

EVALUACIÓN DEL LODO GRANULAR DE UNA INDUSTRIA PAPELERA COMO INÓCULO PARA LA DIGESTIÓN ANAEROBIA DE RESIDUOS DE ALIMENTOS



Estudiantes:

Laura Gómez Pérez

Código: 2025417

Manuela Jiménez Vallejo

Código: 1840417

**Universidad del Valle
Facultad de Ingeniería
Escuela de Ingeniería de los Recursos Naturales y del Ambiente - EIDENAR
Programa Académico Ingeniería Sanitaria y Ambiental
Santiago de Cali
2026**

EVALUACIÓN DEL LODO GRANULAR DE UNA INDUSTRIA PAPELERA COMO INÓCULO PARA LA DIGESTIÓN ANAEROBIA DE RESIDUOS DE ALIMENTOS



Estudiantes:

Laura Gómez Pérez

Código: 2025417

Manuela Jiménez Vallejo

Código: 1840417

**Trabajo de grado como requisito para optar por el título de:
Ingenieras Sanitarias y Ambientales**

Directoras de Trabajo de Grado:

Andrea Pérez Vidal

Profesora Asociada, Ing. Sanitaria, MSc., Ph.D.

Francis Jamelis Orobio Vélez

Ing. Sanitaria y Ambiental, Est. Maestría en Ingeniería - énfasis en Ingeniería Sanitaria y Ambiental

Universidad del Valle

Facultad de Ingeniería

Escuela de Ingeniería de los Recursos Naturales y del Ambiente - EIDENAR

Programa Académico Ingeniería Sanitaria y Ambiental

Santiago de Cali

2026

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	7
ABSTRACT	8
1. INTRODUCCIÓN	9
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	10
3. JUSTIFICACIÓN	12
4. OBJETIVOS	14
4.1. Objetivo General:	14
4.2. Objetivos específicos	14
5. MARCO TEÓRICO	14
5.1. Residuos sólidos municipales (RSM)	14
5.2. Digestión anaerobia	16
5.2.1. Factores que influyen en la digestión anaerobia	18
5.2.1.1. pH, alcalinidad y Ácidos Grasos Volátiles (AGVs)	19
5.2.1.2. Temperatura	20
5.2.1.3. Relación sustrato/inóculo	21
5.2.1.4. Composición y características del sustrato	22
5.2.1.5. Inóculo	22
5.3. Actividades metabólicas del inóculo	23
5.3.1. Actividad Hidrolítica Específica	24
5.3.2. Actividad Acidogénica Específica	25
5.3.3. Actividad Metanogénica Específica	25
5.4. Ensayos de potencial bioquímico de metano - PBM	26
5.5. Antecedentes de la investigación	29
6. METODOLOGÍA	34
6.1. Caracterización de las actividades metabólicas	34
6.1.1. Caracterización del inóculo	34
6.1.2. Medición de las actividades metabólicas	34
6.2. Ensayos de PBM bajo diferentes relaciones S/I	37
6.2.1. Caracterización del sustrato	37
6.2.2. Montaje PBM	40
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	41
7.1. Caracterización de las actividades metabólicas	41
7.1.1. Caracterización del inóculo	42
7.1.2. Caracterización de las actividades metabólicas	46
7.2. Ensayos de PBM bajo diferentes relaciones S/I	54
7.2.1. Caracterización del sustrato	54
7.2.2. Análisis del PBM	55
8. CONCLUSIONES	63
9. RECOMENDACIONES	64
10. REFERENCIAS	66
ANEXOS	86

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Etapas del proceso de digestión anaerobia	17
Figura 2. Lodo granular proveniente de la industria papelería.	33
Figura 3. Residuos de alimentos recolectados	36
Figura 4. Composición del sustrato	36
Figura 5. Residuos de alimentos homogeneizados (Sustrato)	37
Figura 6. Cuarteo del sustrato	37
Figura 7. Trituración del sustrato	38
Figura 8. Producción de azúcares reductores en el ensayo de AHE-S y AHE-B	44
Figura 9. Consumo de azúcares reductores en el ensayo de AAE-S y AAE-B	47
Figura 10. Producción de CH ₄ ml en el ensayo de AME.	50
Figura 11. Potencial bioquímico de metano (PBM) para las relaciones S/I: 0,2, 0,5 y 1,0 gSVsustrato/gSVinoculo promediadas.	53
Figura 12. Comparación de la producción de metano entre las relaciones sustrato/inóculo evaluadas mediante BOXPLOT.	54
Figura 13. Potencial bioquímico de metano (PBM) para los controles positivos (CP) de cada una de las relaciones.	57

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Aspectos relacionados con los RA y su potencial de aprovechamiento mediante DA	16
Tabla 2. Ecuaciones para la determinación del PBM a través del método manométrico	27
Tabla 3. Experiencias relacionadas en DA con diferentes lodos y sustrato RA.	31
Tabla 4. Composición de la solución de macro y micronutrientes	34
Tabla 5. Caracterización del inóculo	40
Tabla 6. Macro y micronutrientes esenciales presentes en el inóculo.	42
Tabla 7. Valores de pH al inicio y al final, y concentración final de AGVs en los tratamientos del ensayo de AHE.	43
Tabla 8. Resultados de la Actividad Hidrolítica Específica.	45
Tabla 9. Valores de pH al inicio y al final, y concentración final de AGVs en los tratamientos del ensayo de AAE	46
Tabla 10. Datos experimentales de la Actividad Acidogénica Específica	48
Tabla 11. Valores de pH al inicio y al final, y parámetros finales (AGVs, alcalinidad y DQO) en los tratamientos del ensayo de AME.	49
Tabla 12. Datos experimentales de la Actividad Metanogénica Específica	50
Tabla 13. Caracterización de pH, AGVs, alcalinidades, DQO y sólidos del sustrato.	51
Tabla 14. Caracterización inicial del pH, sólidos, AGVs, alcalinidad e IB en la mezcla S/I en los ensayos de PBM	52
Tabla 15. Resultados del análisis no paramétrico de Kruskal–Wallis y post-hoc de Dunn (Bonferroni).	55
Tabla 16. Caracterización fisicoquímica final (pH, AGVs, alcalinidad, IB y DQO) de las mezclas con diferentes relaciones S/I en el ensayo PBM.	58

LISTA DE ABREVIATURAS

AHE – Actividad Hidrolítica Específica
AAE – Actividad Acidogénica Específica
AME – Actividad Metanogénica Específica
PBM – Potencial Bioquímico de Metano
DA – Digestión Anaerobia
AT - Alcalinidad Total
AB - Alcalinidad Bicarbonática
AI - Alcalinidad Intermedia
ST – Sólidos Totales
SV – Sólidos Volátiles
DQO – Demanda Química de Oxígeno
AGVs – Ácidos Grasos Volátiles
H₂ – Dihidrógeno (hidrógeno molecular)
CH₄ – Metano
CO₂ – Dióxido de Carbono
UASB – Upflow Anaerobic Sludge Blanket (Reactor anaerobio de manto de lodos de flujo ascendente)
RS - Residuos Sólidos
RSM - Residuos Sólidos Municipales
RA- Residuos de Alimentos
CP - Control Positivo
TRH - Tiempo de Retención Hidráulico
Relación (I/S) - Relación Inóculo/Sustrato
Relación (S/I) - Relación Sustrato/Inóculo

DEDICATORIA:

LAURA GÓMEZ PÉREZ

A mi mamá y a mi papá, por su amor incondicional, por creer en mí incluso en los momentos en los que dudé, y por enseñarme con su ejemplo el valor de la disciplina, la fortaleza y el compromiso. Gracias por estar siempre, especialmente en los momentos más difíciles, por sostenerme cuando sentía que no podía más y por compartir conmigo cada paso, cada esfuerzo y cada logro de este proceso.

A mi familia, por su apoyo constante, por sus palabras de aliento, su presencia sincera y su paciencia infinita. Gracias por acompañarme a lo largo de este camino, por recordarme siempre que no estaba sola, por escucharme en cada etapa, por celebrar mis triunfos y por sostenerme en cada caída. Su amor ha sido mi refugio y mi mayor fortaleza.

A mis amigas y amigos más cercanos, quienes, con su cariño, su compañía y su motivación hicieron que este proceso fuera más llevadero, más humano y mucho más especial. Gracias por las risas, los ánimos, la comprensión en los momentos difíciles y por caminar conmigo incluso cuando el cansancio era grande.

A todas y todos ustedes, gracias por ser mi red, mi impulso y mi motivo constante para seguir adelante.

MANUELA JIMÉNEZ VALLEJO

A Dios, por ser mi refugio y mi fuerza. Por sostenerme en silencio cuando el camino se volvió difícil, por darme aliento cuando sentí que no podía continuar, y por mostrarme que cada desafío escondía una bendición. Gracias por llenar mis pasos de propósito y mi corazón de esperanza.

A mis padres, cuyo amor incondicional ha sido mi mayor certeza. Gracias por ser mi impulso cuando faltaban ganas, por sus sacrificios silenciosos, por sus oraciones, por cada mirada que me decía “tú puedes” incluso en mis días más cansados. Todo lo que soy y lo que logro tiene un pedacito de ustedes.

A mis hermanas, mis compañeras de vida, gracias por su cariño genuino y por recordarme con sus palabras, que nunca camino sola. Que siempre nos tendremos la una a la otra a pesar de la distancia.

A mis abuelos, quienes con su sabiduría y su fe me enseñaron la importancia de perseverar con humildad y gratitud, han sido un ancla en mi vida y un recordatorio constante de mis raíces.

Y a todas las personas que, aun sin saberlo, me brindaron una palabra de ánimo, un abrazo oportuno o un gesto de confianza en mis capacidades. Gracias por iluminar momentos oscuros y por ayudarme a seguir adelante con más fuerza de la que creía tener.

Este logro es también de ustedes.

AGRADECIMIENTOS:

Agradecemos profundamente a la Universidad del Valle, institución que nos permitió formarnos, aprender, cuestionar y fortalecernos tanto a nivel profesional como humano. Gracias por ser el espacio donde encontramos oportunidades, experiencias y desafíos que marcaron de manera significativa mi camino.

Expresamos nuestros más sinceros agradecimientos a las profesoras Andrea Pérez Vidal y Patricia Torres Lozada, por su valiosa orientación, su trayectoria profesional, sus amplios conocimientos y su constante motivación. Gracias por impulsarnos a participar en este proyecto, por su acompañamiento permanente y por brindarnos claridad y apoyo en los momentos más determinantes del proceso.

Un especial agradecimiento a la ingeniera Francis Jamelis Orobio Vélez, por su apoyo continuo durante la fase experimental, por sus consejos oportunos, su guía cercana y su objetividad, los cuales fueron fundamentales para el adecuado desarrollo de este proyecto.

De igual manera, agradecemos al “Team Anaerobio”, cuyo compañerismo, disposición, colaboración y buena energía hicieron más ameno cada paso del proyecto. Su acompañamiento transformó los retos en aprendizajes compartidos y convirtió este proceso académico en una experiencia más humana, colaborativa y significativa, llena de recuerdos que llevaremos con nosotras para siempre.

Finalmente, y no menos importante, agradecemos de manera especial el respaldo financiero del proyecto de convocatoria interna C.I. 21260, “Influencia de la procedencia del inóculo sobre la producción de metano en la digestión anaerobia de residuos de alimentos”, cuyo apoyo técnico y administrativo permitió el desarrollo de esta investigación.

RESUMEN

El aprovechamiento energético de los residuos de alimentos (RA), fracción altamente biodegradable de los residuos sólidos municipales (RSM), representa un desafío ambiental debido a su rápida degradación y generación de emisiones; la digestión anaerobia (DA) surge como alternativa para su valorización en biogás, cuyo desempeño depende de la calidad del inóculo y la relación sustrato/inóculo (S/I).

En este contexto, el presente estudio evaluó el potencial del lodo granular proveniente de un reactor UASB de una industria papelería en la digestión anaerobia (DA) de residuos de alimentos (RA) a escala de laboratorio. Se caracterizaron sus actividades metabólicas específicas (hidrolítica (AHE), acidogénica (AAE) y metanogénica (AME)) y se analizaron las relaciones S/I de 0,2; 0,5 y 1,0 $\text{gSV}_{\text{sustrato}}/\text{gSV}_{\text{inóculo}}$ en términos de producción de metano mediante ensayos de Potencial Bioquímico de Metano (PBM).

El estudio se desarrolló en dos fases. En la primera, se caracterizó el inóculo en términos físicoquímicos y metabólicos. Las actividades específicas se determinaron en reactores a 35 °C empleando celulosa, glucosa y una mezcla de ácidos grasos volátiles (AGVs) como sustratos para la AHE, AAE y AME, respectivamente. En la segunda fase, los ensayos de PBM se realizaron mediante el método manométrico y la producción neta de metano se corrigió por la actividad endógena del inóculo.

Los resultados mostraron que el lodo granular presentó un pH neutro con suficiente capacidad buffer y adecuadas concentraciones de macro y micronutrientes; así mismo, presentó altas actividades metabólicas en las tres etapas analizadas. La AHE (0,650 $\text{gDQO}/\text{gSV} \cdot \text{DÍA}$) evidenció una capacidad hidrolítica sostenida, AAE (5,116 $\text{gDQO}/\text{gSV} \cdot \text{DÍA}$) registró valores altos asociados a la rápida fermentación de carbohidratos y la AME (0,311 $\text{gDQO}/\text{gSV} \cdot \text{DÍA}$) superó los rangos típicos reportados, lo que evidencia un inóculo altamente activo para la conversión de AGVs en metano.

En los ensayos de PBM, las tres relaciones S/I mostraron comportamientos similares en los primeros días, pero las diferencias se acentuaron durante la fase de estabilización. La relación S/I de 0,2 alcanzó los mayores rendimientos de metano (245,83 $\text{ml CH}_4/\text{g SV}$) y la mayor estabilidad del proceso, mientras que las relaciones 0,5 y 1,0 presentaron limitaciones asociadas a la mayor carga orgánica, una menor disponibilidad relativa de biomasa activa y menos producción de metano (110,22 y 76,44 $\text{ml CH}_4/\text{g SV}$ respectivamente).

En síntesis, los resultados demostraron que el lodo granular industrial evaluado constituyó un inóculo adecuado para la DA de RA, debido a su alta actividad metabólica y su capacidad amortiguadora. Así mismo, se confirma que las relaciones S/I bajas favorecieron la estabilidad del sistema y la eficiencia de producción de metano, lo que demostró que la selección adecuada del inóculo y de la relación S/I es determinante para optimizar el desempeño de la digestión anaerobia.

Palabras claves: Digestión anaerobia (DA), Lodo granular, Residuos de alimentos (RA), Inóculo, Relación sustrato/inóculo (S/I), Potencial bioquímico de metano (PBM), Actividad metabólica

ABSTRACT

The energy recovery of food waste (FW), a highly biodegradable fraction of municipal solid waste (MSW), represents a relevant environmental challenge due to its rapid degradation and emission generation. Anaerobic digestion (AD) emerges as an alternative for its valorization into biogas; however, its performance depends on factors such as inoculum quality and the substrate-to-inoculum ratio (S/I).

In this context, the present study evaluated the potential of granular sludge from an upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor of a paper industry for the anaerobic digestion of food waste at laboratory scale. Specific metabolic activities (hydrolytic (HMA), acidogenic (AMA), and methanogenic (MMA)) were characterized, and S/I ratios of 0,2, 0,5, and 1,0 $\text{gVS}_{\text{substrate}}/\text{gVS}_{\text{inoculum}}$ were analyzed in terms of methane production through Biochemical Methane Potential (BMP) assays.

The study was conducted in two phases. In the first phase, the inoculum was characterized in physicochemical and metabolic terms. Specific activities were determined in reactors operated at 35 °C using cellulose, glucose, and a mixture of volatile fatty acids (VFAs) as substrates for HMA, AMA, and MMA, respectively. In the second phase, BMP assays were performed using the manometric method, and net methane production was corrected for the endogenous activity of the inoculum.

The results showed that the granular sludge exhibited a neutral pH, sufficient buffering capacity, and adequate concentrations of macro- and micronutrients; likewise, it presented high metabolic activities in the three stages analyzed. HMA (0,650 $\text{gCOD}/\text{gVS}\cdot\text{day}$) evidenced a sustained hydrolytic capacity, AMA (5,116 $\text{gCOD}/\text{gVS}\cdot\text{day}$) showed high values associated with rapid carbohydrate fermentation, and MMA (0,311 $\text{gCOD}/\text{gVS}\cdot\text{day}$) exceeded typical reported ranges, indicating a highly active inoculum for the conversion of VFAs into methane.

In the BMP assays, all S/I ratios showed similar behavior during the initial days; however, differences became more pronounced during the stabilization phase. The S/I ratio of 0,2 achieved the highest methane yields (245.83 $\text{mL CH}_4/\text{g VS}$) and the greatest process stability, whereas the 0,5 and 1,0 ratios exhibited limitations associated with higher organic loading, lower relative availability of active biomass, and reduced methane production (110,22 and 76,44 $\text{mL CH}_4/\text{g VS}$, respectively).

In summary, the results demonstrated that the evaluated industrial granular sludge constitutes a suitable inoculum for the anaerobic digestion of food waste due to its high metabolic activity and buffering capacity. Furthermore, lower S/I ratios favored system stability and methane production efficiency, confirming that the appropriate selection of inoculum and S/I ratio is a determining factor for optimizing anaerobic digestion performance.

Keywords: Anaerobic digestion (AD), Granular sludge, Food waste (FW), Inoculum, Substrate-to-inoculum ratio (S/I), Biochemical Methane Potential (BMP), Metabolic activity

1. INTRODUCCIÓN

La gestión de residuos sólidos municipales (RSM) tiene un impacto ambiental, social y económico significativo. Una fracción importante de estos residuos está compuesta por materia orgánica, como los residuos de alimentos (RA) (Babu et al., 2021). Aunque estos materiales poseen un potencial de valorización, comúnmente terminan en vertederos, lo que genera problemas como la emisión de gases de efecto invernadero, malos olores y pérdida de recursos aprovechables (Fuentes et al., 2008).

Entre las alternativas tecnológicas para el tratamiento de residuos orgánicos, la digestión anaerobia (DA) destaca como una opción eficiente y sostenible que permite obtener biogás y digestato. La DA comprende etapas metabólicas secuenciales (hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis) realizadas por comunidades microbianas especializadas en ausencia de oxígeno (Appels et al., 2011). Su eficiencia depende del tipo de sustrato, el pH, la temperatura, la relación sustrato/inóculo (S/I) y, especialmente, de la calidad del inóculo empleado (Xu et al., 2018).

Los RA, por su alta biodegradabilidad y contenido nutricional, son adecuados como sustrato en la DA; Sin embargo, su naturaleza heterogénea y su alto contenido de carbohidratos, lípidos y proteínas pueden generar un desequilibrio metabólico (He et al., 2024). Esto favorece la acumulación de ácidos grasos volátiles (AGVs), como acético, propiónico y butírico, provocando la disminución del pH y la inhibición de las arqueas metanogénicas (Zhang et al., 2014). La acumulación de AGVs es una de las causas de inestabilidad en los digestores y su control es esencial para asegurar una producción estable de biogás (Chen et al., 2008).

En este contexto, el uso de lodos granulares como inóculo ha ganado interés por su alta concentración de biomasa activa, estructura compacta y capacidad para manejar altas cargas orgánicas. Estos lodos contienen comunidades microbianas, incluidas arqueas metanogénicas acetoclásticas e hidrogenotróficas (Hulshoff Pol et al., 2004), lo que mejora la estabilidad del sistema. No obstante, su adaptación a sustratos complejos como los RA puede verse limitada por la presencia de compuestos fácilmente acidificables que generan acumulación de AGVs y estrés microbiano (Li et al., 2021).

