidalgo, D., & Martín-Marroquín, J. M. (2014). Effects of inoculum source and co-digestion strategies on anaerobic digestion of residues generated in the treatment of waste vegetable oils. *Journal of Environmental Management*, 142, 17-22. [Doi.org/10.1016/j.jenvman.2014.04.004](https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2014.04.004)
- Holliger, C., Alves, M., Andrade, D., Angelidaki, I., Astals, S., Baier, U., Bougrier, C., Buffière, P., Carballa, M., de Wilde, V., Ebertseder, F., Fernández, B., Ficara, E., Fotidis, I., Frigon, J.-C., de Lacroix, H. F., Ghasimi, D. S. M., Hack, G., Hartel, M., ... Wierinck, I. (2016). Towards a standardization of biomethane potential tests. *Water Science and Technology*, 74(11), 2515-2522. <https://doi.org/10.2166/wst.2016.336>
- Ho, D., Jensen P., Batstone, D., 2014. Effects of temperature and hydraulic retention time on acetotrophic pathways and performance in high-rate sludge digestion. *Environ. Sci. Technol.* 48-6468-6746
- Hu, Z.-H., Wang, G., & Yu, H.-Q. (2004). Anaerobic Degradation of Cellulose by Rumen Microorganisms At Various pH Values. *Biochemical Engineering Journal*, 21, 59-62. doi: 10.1016/j.bej.2004.05.004
- Igoni, A. H., Abowei, M. F. N., Ayotamuno, J. M., & Eze, C. L. (2008). Effect of total solids concentration of municipal solid waste in anaerobic batch digestion on the biogas produced. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 5(2), 333-337.
- Izumi, K., Okishio, Y. ki, Nagao, N., Niwa, C., Yamamoto, S., & Toda, T. (2010). Effects of particle size on anaerobic digestion of food waste. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 64(7), 601-608. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2010.06.013>
- Jenkins, S.R., Morgan, J.M., & Sawyer, C.L. (1983). Monitoring anaerobic sludge digestion and growth by simple alkalimetric titration. *Water Pollution Control* 55 (5), 448-453.
- Jang, H.M., Choi, Y.K., Kan, E., 2018. Effects of dairy manure-derived biochar on psychrophilic, mesophilic and thermophilic anaerobic digestions of dairy manure. *Bioresour. Technol.* 250, 927-931. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.11.074>
- Jiang, J., Zhang, Y., Li, K., Wang, Q., Gong, C. y Li, M. (2013). Producción de ácidos grasos volátiles a partir de desechos alimentarios: efectos del pH, la temperatura y la tasa de carga orgánica. *Tecnología de fuentes biológicas*, 143, 525-530
- (J. Lindmark et al., 2014). k, E. Thorin, R. Bel Fdhila, and E. Dahlquist, "Effects of mixing on the result of anaerobic digestion: Review," *Renew. Sustain. Energy Rev.*, vol. 40, pp. 1030-1047, 2014.
- Jingura, R. M., & Kamusoko, R. (2017). Methods for determination of biomethane potential of feedstocks: A review. *Biofuel Research Journal*, 4(2), 573-586. <https://doi.org/10.18331/BRJ2017.4.2.3>
- Joe, A., & Marín, S. (2019). APROVECHAMIENTO ENERGÉTICO Y MATERIAL MEDIANTE DIGESTIÓN ANAEROBIA DE LA FRACCIÓN ORGÁNICA DE LOS RESIDUOS SÓLIDOS URBANOS QUE SE PRODUCEN EN EL BARRIO MORAVIA-MEDELLÍN.
- Jordening, J. Winter, 2005. *Environmental biotechnology. Bacterial metabolism in wastewater treatment systems*. Wiley- VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. 1-48pp
- Juanga JP. Optimizing dry anaerobic digestion of organic fraction of municipal solid waste (Thesis Master). Bangkok, Thailand: School of Environment, Resources and Development, Asian Institute of Technology; 2005.
- Kafle, G.K., Chen, L., 2016. Comparison on batch anaerobic digestion of five different livestock manures and prediction of biochemical methane potential (BMP) using different statistical models. *Waste Manag.* 48, 492-502. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2015.10.021>.
- Kaseng, K., Ibrahim, K., Paneerselvam, S.V. and Hassan, R.S. 1992 Extracellular enzymes and acidogen profiles of a laboratory-scale two-phase anaerobic digestion system. *Process Biochemistry*, 27, 43-47.
- Kashyap, D. R., Dadhich, K. S., & Sharma, S. K. (2003). Biomethanation under psychrophilic conditions: A review. *Bioresource Technology*, 87(2), 147-153. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(02\)00205-5](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(02)00205-5)
- Kaza, S., Yao, L., Bhada-Tata, P., & Woerden, F. V. (2018). *What a Waste 2.0: A Global Snapshot of Solid Waste Management to 2050*. World Bank Publications.