Los lodos granulares de la industria papelera pueden ser útiles como inóculo en la DA de RA debido a que provienen de aguas residuales con alta carga de compuestos de lenta degradación, como la celulosa y lignina. Esto favorece el desarrollo de microorganismos capaces de degradar sustratos complejos (Jurado et al., 2009), lo que les brinda una posible ventaja adaptativa frente a la fracción lignocelulósica presente en los RA.

Esta investigación evaluó el potencial del lodo granular de una industria papelera como inóculo en la DA de RA, analizando el efecto de la relación S/I en la producción de biogás y se enmarcó en el proyecto de investigación 21260 *“Influencia de la procedencia del inóculo sobre la producción de metano de la digestión anaerobia de residuos de alimentos”*, ejecutado por el grupo de investigación Estudio y Control de la Contaminación Ambiental - ECCA, y financiado por la Vicerrectoría de Investigaciones de la Universidad del Valle.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La producción y manejo de los residuos sólidos municipales (RSM) representa uno de los principales desafíos ambientales a nivel global. Estos residuos, son generados por actividades domésticas, comerciales, servicios y algunos residuos industriales no relacionados directamente con procesos productivos (Wilson et al., 2006).

Los RSM están compuestos por una combinación heterogénea de materiales, que incluyen fracciones orgánicas como restos de alimentos crudos y cocidos, papel, cartón y residuos de jardinería, así como fracciones inorgánicas como plásticos, vidrios y metales (SEMARNAT, 2020). Según el Global Waste Management 2024 del Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA), la generación global de RSM alcanzó los 2300 millones de toneladas en 2023 y se estima que podría llegar a 3800 millones de toneladas para 2050, lo que representa un incremento del 65%. Este crecimiento conlleva riesgos para la salud pública, el ambiente y la sostenibilidad económica de las ciudades (UNEP, 2024).

En el contexto colombiano, se generan aproximadamente 32332 toneladas diarias de RSM, de las cuales alrededor del 85% son gestionadas en infraestructuras con licencia ambiental, abarcando 1028 municipios. Sin embargo, aún existen 78 municipios que utilizan botaderos a cielo abierto, sin tratamiento adecuado, lo que pone en evidencia las desigualdades en la gestión de residuos (ANDESCO, 2024).

La fracción orgánica de los RSM, representa una proporción significativa de los residuos urbanos a nivel mundial; estudios recientes indican que esta fracción puede constituir entre el 44% y el 60% del total de los RSM, dependiendo del contexto geográfico y socioeconómico (Moreno et al., 2024). Dentro de esta fracción, los RA representan una de las principales fuentes de generación; este tipo de residuos, compuesto por alimentos crudos y cocidos no consumidos, constituye un problema creciente a nivel global y local. A nivel mundial, se pierde el 14% de alimentos producidos entre la cosecha y la comercialización (FAO, 2019), y un 17% adicional se desperdicia entre la distribución y el consumidor (PNUMA, 2021).

A nivel mundial, aproximadamente el 14 % de los alimentos producidos se pierde entre la cosecha y la etapa previa a la comercialización (FAO, 2019), lo que se define como *pérdida de alimentos*. Por su parte, un 17 % adicional se desperdicia en las etapas de distribución minorista y consumo final, fenómeno denominado *desperdicio de alimentos* (PNUMA, 2021).

Según el Informe del Índice de Desperdicio de Alimentos 2024 del PNUMA, en 2022 se generaron 1050 millones de toneladas de desperdicios de alimentos crudos y cocidos a nivel mundial, equivalentes a 132 kg por persona y representa cerca de una quinta parte de los alimentos disponibles para consumo humano. La mayor proporción provino de los hogares (631 Mt; 60%), seguida de restaurantes y comedores (290 Mt; 28%) y tiendas minoristas (131 Mt; 12%). En conjunto, este desperdicio representa aproximadamente un tercio de la producción mundial de alimentos, dado que entre el 30% y el 32% se pierde o se desecha en alguna etapa del sistema alimentario (PNUMA, 2024).

Este desperdicio provoca una serie de consecuencias, como la inseguridad alimentaria (FAO, 2019), la generación entre el 8 % y el 10 % de emisiones globales de gases de efecto

invernadero que contribuyen al cambio climático y eventos meteorológicos extremos (FAO, 2022), así como a la contaminación ambiental por degradación de ecosistemas y pérdida de biodiversidad.

En el contexto colombiano, se estima que anualmente se pierden y se desperdician 9,76 millones de toneladas de alimentos, equivalente al 34% de la oferta nacional, con un impacto social que podría cubrir las necesidades de cerca de 8 millones de personas en situación de inseguridad alimentaria (FAO 2019; MinAmbiente, 2021; ÁBACO, 2022). Además, este desperdicio contribuye a la generación de aproximadamente 5 millones de toneladas de CO₂-eq por año, asociadas a la disposición final en rellenos sanitarios (Garrido-Gomez et al., 2020). Estos efectos ponen en evidencia la necesidad de intervenir en el desperdicio de alimentos.

A nivel global, la gestión inadecuada de los Residuos de Alimentos (RA) representa un desafío ambiental significativo, ya que su disposición en vertederos tanto controlados como no controlados contribuye a la emisión de gases de efecto invernadero y a la contaminación de suelos y aguas. Si bien la DA ha sido identificada como una alternativa viable para el aprovechamiento de estos residuos, al permitir su transformación en biogás y digestato, su implementación efectiva enfrenta diversas limitaciones técnicas y operativas (Lorenzo y Obaya, 2005; Kavitha et al., 2023).

A pesar de que la DA puede alcanzar una conversión energética superior al 70% en forma de metano (CH₄), su rendimiento se ve condicionado por múltiples factores que dificultan su aplicación a escala real (Holliger et al., 2016; De Vrieze et al., 2015; Mainardis et al., 2020). Entre los principales obstáculos se encuentran los periodos prolongados de arranque, atribuibles al lento desarrollo de los microorganismos metanogénicos y la necesidad de un control riguroso de parámetros como el pH, temperatura, carga orgánica y AGVs (Hagos et al., 2017; Wang et al., 2023; Zieliński, 2023).

Uno de los aspectos más críticos en la eficiencia del proceso es la adecuada selección de la relación Sustrato/Inóculo (S/I), ya que un desbalance en esta proporción provoca inestabilidad del sistema, inhibición de la actividad metanogénica y una disminución en la producción de biogás (Kdadka et al., 2022). Estudios experimentales demuestran que relaciones S/I bajas, en el rango de 0,2 a 0,5 gSV/gSV, favorecen la estabilidad del proceso y minimizan el riesgo de acumulación de AGVs, mientras que valores cercanos a 1,0 gSV/gSV tienden a maximizar la producción de metano, aunque con mayor riesgo de sobrecarga orgánica (Raposo et al., 2011; Li et al., 2018; Demichelis, 2022). En algunos casos se han reportado que relaciones superiores a 1,5 gSV/gSV generan inhibición parcial de la metanogénesis debido al descenso del pH y la acumulación de intermediarios ácidos (Neves et al., 2004; Li et al., 2008).

En este contexto, es necesario profundizar en los efectos de la relación S/I sobre el desempeño de la DA de RA para establecer condiciones que garanticen la eficiencia energética y viabilidad ambiental. Dado que la relación S/I depende tanto de la carga orgánica como de la calidad del inóculo, los lodos granulares anaerobios surgen como una alternativa prometedora, pues contienen consorcios microbianos con arqueas metanogénicas acetoclásticas (Hulshoff Pol et al., 2004). Su estructura densa y compacta favorece la retención de biomasa, mejora el contacto

sustrato-microorganismos y permite soportar mayores cargas orgánicas (Yu Liu, 2003). Además, su alta concentración de arqueas metanogénicas (hasta 10^9 células/mL) supera a las de lodos floculentos, donde predominan bacterias metanogénicas hidrogenotróficas (Torres et al., 2007).

En los sistemas industriales de tratamiento anaerobio, particularmente en reactores UASB de la industria papelera, la generación de lodo granular es un subproducto al proceso biológico (Seghezzo et al., 1998). Su acumulación exige purgas periódicas, y una gestión adecuada. En la industria de pulpa y papel, el manejo del lodo residual representa un desafío técnico, ambiental y económico debido a los costos asociados a su estabilización, transporte y disposición final (Pokhrel & Viraraghavan, 2004; Ashrafi et al., 2015). Tradicionalmente, estos lodos se deshidratan y disponen en rellenos sanitarios o, en algunos casos, su uso como inóculo en otros sistemas anaerobios se presenta como una alternativa más sostenible, en concordancia con los principios de economía circular, al transformar un residuo industrial en un recurso con potencial energético (Appels et al., 2008; Kelessidis & Stasinakis, 2012).

No obstante, a pesar de las ventajas, del lodo granular, éste enfrenta dificultades cuando se utiliza con sustratos complejos como los RA, debido a su alta heterogeneidad, composición variable y contenido elevado de grasas y azúcares simples. Estas características pueden provocar la acumulación de productos intermedios, como los AGVs, los cuales inhiben la actividad metanogénica si no se controlan adecuadamente las condiciones operativas (Samaniego, 2013). A ello se suma que, bajo condiciones experimentales donde el inóculo se incorpora con una fracción líquida significativa, pueden verse alteradas la viscosidad aparente del sistema y las condiciones hidráulicas de mezcla, dadas las características no newtonianas del lodo granular, lo cual afecta las interacciones entre gránulos, compromete la estabilidad del proceso anaerobio y puede limitar la transferencia de masa hacia el interior del gránulo (Pevero et al., 2006; Wang et al., 2016).

Considerando que la DA representa una alternativa viable para el aprovechamiento energético de los RA, es fundamental optimizar las condiciones del proceso para garantizar su eficiencia. Entre estos factores, la relación S/I y el tipo de inóculo empleado son determinantes en la estabilidad y productividad del sistema, por lo tanto, son variables que fueron objeto de estudio en esta investigación.

3. JUSTIFICACIÓN

La creciente generación de RA representa uno de los principales desafíos ambientales y sociales a nivel global. Estos residuos, altamente biodegradables y con un elevado contenido de materia orgánica, representa entre el 40 y 60% de la fracción de RSM en países latinoamericanos (Lorenzo y Obaya, 2005; Grau et al., 2015; Hoornweg & Bhada-Tata, 2012). La DA se presenta como una alternativa tecnológica integral para el tratamiento de RA, permitiendo reducir significativamente la cantidad de residuos que terminan en vertederos y, por ende, mitigando impactos ambientales como la emisión de gases de efecto invernadero, la contaminación del suelo y de cuerpos hídricos (Singh et al., 2022).

En Colombia, el problema adquiere una magnitud relevante ya que se estima que 9.76 millones de toneladas de alimentos se pierden o desperdician anualmente, lo cual equivale al 34% de la producción nacional (FAO, 2012; MinAmbiente, 2021). Ante este panorama, la DA se presenta como una alternativa tecnológica integral. Este proceso permite no solo reducir la cantidad de RA destinados a disposición final, sino también transformarlos en productos de valor agregado como biogás y digestato. El biogás compuesto principalmente por metano (CH_4) y dióxido de carbono (CO_2), puede emplearse para generación de calor, electricidad o biometano, reduciendo la dependencia de combustibles fósiles y contribuyendo directamente al ODS 7 (energía asequible y no contaminante). A su vez, la captura y aprovechamiento energético del metano evita su liberación a la atmósfera, lo cual constituye una medida costo-efectiva para la mitigación del cambio climático en línea con el ODS 13 (acción por el clima) (IEA, 2018).

Desde una perspectiva social, la valorización de RA mediante DA fortalece estrategias de economía circular y gestión integral de residuos, en concordancia con la Estrategia Nacional de Economía Circular (ENEC) de Colombia, favoreciendo comunidades más sostenibles (ODS 11) y apoyando la meta del ODS 12.3, que busca reducir a la mitad el desperdicio de alimentos hacia el 2030 (FAO, 2024). El biogás derivado de los RA tiene un impacto directo en la calidad de vida de comunidades rurales y periurbanas. En Colombia, cerca del 25% de los hogares rurales aún dependen de combustibles sólidos como leña o carbón para cocinar (DANE, 2018). La sustitución parcial de estos combustibles por biogás no solo disminuye la presión sobre los bosques y la deforestación asociada, sino que también contribuye a la mejora de las condiciones sanitarias y reduce la exposición a contaminantes atmosféricos (De La Torre, 2008).

En el plano económico, el digestato resultante de la DA constituye una alternativa como biofertilizante, disminuyendo la dependencia de fertilizantes químicos importados, cuyos costos se han incrementado significativamente en los últimos años en Colombia (FAO, 2022). Además, los proyectos de DA pueden generar ingresos adicionales mediante la venta de energía, el aprovechamiento agrícola del digestato y la participación en esquemas de mercado de carbono. En este sentido Colombia cuenta con un marco regulatorio activo, en el que el Impuesto Nacional al Carbono (Ley 1819 de 2016) y los mecanismos de compensación de emisiones de GEI definidos por el Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible (MinAmbiente, 2020), permiten que proyectos de energías renovables, como la DA, se integren a esquemas de mitigación de emisiones y accedan a créditos de carbono (Velásquez Piñas, 2023).

En este contexto, analizar la relación S/I en la DA es importante ya que asegura la estabilidad del sistema y maximiza la producción de biogás. Así, el análisis de la influencia de esta relación en la DA de RA, empleando lodo granular de la industria papelera, adquiere relevancia técnica y estratégica, al aportar criterios para una adecuada estabilidad del proceso y la generación de biogás, consolidando la DA como una alternativa económicamente viable y alineada con las políticas nacionales de mitigación de emisiones y valorización de residuos.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo General:

Evaluar a escala de laboratorio un lodo granular como inóculo proveniente de un reactor anaerobio de la industria papelera para la digestión anaerobia de residuos de alimentos.

4.2. Objetivos específicos

- Caracterizar las actividades metabólicas (hidrolítica, acidogénica y metanogénica) del inóculo granular procedente de una industria papelera.
- Analizar las relaciones Sustrato/Inóculo de 0,2, 0,5 y 1,0 $\text{gSV}_{\text{sustrato}}/\text{gSV}_{\text{inoculo}}$ en términos de la producción de biogás en la digestión anaerobia de residuos de alimentos.

5. MARCO TEÓRICO

5.1. Residuos sólidos municipales (RSM)

Los residuos sólidos (RS) son materiales desechados por personas y empresas porque ya no tienen utilidad. Estos incluyen residuos provenientes de hogares, comercios, instituciones e industrias, generados a partir de diversas actividades humanas. El manejo inadecuado de estos residuos puede tener efectos negativos significativos sobre la salud pública y el ambiente, por lo que una gestión adecuada es crucial (Saéz, 2014). En el contexto colombiano, la gestión de los residuos sólidos se encuentra regulada por el Decreto 1077 de 2015, el cual establece el marco normativo del servicio público de aseo y la gestión integral de residuos sólidos, definiendo los componentes del sistema, las responsabilidades de los actores involucrados y la jerarquía de manejo que prioriza la prevención, reducción, reutilización, aprovechamiento, tratamiento y disposición final. Los RS se pueden clasificar según sus características y origen en (Galvis, 2016).

- **Residuos sólidos orgánicos:** son materiales biodegradables como los restos de alimentos, podas y desechos agrícolas.
- **Residuos sólidos inorgánicos:** son aquellos no biodegradables como plásticos, metales y vidrio.
- **Peligrosos y no peligrosos:** son desechos que pueden o no representar un riesgo para la salud y el ambiente.
- **Urbanos y rurales:** diferenciados por su origen geográfico y las actividades humanas que los generan.
- **Putrescibles y no putrescibles:** diferenciados según su facilidad para descomponerse.

Dentro de los RS, se encuentran los residuos sólidos municipales (RSM), que constituyen una fracción significativa de los RS y tienen características particulares según su origen y composición; sin embargo, la definición puede variar dependiendo del país (Periathamby, 2011).

En Colombia, la definición de los RSM está establecida en la normatividad que regula la prestación del servicio público de aseo. De acuerdo con el Decreto 2981 de 2013, compilado posteriormente en el Decreto 1077 de 2015, se entienden como “cualquier objeto, material, sustancia o elemento, principalmente sólido, que resulta del consumo o uso de un bien en actividades domésticas, comerciales, industriales, institucionales o de servicios, y que el generador presenta para su recolección por parte de la entidad prestadora del servicio público de aseo” (Ministerio de Vivienda, Ciudad y Territorio, 2013; 2015).

En los países desarrollados, la producción de residuos sólidos municipales (RSM) es mayor en comparación con los países en desarrollo. Sin embargo, en estos últimos años, se ha evidenciado un porcentaje entre el 53% y el 57% de los RSM (Kaza et al., 2018). Estos se encuentran conformados por materiales biodegradables orgánicos (MBO), es decir, residuos que se descomponen con gran rapidez y facilidad (Bustos Flores, 2009). Según Marmolejo et al., (2009), la composición principal de los RSM en Colombia se basa principalmente en:

- Residuos de alimentos y desechos de jardín.
- Papel, cartón y madera.
- Vidrio y plásticos.
- Hojarasca y cáscaras de frutas y verduras

Los RA representan una fracción significativa de los RSM y su generación ocurre a lo largo de la cadena de suministro de alimentos, caracterizándose por su alto contenido orgánico y rápida descomposición (Singh et al., 2022). La Tabla 1 describe los aspectos asociados a los RA en términos de generación, composición y potencial de aprovechamiento en la DA.

Tabla 1. Aspectos relacionados con los RA y su potencial de aprovechamiento mediante DA

Aspecto	Descripción
Generación de residuos de alimentos	Se generan por disminución en cantidad o calidad de alimentos durante la cadena de suministro, que comprende desde la producción hasta la llegada al consumidor final.
Composición	La materia orgánica es el principal componente de los residuos sólidos municipales en países en desarrollo. Los RA están compuestos principalmente por carbohidratos, proteínas, lípidos y fibra vegetal (celulosa, hemicelulosa y lignina). Estos pueden variar según su origen, pero generalmente contienen entre 40-50% de carbohidratos, 15-25% de proteínas y 10-15% de lípidos, junto con minerales y agua.
Potencial para la digestión anaerobia	- Elevado índice de nutrientes - Rápida biodegradabilidad - Disponibilidad en grandes volúmenes.

Fuente: Adaptado de FAO, (2012), Marmolejo et al., (2010) y Guerrero, et al., (2016).

5.2. Digestión anaerobia

La DA es un proceso biológico en el que la materia orgánica se descompone en ausencia de oxígeno, produciendo dos subproductos principales: el biogás compuesto por 50-70% metano (CH_4), el resto principalmente dióxido de carbono (CO_2), con trazas de hidrógeno (H_2), y sulfuro de hidrógeno (H_2S) dependiendo del sustrato, la carga orgánica, la temperatura y la estabilidad del proceso, y el digestato una mezcla rica de productos minerales (N, P, K, Ca) y otros compuestos que son complejos de degradar que pueden utilizarse como fertilizante (Camara Moguel et al., 2014; Ćurčić et al., 2025; IEA Bioenergy, 2018; Meegoda et al., 2025).

En la DA, las bases microbiológicas se fundamentan en cuatro etapas: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis (Figura 1), cada etapa influye en la transformación eficiente de la materia orgánica en biogás. Para maximizar la productividad del proceso, es esencial analizar las actividades específicas, ya que estas son indicadores claves que permiten estabilidad e identifican posibles limitaciones en la degradación (Torres et al., 2007).

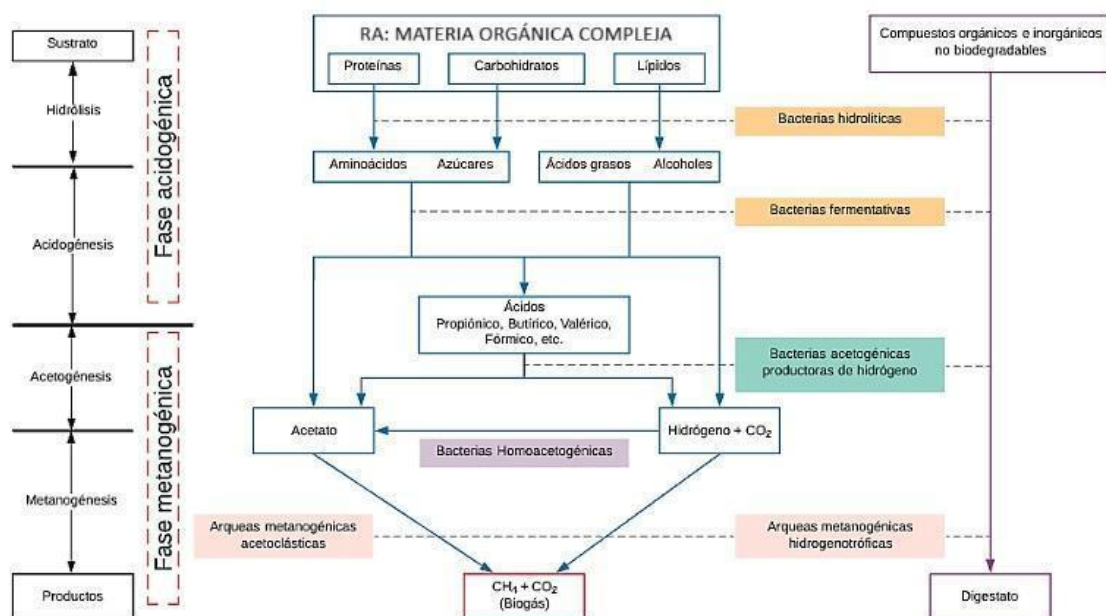
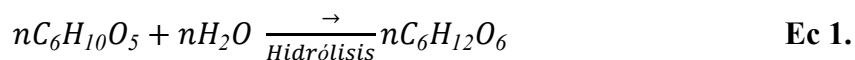


Figura 1. Etapas del proceso de digestión anaerobia
Adaptado de: Diaz & García (2021).

En la hidrólisis, las enzimas desempeñan un papel crucial al descomponer moléculas orgánicas complejas e insolubles, como lípidos, polisacáridos, grasas, proteínas y ácidos nucleicos. Este proceso es llevado a cabo por microorganismos hidrolíticos, que transforman estas moléculas en compuestos más simples y solubles en agua, como azúcares, aminoácidos y ácidos grasos. Entre los microorganismos responsables de esta etapa se destacan los anaerobios estrictos, como *bacteroides* y *Clostridium*, junto con bacterias facultativas como los estreptococos, que también contribuyen a la descomposición (Parra, 2015).

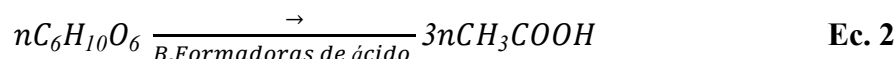
En la ecuación 1 se especifica la reacción de la etapa de la hidrólisis, donde las enzimas son excretadas por los microorganismos antes mencionados con el propósito de modificar los materiales orgánicos insolubles para que estos puedan ser utilizados como una fuente de energía (Adekunle & Okolie 2015).



La acidogénesis, también conocida como fermentación, es un proceso microbiano anaerobio en el que los productos de la hidrólisis son transformados dentro de las células en ácidos, sin requerir un donador o aceptor de electrones externo. Durante esta etapa, se descomponen aminoácidos y azúcares simples (monosacáridos) en compuestos más sencillos, como AGVs (valérico, acético, propiónico y butírico) e hidrógeno (H₂) (Batstone et al., 2002). En este proceso, el grupo microbiano *Cytophaga-Flavobacterium-Bacteroides* es el segundo más numeroso responsable de llevar a cabo el proceso de descomposición (Foresti et al., 2006).

La cinética de este mecanismo es relativamente rápida y ocurre en condiciones de pH bajo, lo que lo convierte en la principal fuente de energía para las poblaciones microbianas no

metanogénicas, (Lübken et al., 2007). En la ecuación 2, se muestra la reacción de la acidogénesis:



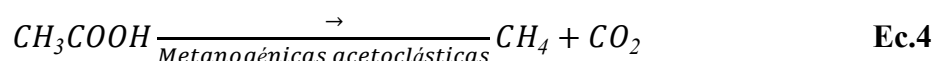
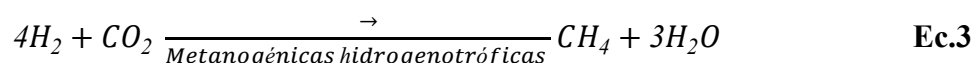
En la fase de acetogénesis, el acetato se forma tanto por la fermentación de compuestos monoméricos como por la transformación de AGVs en acetato, hidrógeno (H₂) y dióxido de carbono (CO₂), proceso llevado a cabo por bacterias acetogénicas. La conversión posterior de acetato a metano resulta termodinámicamente favorable cuando la presión de hidrógeno se mantiene baja, por lo que su eliminación en esta etapa es fundamental. Debido a que la acetogénesis presenta limitaciones energéticas, se requiere la participación de otros microorganismos, como las arqueas metanogénicas que consumen hidrógeno, para que el proceso se desarrolle de manera eficiente (Blanco, 2011).

En la metanogénesis los microorganismos metanogénicos son fundamentales, ya que no solo producen metano, sino que también eliminan los productos generados en etapas previas. Estos microorganismos, pertenecientes al dominio Archaea, utilizan sustratos simples con uno o dos átomos de carbono, como el acetato, el H₂, el CO₂, el metano y ciertas metilaminas, también cuentan con enzimas especializadas para realizar estas transformaciones (Camara Moguel et al., 2014).

El metano se genera a través de dos rutas principales, llevadas a cabo por diferentes tipos de arqueas metanogénicas:

1. **Ruta hidrogenotrófica:** utiliza CO₂ y H₂ como fuentes de carbono e hidrógeno, actuando como agente reductor, está dominada por arqueas metanogénicas hidrogenotróficas aportando el 30% del metano producido (Izumi et al., 2010).
2. **Ruta acetoclástica:** convierte el ácido acético y CO₂ en metano. Se lleva a cabo por arqueas metanogénicas acetoclásticas generando cerca del 70% del metano (FAO, 2011).

Las reacciones específicas de estas vías se presentan en las ecuaciones 3 y 4.



5.2.1. Factores que influyen en la digestión anaerobia

La DA está influenciada por varios factores que afectan la eficiencia y estabilidad de la producción de biogás y la calidad del digestato. Los principales factores que influyen son: pH, alcalinidad, AGVs, temperatura, relación S/I, composición y características del sustrato. Sin

embargo, cada uno de estos parámetros depende en gran parte del tipo de sustrato e inóculo que se va a emplear para el desarrollo de la DA (Tg et al., 2022).

5.2.1.1. pH, alcalinidad y Ácidos Grasos Volátiles (AGVs)

El pH y la alcalinidad son factores fundamentales en la DA, ya que influyen directamente en la actividad de los distintos grupos microbianos, especialmente los metanogénicos. Estos microorganismos son altamente sensibles a las variaciones de pH, por lo que se recomienda mantenerlo en un rango cercano a la neutralidad (6,5 - 7,6 unidades), con valores óptimos entre 6,8 y 7,2 para asegurar una producción estable y eficiente de biogás (Angelidaki et al., 2009; Holliger et al., 2016). Diversos estudios indican que un pH inicial cercano a 7,0 favorece la solubilización de materia orgánica y la formación de AGVs, alcanzando hasta un 86 % de solubilización comparado con valores extremos de pH (Zhang et al., 2005; Gállego-Bravo et al., 2023; Oliveira et al., 2025).

Durante las etapas de hidrólisis y acidogénesis, el pH suele disminuir debido a la formación de AGVs, siendo favorable un rango entre 5,5 y 6,5 para estas fases. En contraste, un pH básico puede favorecer la acumulación de amoníaco, el cual resulta tóxico para algunos microorganismos anaerobios (Ward et al., 2008; Demirel y Yenigün, 2002). Por ello, mantener un pH estable es esencial para conservar el equilibrio microbiano y la eficiencia del proceso (Angelidaki et al., 2009).

La alcalinidad, por su parte, actúa como un sistema tampón que neutraliza los AGVs generados, evitando descensos de pH. Una alcalinidad insuficiente puede comprometer la actividad microbiana, mientras que valores excesivos (superiores a 6500 mg/L) o pH mayores a 7,4 pueden generar toxicidad por acumulación de sales o amoníaco (Parra, 2015). La capacidad amortiguadora del sistema se evalúa mediante la alcalinidad total (AT) y la alcalinidad intermedia (AI), determinadas por titulaciones ácido-base (Ripley et al., 1986).

El cociente Alcalinidad intermedia/Alcalinidad total (AI/AT) corresponde al índice buffer (IB) o de estabilidad, permite anticipar desequilibrios de forma rápida (Sun et al., 2016): valores inferiores a 0,3 indican estabilidad, mientras que valores mayores reflejan acumulación de AGVs y riesgo de inhibición de la metanogénesis (Gerardi, 2003). De igual manera, el cociente AGVs/AT se considera un indicador sensible para detectar alteraciones tempranas en el equilibrio del sistema (Li et al., 2014).

Los AGVs se generan principalmente durante las etapas de acidogénesis y acetogénesis, a partir de la descomposición de compuestos orgánicos como carbohidratos, proteínas y lípidos por bacterias acidogénicas. Los principales compuestos son los ácidos acético, propiónico, butírico y valérico (Chen et al., 2008). En condiciones normales, los AGVs se consumen en la metanogénesis para producir biogás, sin embargo, si hay una acumulación de AGVs por inhibición microbiana o por desajustes en parámetros como pH o temperatura, puede inhibir las etapas finales de la DA, alterar el equilibrio del sistema y afectar la producción de biogás (Magdalena et al., 2021).

Por lo tanto, el control conjunto de pH, alcalinidad y AGVs constituye un aspecto crítico para garantizar la estabilidad y eficiencia del proceso de DA. Se recomienda un monitoreo constante de estos parámetros con el fin de asegurar un ambiente adecuado para los microorganismos metanogénicos y conseguir una producción constante y eficiente de biogás, previniendo la acumulación de AGVs en la DA de RA (Zhang et al., 2005; Ward et al., 2008; Gerardi, 2003).

5.2.1.2. Temperatura

La temperatura es uno de los factores más determinantes en la DA, ya que regula la actividad metabólica de los microorganismos responsables de la descomposición de la materia orgánica. El aumento de la temperatura, dentro de ciertos límites, acelera las reacciones bioquímicas, favorece la hidrólisis de compuestos complejos y puede reducir los tiempos de retención hidráulico (TRH). Sin embargo, cada rango térmico favorece el desarrollo de comunidades microbianas específicas, con implicaciones directas sobre la velocidad de degradación, la producción de biogás y la estabilidad del proceso (Appels et al., 2011).

En la DA se distinguen principalmente tres rangos de operación:

- **Psicrófilo (10-20 °C):** caracterizado por la predominancia de microorganismos adaptados a bajas temperaturas. Aunque el consumo energético para mantener la temperatura es mínimo, la velocidad de degradación es más lenta, lo que prolonga los TRH y disminuye la producción específica de metano (Akindolire et al., 2022). Este rango se utiliza en regiones frías o en sistemas donde no es viable el calentamiento artificial, pero requiere volúmenes de reactor mayores y presenta mayor sensibilidad a cambios de carga.
- **Mesófilo (25-40 °C / óptimo 37 °C):** es el rango más utilizado a nivel industrial y de laboratorio, ya que equilibra velocidad de degradación, estabilidad del proceso y demanda energética. En estas condiciones, la comunidad microbiana es diversa y robusta, lo que facilita la conversión de compuestos orgánicos en CH₄ y CO₂ con alta eficiencia. La operación a 37 °C, permite mantener un equilibrio entre las etapas acidogénica y metanogénicas, reduciendo riesgos de acumulación de AGVs y favoreciendo una producción de biogás estable (Demirel et al., 2008).
- **Termófilo (45-57 °C):** promueve tasas de reacción más rápidas y mejor destrucción de patógenos, además de una mayor solubilización de compuestos orgánicos recalcitrantes. No obstante, requiere un mayor aporte energético para el calentamiento, y presenta menor diversidad microbiana, lo que puede reducir la resiliencia del sistema frente a perturbaciones. En sustratos con alto contenido de nitrógeno, el rango termofílico puede favorecer la liberación de amonio y amoniaco libre (NH₃), compuestos que, a concentraciones elevadas, inhiben la actividad de los microorganismos metanogénicos y elevan el pH por encima de valores óptimos (Yepez, 2017; Chen et al., 2008).

5.2.1.3. Relación sustrato/inóculo

La relación S/I es un parámetro esencial en el proceso de la DA, ya que influye directamente en la estabilidad del sistema y en el potencial de producción de metano. Este parámetro definido en función de los sólidos volátiles (SV), busca garantizar una población adecuada de microorganismos que permita alcanzar condiciones óptimas de degradación y eficiencia del proceso (Mirmohamadsadeghi et al., 2019). Autores como Raposo et al., (2006), recomiendan utilizar inóculos anaerobios activos, capaces de descomponer compuestos refractarios, como la celulosa y la lignina, comunes en los residuos de alimentos.

Se expresa comúnmente como $\text{gSV}_{\text{sustrato}} \cdot \text{gSV}_{\text{inóculo}}^{-1}$, o en algunos casos, como $\text{gDQO}_{\text{sustrato}} \cdot \text{gSV}_{\text{inóculo}}^{-1}$. Su adecuado establecimiento permite evitar tanto sobrecargas orgánicas, que pueden causar acidificación y acumulación de AGVs, como condiciones de subutilización del sustrato. En general, los valores óptimos dependen de las características específicas del sustrato y del inóculo; sin embargo, se recomienda mantener la relación entre 0,5 y 1,0 $\text{gSV}_{\text{sustrato}} \cdot \text{gSV}_{\text{inóculo}}^{-1}$ para equilibrar la producción y el consumo de AGVs, favoreciendo una metanogénesis estable (Parra-Orobio, 2015)

Relaciones bajas ($S/I < 0,2 \text{ gSV}_{\text{sustrato}} \cdot \text{gSV}_{\text{inóculo}}^{-1}$) pueden limitar la producción de metano por falta de sustrato disponible, mientras que relaciones altas ($S/I > 2,0 \text{ gSV}_{\text{sustrato}} \cdot \text{gSV}_{\text{inóculo}}^{-1}$) tienden a generar acumulación de AGVs, sólidos totales (ST) y disminución del pH (Raposo et al., 2011). En estudios bajo condiciones mesofílicas, se ha reportado que relaciones S/I entre 0,25 - 0,5 $\text{gDQO}_{\text{sustrato}}/\text{gSV}_{\text{inóculo}}$, proporcionan buenas tasas de producción de metano, mientras que valores mayores a 1,5 - 2,0 $\text{gDQO}_{\text{sustrato}} \cdot \text{gSV}_{\text{inóculo}}^{-1}$, inducen inestabilidad asociadas a acidificación (Neves et al., 2004; Browne & Murphy, 2013).

Igualmente, algunos autores han observado un desempeño satisfactorio incluso con relaciones menores a 0,5 $\text{gDQO}_{\text{sustrato}} \cdot \text{gSV}_{\text{inóculo}}^{-1}$. Zhou et al., (2011) reportaron resultados óptimos con $S/I = 0,1 \text{ gDQO}_{\text{sustrato}} \cdot \text{gSV}_{\text{inóculo}}^{-1}$, debido a que permitió alcanzar un rendimiento específico de metano de aproximadamente $350\text{-}380 \text{ mL CH}_4 \cdot \text{gSV}^{-1}$, mientras que Yoon et al., (2014) evidenciaron que, en residuos porcinos, una relación S/I de 0,1 produjo rendimiento de metano de aproximadamente $320\text{-}340 \text{ mL CH}_4 \cdot \text{gSV}^{-1}$, estadísticamente comparable ($p > 0,05$) a los obtenidos con valores más altos.

Cabe resaltar que en la literatura también se utiliza la relación Inóculo/Sustrato (I/S), equivalente al valor inverso de S/I. Ambas formas son válidas, siempre que indique claramente la conversión utilizada. Generalmente, valores de I/S en el rango de 2 a 4 $\text{gSV}_{\text{inóculo}} \cdot \text{gDQO}_{\text{sustrato}}^{-1}$, se asocian con condiciones estables de metanogénesis, mientras que valores inferiores a 1,0 (equivalentes a $S/I > 1,0$) suelen provocar sobrecargas y acumulación de intermediarios (Valentin et al., 2024). Por lo tanto, especificar la notación empleada es fundamental para garantizar la correcta comparación de resultados entre diferentes estudios (Mata-Alvarez et al., 2020).

5.2.1.4. Composición y características del sustrato

Los residuos empleados como sustratos en la DA varían desde líquidos ricos en materia orgánica hasta sólidos como RSM, estiércol y lodos de tratamiento de aguas residuales (Cárdenas-Cleves et al., 2016). Su composición elemental (carbohidratos, proteínas, lípidos, celulosa, hemicelulosa y lignina) influye en la producción de metano (CH_4), y la degradación del sustrato. Factores como el origen, almacenamiento y hábitos culturales afectan estas propiedades (Nayono et al., 2010). Algunas de las características principales del sustrato son el tamaño de las partículas, la concentración de materia orgánica, la toxicidad y los parámetros fisicoquímicos.

- **Tamaño de las partículas:** la reducción del tamaño de partícula incrementa el área superficial disponible para la acción enzimática, acelerando la hidrólisis. En este estudio, los RA fueron homogeneizados hasta alcanzar un tamaño aproximado de 10 mm, lo que permitió un balance entre una adecuada superficie de contacto y la reducción de costos de molienda. De acuerdo con Palmnoski y Müller, (2020), partículas más finas (<2-3 mm) mejoran la velocidad de hidrólisis y producción de metano, mientras que partículas mayores a 10 mm tienden a disminuir la eficiencia del proceso por la menor accesibilidad de los microorganismos al sustrato. Adicionalmente Vian et al., (2024) y Vigueras-Carmona et al., (2025) demostraron que la reducción del tamaño de partícula acelera la biodegradación y producción de biogás, aunque partículas excesivamente pequeñas (<500 μm) pueden generar acumulación de AGVs e inestabilidad.
- **Concentración de materia orgánica:** una carga orgánica adecuada es fundamental para el equilibrio entre acidogénicos y metanogénicos. Valores de 2 a 4 g DQO $\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ son considerados óptimos en sistemas mesófilos, mientras que sobrecargas por encima de 6 g DQO $\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ pueden provocar acumulación de ácidos grasos volátiles (AGVs) y caída de pH (Chen et al., 2008).
- **Toxicidad:** compuestos tóxicos como amoníaco, metales pesados y detergentes no biodegradables inhiben o eliminan arqueas metanogénicas, disminuyendo la producción de metano. Por ello, es esencial monitorear y ajustar la toxicidad (Granzotto, 2023).
- **Caracterización previa del sustrato:** evaluar las propiedades fisicoquímicas como pH, DQO, sólidos totales (ST), sólidos volátiles (SV) y composición elemental es esencial para anticipar posibles inhibiciones y ajustar la estrategia de operación, ya se mediante co-digestión, dilución o adición de nutrientes (Cardenas-Cleves et al., 2016; Angelidaki et al., 2009).

5.2.1.5. Inóculo

La elección del inóculo influye significativamente en la DA, pues, no solo la disponibilidad del sustrato determina el rendimiento de metano, sino también la composición microbiana del inóculo. Diferentes estudios han evidenciado que el tipo de inóculo afecta tanto el potencial como las tasas de producción de metano (De Vrieze et al., 2015; Koch et al., 2016).