- Keating, C., Hughes, D., Mahony, T., Cysneiros, D., Ijaz, U. Z., Smith, C. J., & O'Flaherty, V. (2018). Cold adaptation and replicable microbial community development during long-term low-temperature anaerobic digestion treatment of synthetic sewage. *FEMS Microbiology Ecology*, 94(7), 1–14. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiy095>
- Kemausuor, F., Adaramola, M.S., Morken, J., 2018. A review of commercial biogas systems and lessons for Africa. *Energies* 11, 2984. <https://doi.org/10.3390/en11112984>, 2018, Vol. 11, Page 2984
- Kettunen, R.H. and Rintala, J.A. (1997) The effect of low temperature (5–29°C) and adaptation on the methanogenic activity of biomass. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 48, 570–576
- Khalil, C. A., Ibrahim, L., Ibrahim, E., & Ghanimeh, S. (2016). Clean energy generation through psychrophilic anaerobic digestion of food and landscape wastes. 2016 3rd International Conference on Renewable Energies for Developing Countries, REDEC 2016, 3. <https://doi.org/10.1109/REDEC.2016.7577568>
- Khan, M. A., Patel, P. G., Ganesh, A. G., Rais, N., Faheem, S. M., & Khan, S. T. (2018). Assessing Methanogenic Archaeal Community in Full Scale Anaerobic Sludge Digester Systems in Dubai, United Arab Emirates. *The Open Microbiology Journal*, 12(1), 123–134. <https://doi.org/10.2174/1874285801812010123>
- Kim, J. K., Oh, B. R., Chun, Y. N., & Kim, S. W. (2006). Effects of temperature and hydraulic retention time on anaerobic digestion of food waste. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 102(4), 328–332. [Doi.org/10.1263/jbb.102.328](https://doi.org/10.1263/jbb.102.328).
- Kim, I. J., Lee, H. J., Choi, I. G., & Kim, K. H. (2014). Synergistic proteins for the enhanced enzymatic hydrolysis of cellulose by cellulase. *Applied microbiology and biotechnology*, 98(20), 8469–8480.
- Koch, K., Lippert, T., & Drewes, J. E. (2017). The role of inoculum's origin on the methane yield of 810 different substrates in biochemical methane potential (BMP) tests. *Bioresource technology*, 243, 457– 811 463
- Komilis, D., Barrena, R., Grando, R. L., Vogiatzi, V., Sánchez, A., & Font, X. (2017). A state of the art literature review on anaerobic digestion of food waste: influential operating parameters on methane yield. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 16(2), 347–360. <https://doi.org/10.1007/s11157-017-9428-z>
- Kothari, R., Pandey, A. K., Kumar, S., Tyagi, V. V., & Tyagi, S. K. (2014). Different aspects of dry anaerobic digestion for bioenergy: An overview. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 39, 174–195. [Doi.org/10.1016/j.rser.2014.07.011](https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.07.011).
- Kotsyurbenko, O.R., Simankova, M.V., Nozhevnikova, A.N., Zhilina, T.N., Bolotina, N.P., Lysenko, A.M. and Osipov, G.A. (1995) New species of psychrophilic acetogens: *Acetobacterium bakii* sp. nov., *A. paludosum* sp. nov., *A. fimetarium* sp. nov. *Arch. Microbiol.* 163, 429–434
- Kumar, P. S., Binti, S. F., Md-Zain, S., & Kumar, P. B. (2019). The anaerobic digestion process of biogas production from food waste: Prospects and constraints. *Bioresource Technology Reports*, 8, 100310. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2019.100310>.
- Kumar, G., Sivagurunathan, P., Park, J. H., & Kim, S. H. (2016). Anaerobic digestion of food waste to methane at various organic loading rates (OLRs) and hydraulic retention times (HRTs): Thermophilic vs. Mesophilic regimes. *Environmental Engineering Research*, 21(1), 69–73. <https://doi.org/10.4491/eer.2015.068>
- Kumar, P., Hussain, A., & Dubey, S. K. (2016). Methane formation from food waste by anaerobic digestion. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 6(3), 271–280. <https://doi.org/10.1007/s13399-015-0186-2>
- Kusch S, Oechsner H, Jungbluth T (2008) Biogas production with horse dung in solid-phase digestion systems. *Bioresour Technol* 99(5):1280–1292
- Labatut, R. A., Angenent, L. T., & Scott, N. R. (2014). Conventional mesophilic vs. thermophilic anaerobic digestion: A trade-off between performance and stability? *Water Research*, 53, 249–258. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.01.035>.
- Labatut, R. A., & Gooch, C. A. (2012). Monitoring of Anaerobic Digestion Process to Optimize Performance and Prevent System Failure. *Got Manure? Enhancing Environmental and Economic Sustainability Conference*, New York.

Labatut, R.A., Angenent, L.T. y Scott, N.R. (2011). Biochemical Methane Potential and Biodegradability of Complex Organic Substrates. *Bioresource Technology*, 102(3), 2255-2264. doi: 10.1016/j.biortech.2010.10.035

Lawal-Aklami &, Shanmugam, 2017. Comparison of biochemical methane potential and methanogen morphology of different organic solid wastes co-digested anaerobically with treatment plant sludge. Environmental Science and Engineering Division, CSIR-Central Leather Research Institute, Adyar, Chennai 600020, Tami Nadu, India Academy of Scientific and Innovative Research (AcSIR), Anusandhan Bhawan, 2, Rafi Marg, New-Delhi 110 001, India

Le, F., Wilce, P. A., Cassady, I., Hume, D. A., & Shanley, B. C. (1991). Acute administration of ethanol suppresses pentylentetrazole-induced c-fos expression in rat brain. *Alcohol and Alcoholism* (Oxford, Oxfordshire). Supplement., 1, 211–214.

Lendormi, T., Jaziri, K., Béline, F., Le Roux, S., Bureau, C., Midoux, C., Barrington, S., & Dabert, P. (2022). Methane production and microbial community acclimation of five manure inocula during psychrophilic anaerobic digestion of swine manure. *Journal of Cleaner Production*, 340. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2022.130772>

Lesteur, M., Bellon-Maurel, V., Gonzalez, C., Latrille, E., Roger, J. M., Junqua, G., & Steyer, J. P. (2010). Alternative methods for determining anaerobic biodegradability: A review. *Process Biochemistry*, 45(4), 431-440. Doi.org/10.1016/j.procbio.2009.11.018.

Lettinga, G., Rebac, S. and Zeeman, G. (2001) Challenge of psychrophilic anaerobic wastewater treatment. *Trends in Biotechnology*, 19 (9), 363-370.

Leung DY, Wang J (2016) An overview on biogas generation from anaerobic digestion of food waste. *Int J Green Energy* 13(2):119–131. <https://doi.org/10.1080/15435075.2014.909355>

Lew B , Belivski M, Admon S et al. Temperature effect on UASB reactor operation for domestic wastewater treatment in temperate climate regions. *Water Science and Technology* 2003;48:25–30.

Li, D., Ran, Y., Chen, L., Cao, Q., Li, Z., & Liu, X. (2018b). Instability diagnosis and syntrophic acetate oxidation during thermophilic digestion of vegetable waste. *Water Research*, 139, 263-271. Doi.org/10.1016/j.watres.2018.04.019.

Li, J., Sun, K., He, J., & Wu, Y. (2011). Application of modified Gompertz model to study on anaerobic digestion of organic fraction of municipal solid waste. *Huanjing Kexue/Environmental Science* 32 (6), 1843-1850.

Li L, Kong X, Yang F, Li D, Yuan Z, Sun Y. Biogas production potential and kinetics of microwave and conventional thermal pretreatment of grass. *Appl Biochem Biotechnol*. 2012;166(5):1183-91

Liliana, M.-B., Manuel, S. J., & Artículo, D. (2014). Evaluación del Índice de Contaminación de Lixiviados de Relleno Sanitario y Efecto fitotóxico en la Germinación y Plántula de *Phaseolus vulgaris* L. . Phytotoxic Effect of Landfill and Leachate Pollution Indexes on Germination and Seedling of *Phaseolus vulg.* J. Selva Andina Res. Soc, 5(1), 13–23. http://www.scielo.org.bo/pdf/jsars/v5n1/v5n1_a03.pdf

Li, Y., Jin, Y., Li, J., Li, H., Yu, Z.: Effects of pungency degree on mesophilic anaerobic digestion of kitchen waste. *Appl. Energy*. 181, 171–178 (2016)

Liu, C., H. Li, Y. Zhang, y C. Liu, Improve biogas production from low-organic-content sludge through highsolids anaerobic co-digestion with food waste, doi: 10.1016/j.biortech.2016.07.130, *Bioresour. Technol.*, 219, 252–260 (2016)

Liu, C. F., Yuan, X. Z., Zeng, G. M., Li, W. W. & Li, J. 2008 Prediction of methane yield at optimum pH for anaerobic digestion of organic fraction of municipal solid waste. *Bioresource Technology* 99 (4), 882–888

Lo, K.V., Liao, P.H., 1986. Psychrophilic anaerobic digestion of screened dairy manure. *Energ. Agri.* 5, 339–345.