En términos generales, un inóculo adecuado debe presentar un pH cercano a la neutralidad (7.0-8.5), y un contenido de biomasa activa suficiente para iniciar el proceso sin retardos significativos. Para ello, se suele evaluar la relación SV/ST, que permite estimar la fracción biodegradable del inóculo, y se emplea el ensayo de actividad metanogénica específica (AME) como indicador de la capacidad del consorcio microbiano para producir metano bajo condiciones controladas (Torres et al., 2010). Autores como Holliger et al., (2016), señalan que el inóculo no debería contribuir con más del 20% de la producción total del metano en las pruebas de PBM, de modo que la mayor parte del gas provenga efectivamente del sustrato en estudio.

Los inóculos empleados con mayor frecuencia provienen de diferentes fuentes como, lodos de plantas de tratamiento de aguas residuales urbanas e industriales, digestores de residuos agrícolas, estiércoles de origen bovino y porcino, o residuos de aves de corral (Koch et al., 2016; Mirmohamadsadeghi et al., 2019). Sin embargo, uno de los tipos de inóculos que ha recibido mayor atención en la literatura reciente es el lodo granular anaerobio, debido a sus propiedades únicas (Wang et al., 2020; Liu et al., 2021; Zhao et al., 2022).

El lodo granular se caracteriza por su alta concentración de biomasa en forma de gránulos compactos, formados por agregados microbianos organizados en una estructura densa y estable. Esta morfología le confiere una excelente sedimentabilidad, lo que facilita la separación sólido-líquido y permite mantener elevadas concentraciones de microorganismos activos en el reactor sin riesgo de lavado. Además, los gránulos presentan una estratificación microbiana, en la cual bacterias acetogénicas y arqueas metanogénicas coexisten en diferentes zonas del gránulo, favoreciendo la sinergia metabólica y mejorando la eficiencia del proceso (Liu et al., 2002; Hulshoff Pol et al., 2004).

Entre las ventajas del uso de lodos granulares frente a inóculos floculentos o dispersos se destacan: mayor velocidad de sedimentación y facilidad en la retención de biomasa, mayor resistencia a variaciones de carga orgánica y choques tóxicos, posibilidad de alcanzar elevadas tasas de producción de metano en tiempos más cortos (Posmanik et al., 2020). No obstante, también presentan algunas desventajas: se ha señalado que los lodos granulares son susceptibles a condiciones ambientales extremas, tales como pH muy bajo, acumulación de AGVs o concentraciones elevadas de amonio, que pueden desestabilizar la estructura granular y provocar fenómenos de lavado o disgregación (Seghezzo et al., 1998; Lim et al., 2014).

5.3. Actividades metabólicas del inóculo

Los inóculos se pueden caracterizar mediante el análisis de las actividades metabólicas que permiten evaluar la eficiencia del proceso de la DA, estas actividades permiten comprender el papel de los microorganismos en la descomposición de la materia orgánica (Cáceres et al., 2018). A continuación, se describen cada una de ellas:

5.3.1. Actividad Hidrolítica Específica

La actividad hidrolítica específica (AHE) es fundamental para evaluar el proceso de DA, ya que indica si se afecta la producción de biogás, generalmente, la AHE se mide usando celulosa como sustrato modelo para simular la degradación de fracciones lignocelulósicas (Burbano, 2019). Sin embargo, la literatura reporta el uso de otros sustratos representativos según el tipo de macromolécula: almidón (polisacáridos fácilmente biodegradables), caseína (proteínas), carboximetilcelulosa (celulosa soluble) e incluso aceites vegetales como fuente lipídica (Neves et al., 2004; Raposo et al., 2011).

La eficiencia de la AHE está influenciada por diversos factores. Entre ellos el tamaño de partícula del sustrato resulta determinante, ya que controla la superficie de exposición disponible para la acción enzimática. Así mismo, la temperatura juega un papel crucial: valores por debajo del rango óptimo (35-37 °C) reducen significativamente la actividad de las enzimas hidrolíticas, disminuyendo así la velocidad del proceso (Campaña et al., 2015).

La Ecuación 5, se utiliza para calcular la actividad metabólica que se determina a partir de la tasa máxima de transformación o producción de un metabolito, relacionándola con la cantidad de biomasa activa presente, expresada en SV. La ecuación en la AHE, determina la liberación/producción de azúcares reductores provenientes de la degradación de un sustrato complejo, como la celulosa y los resultados se expresan en unidades de gDQO/(gSV · día) (Regueiro, 2012).

$$AM = FC \cdot \frac{P}{SV \text{ inóculo}} \quad \text{Ec. 5}$$

Donde:

AM= Actividad metabólica (Acidogénica - Hidrolítica)

FC = Factor de conversión (1,067 g DQO/g azúcar)

P = Pendiente máxima de consumo/producción de azúcares reductores vs. Tiempo de reacción (g azúcar/(L día))

SV = Concentración de biomasa utilizada (g SV/L)

El factor de conversión (FC) de 1,067 g DQO/g azúcar se ha establecido en la literatura como referencia para expresar la concentración de azúcares reductores en términos de demanda química de oxígeno (DQO) cuando estos son cuantificados mediante el método ácido 3,5-dinitrosalicílico DNS (Jain et al., 2020). Este valor corresponde a la glucosa y se fundamenta en la estequiometría de su oxidación completa, en la cual 1 g de glucosa requiere aproximadamente 1,067 g de oxígeno, equivalencia que define directamente su aporte teórico a la DQO (Echiegu, 2014). Aunque este coeficiente está basado en la glucosa, diversos autores señalan que puede emplearse como una aproximación válida para otros azúcares reductores, como maltosa, xilosa o galactosa, lo cual resulta particularmente útil en investigaciones donde los carbohidratos se encuentran en forma de mezclas complejas o polisacáridos, como la celulosa (Jiang et al., 2013).

Dado que la DQO es una unidad estandarizada para expresar la cantidad de materia orgánica susceptible de ser oxidada químicamente, su uso permite homogeneizar los resultados y hacerlos comparables con otros estudios sobre actividad metabólica en procesos de DA (Harnadek Colin, 2015).

5.3.2. Actividad Acidogénica Específica

La actividad acidogénica específica (AAE) se estima empleando glucosa como sustrato, con el fin de evaluar el estado de las bacterias fermentativas y su capacidad para generar productos intermedios, entre ellos el hidrógeno molecular (H_2). Durante esta etapa, se produce una fracción significativa de (H_2), el cual constituye un sustrato fundamental que posteriormente es aprovechado por las arqueas metanogénicas para la producción de biogás (Burbano, 2020).

Se puede determinar mediante la ecuación 5, utilizando la información obtenida del consumo de azúcares reductores, como la glucosa, durante el proceso de acidogénesis. Esta actividad se estima a partir de la pendiente máxima de disminución en la concentración de azúcares a lo largo del tiempo, la cual refleja la velocidad a la que son transformados en AGVs y se expresa en $gDQO/(g\text{ SV} \cdot \text{día})$ (Regueiro, 2012).

5.3.3. Actividad Metanogénica Específica

La actividad metanogénica específica (AME) mide la capacidad del inóculo para la producción de metano a partir de un sustrato definido, bajo condiciones en las que este no constituye una variable limitante (Méndez Corredor & Chaparro, 2022). La AME constituye un indicador clave para evaluar la eficiencia y la estabilidad de los procesos metanogénicos en la DA, ya que refleja la capacidad de las arqueas metanogénicas para incorporarse y adaptarse al sustrato, transformando la DQO en CH_4 y CO_2 . Este parámetro se expresa como gramos de DQO convertidos en metano por gramos de SV por día ($gDQO/gSV \cdot \text{día}$) y resulta fundamental para diagnosticar el rendimiento y la eficacia global del proceso de DA (Torres et al., 2007).

El cálculo de este parámetro se puede realizar mediante las Ecuaciones 6 y 7, que permiten expresar la tasa máxima de producción de metano en función de la masa de biomasa activa, normalizada respecto al tiempo ($gDQO/g\text{ SV} \cdot \text{día}$) (Owen et al., 1979).

$$AME = \frac{m}{FC * M} \cdot 24 \quad \text{Ec 6.}$$

$$FC = \frac{350 \frac{ml\text{ }CH_4}{gDQO} * (273 + ^\circ C) * 1\text{ atm}}{P(atm) * 273} \cdot 24 \quad \text{Ec 7.}$$

Donde:

m: Pendiente máxima de producción de metano (Vol. acumulado CH_4 vs Tiempo de ensayo)

FC: Factor de conversión ($mL\text{ }CH_4/g\text{ DQO}$)

M: Masa de lodo

5.4. Ensayos de potencial bioquímico de metano - PBM

El Potencial Bioquímico de Metano (PBM) es utilizado para determinar la capacidad de los residuos orgánicos al descomponerse de manera anaerobia y generar metano. Esta prueba mide la cantidad de metano producida por cada gramo de SV introducidos en el reactor, expresándose en mililitros de metano por gramo de SV ($\text{mL CH}_4/\text{gSV}$) (Holliger et al., 2016). Aunque no hay un método universalmente estandarizado para determinar el PBM, existen ensayos que varían parámetros como la relación S/I, la temperatura, el pH, el tamaño de las partículas y la agitación, para optimizar la eficiencia en la producción de metano (Sánchez-Reyes et al., 2016; Angelidaki et al., 2009).

El PBM se puede determinar de forma tanto teórica como experimental. En el enfoque teórico, el cálculo se realiza a partir de la composición elemental (C, H, O, S, N), empleando la ecuación 9 de Buswell y Muller (1952), la cual asume que el sustrato se degrada completamente, sin considerar el consumo de materia orgánica que los microorganismos utilizan como fuente de energía para su metabolismo (Jingura & Kamusoko, 2017). La ecuación se expresa de la siguiente manera:

$$PBM_T = \frac{22400 \left(\frac{n}{2} + \frac{a}{8} - \frac{b}{4} - \frac{3c}{8} \right)}{12n + a + 16b + 14c} \quad \text{Ec 9.}$$

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

El modelo de Buswell & Mueller de 1952 se fundamenta en la composición elemental, el 22400 es un factor que se asigna al volumen molar (mL mol^{-1}), a temperatura ambiente (273,15 K) y la presión (1 atm) (Cárdenas-Cleves et al., 2016). Una alternativa al uso de la composición elemental es el cálculo a partir de la DQO del sustrato, donde se considera la relación estequiométrica aceptada de que 1 g DQO equivale a 0,35 L de CH_4 (Tauber et al., 2019). Otra manera de estimar el PBM teórico es mediante el valor de la DQO del sustrato, basándose en la reacción de oxidación anaerobia. Tradicionalmente se usa la relación estequiométrica donde: 1 g DQO produce 0,35 L de CH_4 (Tauber et al., 2019), equivale a 0,35 m^3 de CH_4 por kg de DQO a 35 °C. Esta equivalencia proviene del balance redox de la reacción de oxidación total de la materia orgánica (Filer et al., 2019).

Adicionalmente, recursos digitales como la Online Biogás App (OBA), basada en el paquete estadístico R, facilitan el procesamiento de datos experimentales, la estandarización de volúmenes de gas, la conversión de unidades, ajustar modelos y calcular rendimientos de metano de forma automatizada del PBM teórico a partir de la ecuación de Buswell o de la DQO del sustrato, siguiendo las recomendaciones de protocolos como VDI 4630 e IWA. Su implementación ha ganado relevancia en estudios académicos y de investigación en

Latinoamérica, al contribuir a la reproducibilidad y comparabilidad de resultados (Hafner et al., 2018).

El Potencial Bioquímico de Metano experimental (PBM exp) se determina mediante ensayos de laboratorio realizados bajo condiciones controladas, generalmente a temperaturas mesofílicas entre 35 °C y 37 °C, consideradas óptimas para el proceso de digestión anaerobia (DA) (Akindolire et al., 2022). Estos ensayos se desarrollan en reactores cerrados que contienen inóculo, sustrato y una solución de nutrientes, con el fin de simular a pequeña escala la producción real de metano.

El PBM se reporta bajo condiciones estándar de temperatura (273 K) y presión (1 atm) para permitir la comparación entre estudios (Cárdenas-Cleves et al., 2016). Aunque no existe un método único y completamente estandarizado para la medición del biogás en los ensayos de PBM, protocolos internacionales como la norma VDI 4630 (VDI 4630, 2006) y las guías del grupo especializado en Biotecnología Anaerobia de la International Water Association (Angelidaki et al., 2009; Holliger et al., 2016) han contribuido a la estandarización y aceptación de metodologías específicas.

Para medir el volumen de biogás generado se emplean principalmente dos métodos: volumétrico y manométrico.

- En el método volumétrico, el gas producido se mide por desplazamiento de líquido y, cuando se emplea una solución alcalina, el dióxido de carbono es capturado, de modo que el volumen registrado corresponde directamente al metano. Este procedimiento es uno de los más difundidos en estudios de PBM y ha sido recomendado en protocolos como la VDI 4630 (2006) y en manuales prácticos de medición de biogás (Cárdenas-Cleves et al., 2016; Angelidaki et al., 2009).
- En el método manométrico, en cambio, lo que se mide es la presión total ejercida por el biogás dentro del reactor. Para calcular el volumen de metano es necesario conocer la composición del gas, lo cual puede obtenerse mediante análisis cromatográfico o, en su defecto, asumiendo un porcentaje de referencia reportado en la literatura. En este estudio se consideró un valor de 70 % de CH₄, típico en biogás generado a partir de residuos de alimentos en condiciones mesofílicas (IEA Bioenergy, 2018; Jiménez-Ocampo et al., 2021; Donatelli et al., 2024). Las ecuaciones de conversión de presión a volumen y de corrección a condiciones normales (273 K, 1 atm) utilizadas en este trabajo con el fin de llegar al PBM en términos de ml CH₄/gSVT se resumen en la Tabla 2.

En cuanto a la duración de los ensayos de PBM, esta depende de la biodegradabilidad del sustrato, ya que materiales fácilmente degradables generan metano más rápidamente, mientras que los compuestos lignocelulósicos o con estructuras complejas requieren tiempos más prolongados. Aun así, en la literatura se ha reportado que la fase de estabilización de la producción de metano suele comenzar hacia los 30 días, y que entre los 30 y 60 días se alcanza aproximadamente el 90% de la producción teórica de CH₄ (Labatut et al., 2011).

Finalmente, para establecer la relación entre el PBM teórico y el experimental, se utiliza el índice de biodegradabilidad (IB). Este parámetro expresa la proporción de metano realmente producido respecto al máximo teórico esperado y se calcula mediante la ecuación 9.

$$IB(\%) = \frac{PBM_{exp} \times 100}{PBM_{teórico}} \quad \text{Ec 9.}$$

El IB constituye un criterio práctico para evaluar la fracción biodegradable de la materia orgánica y estimar la eficiencia de la conversión del sustrato en metano generalmente es calculado con la remoción de sólidos volátiles (SV) (Sobotka et al., 1983; Bres et al., 2022).

Tabla 2. Ecuaciones para la determinación del PBM a través del método manométrico

Descripción	Ecuación	Parámetro
Determinar el volumen de metano disuelto	$H_{CH_4} = 10\left(\frac{-673,74}{T_e} + 6,88\right)$	- n_{CH4} : Moles de CH ₄ (mol). - ΔP : Incremento de la presión (atm). - V_l : Volumen libre (L).
	$X_{CH_4 \text{ Disuelto}} = \left(\frac{\Delta P}{H_{CH_4}}\right)$	- R : Constante de los gases ideales (atm-LK-1mol-1). - T_e : Temperatura del experimento (K).
	$M_{CH_4 \text{ Disuelto}} = \frac{M_{H_2O} * X_{CH_4 \text{ Disuelto}}}{1 - X_{CH_4 \text{ Disuelto}}}$	- V_{CH4CE} :Volumen de CH ₄ condiciones estándar (L). - TCE : Temperatura a condiciones estándar (K).
	$n_{CH_4 \text{ Disuelto}} = M_{CH_4 \text{ Disuelto}} * V_u$	- PCE :Presión a condiciones estándar (atm). - H_{CH4} : Constante de Henry para el CH ₄ (atm). - X_{CH4 disuelto} :Fracción molar de CH ₄ disuelto.
	$VC_{CH_4 \text{ Disuelto} CE} = \frac{n_{CH_4 \text{ Disuelto}} * R * T_e}{\Delta P}$	- M_{CH4disuelto} : Concentración molar de CH ₄ disuelto (molL-1). - M_{H2O} :Concentración molar del agua (molL-1). - n_{CH4disuelto} :Moles de CH ₄ disuelto (mol) - V_u : Volumen útil de reactor (L) - - V_{CH4disueltoCE} : Volumen de CH ₄ disuelto (L).
Determinar el Potencial Bioquímico de Metano total	$PBM = \frac{VT_{CH_4 CE}}{gSV}$	- VT_{CH4CE} : Volumen total de CH ₄ condiciones estándar (L). - V_{CH4Control} : Volumen de metano producido por el inóculo sin sustrato (L).
Determinar el volumen de metano a condiciones estándar	$n_{CH_4} = \frac{\Delta P * VI}{R * T_e}$	- PBM : Potencial Bioquímico de Metano (LgSV-1). - gSV :Sólidos volátiles (SV) iniciales del sustrato (gSV).
	$VC_{CH_4 CE} = \frac{n_{CH_4} * R * TCE}{PCE}$	
Determinar el volumen total de metano a condiciones estándar	$VT_{CH_4 CE} = V_{CH_4 CE} + V_{CH_4 \text{ Disuelto} CE} - V_{CH_4 \text{ Control}}$	

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

5.5. Antecedentes de la investigación

En la literatura se han reportado tanto valores de actividades metabólicas como de PBM para lodos granulares empleados como inóculo. Los lodos granulares industriales presentan una alta fracción orgánica (70-90%), característica asociada con mayor actividad microbiana y estabilidad operativa, mientras que los lodos municipales digeridos suelen presentar proporciones más bajas (40-70%) (Holliger et al., 2016; De Vrieze et al., 2015; Mainardis et al., 2020).

Poirrier (2005) evaluó un lodo granular anaerobio procedente de un reactor UASB de la industria papelera, con un contenido de SV del 57,8%. El estudio se centró principalmente en condiciones psicrofílicas (15 °C), en las que se observaron actividades relativamente bajas (AAE = 0,21 g glucosa·gSV⁻¹·d⁻¹ y AHE = 0,23 g almidón·gSV⁻¹·d⁻¹). Para fines comparativos en el estudio se incluyó ensayos a temperatura mesofílica (37 °C), bajo los cuales las actividades específicas se incrementaron (AME = 0,47 gDQO-CH₄·gSV⁻¹·d⁻¹, AAE = 3,5 g glucosa·gSV⁻¹·d⁻¹ y AHE = 2,12 g almidón·gSV⁻¹·d⁻¹). Los resultados evidenciaron la sensibilidad de los lodos granulares a la temperatura, así como su elevado potencial en condiciones mesofílicas.

De manera complementaria, Zhou et al., (2011) demostraron en un reactor UASB a escala real que la tasa de carga orgánica (OLR por sus siglas en inglés) influye directamente en la granulación y la actividad metanogénica específica. Sus resultados mostraron que incrementos moderados de la OLR favorecieron la actividad metanogénica, mientras que sobrecargas condujeron a la pérdida de actividad y a la desestabilización de los gránulos. Esto respalda la importancia de la operación controlada para preservar la funcionalidad del lodo granular como inóculo.

En cuanto a la AHE bajo condiciones mesofílicas, los valores reportados varían según el tipo de biomasa y el método de ensayo. Algunos estudios indican que la AHE puede variar entre 0,6 y 3,5 gDQO·gSV⁻¹·día⁻¹, dependiendo del tipo de sustrato y de la estructura del gránulo (Regueiro et al., 2012). En el estudio de Cerón-Vivas et al., (2019), realizado con lodo granular, se reportó una AHE de 2,79 gDQO·gSV⁻¹·d⁻¹, valor alto para biomasa anaerobia y dentro del rango típico de lodos granulares adaptados (1,5–3,0 gDQO·gSV⁻¹·d⁻¹), dependiente de factores como el tamaño del gránulo, el pH, la alcalinidad y la disponibilidad del sustrato. En conjunto, la literatura sitúa a los lodos granulares como inóculos con ventajas frente a lodos floculentos, cuyos valores generalmente no superan 0,3 gDQO·gSV⁻¹·día⁻¹ bajo condiciones similares (Appels et al., 2011).

Se han reportado valores de AAE en DA de RA usando lodo granular como inóculo en el rango de 0,9 a 5,7 gDQO·gSV⁻¹·día⁻¹. Parra-Orobio et al. (2018) emplearon lodo granular proveniente de un reactor UASB, mezclado con lodo floculento, para la DA de RA a 35 °C, obteniendo valores de AAE entre 0,88 y 3,6 gDQO·gSV⁻¹·d⁻¹, en función de la proporción de lodo granular en la mezcla, bajo pH cercano a la neutralidad. Estos valores elevados de AAE podrían estar asociados a las condiciones de mayor humedad del sistema, las cuales favorecen

el contacto biomasa–sustrato. Casallas-Ojeda et al., (2020) reportaron una AAE alrededor de $3,77 \text{ gDQO} \cdot \text{gSV}^{-1} \cdot \text{día}^{-1}$ bajo condiciones mesofílicas y manteniendo la estabilidad del pH.

Más recientemente, Parra-Orobio et al., (2025) demostraron que la preaclimatación del inóculo con carbohidratos puede incrementar la AAE hasta $5,7 \text{ gDQO} \cdot \text{gSV}^{-1} \cdot \text{día}^{-1}$. Las condiciones convergentes para maximizar AAE son: temperatura mesofílica, pH neutro, alcalinidad entre $2.000\text{--}4.000 \text{ mg CaCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$, S/I moderada, mezcla continua y preaclimatación 7–14 días (Kim et al., 2017).

De manera complementaria, diferentes autores han evaluado la AME bajo condiciones mesofílicas empleando lodo granular como inóculo. En general, los valores experimentales de AME se encuentran en el rango de $0,25$ a $0,35 \text{ gDQO} \cdot \text{gSV}^{-1} \cdot \text{día}^{-1}$, dependiendo del origen del inóculo, sustrato y de las condiciones operacionales, siendo considerados representativos de biomasas altamente activas y estables. Según Hussain y Dubey (2015), este rango es característico de lodos granulares provenientes de reactores UASB bien adaptados, mientras que valores más bajos ($0,10\text{--}0,25 \text{ gDQO} \cdot \text{gSV}^{-1} \cdot \text{día}^{-1}$) corresponden a biomasas suspendidas o con menor grado de aclimatación.

Diversos estudios han demostrado que la alcalinidad, particularmente en forma de bicarbonato, desempeña un papel determinante en la estabilidad del pH y en la prevención de la inhibición por acumulación de AGVs durante la DA de RA. La adición de fuentes alcalinas como el bicarbonato de sodio ha sido ampliamente reportada como estrategia para sostener la actividad metanogénica bajo condiciones de alta carga orgánica (Nguyen et al., 2018; Wang et al., 2023).

En el caso de los RA, Parra-Orobio et al., (2020) realizaron ensayos de PBM bajo condiciones mesofílicas, comparando diferentes fuentes de inóculo, entre ellas un lodo granular procedente de efluentes ganaderos y un lodo floculento. En ese estudio se evaluó la influencia de la relación S/I sobre la producción de metano, reportándose valores de PBM entre 280 y $410 \text{ mL CH}_4 \cdot \text{gVS}^{-1}$. Es importante resaltar que sus resultados demostraron que las relaciones S/I bajas y el uso de lodo granular favorecieron mayores rendimientos y estabilidad del proceso en comparación con el lodo floculento.

Los siguientes estudios demuestran que el origen del inóculo influye significativamente en el PBM y en la velocidad de arranque del proceso. De Vrieze et al., (2015) y Posmanik et al., (2020) reportaron que los lodos granulares presentan mayor rapidez, estabilidad y tasas iniciales de metano que los lodos floculentos o municipales. En Latinoamérica, Parra-Orobio et al., (2016) encontraron que relaciones S/I menores a $1 \text{ gDQO}_{\text{sustrato}} \cdot \text{gSV}_{\text{inóculo}}^{-1}$ favorecieron mayores rendimientos de metano y superiores tasas de hidrólisis cuando se empleó lodo granular. En contraste, los lodos municipales suelen presentar rendimientos menores y alta variabilidad, como evidenciaron Sánchez-Reyes et al., (2016), quienes obtuvieron AME bajas y PBM inferiores al usar este tipo de inóculo.

Además de los volúmenes de metano expresados como PBM, la literatura también ha documentado la composición del biogás generado durante la DA de RA. Diversos estudios

reportan que el contenido de metano suele ubicarse en un rango de 50–70 %, dependiendo de la fracción predominante del residuo y de las condiciones de operación (IEA Bioenergy, 2018; Jiménez-Ocampo et al., 2021; Ćurčić et al., 2025; Meegoda et al., 2025). Meegoda et al., (2025) reportaron este rango de composición para RA con alto contenido orgánico.

Jiménez-Ocampo et al., (2021) observaron 67 % CH₄ promedio en biogás de RA; y Ćurčić et al., (2025) describen producciones similares bajo digestión eficiente. Estos valores coinciden con lo que se reporta en guías y revisiones como la de IEA Bioenergy (2018), lo que refuerza que el intervalo 50-70 % CH₄ es adecuado para describir la composición típica del biogás obtenido en la DA de RA. Sin embargo, algunos autores han documentado porcentajes aún más altos. En estudios de DA de RA bajo condiciones de operación estables, con inoculación adecuada y control de pH y temperatura, se ha reportado biogás con contenido de metano de hasta 77 % (Jimenez-Ocampo et al., 2021).

Donatelli et al., (2024) analizaron la DA de fracciones específicas de RA (frutas y verduras, cereales, carnes y lácteos) mediante ensayos de PBM. Sus resultados mostraron que los residuos con alto contenido en carbohidratos (frutas, verduras y granos) generaron biogás con una composición de 61–63 % de CH₄, bastante estable a lo largo del ensayo. En contraste, las fracciones ricas en proteínas y lípidos (carne, lácteos y mezclas) alcanzaron picos iniciales de hasta 73–76 % de CH₄ en los primeros días, para luego estabilizarse alrededor de 64–66 % hacia el final del proceso. Estos hallazgos evidencian que la naturaleza del sustrato es decisiva en la calidad del biogás: mientras los carbohidratos producen composiciones más bajas y estables de CH₄, las proteínas y lípidos permiten alcanzar porcentajes más altos, aunque con variaciones temporales.

En síntesis, los lodos granulares industriales presentan elevadas actividades metabólicas específicas, particularmente en las etapas de hidrólisis y acidogénesis, lo que se refleja en tasas iniciales más altas de producción de metano. Estos lodos resultan especialmente eficientes en la DA de RA ricos en carbohidratos, permitiendo conversiones rápidas y elevadas. En contraste, los lodos municipales o digeridos, aunque viables como inóculos, suelen requerir mayor cantidad de biomasa, condiciones operativas más controladas y tiempos más prolongados de estabilización para alcanzar rendimientos comparables.

Con el fin de ampliar la comparación, en la Tabla 3 se resumen experiencias relevantes reportadas en la literatura sobre DA de distintos residuos y tipos de lodo, donde se incluyen condiciones de operación, relaciones S/I y los valores de PBM obtenidos. Esta información complementa lo descrito anteriormente y permite evidenciar tendencias comunes respecto a la influencia del tipo de inóculo y de la relación S/I en el rendimiento de metano.

Tabla 3. Experiencias relacionadas en DA con diferentes lodos y sustrato RA.

Tipo de Inóculo	Origen del Lodo	Relación S/I (gDQO _{sustrato} /gSV _{inóculo})	Temperatura	Tipo de sustrato	PBM total (mL CH ₄ · gSV ⁻¹)	Referencia
Lodo anaerobio	Planta municipal de aguas residuales (Ibaraki, Japón)	0:1 0:2 0:3 0:4 0:5 0:6 0:7 0:8 0:9 1:0 1:6 2:0 3:0	36 °C	Okara (residuo de la producción de tofu)	183 351 364 372 428 495 490 485 478 382 36 37 8	Zhou et al., (2011)
Lodo de digestor anaerobio	Diferentes digestores mesófilos europeos (interlaboratory study)	0:5 1:0 2:0	35 - 37 °C	Residuos sólidos orgánicos, incluyendo RA	200 - 500 (dependiendo del residuo en específico e inóculo)	Raposo et al., (2011)
Lodo de digestor anaerobio	PTAR	0:25 0:5 1:0 2:0 4:0 9:0	30 °C (± 0,5 °C)	Biorresiduos municipales (BOM)	176,19 ± 18,37 106,25 ± 0,47 101,75 ± 17,66 90,88 ± 12,54 75,04 ± 15,10 17,56 ± 0,52	Parra-Orobio et al., (2015)
Lodo de digestor anaerobio	Planta de Tratamiento de Aguas Residuales Municipales (México)	1:2 1:3	35 °C	Mezcla de RA (Naranja, Limon, cascara de papa, etc)	116,27 127,80	Sanchez-Reyes et al., (2016)

Tipo de Inóculo	Origen del Lodo	Relación S/I (gDQO _{sustrato} /gSV _{inóculo})	Temperatura	Tipo de sustrato	PBM total (mL CH ₄ · gSV ⁻¹)	Referencia
Lodo floculento (digestato anaerobio)	Digestato de planta	0:5 1:0 2:0 3:0 4:0 5:0 6:0	35 ± 1	RA	464,01 (0:5) 674,37 (1:0) 638,88 (2:0) 555,13 (3:0) 570,14 (4:0) 551,58 (5:0) 556,78 (6:0) Orden de rendimientos de PBM según la relación S/I: 1:0 > 2:0 > 4:0 > 6:0 > 3:0 > 5:0 > 0:5.	Khadka, et al., (2022)
Lodo granular	Inóculos de reactores mesófilos a escala real (incluye UASB granulares y digestores floculentos)	0:5 1:0 2:0	35 °C	RA y residuos orgánicos	Granular: 200 - 450 Floculento: 150 - 300	De Vrieze et al., (2015)
Lodo granular industrial	Planta AD; caracterizado por granulometría y microbiota	1:1 2:1 3:2	33 - 37 °C	Mezcla de verduras, frutas y arroz cocido	33 °C: 159,73 160,88 161,39 37°C: 191,53 233,95 208,94	Ivanovici et al., (2025)

6. METODOLOGÍA

El proyecto de investigación tuvo un enfoque experimental cuantitativo orientado a evaluar la efectividad del lodo granular, proveniente de un reactor de una industria papelera, como inóculo en el proceso de DA de RA a temperatura de 35°C y bajo tres relaciones S/I. La estructura metodológica se dividió en dos etapas: *i)* Caracterización de las actividades metabólicas del inóculo y *ii)* Ensayos de PBM bajo diferentes relaciones S/I.

6.1. Caracterización de las actividades metabólicas

6.1.1. Caracterización del inóculo

Se recolectó el lodo granular procedente de un reactor UASB que trata las aguas residuales de una industria papelera con el fin de usarlo como inóculo. El inóculo se caracterizó en términos de sólidos totales (ST) (SM 2540B), sólidos volátiles (SV) (SM 2540 E), alcalinidad total, bicarbonática (AT, AB) (SM 2320B) e intermedia (AI), pH (SM 4500 H) (SM 5220 C) (APHA, 2023) y ácidos grasos volátiles (AGVs) (Ripley, 1986). A partir de los resultados obtenidos se determinó la relación SV/ST e índices de alcalinidad como el IB y la relación AI/AB.

Adicionalmente se midió nitrógeno total (N) (SM 4500-N C), fósforo (P) (SM 4500 B), níquel (Ni) (SM 3030-K (Modificado), SM 3111-B), cobalto (Co) (SM 3030-K (Modificado), SM 3111-B) y molibdeno (Mo) (SM 3030-K (Modificado), SM 3113-B), considerados macro y micronutrientes esenciales, ya que actúan como cofactores enzimáticos y resultan indispensables para mantener la actividad metanogénica (Holliger et al., 2016; Kinyua et al., 2017). En la figura 2, se observa la estructura del lodo granular evaluado.



Figura 2. Lodo granular proveniente de la industria papelera.

6.1.2. Medición de las actividades metabólicas

Se evaluaron las actividades metabólicas específicas del lodo granular: AHE, AAE y AME, siguiendo la metodología descrita por Aquino et al., (2007) y Poirrier (2005). Los ensayos se realizaron en botellas de vidrio ámbar de 250 mL, con un volumen útil de 200 mL para las actividades hidrolítica y acidogénica, y de 150 mL para la actividad metanogénica. En todos los casos se dejó libre al menos un 10 % del volumen útil del reactor, tal como recomiendan Torres et al., (2010); en el caso de la AME, el menor volumen de líquido permitió disponer de un mayor espacio de gas (headspace), necesario para la acumulación y cuantificación del biogás producido.

En cada botella se adicionó lodo granular en una concentración de 2,0 g SVT/L, valor seleccionado acorde con lo descrito en la literatura, que recomienda un rango entre 1,0 y 2,0 g SVT/L en sistemas sin agitación (Díaz et al., 2002; Rocha et al., 2001). Asimismo, se adicionó 1,0 ml/L de una solución de macro y micronutrientes, cuya composición se indica en la Tabla 4 y 1,5 g/L de bicarbonato de sodio para asegurar capacidad buffer, conforme a las recomendaciones de Angelidaki et al., (2009) y Holliger et al., (2016).

Tabla 4. Composición de la solución de macro y micronutrientes

Solución	Compuesto	Unidad	Concentración
Macronutrientes	NH ₄ CL	g/L	170
	NaHCO ₃	mg/L	1000
	KH ₂ PO ₄	g/L	37
	MgSO ₄ .4H ₂ O	g/L	9.0
	CaCl ₂ .2H ₂ O	g/L	8.0
Micronutrientes	FeCl ₃ .6H ₂ O	mg/L	2000
	ZnCl ₂	mg/L	50
	CuCl ₂ .2H ₂ O	mg/L	30
	MnCl ₂ .4H ₂ O	mg/L	500
	(NH ₄) ₈ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	mg/L	90
	AlCl ₃ .6H ₂ O	mg/L	50
	CoCl ₂ .6H ₂ O	mg/L	2000
	NiCl ₂ .6H ₂ O	mg/L	50
	H ₃ BO ₃	mg/L	50
	Na ₂ SeO ₃ .5H ₂ O	mg/L	100
	EDTA	mg/L	1000
	HCl 36%	mg/L	1.0
Otros	Indicador de Potencial Redox RESAZURINA	mg/L	100
	Agente reductor (Na ₂ SO ₃ .7H ₂ O)	mg/L	100
	Extracto de levadura (fuentes de vitaminas)	g/L	0.2

Fuente: Adaptado de (Torres et al., 2010).

El sustrato adicionado varió para cada tipo de actividad metabólica, siendo 1,5 g/L Celulosa para la AHE, 1,5 g/L Glucosa para AAE y mezcla de AGVS (ácido acético, propiónico y

butírico en una proporción 73:23:4), en una concentración de 4 gDQO/L para la AME (Kamperidou, et al., 2021).

El pH de cada reactor se verificó después de su preparación, y en los casos en los que el pH superaba el valor de 7,0 unidades, se ajustó con adición de ácido clorhídrico (HCl) 0,2 N. Posteriormente, el contenido del reactor de la AHE, AAE y AME, se homogeneizó mediante agitación suave y las botellas se sellaron con tapones plásticos. En el caso de las botellas de AME, además del tapón, se empleó un agrafe metálico y un recubrimiento externo con Parafilm para asegurar un sellado completo y la retención del biogás. Finalmente, todas las botellas se incubaron a 35 °C.

En cada uno de los ensayos de las actividades metabólicas se incluyó un control negativo o blanco el cual contenía inóculo y agua destilada, sin sustrato ni nutrientes, para cuantificar la producción endógena de biogás o la liberación de azúcares producto de la hidrólisis de la biomasa. Los valores obtenidos en este control se restaron de los resultados de las pruebas para aislar el efecto del sustrato, conforme a la recomendación de Raposo et al., (2011) y Torres et al., (2010). Cada ensayo de las actividades metabólicas se realizó por triplicado.

El seguimiento de la AHE y AAE se realizó mediante la determinación diaria de azúcares reductores, como indicador de la degradación de los sustratos. Para ello, se aplicó la prueba de ácido 3.5-dinitrosalicílico (DNS), según la metodología descrita por Soto (1993).

Para la cuantificación de azúcares reductores mediante el método DNS, primero se construyó una curva de calibración a partir de una solución de 2 g/L de glucosa, realizando diluciones entre 0,1 y 1,0 g/L. De cada dilución se tomaron 1 mL por duplicado, se adicionó 1 mL de reactivo DNS, se calentó a baño maría a 100 °C durante 5 minutos, se enfrió en baño de hielo y, posteriormente, se añadieron 9 mL de agua destilada. Tras agitación, la absorbancia se midió a 540 nm. El mismo procedimiento se aplicó a las muestras experimentales: se tomaron alícuotas de 1 mL de muestra y 1 mL de reactivo DNS, mientras que en el blanco la muestra fue reemplazada por agua destilada. Finalmente, los valores de absorbancia obtenidos se interpolaron en la curva de calibración para determinar la concentración de azúcares reductores presentes (Jain et al., 2020).

Los datos obtenidos se procesaron utilizando la curva de calibración y se empleó la Ecuación 5 para calcular la AHE y la AAE, expresadas en función de la concentración de azúcares reductores.

El seguimiento de la AME se llevó a cabo mediante el método manométrico, el cual consistió en el monitoreo periódico de la presión interna de las botellas. Las mediciones se realizaron día por medio hasta que se observó una estabilización en la presión. En los casos en que las presiones superaron los 400 mbar, se efectuó una purga del gas acumulado y siempre se llevó registro tanto la presión antes como después de la purga (Raposo et al., 2011).

Dado que en el presente estudio no se realizó la captura ni separación directa del dióxido de carbono (CO₂) del biogás producido, debido a la ausencia de un sistema experimental

específico para la absorción selectiva de gases, la producción de metano se determinó de manera indirecta, asumiendo que el 70 % del biogás correspondía a metano, de acuerdo con valores típicos reportados para procesos de digestión anaerobia de residuos orgánicos y aguas residuales (Camara Moguel et al., 2014; Ćurčić et al., 2025; IEA Bioenergy, 2018; Meegoda et al., 2025); A partir del metano estimado, se procedió al cálculo de la AME, empleando las Ecuaciones 6 y 7, que permiten expresar este parámetro en términos de $\text{gDQO CH}_4/\text{g SV}\cdot\text{día}$.

Al finalizar el seguimiento de las actividades metabólicas, se realizaron las caracterizaciones finales. Para la AHE y la AAE se evaluaron AGVs y pH, mientras que para la AME se determinaron AGVs, pH, DQO, alcalinidad total y bicarbonática.

6.2. Ensayos de PBM bajo diferentes relaciones S/I

La cuantificación de la producción de biogás se realizó mediante ensayos de Potencial Bioquímico de Metano (PBM), evaluando tres relaciones sustrato/inóculo (S/I): 0,2, 0,5 y 1,0 $\text{gSV}_{\text{sustrato}}/\text{gSV}_{\text{inóculo}}$. El diseño experimental y el análisis de los resultados se desarrollaron conforme a los lineamientos del protocolo VDI 4630 (VDI, 2006), considerando el uso de relaciones S/I expresadas en $\text{SV}_{\text{sustrato}}/\text{SV}_{\text{inóculo}}$, condiciones mesofílicas controladas (35 °C), empleo de blancos de inóculo, operación en sistemas herméticos bajo condiciones anaerobias y corrección de los volúmenes de metano a condiciones estándar (273,15 K y 1 atm).