López M, villa P, Escobedo R. (2004) “El Comportamiento de los Reactores Anaerobios de Residuos Sólidos a Través de Ensayos Microbiológicos” [disponible en línea] http://revista.cnice.edu.cu/revistaCB/files/CB-2004-3-179-183_0.pdf [consultado 10 diciembre 2012]

- Lorenzo, Y. y Obaya MC (2006). La digestión anaerobia y los reactores UASB. Generalidades. ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar XL (1), 13-21
- Lou XF, Nair J, Ho G (2012) "Field performance of small scale anaerobic digesters treating food waste. *Energy Sustain Dev* 16(4):509–514. <https://doi.org/10.1016/j.esd.2012.06.004>
- Lübken, M., Wichern, M., Schlattmann, M., Gronauer, A., & Horn, H. (2007). Modelling the energy balance of an anaerobic digester fed with cattle manure and renewable energy crops. *Water Research*, 41(18), 4085–4096. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.05.061>
- Madani-Hosseini, M., Mulligan, C. N., & Barrington, S. (2014). Microbial kinetic for In-Storage-Psychrophilic Anaerobic Digestion (ISPAD). *Journal of Environmental Management*, 146, 59–68. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2014.07.028>
- Maddela, N. R., Cruzatty, L. C. G., & Chakraborty, S. (2021). Advances in the Domain of Environmental Biotechnology: Microbiological Developments in Industries, Wastewater Treatment and Agriculture. Springer Nature.
- Madigan M., Martinko J., Parker J., Brock. *Biología de los microorganismos*. Pearson Prentice Hall, 10, 2006, p. 151-168
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., & Parker, J. (1998). *Brock Biology of microoganisms* (Octava ed.). Prentice May International.
- Madsen, M., Holm-Nielsen, J., y Esbensen, K. (2011). Monitoring of anaerobic digestion processes: A review perspective. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 15, 3141-3155
- Ma, S., Li, Y., Li, J., Yu, X., Cui, Z., Yuan, X., Zhu, W., & Wang, H. (2022). Features of single and combined technologies for lignocellulose pretreatment to enhance biomethane production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 165, 112606. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2022.112606>
- Ma, X.; Jiang, T.; Chang, J.; Tang, Q.; Luo, T.; Cui, Z. Effect of Substrate to Inoculum Ratio on Biogas Production and Microbial Community During Hemi-Solid-State Batch Anaerobic Co-digestion of Rape Straw and Dairy Manure. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2019, 189, 884–902. [CrossRef] [PubMed]
- Maitan-Alfenas, G. P., Visser, E. M., & Guimarães, V. M. (2015). Enzymatic hydrolysis of lignocellulosic biomass: converting food waste in valuable products. *Current Opinion in Food Science*, 1, 44-49.
- Mata-Alvarez, J., Macé, S. & Llabrés, P. 2000 Anaerobic digestion of organic solid wastes. An overview of research achievements and perspectives. *Bioresource Technology* 74 (1), 3–16
- Mao, C., Feng, Y., Wang, X., & Ren, G. (2015). Review on research achievements of biogas from 841 anaerobic digestion. *Renewable and sustainable energy reviews*, 45, 540-555
- Massé, D. I., & Saady, N. M. C. (2015). High rate psychrophilic anaerobic digestion of undiluted dairy cow feces. *Bioresource Technology*, 187, 128–135. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.03.110>
- Massé, D. I., Masse, L., Croteau, F., 2003. The effect of temperature fluctuations on psychrophilic anaerobic sequencing batch reactors treating swine manure. *Bioresour. Technol.* 89, 57–62. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(03\)00009-9](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(03)00009-9).
- Marañón E, Castrillón L, Quiroga G, Fernández-Nava Y, Gómez L, García MM. Codigestion of cattle manure with food waste and sludge to increase biogas production. *Waste Management*.2012;32(10):1821-5
- Marco-Llorente, Paula. Digestión anaerobia de azúcares reductores para obtención de biocombustibles: revisión bibliográfica (2019) universidad Zaragoza
- Martí-Herrero, Jaime, Chipana, M., Cuevas, C., Paco, G., Serrano, V., Zyma, B., Heising, K., Sologuren, J., Gamarra, A., 2014. Low-cost tubular digesters as appropriate technology for widespread application: results and lessons learned from Bolivia. *Renew. Energy* 71, 156–165. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2014.05.036>

- Martí-Herrero, J., Castro, L., Jaimes-Estévez, J., Grijalva, M., Gualatoña, M., Aldás, M. B., & Escalante, H. (2022). Biomethane potential test applied to psychrophilic conditions: Three issues about inoculum temperature adaptation. *Bioresource Technology Reports*, 20. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2022.101279>
- Martí-Herrero, J., Soria-Castellón, G., Díaz-de-Basurto, A., Alvarez, R., & Chemisana, D. (2019). Biogas from a full scale digester operated in psychrophilic conditions and fed only with fruit and vegetable waste. *Renewable Energy*, 133, 676–684. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2018.10.030>.
- Martínez-Campesino, Lorena. *Uso de membranas selectivas para la recuperación de nitrógeno amoniacal durante el proceso de digestión anaerobia*. Ingeniería de sistemas biológicos (2014)
- McKeown RM, Hughes D, Collins G et al. Low-temperature anaerobic digestion for wastewater treatment. *Curr Opin Biotechnol* 2012;23:444–51
- McKeown RM, Scully C, Mahony T, Collins G, O'Flaherty V. Long-term (1243 days), low-temperature (4–15°C), anaerobic biotreatment of acidified waste- waters: bioprocess performance and physiological characteristics. *Water Res* 2009;43:1611–20
- McInerney, M.J., Bryant, M.P., 1981. Review of Methane Fermentation Fundamentals (Production of Fuel Gas from Organic Waste Products). *Fuel Gas Production from Biomass*
- McCarty, P.L., 1964. Anaerobic waste treatment fundamentals, part I: chemistry and microbiology. *Public Works* 95, 107–112
- McDermott BL, Chalmers AD, Goodwin JAS. Ultrasonication as a pre-treatment method for the enhancement of the psychrophilic anaerobic digestion of aquaculture effluents. *Environ Technol* 2001;22:823–30.
- Metcalf & Eddy, Burton, F. L., Stensel, H. D., & Tchobanoglous, G. (2003). *Wastewater engineering: treatment and reuse*. McGraw Hill.
- Metcalf & Eddy (1995). *Ingeniería de aguas residuales*. Madrid. Antonio García
- Metzler, D.E. (1981) *Las Reacciones Químicas en Las Células Vivas* EDICIONES OMEGA, S.A.
- Miller, G.L. (1959) Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, 31 (3), 426-428.
- Mirmohamadsadeghi, S., Karimi, K., Tabatabaei, M., & Aghbashlo, M. (2019). Biogas production 579 from food wastes: A review on recent developments and future perspectives. *Bioresource Technology* 580 Reports, 7, 100202.
- Monteggia L. Proposta de metodologia para avaliação do parâmetro Atividade Metanogênica Específica. Em: 19º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, ABES; 1997 Set 14-19; Foz do Iguaçu, Brasil: Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental
- Montgomery (2004) *Diseño y análisis de Experimentos*. Segunda Edición Limusa Wiley
- Mosey, F. E. & Fernandes, X. A. 1998 Patterns of hydrogen in biogas from the anaerobic digestion of milk-sugars. *Water Science and Technology* 21 (4–5), 187–196
- M.S. Alzate Moncada, M. Quintero Silva, Characterization of trophic groups throughout an anaerobic digestion process with cattle manure slurry using a lowcost method, *Rev. Investig. Optim Y Nuevos Procesos En Ing.* 29 (2016) 117–123, <http://dx.doi.org/10.18273/revion.v29n1-2016010>.
- Muñoz, P. (2019). Assessment of Batch and Semi-continuous Anaerobic Digestion of Food Waste at Psychrophilic Range at Different Food Waste to Inoculum Ratios and Organic Loading Rates. *Waste and Biomass Valorization*, 10(8), 2119–2128. <https://doi.org/10.1007/s12649-018-0227-8>
- Muñoz, P., Cordero, C., Tapia, X., Muñoz, L., & Candia, O. (2019). Evaluación de la digestión anaerobia de residuos alimentarios en condiciones psicrófilas y postratamiento de efluentes mediante cultivo de microalgas. *Technologías limpias y política ambiental*, 22(3), 725–733. doi:10.1007/s10098-019-01803-z 10.1007/s10098-019-01803-z descargado el 2019-12-27