La selección de las relaciones S/I se basó en el rango recomendado de 0,5 a 2,0 $\text{gSV}_{\text{sustrato}}/\text{gSV}_{\text{inóculo}}$, según lo propuesto por Angelidaki et al., (2009) y Holliger et al., (2016), y complementado con evidencias de que valores inferiores a 0,5 también pueden ser viables para la producción de metano. La inclusión del valor 0,2 permitió explorar el comportamiento del sistema bajo condiciones de baja carga orgánica.

6.2.1. Caracterización del sustrato

Se empleó como sustrato RA conformados de acuerdo con la composición típica reportada para los RSM de una localidad que realiza separación en la fuente y recolección selectiva de los mismos (Oviedo et al., 2014; Soto-Paz et al., 2020). Los RA en la investigación fueron recolectados en viviendas familiares (Figura 3), con el propósito de garantizar la frescura y representatividad de la muestra.



Figura 3. Residuos de alimentos recolectados

La composición del sustrato se formuló siguiendo las recomendaciones de Oviedo et al., (2014), adaptadas al presente estudio. Para ello, se incluyeron diversos grupos de alimentos distribuidos de la siguiente manera: carbohidratos (papa y plátano), frutas cítricas y semi-cítricas (limón, naranja, maracuyá), frutas no cítricas (banano, papaya, mango), fuentes de fibra y minerales (cebolla, zanahoria, pepino, huevo, habichuela, tomate) y hierbas y otros (cilantro, lechuga). En la Figura 4, se observa cómo se distribuyó la composición del sustrato para el estudio.

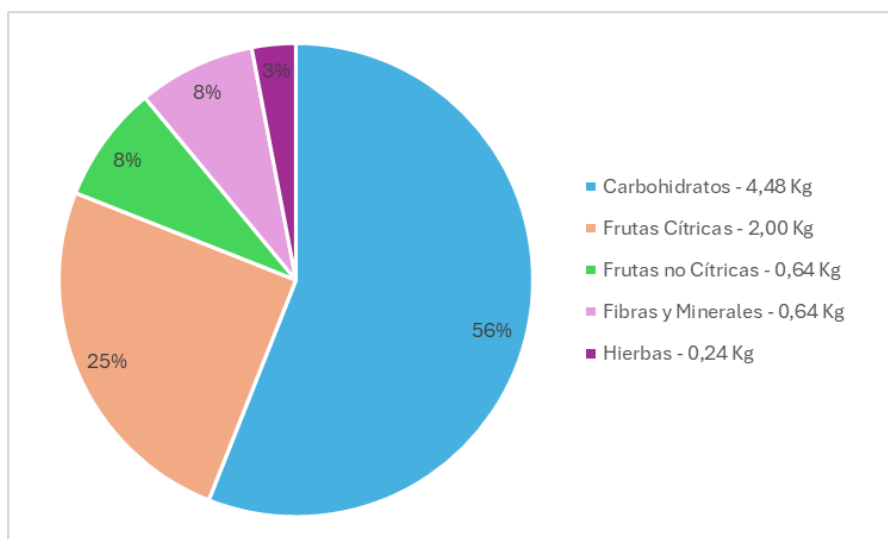


Figura 4. Composición del sustrato

Fuente: Adaptado de Oviedo, 2014

Cada tipo de RA previamente picado entre 12,5 a 20,0 a mm de tamaño, se pesó de forma individual para respetar las proporciones establecidas. Posteriormente, la mezcla se homogeneizó manualmente y se aplicó el método de cuarteo, dividiéndola en cuatro partes iguales (Figura 5 y 6).



Figura 5. Residuos de alimentos homogeneizados (Sustrato)



Figura 6. Cuarteo del sustrato

Del cuarteo realizado, se seleccionaron dos partes opuestas, las cuales se combinaron para obtener una muestra representativa (Alayón, 2021). Esta fracción fue posteriormente triturada hasta alcanzar un tamaño de partícula cercano a 10 mm (en la figura 7 se evidencia cómo se trituró el sustrato), siguiendo lo sugerido por Holliger et al., (2016), con el fin de favorecer la actividad biológica en el proceso anaerobio.



Figura 7. Trituración del sustrato

Finalmente, los RA se caracterizaron en términos de demanda química de oxígeno (DQO) (SM 5220 D), alcalinidad total, pH (SM 4500H), sólidos totales (SM 2540B), sólidos volátiles (SV) (SM 2540 E) y ácidos grasos volátiles (AGVs) (APHA, 2023).

6.2.2. Montaje PBM

Los ensayos de PBM se realizaron en botellas de vidrio ámbar de 500 mL, con un volumen útil de 250 mL y un 50 % de volumen libre (headspace) para permitir la acumulación segura del biogás generado durante el proceso, conforme a lo recomendado por Casallas-Ojeda et al., (2020), Filer et al., (2019), Raposo et al., (2011) y Valero et al., (2016). Cada reactor se selló de forma hermética con tapón plástico, agrafe metálico y un recubrimiento externo con Parafilm, siguiendo el mismo procedimiento aplicado en los ensayos de AME, con el fin de prevenir fugas y garantizar la retención del biogás (Bres et al., 2022).

Una vez caracterizados el inóculo y el sustrato, y definidas las relaciones S/I a evaluar, se procedió al cálculo de las concentraciones requeridas de cada componente con el fin de alcanzar la proporción deseada en cada unidad experimental. Dichos cálculos se realizaron en función del contenido de SV, tanto del sustrato como del inóculo. En todos los ensayos, la concentración adicionada de inóculo fue de 15 g SV/L, y la concentración de sustrato se ajustó según la relación S/I a evaluar: 3,0 gSV/L para $S/I = 0,2 \text{ gSV}_{\text{sustrato}}/\text{gSV}_{\text{inoculo}}$; 7,5 gSV/L para $S/I = 0,5 \text{ gSV}_{\text{sustrato}}/\text{gSV}_{\text{inoculo}}$; y 15,0 gSV/L para $S/I = 1 \text{ gSV}_{\text{sustrato}}/\text{gSV}_{\text{inoculo}}$. Además, se adicionó 1 ml/L de la solución de macro y micronutrientes (tabla 4) a cada reactor. Cada relación fue evaluada por triplicado para garantizar la reproducibilidad de los resultados.

Se incluyó un control positivo (CP) en el que se empleó celulosa como sustrato, con el propósito de evaluar el desempeño del inóculo frente a un sustrato estándar altamente

biodegradable. Para este caso, se consideró un PBM teórico de 415 mL CH₄/g SV, conforme a lo reportado por Koch et al., (2017).

Así mismo, se incluyó un control negativo (blanco) constituido exclusivamente por inóculo y agua destilada, manteniendo la misma concentración de inóculo (15 g SV/L), el mismo volumen útil (250 mL) y las mismas condiciones operativas que en los reactores con sustrato. Este blanco se utilizó para cuantificar la producción de biogás atribuible únicamente al inóculo y corregir la producción neta de metano asociada al sustrato (González, 2015). Por lo tanto, para obtener el PBM neto del sustrato, la producción de metano registrada en cada reactor fue corregida restando la producción correspondiente al blanco.

La cuantificación de la presión del biogás generado en los ensayos de PBM se realizó con el uso de un manómetro digital WIKA, siguiendo el procedimiento descrito por Moreno (2023), conforme a la metodología propuesta por Ryckebosch et al., (2011). Para el seguimiento del ensayo PBM, las botellas se agitaron manualmente una vez al día y la presión interna se medía día por medio hasta alcanzar la estabilización del proceso, alcanzada a los 60 días de iniciado el ensayo.

Con el fin de expresar los resultados en términos de producción específica de metano y no de biogás total, se asumió que el 70 % del biogás correspondía a metano (como se realizó en los cálculos de la AME), de acuerdo con valores típicos reportados para la DA de RA (Camara Moguel et al., 2014; Ćurčić et al., 2025; IEA Bioenergy, 2018; Meegoda et al., 2025); en consecuencia, el volumen de metano se calculó multiplicando el volumen total de biogás corregido por un factor de 0,70.

Como análisis iniciales en el PBM se determinaron el pH (SM 4500 H), los sólidos totales (ST) (SM 2540 B), los ácidos grasos volátiles (AGVs) (APHA, 2023) y la alcalinidad total y bicarbonática (SM 2320 B). En los análisis finales, además de estos parámetros, se incluyó la determinación de la DQO (SM 5220 D).

Los datos obtenidos de la caracterización fisicoquímica del sustrato, del inóculo y de las relaciones S/I se evaluaron mediante estadística descriptiva, empleando indicadores de tendencia central y dispersión, como la media aritmética ($\bar{x}$) y la desviación estándar (σ). El PBM producido por cada muestra se calculó utilizando las ecuaciones indicadas en la Tabla 2. Adicionalmente, para comparar el PBM entre las diferentes relaciones S/I evaluadas, se verificaron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas mediante las pruebas de Shapiro–Wilk y Levene, respectivamente. Posteriormente, se aplicó la prueba de Kruskal–Wallis, seguida del análisis post-hoc de Dunn con corrección de Bonferroni, con el fin de identificar si existían diferencias estadísticamente significativas entre las relaciones S/I.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1. Caracterización de las actividades metabólicas

7.1.1. Caracterización del inóculo

La Tabla 5 presenta los parámetros fisicoquímicos medidos para caracterizar el inóculo, los cuales constituyen indicadores de la capacidad metabólica y de la resistencia a fenómenos de inhibición en el proceso de DA.

Tabla 5. Caracterización del inóculo

PARÁMETRO	VALOR
pH (UND)	7,02
AGVs (mEq/L)	6,00
Alcalinidad Total - AT (mg CaCO ₃ /L)	4035,00
Alcalinidad Intermedia -AI (mg CaCO ₃ /L)	1585,00
Alcalinidad Bicarbonática - AB (mg CaCO ₃ /L)	2450,00
Índice Buffer (IB) = AI/AT	0,39
Relación AI/AB	0,65
Sólidos totales (ST) (g ST/L)	136,74
Sólidos volátiles (SV) (g SV/L)	126,00
Relación SV/ST	92%

El pH inicial del lodo se encuentra dentro del rango considerado óptimo para el desarrollo y crecimiento de comunidades metanogénicas (6,8–7,5), lo cual indica que el inóculo presentó condiciones estables y sin evidencias de acidificación. Investigaciones recientes han demostrado que la estabilidad de lodos granulares en reactores anaerobios depende en gran medida de mantener un pH próximo a la neutralidad y de una adecuada capacidad de amortiguación, ya que variaciones fuera de este rango pueden alterar la actividad de las arqueas metanogénicas y disminuir la producción de metano (Gállego-Bravo et al., 2023; Oliveira et al., 2025). Además, estudios experimentales recientes con lodo granular han mostrado que la adecuada gestión de condiciones ambientales y fisicoquímicas, incluyendo el control de pH, resulta en mayor rendimiento metanogénico y mejor estabilidad microbiana durante la digestión anaerobia (Zhou et al., 2024).

Por otro lado, la concentración inicial de AGVs indicó la presencia considerable de productos intermedios de la fermentación. Si bien este valor se encuentra en el límite superior de lo reportado para lodos de arranque (3,3–6,7 mEq/L), pero por debajo de los umbrales críticos de inhibición para arqueas metanogénicas (25–33 mEq/L) (Amha et al., 2018; Patel et al., 2021). Esto puede interpretarse como un estado de actividad fermentativa, con producción de metabolitos intermedios que aún podían ser convertidos a metano.

Estudios recientes han demostrado que los lodos granulares industriales presentan una notable tolerancia a altas concentraciones de AGVs, atribuida a su estructura compacta, elevada densidad celular y la diversidad funcional de consorcios microbianos que integran poblaciones acidogénicas, acetogénicas y metanogénicas altamente adaptadas. La acumulación moderada de AGVs en el inóculo no se interpreta como un signo de inestabilidad, sino como una manifestación de actividad metabólica intensa, que refleja la existencia de rutas fermentativas activas y un elevado potencial para la conversión rápida de intermediarios en metano una vez que las condiciones del sistema resultan favorables (Ivanovici et al., 2025).

La AB está asociada principalmente a la presencia de iones bicarbonato (HCO_3^-), que actúan como principal sistema tampón frente a la acidificación (Holliger et al., 2016). Una alta AB es indicativa de buena capacidad amortiguadora, necesaria para contrarrestar los ácidos orgánicos generados durante la fermentación. Por otro lado, la AI se relaciona con la presencia de AGVs, por lo que un aumento en esta fracción suele reflejar acumulación de productos intermedios en la DA, principalmente ácidos acético, propiónico y butírico. Así, los índices de alcalinidad (IB y la relación AI/AB) constituyen un indicador clave de estabilidad del sistema (Ripley et al., 1986).

El IB supera el rango recomendado para condiciones de estabilidad (0,2 - 0,3). De acuerdo con Rojas, (1987), la relación entre la alcalinidad consumida por los AGV y la alcalinidad total debe mantenerse baja, cercana a 0.2, para garantizar un adecuado equilibrio ácido-base en el sistema; valores superiores constituyen una señal temprana de acumulación de AGVs y pérdida progresiva de la capacidad amortiguadora del medio.

Por otra parte, la relación AI/AB también evidencia un desbalance importante entre la fracción de alcalinidad asociada a los AGVs y la alcalinidad bicarbonática, que constituye la reserva buffer del sistema. Según Ripley et al., (1986), la relación debe mantenerse por debajo de 0.3 para asegurar una operación estable, ya que incrementos superiores se asocian con inhibición metanogénica, acumulación de AGVs y reducción en la producción de metano.

Estos resultados son coherentes con lo reportado en la literatura, donde se reconoce que los digestores anaerobios estables suelen mantener alcalinidades totales en rangos de 2000 a 4000 mg CaCO_3/L , dependiendo del tipo de inóculo y de la carga orgánica aplicada, valores alrededor de 2500 mg CaCO_3/L en lodos municipales digeridos, mientras que en lodos granulares industriales son comunes niveles cercanos al extremo superior del rango, próximos a 4000 mg CaCO_3/L (Ripley et al., 1986; Holliger et al., 2016).

Sin embargo, los índices de alcalinidad, evidencian que la capacidad tampón real del sistema estaba comprometida. Tanto el índice buffer, como la relación AI/AB (0.65), estaban por encima del límite de estabilidad propuesto por Rojas, (1987) y Ripley et al., (1986), lo cual indica que, pese a presentar niveles absolutos de alcalinidad propios de lodos granulares, el inóculo mostraba una capacidad amortiguadora limitada frente a variaciones de carga orgánica, lo que podría aumentar su susceptibilidad a procesos de acidificación.

La relación SV/ST indica que el inóculo contiene 92% de fracción orgánica, es decir, biomasa mayoritariamente biodegradable y con alta proporción de células activas, lo que favorece una rápida iniciación de la DA (Díaz-Domínguez et al., 2025). En coherencia, los lodos granulares destacan por su alta retención de biomasa y elevada actividad metanogénica, superando típicamente a lodos municipales digeridos en densidad microbiana y desempeño como inóculos (De Vrieze et al., 2015; Mainardis et al., 2020). Reportes recientes muestran que relaciones SV/ST cercanas al 90% en lodos granulares, impulsan la actividad microbiana y la estabilidad operativa durante la DA (Hellal et al., 2024).

Adicionalmente, estas características deben analizarse considerando la procedencia del inóculo. El lodo granular proviene del tratamiento anaerobio de efluentes de la industria papelera, compuestos predominantemente por carbohidratos y fracciones lignocelulósicas (Pokhrel & Viraraghavan, 2004). Este entorno selectivo favorece el desarrollo de consorcios microbianos adaptados a la degradación de compuestos carbonados estructurales y con alta retención celular en la matriz granular (Hulshoff Pol et al., 2004). En consecuencia, la elevada fracción de SV y la buena actividad metabólica observada pueden asociarse con esta selección microbiana previa. Sin embargo, al emplearse RA con mayor contenido de proteínas y lípidos, el sistema enfrenta una composición distinta, lo que podría incidir en su capacidad de adaptación y estabilidad frente a variaciones en la carga orgánica (Appels et al., 2008; Zhang et al., 2014).

Teniendo en cuenta que la presencia de macronutrientes como nitrógeno y fósforo, y micronutrientes como níquel, cobalto y molibdeno, resulta esencial para la actividad enzimática de las arqueas metanogénicas, la Tabla 6 muestra la composición de inóculo en términos de estos compuestos. La combinación de estos factores explica por qué la caracterización integral del lodo granular es una condición necesaria para garantizar la fiabilidad de los resultados experimentales y establecer comparaciones válidas con experiencias reportadas en la literatura (Hülsemann et al., 2020; Patel et al., 2021).

Tabla 6. Macro y micronutrientes esenciales presentes en el inóculo.

PARÁMETRO	VALOR OBTENIDO DEL INÓCULO	VALORES EN LA LITERATURA
Nitrógeno Total	58,00 mg/L	50-200 mg/L (Rango típico; Jiang et al., 2019)
Fósforo (P)	25,02 mg/L	30 - 500 mg/L (Rango típico; Mazzini et al., 2020)
Níquel (Ni)	0,37 mg/L	0,1-1,0 mg/L (Rango óptimo recomendado; Takashima & Speece, 1989)
Cobalto (Co)	0,27 mg/L	0,05-0,5 mg/L (Rango óptimo recomendado; Takashima & Speece, 1989)
Molibdeno (Mo)	17,4 mg/L	0,01-1,0 mg/L (Rango mínimo requerido; Cai et al., 2018)

El análisis de macronutrientes realizado al inóculo mostró que el contenido de nitrógeno total indica un nivel suficiente de aporte para el crecimiento celular. Este contenido contribuye a balancear la DA de RA, típicamente ricos en carbohidratos, reduciendo el riesgo de deficiencia nitrogenada y asegurando un metabolismo más estable (Chen et al., 2008; Yenigün & Demirel, 2013).

El contenido de fósforo es indispensable para la síntesis de ATP y biomoléculas celulares (Batstone et al., 2002). En el inóculo resultó ligeramente inferior al rango reportado en la literatura para sistemas anaerobios convencionales (Mazzini et al., 2020). No obstante, esta concentración puede considerarse adecuada y funcional, ya que el fósforo normalmente no es un nutriente limitante en la DA (Batstone et al., 2002). Además, la presencia de reservas intracelulares y el aporte de fósforo proveniente del sustrato compensan posibles deficiencias iniciales.

Respecto al análisis de micronutrientes mostró concentraciones relevantes para la estabilidad de la DA. En cuanto a los metales traza (Ni y Co) se encuentran dentro de los intervalos reportados en la literatura, considerados como adecuados para sostener la actividad de enzimas metanogénicas clave, como la metil-coenzima M reductasa. Estudios han demostrado que la carencia de estos elementos, en especial del cobalto, puede limitar la conversión de AGVs y compromete la estabilidad del proceso (Banks et al., 2012; Takashima & Speece, 1989). Así mismo, Wintsche et al., (2016) evidenciaron que la disponibilidad de elementos traza puede modificar la ruta predominante de la metanogénesis, afectando directamente la eficiencia del sistema.

En cuanto al molibdeno, los rangos considerados óptimos en la literatura son aquellos que estimulan el crecimiento bacteriano y la actividad hidrolítica y acidogénica; aunque la concentración medida en el inóculo supera dichos valores, en lodos industriales su acumulación puede actuar como reserva metabólica para enzimas dependientes de este elemento (Fermoso, 2019). La concentración total de molibdeno medida en el inóculo no necesariamente refleja su biodisponibilidad real, ya que estudios sobre dinámica de elementos traza en digestores muestran que, aun con variaciones importantes en la concentración total de Mo, la actividad metanogénica puede mantenerse estable gracias a la resiliencia de las comunidades microbianas y a su capacidad de adaptarse a cambios en la disponibilidad de micronutrientes (Wintsche et al., 2016).

En síntesis, aunque el inóculo presentó una alcalinidad total elevada, dentro del rango esperado para lodos granulares industriales y asociada con una alta capacidad buffer (Ripley et al., 1986; Holliger et al., 2016), el análisis de los índices de alcalinidad indica que la fracción disponible para amortiguar variaciones de pH era insuficiente frente al nivel de AGVs presentes. Lo que sugiere que, pese a su composición fisicoquímica favorable en términos de nutrientes y materia orgánica biodegradable, el inóculo mostraba una capacidad tampón comprometida. Esta situación no invalida su potencial como inóculo en DA, pero sí indica que su desempeño inicial podría depender de estrategias operativas que moderen la carga orgánica o incrementen la alcalinidad disponible, especialmente en sistemas alimentados con RA ricos en carbohidratos.

7.1.2. Caracterización de las actividades metabólicas

- Actividad Hidrolítica Específica

La Actividad Hidrolítica Específica (AHE) se determinó mediante un ensayo con dos tratamientos: uno con celulosa como sustrato (AHE-S) y otro constituido únicamente por agua destilada como tratamiento blanco (AHE-B). La Tabla 7 presenta las condiciones iniciales y finales registradas para cada tratamiento.

Tabla 7. Valores de pH al inicio y al final, y concentración final de AGVs en los tratamientos del ensayo de AHE.

Tratamiento	Condiciones iniciales		Condiciones finales	
	pH inicial	pH de arranque	pH Final	AGVs (mEq/L)
AHE - S	7.93	7,11	7,77	10,84
AHE - B	7,91	7,00	7,12	3,48

pH inicial: medido antes de corregir el pH; *pH de arranque*: valor después de la corrección de pH; *pH final*: valor medido al finalizar el ensayo a los 5 días.

El tratamiento con celulosa (AHE-S) inició con un pH de arranque cercano a 7,0, valor coherente con el rango óptimo para la actividad hidrolítica en DA (6,8–7,2), donde las enzimas

extracelulares presentan mayor eficiencia (Appels et al., 2011; Holliger et al., 2016). De igual manera esto indica que el sistema se preacondicionó con capacidad tampón suficiente; por tanto, los cambios observados en el pH responden principalmente a la dinámica hidrolítica.

Adicionalmente, el tratamiento AHE - S, tuvo un incremento en la concentración de AGVs, lo que indica una hidrólisis activa que generó compuestos solubles posteriormente fermentables. Este comportamiento es coherente con lo reportado en sistemas mesofílicos con lodos granulares, donde una mayor hidrólisis suele asociarse a incrementos moderados de AGVs (Regueiro et al., 2012; Zou et al., 2023). A pesar de esta acumulación, el pH final se mantuvo en un rango neutro, evidenciando que el inóculo posee suficiente capacidad tampón para evitar acidificación (Zhou et al., 2011; Holliger et al., 2016).

En contraste, el tratamiento blanco (AHE-B), presentó una baja acumulación de AGVs y cambios mínimos en el pH, lo que confirma que la hidrólisis en ausencia de sustrato es limitada. Este tratamiento se utilizó exclusivamente para cuantificar la actividad endógena del inóculo; por lo tanto, los valores de AHE reportados corresponden a la actividad neta, obtenida al restar la actividad del blanco al tratamiento con sustrato, siguiendo lo recomendado por Raposo et al., (2011).

En la Figura 8, se presenta la producción de azúcares reductores durante el ensayo de AHE del inóculo.

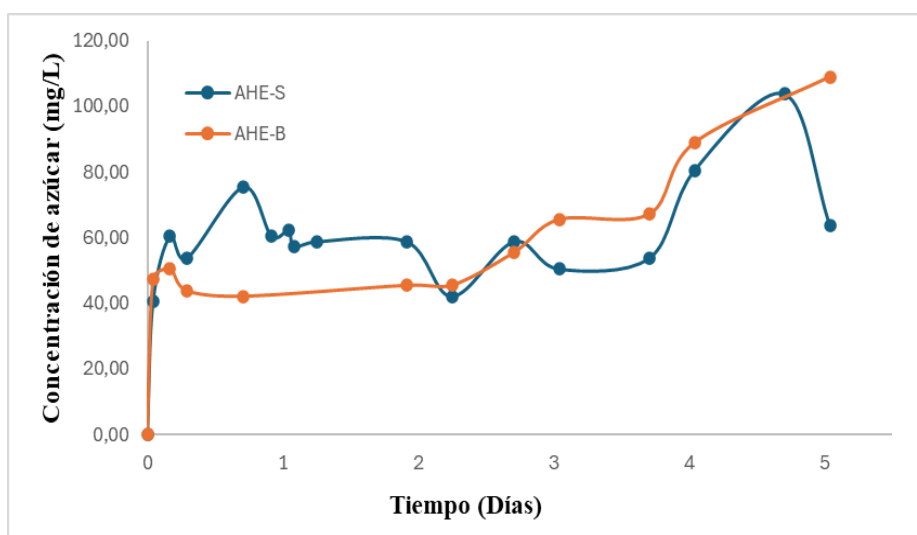


Figura 8. Producción de azúcares reductores en el ensayo de AHE-S y AHE-B

Se observó un incremento inicial en la concentración de azúcares reductores tanto en el tratamiento con celulosa como en el blanco, reflejando la liberación rápida de carbohidratos solubles por acción hidrolítica del inóculo. En el tratamiento con celulosa, la curva muestra posteriormente oscilaciones que indican la despolimerización secuencial de fracciones con distinta biodegradabilidad, mientras que el aumento final hacia el día 5 sugiere una segunda fase de hidrólisis asociada a componentes más complejos. Esta dinámica no lineal coincide con lo descrito para procesos hidrolíticos controlados por disponibilidad enzimática y estructura

del sustrato. La mayor liberación acumulada en el tratamiento AHE - S confirma la elevada capacidad hidrolítica del lodo granular, favorecida por su composición microbiana y estabilidad fisicoquímica (Vavilin et al., 2008; Tonanzi et al., 2021).

En el tratamiento AHE - B, se observa un incremento progresivo y sostenido de azúcares reductores (aumento uniforme), reflejando la hidrólisis basal de la materia orgánica endógena del inóculo. Este comportamiento está asociado con la autólisis celular y la solubilización de polímeros intracelulares, procesos típicos en ausencia de sustratos frescos que generan una liberación lenta pero constante de compuestos solubles (Appels et al., 2011; Mata-Alvarez et al., 2011).

A partir de la producción de azúcares en función del tiempo se determinaron las pendientes máximas para los tratamientos. Estas pendientes representan la tasa máxima de liberación de azúcares reductores y se usaron como base para calcular la AHE mediante la ecuación 5. Los valores empleados y los resultados se resumen en la Tabla 8.

Tabla 8. Resultados de la Actividad Hidrolítica Específica.

Tratamiento	PENDIENTES - LODOS			AHE por tratamiento (gDQO/gSV*DÍA)	AHE neta (ΔAHE) (gDQO/gSV*DÍA)
	X	Y	Pendiente máx (g/l * días)		
AHE-S	0,042	40,500	0,972	0,696	0,650
	0,000	0,000			
AHE-B	3,708	67,170	0,065	0,047	
	4,042	88,830			

AHE neta (Δ AHE): valor final reportado y representa la actividad hidrolítica real del sistema, obtenida restando la actividad endógena del inóculo (AHE-B) a la AHE medida en el tratamiento con sustrato (AHE-S).

En el tratamiento AHE - S se obtuvo una AHE que se ubica en el límite inferior del rango reportado en la literatura ($0,6-3,0 \text{ gDQO} \cdot \text{gSV}^{-1} \cdot \text{día}^{-1}$ (Appels et al., 2011; Regueiro et al., 2012; Cerón-Vivas et al., 2019)). Esta actividad refleja una hidrólisis efectiva, aunque moderada, atribuible a la disponibilidad de polímeros hidrolizables y a la capacidad enzimática del lodo granular (Ceron-Vivas et al., 2019).

Por otra parte, en el tratamiento AHE - B se obtuvo una AHE correspondiente a la activación endógena mínima de la biomasa y no a una hidrólisis estimulada por aporte externo. En la literatura se destaca que este tipo de liberación endógena es habitual en ensayos sin sustrato y refleja la liberación natural de compuestos solubles a partir de procesos de autólisis y renovación celular, habituales en digestatos estabilizados (Mata-Alvarez et al., 2014; Vavilin et al., 2008).

La diferencia entre ambos tratamientos representa la actividad neta de hidrólisis inducida por el sustrato, una medida directa de la fracción realmente estimulada por el aporte orgánico externo. Este incremento sustancial respecto a la actividad endógena evidencia que el inóculo respondió de manera favorable a la adición de sustrato, mostrando capacidad de solubilización

sostenida y un equilibrio adecuado entre liberación y consumo de materia soluble (Mata-Alvarez et al., 2014).

Comparando con otros estudios, el valor obtenido ubica al lodo granular dentro del rango típico de biomasas mesofílicas activas, aunque por debajo de sistemas optimizados donde se reportan valores superiores a $2 \text{ gDQO} \cdot \text{gSV}^{-1} \cdot \text{día}^{-1}$ (Regueiro et al., 2012; Cerón-Vivas et al., 2019). Estas diferencias pueden relacionarse con la naturaleza del sustrato, la concentración de sólidos o la heterogeneidad granular, que limita la penetración enzimática (Zou et al., 2023). Además, se puede atribuir a que en el ensayo se empleó una solución semisólida, la cual reduce el contacto sustrato-inóculo y, por ende, la velocidad de hidrólisis (Pavlostathis & Giraldo-Gómez, 1991; Veecken & Hamelers, 2000). Aun así, la AHE obtenida evidencia que el lodo granular conserva una capacidad hidrolítica significativa y un buen potencial para sostener un proceso de DA estable y eficiente.

- Actividad Acidogénica Específica

La Actividad Acidogénica Específica (AAE) se determinó mediante un ensayo con dos tratamientos: uno con glucosa como sustrato (AAE-S) y otro constituido únicamente por agua destilada como tratamiento blanco (AAE-B). La Tabla 9 presenta las condiciones iniciales y finales registradas para cada tratamiento.

Tabla 9. Valores de pH al inicio y al final, y concentración final de AGVs en los tratamientos del ensayo de AAE

Tratamiento	Condiciones iniciales		Condiciones finales	
	pH inicial	pH de arranque	pH Final	AGVs (mEq/L)
AAE-S	7,93	7,11	6,32	4,58
AAE-B	7,82	7,06	7,13	2,40

pH inicial: medido antes de corregir el pH; *pH de arranque*: valor después de la corrección de pH; *pH final*: valor medido al finalizar el ensayo a los 2 días.

El pH de arranque en ambos tratamientos se mantuvo cercano a la neutralidad, condición óptima para el metabolismo acidogénico y para conservar una capacidad tampón adecuada durante la formación de AGVs, lo cual favorece el desarrollo de la AAE (Holliger et al., 2016; Mainardis et al., 2020).

En el tratamiento con glucosa (AAE-S), el pH final disminuyó, acompañado de una mayor acumulación de AGVs, este comportamiento es consistente con la fermentación acidogénica activa descrita en la literatura, donde la conversión de azúcares fácilmente biodegradables genera incrementos de AGVs y un consecuente descenso del pH (Angelidaki & Ellegaard, 2003; Batstone et al., 2002). El descenso moderado del pH sugiere que la fermentación alcanzó un punto de equilibrio o inhibición parcial debido al agotamiento del sustrato disponible,

fenómeno reportado en sistemas con carbohidratos simples (Valentin & Białowiec, 2024; Wu et al., 2022a; Donatelli et al., 2024).

En contraste, el tratamiento blanco (AAE-B) mantuvo un pH final cercano a la neutralidad y generó una baja concentración de AGVs, lo que indica que la producción observada provino principalmente de procesos endógenos del lodo, como la liberación de compuestos celulares o materia orgánica soluble residual (Wu et al., 2022a). Este tratamiento se utilizó como referencia para interpretar la respuesta acidogénica inducida por la glucosa en el tratamiento AAE-S.

La comparación entre tratamientos evidencia que la adición de glucosa estimuló la fermentación acidogénica, generando una mayor producción de AGVs y consumiendo parcialmente la alcalinidad del medio. Aun así, el pH no descendió a valores extremos, lo que confirma que el inóculo aportó una capacidad tampón suficiente para tolerar la acidificación y mantener la estabilidad del sistema (Batstone et al., 2002; Rivera-Salvador et al., 2015).

En la Figura 9, se presenta el consumo de la concentración de azúcares reductores durante el ensayo diseñado para evaluar la AAE del inóculo.

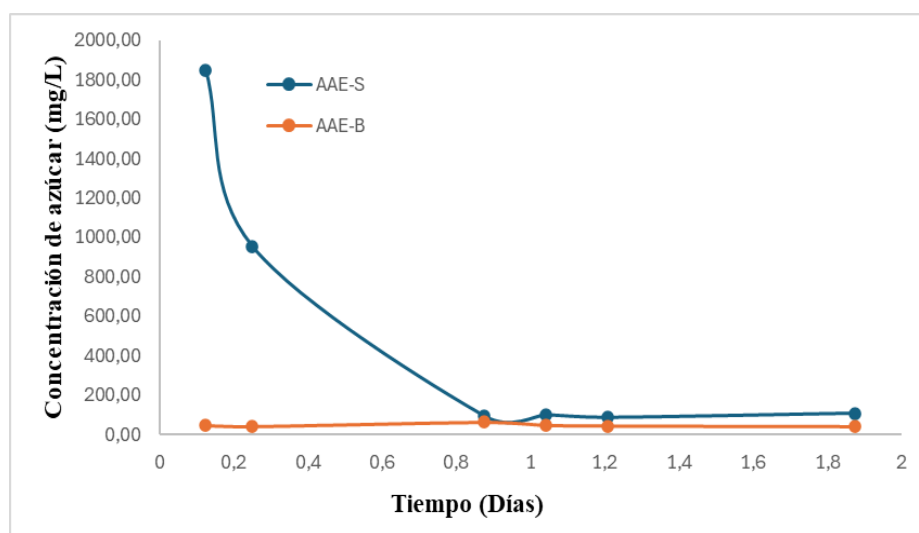


Figura 9. Consumo de azúcares reductores en el ensayo de AAE-S y AAE-B

El tratamiento AAE - S mostró un descenso rápido de azúcares reductores desde el inicio, alcanzando valores cercanos a cero al finalizar el primer día. Esta caída pronunciada indica una fermentación acidogénica activa, en la cual los microorganismos consumieron rápidamente los azúcares disponibles y generaron AGVs de manera eficiente. En contraste, el tratamiento AAE - B permaneció prácticamente constante, dado que el inóculo no libera cantidades significativas de azúcares por sí mismo y, por tanto, no muestra consumo apreciable. Las ligeras variaciones observadas pueden ser atribuibles a liberación mínima de compuestos celulares, pero sin relevancia fermentativa. En conjunto, la marcada diferencia entre ambos tratamientos evidencia que la AAE del inóculo solo se expresa plenamente cuando se provee un carbohidrato fermentable (Laureys et al., 2021; Valentin & Białowiec, 2024).

Las pendientes máximas de las curvas de concentración permitieron determinar la tasa de consumo de azúcares, la cual se utilizó como base para el cálculo de la AAE con la ecuación 5. Los datos experimentales utilizados, así como los valores calculados de actividad acidogénica, se presentan en la Tabla 10.

Tabla 10. Datos experimentales de la Actividad Acidogénica Específica

Tratamiento	PENDIENTES - LODOS			AAE (gDQO/gSV*DÍA)
	X	Y	Pendiente máx (g/l/días)	
AAE-S	0,125	1847,920	7,144	5,116
	0,250	954,920		
AAE-B	0,250	42,170	0,035	0,025
	0,875	63,830		

La AAE en el tratamiento con glucosa es elevada, lo que sugiere un potencial fermentativo sobresaliente del inóculo (Poirrier, 2005; Meegoda et al., 2018; Venkiteshwaran et al., 2016). Esto puede explicarse por una alta biomasa activa del inóculo, mayor disponibilidad de sustratos fácilmente fermentables y/o un diseño experimental que favoreció la fermentación (Parra-Orobio et al., 2018, 2025; Casallas-Ojeda et al., 2020; Kim et al., 2017). Además, con sustratos solubles como glucosa, la producción acidogénica suele alcanzar valores altos cuando la carga orgánica, la alcalinidad y la adaptación microbiana son adecuadas (Burbano, 2020). Adicionalmente la fracción líquida en el sistema puede favorecer el contacto inicial inóculo-sustrato y explicar valores elevados de AAE (Regueiro et al., 2012; Parra-Orobio et al., 2018).

En contraste, el valor presentado en el tratamiento AAE - B es inferior a los antecedentes anteriormente descritos, resultado esperable ya que sin sustrato exógeno el sistema depende únicamente de la degradación de compuestos endógenos presentes en el inóculo. La baja pendiente obtenida confirma que el inóculo por sí solo no genera un consumo apreciable de azúcares, y que la acidogénesis ocurre únicamente cuando se provee un sustrato fermentable disponible (Laureys et al., 2021; Valentin & Białowiec, 2024).

La diferencia de los resultados de la AAE entre tratamientos se debe principalmente al tipo y concentración del sustrato empleado y al estado de adaptación de la biomasa, factores que han sido reportados como determinantes en la eficiencia de arranque y producción de metano en digestores anaerobios (Auphimai et al., 2014).

- Actividad Metanogénica Específica

La Actividad Metanogénica Específica (AME) se determinó mediante un ensayo con dos tratamientos: uno con mezcla de AGVs como sustrato (AME-S) y otro constituido únicamente por agua destilada e inóculo como tratamiento blanco (AME-B). La Tabla 11 presenta las condiciones iniciales y finales registradas para cada tratamiento.

Tabla 11. Valores de pH al inicio y al final, y parámetros finales (AGVs, alcalinidad y DQO) en los tratamientos del ensayo de AME.

Tratamiento	Condiciones iniciales		Condiciones finales				
	pH inicial	pH de arranque	pH Final	AGVs (mEq/L)	Alcalinidad total (mg CaCO ₃ /L)	Alcalinidad bicarbonática (mg CaCO ₃ /L)	DQO (mg/L)
AME-S	8,40	7,08	8,14	13,71	4025,00	445,00	401,53
AME-B	8,00	7,09	6,77	0,6	265,00	145,00	283,36

pH inicial: medido antes de corregir el pH; *pH de arranque*: valor después de la corrección de pH; *pH final*: valor medido al finalizar el ensayo a los 13 días.

La AME cuantifica la capacidad del consorcio metanogénico para transformar AGVs en metano. Para obtener una medición representativa, el pH de arranque se ajustó cerca de la neutralidad, evitando que las arqueas deban destinar energía a estrés o adaptación, lo cual estabiliza la fase metanogénica y favorece tasas de conversión más confiables (Oliveira et al., 2024; Hori et al., 2006).

En el tratamiento AME-S, el pH final se mantuvo cercano al valor inicial, coherente con la conversión activa de AGVs a metano. Este proceso consume protones y genera bicarbonato como subproducto, incrementando la alcalinidad total y bicarbonática del sistema (Wu et al., 2022b; Lü et al., 2014). La elevación simultánea de la alcalinidad y la reducción de acidez libre indica un proceso metanogénico eficiente, donde la tasa de conversión de AGVs supera su acumulación y previene la acidificación del medio (Korsak & Moreno, 2006; Torres et al., 2010).

En contraste el tratamiento AME-B, parte de la biomasa del inóculo sostuvo una actividad fermentativa endógena que produjo pequeñas cantidades de ácidos y redujo la alcalinidad disponible, lo que explica el ligero descenso observado en el pH final. No obstante, la AME fue nula en este tratamiento, evidenciando que la biomasa no logró convertir los AGVs generados en metano. Este comportamiento evidencia que la estabilidad del pH depende del balance entre producción y consumo de AGVs, y de la reserva alcalina disponible en el sistema (Laureys et al., 2021; Valentin & Białowiec, 2024)

Es importante señalar que los valores presentados corresponden a la AME neta, calculada siguiendo el procedimiento de corrección mediante la sustracción de la actividad endógena del inóculo. Sin embargo, dado que dicha actividad fue nula en el tratamiento blanco, la AME neta coincide con los valores registrados directamente para el tratamiento AME - S. La Figura 10 presenta el comportamiento de la AME neta durante el ensayo.