- Mutungwazi, A., Mukumba, P., Makaka, G., 2018. Biogas digester types installed in South Africa: a review. *Renew. Sust. Energ. Rev.* 81, 172–180. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.07.051>.
- Murugan N., Appavu P. Investigación sobre la generación de biogás a baja temperatura. En t. J. *Energía Ambiental*. 2020; 41 :5–7. [[Google académico](#)]
- Mussoline, W., Esposito, G., Lens, P., Garuti, G., Giordano, A.: Design considerations for a farm-scale biogas plant based on pilot-scale anaerobic digesters loaded with rice straw and piggery wastewater. *Biomass Bioenergy*. 46, 469–478 (2012)
- Myszograj, S., Stadnik, A., & Pluciennik-Koropczuk, E. (2018). The influence of trace elements on 794 anaerobic digestion process. *Civil and Environmental Engineering Reports*, 28(4), 105-115.
- Nakasima-López, M., Taboada-González, P., Aguilar-Virgen, Q., & Velázquez-Limón, N. (2017). Adaptación de Inóculos Durante el Arranque de la Digestión Anaerobia con Residuos Sólidos Orgánicos. *Informacion Tecnologica*, 28(1), 199–208. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642017000100020>
- Neves, L., Ferreira, R., & Oliveira, R. (2010). INFLUENCE OF INNOCULUM ACCLIMATION IN THE BIODEGRADATION RATE AND ESTIMATED BIODEGRADABILITY OF COW MANURE, FOOD WASTE AND OIL Lucia Neves, Raquel Ferreira, Rosario Oliveira, Maria Madalena Alves . 9(3), 327–334.
- Nallathambi, V. (1997). Anaerobic digestion of biomass for methane production: a review. *Biomass and Bioenergy*, 13, 83-1149
- Nielfa, A., Cano, R., & Fdz-Polanco, M (2015). Theoretical methane production generated by the co-digestion of organic fraction municipal solid waste and biological sludge. *Biotechnology Reports*, 5(1), 14-21. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2014.10.005>
- Nedwell, D.B. (1999) Effect of low temperature on microbial growth: lowered affinity for substrates limits growth at low temperature. *Fems Microbiology Ecology*, 30 (2), 101- 111.
- Neves, L., Oliveira, R. & Alves, M. M. (2004). Influence Of Inoculum Activity on The Bio-Methanization Of A Kitchen Waste Under Different Waste/Inoculum Ratios. *Process Biochemistry*, 39, 2019-2024.
- Nguyen, D.D., Chang, S.W., Jeong, S.Y., Jeung, J., Kim, S., Guo, W., Ngo, H.H., 2016. Dry thermophilic semi-continuous anaerobic digestion of food waste: performance evaluation, modified Gompertz model analysis, and energy balance. *Energy Convers. Manage.* 128, 203–210. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2016.09.066>
- Nizami, A., Orozco, A., Novio, E., Dieterich, B., y Murphy J. (2012). How much gas can we get from grass? *Applied Energy*, 92, 783-790.
- Norma Técnica Colombiana - ICONTEC 5167 (2004). Productos para la industria agrícola. productos orgánicos usados como abonos o fertilizantes y enmiendas o acondicionadores de suelo.
- Norma Técnica Colombiana – ICONTEC 5167. (2011). Productos para la industria agrícola, productos orgánicos usados como abonos o fertilizantes y enmiendas de suelo.
- Novark, J., N. Love, M. Smith Y E. Wheeler. 1998. The effect of cationic salt addition on the setting and dewatering properties of an industrial sludge. *Water Environmental Research* 70 (5): 984-996
- Ohemeng-Ntiamoah, J., & Datta, T. (2019). Perspectives on variabilities in biomethane potential test 631 parameters and outcomes: A review of studies published between 2007 and 2018. *Science of The Total Environment* 664: 1052-1062.
- O'Flaherty V, Collins G, Mahony T (2006) "The microbiology and biochemistry of anaerobic bioreactors with relevance to domestic sewage treatment. *Rev Environ Sci Biotechnol* 5(1):39–55. <https://doi.org/10.1007/s11157-005-5478-8>
- Oliveira, J. V., Alves, M. M., & Costa, J. C. (2015). Optimization of biogas production from sargassum Sp. Using a design of experiments to assess the co-digestion with glycerol and waste frying Oil. *Bioresource Technology*, 175, 480–485. doi:10.1016/j.biortech.2014.10.121

Olmos, K. (2018). Producción de biohidrógeno en un reactor de tanque agitado continuo: Evaluación de los hidrolizados de bagazo de agave obtenidos con enzimas comerciales.

Ortiz, J. V. (2011). Puesta A Punto De Una Metodología Para La Determinación De La Actividad Metanogénica Específica (Ame) De Un Fango Anaerobio Mediante El Sistema Oxitop®. Influencia De Las Principales Variables Experimentales. Tesis De Maestría, Universidad Politécnica De Valencia

Owen, W. F., Stuckev, D. C., Healv, J. B., Young, L. Y., & Mccagr, P. L. (1979). Bioassay for monitoring biochemical methane potential and anaerobic toxicity. 13(5). Raposo, F., Banks, C. J., Siegert, I., Heaven, S., & Borja, R. (2006). Influence of inoculum to substrate ratio on the biochemical methane potential of maize in batch tests. *Process Biochemistry*, 41(6), 1444–1450. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2006.01.012>

PABÓN, P.C.P.; CASTAÑARES, G.; VAN LIER, J.B. 2012. An OxiTop® protocol for screening plant material for its biochemical methane potential (BMP). *Water Science and Technology*. 66(7):1416-1423. <https://doi.org/10.2166/wst.2012.305>

Pagliaccia, P., Gallipoli, A., Gianico, A., Gironi, F., Montecchio, D., Pastore, C., ... & Braguglia, C. M. (2019). Variability of food waste chemical composition: Impact of thermal pre-treatment on lignocellulosic matrix and anaerobic biodegradability. *Journal of environmental management*, 236, 100-107.

Pan, Y., Zhi, Z., Zhen, G., Lu, X., Bakonyi, P., Li, Y, Y., Zhao, Y., Rajesh Banu, J., 2019. Synergistic effect and biodegradation kinetics of sewage and food waste mesophilic anaerobic co-digestion and the underlying stimulation mechanisms. *Fuel* 253, 40-49. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2019.04.084>

Panigrahi, S., & Dubey, B. K. (2019). A critical review on operating parameters and strategies to improve the biogas yield from anaerobic digestion of organic fraction of municipal solid waste. *Renewable Energy*, 143, 779-797. [Doi.org/10.1016/j.renene.2019.05.040](https://doi.org/10.1016/j.renene.2019.05.040)

Paola, J., Calderón, B., Pablo, J., & Aguirre, O. (2019). COMPARACION DEL ESTIÉRCOL BUFALINO Y BOVINO COMO POTENCIALES INÓCULOS EN EL PROCESO DE DIGESTIÓN ANAEROBIA.

Park J, Lee B, Shin W, Jo S, Jun H (2018) Psychrophilic methanogenesis of food waste in a bio-electrochemical anaerobic digester with rotating impeller electrode. *J Clean Prod* 188:556–567. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.03.289>

Parra Orobio, B. A., Torres Lozada, P., Marmolejo Rebellón, L. F., Cárdenas Cleves, L. M., Vásquez Franco, C., Torres López, W. A., Ordóñez Andrade, J. A., & Sanitario. (2014). Influence of pH on anaerobic digestion of municipal bio-wastes. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 17(2), 553–562. <https://doi.org/http://www.scielo.org.co/pdf/rudca/v17n2/v17n2a27.pdf>

Parra-Orobio, B. A., Donoso-Bravo, A., & Torres-Lozada, P. (2017). Digestión anaerobia de residuos de alimentos. Predicción de la producción de metano mediante la comparación de modelos cinéticos. *Ingeniería y Competitividad*, 19(1), 210. <https://doi.org/10.25100/iyv.v19i1.2145>

Parra-Orobio, B. A., Torres-López, W. A., & Torres-Lozada, P. (2020). Response Surface Methodology as an Optimization Tool for Anaerobic Digestion of Food Waste. *Water, Air, and Soil Pollution*, 231(8). <https://doi.org/10.1007/s11270-020-04764-y>

Parra-Orobio, B. A., Vásquez-Franco, C., Torres-López, W. A., Marmolejo-Rebellón, L. F., & Torres-Lozada, P. (2019). Efecto del pretratamiento térmico de residuos de alimentos sobre la producción de metano. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 22(1), 1–10. <https://doi.org/10.31910/rudca.v22.n1.2019.1220>

Parra Orobio, B. A., Torres Lozada, P., Marmolejo Rebellón, Cárdenas Cleves, L. M., Vásquez Franco, Alexander, T.-L. W., & Abdón, O.-A. J. (2015). Efecto de la relación sustrato-inóculo sobre el potencial bioquímico de metano de biorresiduos de origen municipal. *Ingeniería, Investigación y Tecnología*, 16(4), 515–526. <https://doi.org/10.1016/j.riit.2015.09.004>

Parra Orobio, B. A., Donoso-Bravo, A., Ruiz-Sánchez, J. C., Valencia-Molina, K. J., & Torres-Lozada, P. (2018). Effect of inoculum on the anaerobic digestion of food waste accounting for the concentration of trace elements. *Waste Management*, 71, 342–349. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.09.040>

Pascual, A., Ruiz, B., Gomez, P., Flotats, X., Fernández, B., 2011. Situación y potencial de generación de biogás. Estudio Técnico PER 2011 -2020. Idea- Inst. para la Divers. Y Ahorr. La Energía 100

Pati, A. R., Saroha, S., Behera, A. P., Mohapatra, S. S., & Mahanand, S. S. (2019). The Anaerobic Digestion of Waste Food Materials by Using Cow Dung: A New Methodology to Produce Biogas. *Journal of The Institution of Engineers (India): Series E*, 100(1), 111–120. <https://doi.org/10.1007/s40034-019-00134-4>

Peralta, M., & Serrano, P. (2019). UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA ESCUELA DE INGENIERÍAS FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL BUCARAMANGA.

Pesta G. Anaerobic digestion of organic residues and wastes New York, Springer US, 2007.

Petropoulos, E., Dolfing, J., Davenport, R. J., Bowen, E. J., & Curtis, T. P. (2017). Developing cold-adapted biomass for the anaerobic treatment of domestic wastewater at low temperatures (4, 8 and 15 °C) with inocula from cold environments. *Water Research*, 112, 100–109. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.12.009>

Pham, C. H., Triolo, J. M., & Sommer, S. G. (2014). Predicting methane production in simple and unheated biogas digesters at low temperatures. *Applied Energy*, 136, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2014.08.057>

Pikuta EV, Hoover RB, Tang J: Microbial extremophiles at the limits of life. *Crit Rev Microbiol* 2007, 33:183-209

Porrier, P. (2005). Hidrólisis y acidificación psicrófila de moléculas complejas en sistemas anaeróbios. Departamento de Ingeniería Química, 193.

PNUMA (Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente). 2016. Asamblea Regional GEO-6 sesión para América Latina y el Caribe. Nairobi: PNUMA . Disponible en : <https://www.unep.org/global-environment-outlook/findings-and-data/assessment-findings/geo-6-regional-summary-latin>

Pognani, M., D'Imporzano, G., Minetti, C., Scotti, S., Adani, F., 2015. Optimization of solid state anaerobic digestion of the OFMSW by digestate recirculation: a new approach. *Waste Manag.* 35, 111-118 <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2014.09.009>

Prabhudessai V, Ganguly A, Mutnuri S. Biochemical methane potential of agro wastes. *J Energy*. 2013:1-7

Qian, M., Zhang, Y., Li, R., Nelles, M., Stinner, W., Li, Y., 2017. Effects of percolate recirculation on dry anaerobic Co-digestion of organic fraction of municipal solid waste and corn straw. *Energy Fuels* 31, 12183e12191. <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.7b01869>

Quintero, M. Estudio de consorcios microbianos para la producción de biogás a partir de residuos de fique. Trabajo de Investigación. Universidad Industrial de Santander, Colombia.2011, p .24-64

Quintero, M., Castro, L., Ortiz, C., Guzmán, C., & Escalante, H. (2012). Enhancement of starting up anaerobic digestion of lignocellulosic substrate: Fique's bagasse as an example. *Bioresource Technology*, 108, 8–13. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.12.052>

Rajagopal, R., Bellavance, D., & Rahaman, Md. S. (2017). Psychrophilic anaerobic digestion of semi-dry mixed municipal food waste: For North American context. *Process Safety and Environmental Protection*, 105, 101-108. [Doi.org/10.1016/j.psep.2016.10.014](https://doi.org/10.1016/j.psep.2016.10.014)

Rajagopal, R., Lim, J. W., Mao, Y., Chen, C. L. & Wang, J. (2013). Anaerobic Co-Digestion Of Source Segregated Brown Water (Feces-Without-Urine) And Food Waste: For Singapore Context. *Science Of The Total Environment*, 443, 877-886.

Rasapoor, M., Young, B., Brar, R., Sarmah, A., Zhuang, W.-Q., & Baroutian, S. (2020). Recognizing the challenges of anaerobic digestion: Critical steps toward improving biogas generation. *Fuel*, 261, 116497. [Doi.org/10.1016/j.fuel.2019.116497](https://doi.org/10.1016/j.fuel.2019.116497).

Raposo, F., De La Rubia, M. A., Fernández-Cegri, V., & Borja, R. (2012). Anaerobic digestion of solid organic substrates in batch mode: An overview relating to methane yields and experimental procedures. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 16(1), 861–877. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2011.09.008>

- Raposo, F., Banks, C. J., Siegert, I., Heaven, S., & Borja, R. (2006). Influence of inoculum to substrate ratio on the biochemical methane potential of maize in batch tests. *Process Biochemistry*, 41(6), 1444-1450. [Doi.org/10.1016/j.procbio.2006.01.012](https://doi.org/10.1016/j.procbio.2006.01.012).
- Raposo, F., Fernández-Cegri, V., de la Rubia, M. A., Borja, R., Béline, F., Cavinato, C., Demirer, G., Fernández, B., Fernández-Polanco, M., Frigon, J. C., Ganesh, R., Kaparaju, P., Koubova, J., Méndez, R., Menin, G., Peene, A., Scherer, P., Torrijos, M., Uellendahl, H., ... de Wilde, V. (2011). Biochemical methane potential (BMP) of solid organic substrates: Evaluation of anaerobic biodegradability using data from an international interlaboratory study. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 86(8), 1088-1098. <https://doi.org/10.1002/jctb.2622>
- Ratkowski, D.A., Olley, J., McMeekin, T.A., Ball, A. (1982) "Relationship between temperatura and growth rate of bacterial cultures". *J. Bacteriol.* 149 1-5
- Ravindran, R., & Jaiswal, A. K. (2016). A comprehensive review on pre-treatment strategy for lignocellulosic food industry waste: challenges and opportunities. *Bioresource technology*, 199, 92-102.
- Rebac, S., van Lier, J. B., Lens, P., van Cappellen, J., Vermeulen, M., Stams, A. J. M., Dekkers, F., Swinkels, K. T. M. and Lettinga, G. (1998) Psychrophilic (6-15 °C) high-rate anaerobic treatment of malting wastewater in a two module EGSB system. *Biotechnol. frog.*, 14(6) (in press).
- Rebac, S., Ruskova, J., Gerbens, S., van Lier, J. B., Stams, A. J. M. and Lettinga, G. (1995). High-rate anaerobic treatment of wastewater under psychrophilic conditions. *J. Ferment. Bioeng.*, 5, 15-22
- Regueiro, L., Veiga, P., Figueroa, M., Alonso-Gutierrez, J., Stams, A. J. M., Lema, J. M., & Carballa, M. (2012). Relationship between microbial activity and microbial community structure in six full- scale anaerobic digesters. *Microbiological Research*, 167 (10), 581-589. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2012.06.002>
- Rico, C., Montes, J. A., & Lobo, A. (2020). Dry batch anaerobic digestion of food waste in a box-type reactor system: Inoculum preparation and reactor performance. *Journal of Cleaner Production*, 251, 119751. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.119751>
- Rincón Ramírez, M., N. Rincón Lizardo, J. Mata Álvarez y I. Chirinos, Biodegradability of prepared food waste under mesophilic and thermophilic conditions using a complete mix anaerobic reactor, *Cienc. E Ing. Neogranadina*, 24(1), 29-48 (2014)
- Ripley, L., Boyle, W. & Converse, J. (1986). Improved Alkalimetric Monitoring For Anaerobic Digestion Of High-Strength Wastes. *Journal (Water Pollution Control Federation)*, 406-411.
- Rivera, S., Aranda, J., Espinosa, T., Robles, F., & Toledo, U. (2009). El modelo de digestión anaeróbica IWA-ADM1: Una revisión de su evolución. *Ingeniería Agrícola y Biosistemas* 1 (2), 109-117.
- Rodríguez, J. (2011). Arranque y operación de reactores anaerobios. Universidad del Valle. Cali – Colombia.
- Rodríguez, J. (2018). Diseño Plantas de Tratamiento de Agua Residual Universidad del Valle. Cali – Colombia
- Rojas, O. (1987). Relación alcalinidad-ácidos grasos volátiles. En: *Manual de arranque y operación de sistemas de flujo ascendente con manto de lodos – UASB*, Universidad del Valle, CVC, Universidad Agrícola de Wageningen, Cali, Colombia.
- Romero-Güiza, M. S., Vila, J., Mata-Alvarez, J., Chimenos, J. M., & Astals, S. (2016). The role of additives on anaerobic digestion: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 58, 1486-1499. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.12.094>
- Roopnarain A, Rama H, Ndaba B, Bello-Akinsho M, Bamuza-Pemu E, Adeleke R. Unravelling the anaerobic digestion 'black box': biotechnological approaches for process optimization. *Renew Sustain Energy Rev* 2021;152:111717.
- Rozzi A, Remigi E. Methods of assessing microbial activity and inhibition under anaerobic conditions: a literature review. *Reviews in Environmen Sci Bio/Technol.* 2004;3(2):93-115.
- Rozzi, A. (1986). Parámetros de operación y control de los procesos anaeróbicos. Tercer Seminario sobre depuración anaeróbica de aguas residuales, Valladolid, España

- Rubén, K., Guerrero, E., Misael, E., & Obando, L. (2022). ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas.
- Ruiz, J., & Valencia, K. (2016). Influencia de Inóculos Procedentes de Aguas Residuales Municipales y Agroindustriales sobre la Digestión Anaerobia de Biorresiduos de Origen Municipal
- Safley, L. M., & Westerman, P. W. (1992). Performance of a Low Digester* Temperature Lagoon. In *Bioresource Technology* (Vol. 41).
- Safley, L.M., Weterman, P.W., 1994. Low temperature digestion of dairy and swine manure. *Bioresource Technol.* 47, 165–171.
- Sakurai, K. (2000). Guía HDT 17: Método sencillo del análisis de residuos sólidos. Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente (CEPIS).
- Sánchez-Reyes, C., Patiño-Iglesias, M. E., Alcántara-Flores, J. L., Reyes-Ortega, Y., Pérez-Cruz, M. A., & Ortiz-Muñoz, E. (2016). Determinación del potencial bioquímico de metano (PBM) de residuos de frutas y verduras en hogares. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 32(2), 191–198. <https://doi.org/10.20937/RICA.2016.32.02.05>.
- Sandoval-Cobo, J. J., Casallas-Ojeda, M. R., Carabalí-Orejuela, L., Muñoz-Chávez, A., Caicedo-Concha, D. M., Marmolejo-Rebellón, L. F., & Torres-Lozada, P. (2020). Methane potential and degradation kinetics of fresh and excavated municipal solid waste from a tropical landfill in Colombia. *Sustainable Environment Research*, 30(1). <https://doi.org/10.1186/s42834-020-00048-6>
- Scarlatt, N., Dallemand, J.F., Fahl, F., 2018. Biogas: developments and perspectives in Europe. *Renew. Energy*. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2018.03.006>.
- Scherer P, Neumann L, Demirel B, Schmidt O, Unbehauen M. Long term fermentation studies about the nutritional requirements for biogasification of fodder beet silage as mono-substrate. *Biomass and Bioenergy* 2009;33(5):873–81
- Saravanan, K., Suganthi, R., & Chinnaiyan, V. K. (2014, October 10). Review on biogas from organic waste. *Proceeding of the IEEE International Conference on Green Computing, Communication and Electrical Engineering, ICGCCEE 2014*. <https://doi.org/10.1109/ICGCCEE.2014.6922445>
- Seetharaman Moorthy K, Patwa N, Saravanan Gupta Y. Breaking barriers in deployment of renewable energy. *Heliyon* 2019;5:e01166. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01166>.
- Shen, J., & Zhu, J. (2016). Optimization of methane production in anaerobic co-digestion of poultry litter and wheat straw at different percentages of total solid and volatile solid using a developed response surface model. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 51(4), 325–334. <https://doi.org/10.1080/10934529.2015.1109395>
- Shi, Y., Liu, M., Li, J., Yao, Y., Tang, J., Niu, Q., 2022. The dosage-effect of biochar on anaerobic digestion under the suppression of oily sludge: performance variation, microbial community succession and potential detoxification mechanisms. *J. Hazard. Mater.* 421, 126819 <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.126819>.
- Siegrist, H., Vogt, D., García-Heras, J.L, W., 2002. Mathematical model for meso-and thermophilic anaerobic sewage sludge digestion. *Environ. Sci. Technol.* 36, 1113-1123
- Sienechal, K.J., Installe, M.J., Nyns, E.-J., 1979. Differentiation between acetate and higher volatile acids in the modeling of the anaerobic biomethanation process. *Biotechnol. Lett.* 1, 309-314
- Simankova, M.V., Kotsyurbenko, O.R., Lueders, T., Nozhevnikova, A.N., Wagner, B., Conrad, R., Friedrich, M.W., 2003. Isolation and characterization of new strains of methanogens from cold terrestrial habitats. *Systematic and Applied Microbiology* 26 (2), 312–318
- Singh S, Rinta-Kanto JM, Kettunen R, Lens P, Collins G, Kokko M, et al. Acetotrophic activity facilitates methanogenesis from LCFA at low temperatures: screening from mesophilic inocula. *Archaea* 2019;2019.

- Singh KS, Viraraghavan T. Impact of temperature on performance, microbiological and hydrodynamic aspects of UASB reactors treating municipal wastewater. In: Proceedings of Seventh Latin American Workshop and Symposium on Anaerobic Digestion. Merida, Mexico, 2002, pp. 613–20.
- Singh, R. P., Kumar, S., & Ojha, C. S (1999). Nutrient requirement of UASB process: a review. *Biochemical Engineering Journal*, 35-54
- Slimane, K.; Fathya, S.; Assia, K.; Hamza, M. Influence of inoculums/substrate ratios (ISRs) on the mesophilic anaerobic digestion of slaughterhouse waste in batch mode: Process stability and biogas production. *Energy Procedia* 2014, 50, 57–63. [CrossRef]
- Sobotka, M., Votruba, J., Havlík, I. & Minkevich, I. G. (1983). The Mass—Energy Balance Of Anaerobic Methane Production. *Folia Microbiologica*, 28,3, 195-204.
- Soto, M., Mendez, R., and Lema, J. M. (1993) Methanogenic and non-methanogenic activity tests - theoretical basis and experimental set-up. *Water Research*, 27 (8), 1361-1376.
- Soto-Paz, J., Oviedo-Ocaña, E. R., Manyoma-Velásquez, P. C., Torres-Lozada, P., y Gea, T. (2019). Evaluación de la relación de mezcla y la frecuencia de volteo en el co-compostaje de residuos biológicos con torta de filtro de caña de azúcar y pasto estrella. *Waste Management*, 96, 86 - 95. Doi: 10.1016/j.wasman.2019.07.015
- Sossa, J., Rene A. (2018) Modelación matemática del proceso de digestión anaerobia en condiciones de clima frío utilizando biodigestores tubulares Instituto de Investigación y Desarrollo de Procesos Químicos (IIDEPROQ) UMSA, Campus Universitario. *Revista de Investigación e Innovación Agropecuaria y de Recursos Naturales*, La Paz, vol. 3, n°3, pág. 81-93, junio 2016 - ISSN: 2409-161
- Speece, R. E. (1996) *Anaerobic Biotechnology for Industrial Wastewater*. Archae Press, Nashville, TN.
- Steinmetz, R. L. R., Mezzari, M. P., da Silva, M. L. B., Kunz, A., do Amaral, A. C., Tapparo, D. C., Soares, H. M., 2016. Enrichment and acclimation of an anaerobic mesophilic microorganism's inoculum for standardization of BMP assays. *Bioresour. Technol.* 219, 21–28. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.07.031>
- Srisertpol, J., Srinakorn, P., Kheawnak, A., Chamniprasart, K., 2010. Mathematical modeling and parameters, estimation of the anaerobic digestion of shrimp of culture pond sediment in a biogas process. *Int. J. Energ. Environ.* 4, 213 -220
- Stanescu, L. A., Diana Robescu, L., Boncescu, C., & Futselaar, H. (2019). Biochemical methane potential assay methodology for increased precision in yield estimation for low-end conditions. *Proceedings of 2019 International Conference on ENERGY and ENVIRONMENT, CIEM 2019*, 515–519. <https://doi.org/10.1109/CIEM46456.2019.8937604>
- Steban Daza Martinez David Felipe Salas Lozano Angie Alejandra Vargas Rivera, B., Judith Elena Camacho Kurmen, A., & en Biociencias, Q. (2019). ACTIVIDAD METANOGÉNICA DE LODOS PROCEDENTES DE VILLAVICENCIO Y BUSBANZÁ, BOYACÁ.
- Sukasem, N., Khanthi, K., Prayoonkham, S., 2017. Biomethane recovery from fresh and dry water hyacinth anaerobic co-digestion with pig dung, elephant dung and bat dung with different alkali pretreatments. *Energy Proc.*, 294–300 <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2017.10.094>.
- Sundberg, C., Franke-Whittle, I. H., Kauppi, S., Yu, D., Romantschuk, M., Insam, H. & Jönsson, H. (2011). Characterisation Of Source-Separated Household Waste Intended For Composting. *Bioresource Technology*, 102,3, 2859-2867.
- Sutter, K., Wellinger, A., 1987. ACF-System: a new low temperature biogas digester. In: *Proceedings of the 4th International Symposium of the International Scientific Centre of Fertilizers*. Braunschweig-Volkenrode, Germany.
- Symons, G. E., Buswell, A. M., 1933. The methane fermentation of carbohydrates. *J. Am. Chem. Soc.* 55, 2028–2036
- Tabatabaei, M., & Ghanavati, H. (2018). *Biogas Fundamentals, process and operation*. In *Biofuel and biorefinery technologies* (p. 471). Springer International Publishing AG. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-77335-3>
- Tang, J., Wang, X., Hu, Y., Zhang, Y., & Li, Y. (2016). Lactic acid fermentation from food waste with indigenous microbiota: Effects of pH, temperature and high OLR. *Waste Management*, 52, 278-285. Doi.org/10.1016/j.wasman.2016.03.034.

- Thi, N.B.D., Kumar, G., Lin, C.-Y., 2015. An overview of food waste management in developing countries: current status and future perspective. *J. Environ. Manage.* 157, 220–229
- Tian, H., Duan, N., Lin, C., Li, X., Zhong, M.: Anaerobic codigestion of kitchen waste and pig manure with different mixing ratios. *J. Biosci. Bioeng.* 120(1), 51–57 (2015)
- Tiwari BR, Rouissi T, Brar SK, Surampalli RY. Critical insights into psychrophilic anaerobic digestion: novel strategies for improving biogas production. *Waste Manag* 2021;131:513–26.
- Torres Lozada P, Cardoso A, Rojas O. Mejoramiento de la calidad de lodos anaerobios. *Ingeniería y Competitividad.* 2004;5(2):23-31. [Links]
- Torres, P.; P, A. (2008). Índices de alcalinidad para el control del tratamiento anaerobio de aguas residuales fácilmente acidificables. *Ingen. y Competitiv.* 10(2):41-52.
- Torres, P., Cardoso, A., & Rojas, O. (2004). Mejoramiento de la Calidad de Lodos Anaerobios. Influencia de la Adición de Cloruro Férrico. *INGENIERÍA Y COMPETITIVIDAD*, 5(2), 23-31. [Doi.org/10.25100/iyc.v5i2.2293](https://doi.org/10.25100/iyc.v5i2.2293)
- Torres P, Pérez A. Actividad Metanogénica Específica: Una herramienta de control y optimización de sistemas de tratamiento anaerobio de aguas residuales. *Ingeniería de los Recursos Naturales y del Ambiente.* 2010;(9):5-14.
- Torres Lozada, P. and Pérez, A. ACTIVIDAD METANOGENICA ESPECIFICA: UNA HERRAMIENTA DE CONTROL Y OPTIMIZACIÓN DE SISTEMAS DE TRATAMIENTO ANAEROBIO DE AGUAS RESIDUALES. *Ingeniería de Recursos Naturales y del Ambiente.* 2010; 9:5-14
- Torres, P., Marmolejo Rebellón, L. F., Arias Giraldo, C., Foronda Zapata, K., & Soto Paz, J. (2020). Efecto de la incorporación de pasto estrella sobre el mejoramiento del proceso y la calidad del producto del compostaje de biorresiduos. *Revista EIA*, 17(33). <https://doi.org/10.24050/reia.v17i33.1352>
- Torres, P. A. (2010). Actividad Metanogénica Específica: Una Herramienta De Control Y Optimización De Sistemas De Tratamiento Anaerobio De Aguas Residuales. *Ingeniería de Recursos Naturales y Del Ambiente*, 9, 5–14.
- Valero, D., Montes, J. A., Rico, J. L., & Rico, C. (2016). Influence of headspace pressure on methane production in biochemical methane potential (BMP) Tests. *Waste Management*, 48, 193–198. [doi:10.1016/j.wasman.2015.11.012](https://doi.org/10.1016/j.wasman.2015.11.012)
- Varnero, M., K. Galleguillos, D. Guerrero, y A. Suárez, Producción de Biogás y Enmiendas Orgánicas a Partir del Residuo Olivícola (Alperujo), [doi:10.4067/S0718-07642014000500011](https://doi.org/10.4067/S0718-07642014000500011), *Inf. Tecnológica*, 25(5), 73–78 (2014)
- Veeken, A., Hamelers, B., 1999. Effect of the temperatura on hydrolysis rates of selected biowaste components. *Bioresour. Technol.* 69,249-254.
- Veluchamy, C., & Kalamdhad, A. S. (2017). Influence of pretreatment techniques on anaerobic digestion of pulp and paper mil sludge: A review. *Bioresource Technology*, 245, 1206-1219. [Doi.org/10.1016/j.biortech.2017.08.179.7](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.08.179.7)
- Walker, M., Zhang, Y., Heaven, S., & Banks, C. (2009). Potential errors in the quantitative evaluation of biogas production in anaerobic digestion processes. *Bioresource Technology*, 100(24), 6339–6346.
- Walkins, D., Rao, S., Lu, X., y Lee, P.K.H. (2015). Effect of sludge inoculum and organic feedstock on active microbial communities and methane yield during anerobic digestion. *Front. Microbiol.* 6, 1114 DOI: 10.3389/fmicb.2015.01114
- Wiegel J. Temperature spans for growth: hypothesis and discussion. *FEMS Microbiol Lett* 1990;6:155–69. [https://doi.org/10.1016/0378-1097\(90\)90529-Y](https://doi.org/10.1016/0378-1097(90)90529-Y)
- Wu, D., Peng, X., Li, L., Yang, P., Peng, Y., Liu, H., Wang, X., 2021. Commercial biogas plants: review on operational parameters and guide for performance optimization. *Fuel* 303, 121282. <https://doi.org/10.1016/J.FUEL.2021.121282>



Zhai, N., T. Zhang, D. Yin, G. Yang, X. Wang, G. Ren, y Y. Feng, Effect of initial pH on anaerobic codigestion of kitchen waste and cow manure, doi:10.1016/j.wasman.2014.12.027, Waste Manag., 38, 126131 (2015)

Zhang, C., H. Su, y T. Tan, Batch and semi-continuous anaerobic digestion of food waste in a dual solid-liquid system, doi:10.1016/j.biortech.2013.03.030, Bioresour. Technol., 145, 10-16 (2013)

Zhang, G., Jiang, N., Liu, X., Dong, X., 2008. Methanogenesis from methanol at low temperatures by a novel psychrophilic methanogen, "Methanolobus psychrophilus" sp. nov., prevalent in Zoige wetland of the Tibetan plateau. Applied and Environmental Microbiology 74 (19), 6114–6120. *water research* 43 (2009) 1611–16201620

Zhang, L., Lee, Y.W., Jahng, D.: Anaerobic co-digestion of food waste and piggery wastewater: focusing on the role of trace elements. Bioresour. Technol. 102(8), 5048–5059 (2011) 18.

Zhang, Y., Chen, X., Gu, Y. & Zhou, X. 2011 A physicochemical method for increasing methane production from rice straw: extrusion combined with alkali pretreatment. Applied Energy 160, 39–48

Zhang, C., Su, H., Baeyens, J., Tan, T., 2014. Reviewing the anaerobic digestion of food waste for biogas production. Renew. Sustain. Energy Rev. 38, 383–392

Zhang, L., & Jahng, D. (2012). Long-term anaerobic digestion of food waste stabilized by trace 799 elements. Waste Management, 32(8), 1509-1515

Zhu G. Kumar Jha A.Digestión anaeróbica seca psicrófila de estiércol de vaca para la producción de metano: efecto del inóculo. 2013