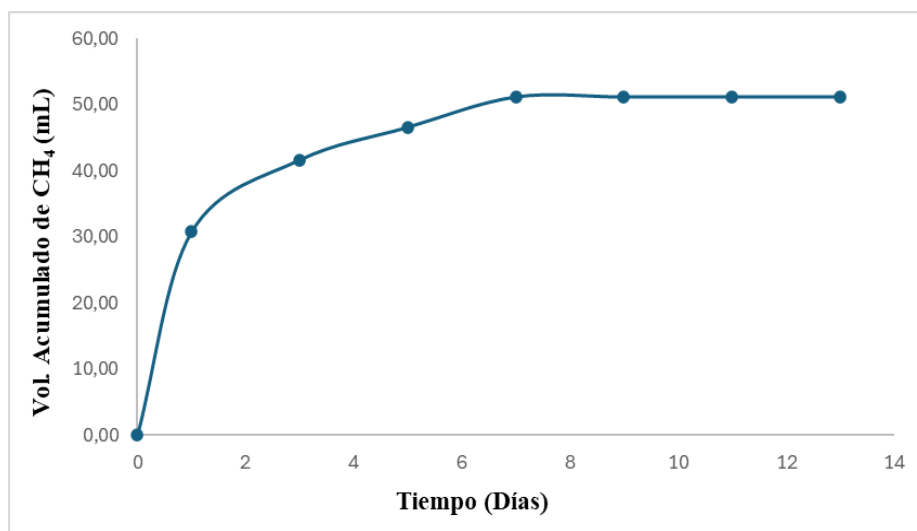


Figura 10. Producción de CH₄ ml en el ensayo de AME.

A partir de la figura se puede apreciar que el inóculo granular produjo metano rápidamente desde el inicio del experimento. La curva muestra una ascensión pronunciada en las primeras 24 horas, alcanzando aproximadamente 30 mL CH₄ acumulados al cabo de un día, y posteriormente se estabiliza hacia una meseta cercana a los 50 mL CH₄, lo que indica que la mayor parte del sustrato fácilmente convertible en metano fue consumida durante la fase inicial. Este comportamiento es característico de los sistemas con alta AME, donde la conversión de los AGVs ocurre de forma rápida y eficiente gracias a la abundancia de arqueas metanogénicas activas (Korsak & Moreno, 2006).

Según Raposo et al., (2011), el patrón de la figura refleja la cinética típica de la DA, en la cual el sustrato biodegradable disponible se agota rápidamente y la tasa de producción se reduce hasta alcanzar el máximo potencial metanogénico. En consecuencia, la rápida generación de metano observada confirma que el lodo granular industrial posee una alta capacidad de conversión instantánea, propia de inóculos bien adaptados y con elevada densidad microbiana.

La AME se calculó a partir de la pendiente máxima de la curva de producción de metano en función del tiempo, la cual representa la tasa específica de generación de metano por unidad de biomasa activa. Donde la tasa máxima de producción de metano fue utilizada para calcular la AME. Los valores experimentales empleados en el cálculo con la ecuación 6 y 7, así como los resultados obtenidos, se resumen en la Tabla 12.

Tabla 12. Datos experimentales de la actividad metanogénica

Tratamiento	PENDIENTES - LODOS			AME gDQO/g SV * día
	X	Y	Pendiente máx (ml/día)	
AME-S	0	0	30,75	0,311
	1	30,75		

El resultado obtenido para la AME del lodo granular se sitúa por encima del rango de referencia (0,10–0,25 g DQO·g SV⁻¹·día⁻¹), lo que evidencia una capacidad metanogénica elevada y sugiere un inóculo adaptado al sustrato y con alta densidad microbiana efectiva bajo condiciones mesofílicas. Este desempeño es consistente con lodos granulares de alta actividad, reportados en la literatura con valores típicos de 0,25–0,35 g DQO·g SV⁻¹·día⁻¹ para biomasas granulares adaptadas (Hussain & Dubey, 2015; Longaretti et al., 2019).

En términos operativos, una AME en este nivel implica mayor capacidad para asimilar cargas orgánicas sin pérdida de rendimiento, siempre que se mantenga el control de pH y alcalinidad y no se observe acumulación sostenida de AGVs. La interpretación es coherente con los indicadores fisicoquímicos del inóculo y los índices de alcalinidad. En conjunto, estos resultados caracterizan una biomasa granular altamente activa y estable, idónea como inóculo para DA de RA.

7.2. Ensayos de PBM bajo diferentes relaciones S/I

7.2.1. Caracterización del sustrato

La tabla 13 presenta la caracterización fisicoquímica inicial de los RA, empleados como sustrato para los ensayos de PBM. Estos parámetros constituyen indicadores de la capacidad metabólica y de la resistencia a fenómenos de inhibición en el proceso de DA.

Tabla 13. Caracterización de pH, AGVs, alcalinidad, DQO y sólidos del sustrato.

Muestra	pH (UND)	AGVs (mEq/L)	AT (mg CaCO ₃ /L)	DQO (mg/L)	ST (g/g)	SV (g/g)	SV/ST
RA	4,83	91,2	4320,00	158971,58	0,18	0,16	90%

A partir de los datos obtenidos se observa que el sustrato es ligeramente ácido, lo cual es característico de los RA ricos en carbohidratos y proteínas (Zhang et al., 2014); esta condición favorece la rápida formación de AGVs en etapas tempranas y puede comprometer la fase metanogénica si no se corrige la neutralidad de la mezcla antes o durante el arranque (Aquino, 2007; Appels et al., 2011).

El valor de DQO refleja una alta carga orgánica, con un potencial de conversión a biogás. Sin embargo, concentraciones de este orden requieren un estricto control de la carga orgánica volumétrica y, en muchos casos, dilución del sustrato para prevenir la acumulación de intermediarios (AGVs) y la caída del pH (Chen et al., 2008).

La relación SV/ST (90%) confirma una alta fracción orgánica biodegradable, coherente con las características propias de los RA. Esta composición facilita la hidrólisis y fermentación rápida, promoviendo una etapa acidogénica intensa (Zhang et al., 2014). No obstante, para garantizar la estabilidad del proceso, se recomienda mantener una adecuada capacidad amortiguadora. En este ensayo, los valores obtenidos arrojan una relación AGVs/AT = 0,02, por lo que se cumple la recomendación (< 0,3) y se evidencia buena capacidad tampón (Li et al., 2014).

En conjunto, los resultados evidencian que los RA analizados poseen una composición favorable para la DA, con rápida biodegradabilidad y buena estabilidad potencial, siempre que se apliquen estrategias de control en el arranque y en la dosificación de carga orgánica.

7.2.2. Análisis del PBM

Las mezclas preparadas para cada ensayo PBM, correspondientes a las diferentes relaciones Sustrato/Inóculo (S/I), se caracterizan de acuerdo a los parámetros indicados en la tabla 14.

Tabla 14. Caracterización inicial del pH, sólidos, AGVs, alcalinidad e IB en la mezcla S/I en los ensayos de PBM

RELACIÓN S/I	pH (UND)	ST (g/L)	ST (%)	AGVs (mEq/L)	AT (mg CaCO ₃ /L)	AB (mg CaCO ₃ /L)	IB
0,2	7,02	3,24	0,34	5,16	1835,00	1560,00	0,15
0,5	7,16	3,68	0,37	7,56	1760,00	1445,00	0,18
1,0	7,14	4,44	0,44	9,28	1710,00	1600,00	0,06

Los valores iniciales de pH muestran un medio cercano a la neutralidad, adecuado para el desarrollo de las fases hidrolítica, acidogénica y metanogénica. Este comportamiento evidencia el efecto amortiguador del inóculo, el cual compensa la acidez inicial del sustrato descrita previamente, permitiendo condiciones estables para el ensayo PBM (Holliger et al., 2016).

En cuanto a las concentraciones de AGVs, se mantienen dentro de un rango moderado (3,3–6,7 mEq/L), sin superar los umbrales críticos de inhibición (25–33 mEq/L) (Amha et al., 2018; Patel et al., 2021), lo que indica una actividad metabólica activa durante las primeras etapas de fermentación. En las relaciones S/I de 0,2 y 0,5, la alcalinidad total y bicarbonática mostraron ser suficientes para neutralizar los AGVs producidos, como lo evidencian los valores del índice buffer (Rojas, 1987). Sin embargo, en la relación S/I de 1,0, el IB muestra un desbalance lo que sugiere insuficiencia amortiguadora bajo condiciones de mayor carga orgánica.

Respecto al contenido de ST, se mantiene estable entre las relaciones y se ubican dentro del rango característico de la DA húmeda definida por presentar menos del 10% de ST (Zhang et al., 2014; Mata-Alvarez, 2011). Este tipo de DA presenta mayor homogeneidad y facilidad de mezcla, lo que favorece el contacto entre microorganismos y sustrato y disminuye la probabilidad de formación de zonas muertas. No obstante, requiere mayor volumen de reactor y un consumo significativo de agua de dilución, lo que incrementa la producción de digestato y los costos de manejo. En contraste, la DA semiseca y seca (20–40% y >40% de ST, respectivamente) reduce considerablemente la necesidad de agua, aumenta la carga orgánica tratada por unidad de volumen y permite alcanzar mayores rendimientos de metano debido a la mayor concentración de materia orgánica disponible (Zhang et al., 2014). Sin embargo, estos sistemas presentan viscosidad elevada y riesgos de inhibición.

Para el cálculo del PBM, el volumen de metano se obtuvo a partir del biogás total registrado en cada reactor. De acuerdo con lo establecido en la metodología, se asumió que el 70 % del

biogás correspondía a metano (Camara Moguel et al., 2014; Ćurčić et al., 2025; IEA Bioenergy, 2018; Meegoda et al., 2025); por lo tanto, el volumen corregido se obtuvo multiplicando el biogás total por 0,70. Adicionalmente, el valor reportado corresponde al PBM neto, ya que al volumen de metano del tratamiento con RA se le restó la producción endógena del inóculo obtenida en el blanco. Aunque la curva del PBM blanco no se presenta en la figura, sus datos sí fueron considerados en el cálculo, de manera que los valores mostrados reflejan únicamente el metano generado a partir del sustrato añadido y no el originado por la actividad propia del lodo.

Los datos de presión registrados día por medio en cada reactor, se presentan en el Anexo 1 y constituyen la base para el cálculo del PBM producido en cada relación S/I. En la Figura 11 se presenta la evolución del Potencial Bioquímico de Metano para las relaciones S/I 0,2; 0,5 y 1,0 $\text{gSV}_{\text{sustrato}}/\text{gSV}_{\text{Inóculo}}$, promediadas a partir de un ensayo inicial y sus dos réplicas experimentales, junto con la desviación estándar correspondiente.

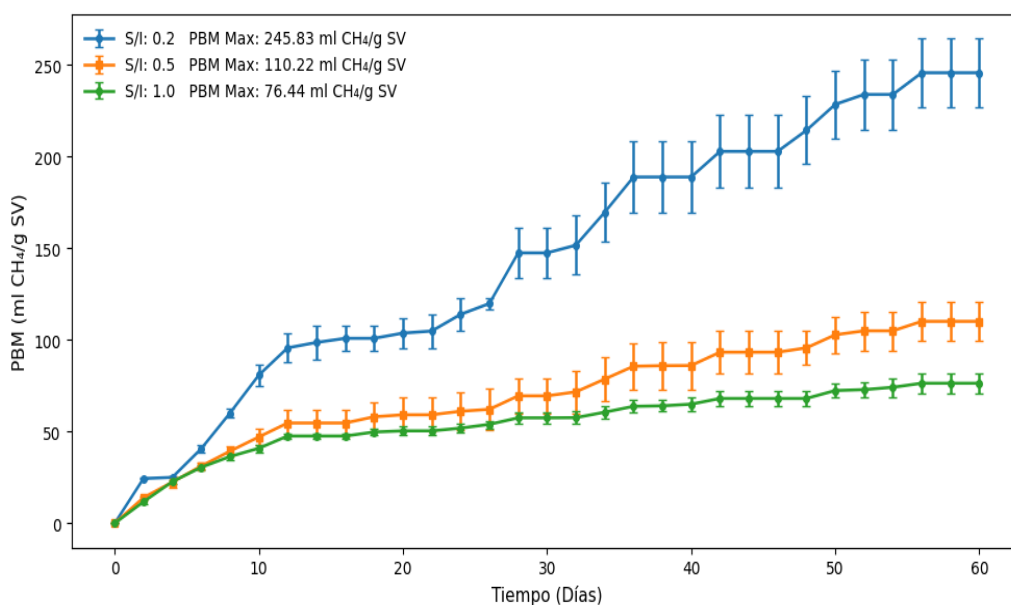


Figura 11. Potencial bioquímico de metano (PBM) para las relaciones S/I: 0,2, 0,5 y 1,0 $\text{gSV}_{\text{sustrato}}/\text{gSV}_{\text{inóculo}}$ promediadas.

Durante los primeros 6–8 días, todos los tratamientos muestran un comportamiento similar, indicando que predomina la hidrólisis de las fracciones más fácilmente degradables, seguida por la acidogénesis y acetogénesis tempranas. La similitud en las pendientes iniciales sugiere que, pese a las diferencias en la carga orgánica, los microorganismos procesaron sin dificultad los compuestos solubles presentes. Este patrón concuerda con Batstone et al., (2002) y Angelidaki et al., (2009), quienes señalan que la etapa inicial de la DA está dominada por la rápida transformación de compuestos solubles y semi solubles, generando curvas similares entre tratamientos independientemente del S/I.

Posteriormente, entre los 10 y 30 días se evidencia una diferenciación marcada entre las relaciones S/I. En esta fase, la hidrólisis pasa a actuar sobre fracciones más complejas, volviéndose la etapa limitante una vez agotados los compuestos solubles, tal como describen

Batstone et al., (2002) y Angelidaki et al., (2009). La mayor pendiente en $S/I = 0,2$ indica una degradación más eficiente de estos polímeros, favorecida por una mayor biomasa disponible por unidad de sustrato (Appels et al., 2011; Li et al., 2014). En contraste, $S/I = 0,5$ y $1,0$ presentan degradaciones menores y similares, atribuibles a la acumulación de AGVs y al retraso de la actividad metanogénica, como señalan Chen et al., (2008), aun cuando la capacidad amortiguadora del sistema se mantuvo adecuada.

Un aspecto relevante es el nuevo incremento en la pendiente alrededor del día 30, visible sobre todo en el tratamiento $S/I = 0,2$. Este aumento indica que aún quedaban presentes polímeros y compuestos de degradación lenta que continuaron siendo hidrolizados y convertidos a metano en etapas posteriores. En cambio, en relaciones $S/I = 0,5$ y $1,0$ se da un aumento menos marcado, lo que sugiere que la fracción remanente de sustrato era más difícil de degradar y/o que la actividad metanogénica había sido inhibida parcialmente (Angelidaki et al., 2009; Chen et al., 2008; Appels et al., 2011).

Finalmente, hacia el día 50, todos los tratamientos muestran una clara tendencia a la estabilización, reflejando el agotamiento del sustrato biodegradable disponible y el inicio de la fase estacionaria.

En cada relación S/I , las barras de desviación estándar se mantienen con variación interna baja, lo que evidencia reproducibilidad entre réplicas dentro de cada ensayo. Las diferencias en la magnitud de la desviación entre tratamientos son esperables por la carga orgánica efectiva y la dinámica acidogénica propias de cada relación S/I . También debido a la heterogeneidad del sustrato, micro variaciones del lodo granular (difusión interna) y factores operativos (homogeneidad de la mezcla ligeramente distintas) (Angelidaki et al., 2009).

La relación $S/I = 0,2$ presentó mayor producción de PBM ($245,83 \text{ ml CH}_4/\text{g SV}$), indicando una conversión más eficiente. En contraste, los tratamientos con $S/I = 0,5$ y $1,0$ mostraron respectivamente valores de $110,22$ y $76,44 \text{ ml CH}_4/\text{g SV}$ (rendimientos inferiores), asociados a mayor acumulación de AGVs y menor reserva alcalina, coherente con los resultados previos de caracterización donde se mostraba una mayor concentración de AGVs. Este comportamiento confirma que proporciones bajas de S/I favorecen la estabilidad del proceso y la eficiencia metanogénica, al mantener una adecuada relación entre microorganismos y carga orgánica (Appels et al., 2011; Li et al., 2014; Chen et al., 2008).

La Figura 12 presenta los diagramas de caja (boxplots) correspondientes a las relaciones S/I evaluadas, permitiendo visualizar gráficamente la dispersión y distribución de las relaciones entre sí.

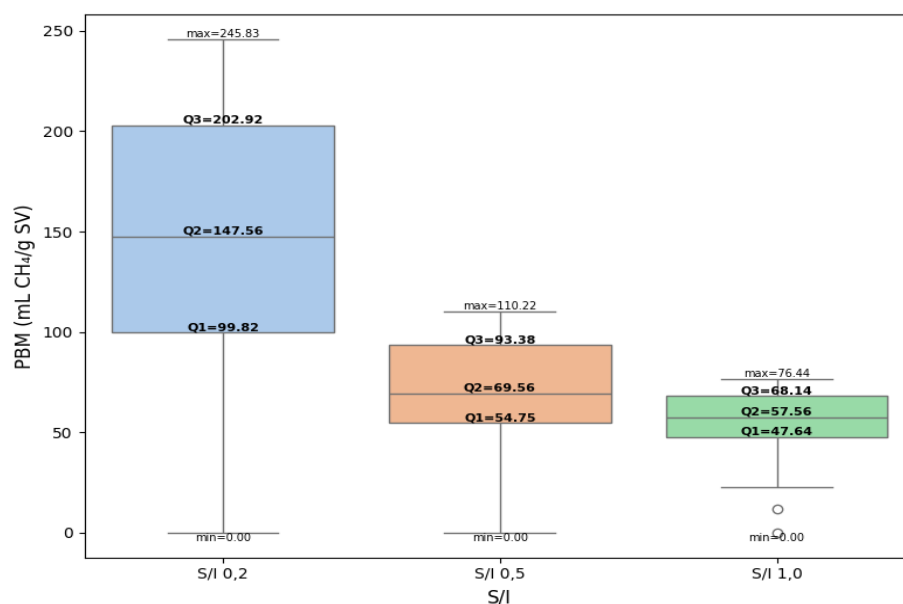


Figura 12. Comparación de la producción de metano entre las relaciones sustrato/inóculo evaluadas mediante BOXPLOT.

Los diagramas de caja (boxplots) de la producción acumulada de metano para las tres relaciones S/I evaluadas, muestra las medianas (Q2), los rangos intercuartílicos (Q1–Q3), los valores máximos y mínimos y la dispersión total de los datos experimentales.

El patrón estadístico evidencia que relaciones S/I bajas mostraron la mediana de PBM más alta y un rango intercuartílico amplio, indicio de alta actividad metanogénica y mayor variabilidad entre réplicas. Al aumentar la relación S/I, las distribuciones se vuelven más compactas y concentradas, lo que sugiere menor producción de metano, pero comportamiento más estable, probablemente asociado a acumulación de AGVs e inhibición parcial de la fase metanogénica. Este patrón concuerda con Angelidaki et al., (2009) y Raposo et al., (2011), quienes señalan que bajas relaciones S/I mantienen el equilibrio entre fases acidogénica y metanogénica y optimizan la producción de metano.

Para verificar los supuestos estadísticos antes del análisis comparativo, se evaluó la normalidad y la homogeneidad de varianzas de los datos de PBM correspondientes a las diferentes relaciones S/I mediante las pruebas de Shapiro–Wilk y Levene, respectivamente (Shapiro & Wilk, 1965; Levene, 1960).

Los resultados del ensayo de normalidad mostraron valores de p de 0,0923 para la relación S/I = 0,2; 0,1415 para S/I = 0,5; y 0,0055 para S/I = 1,0. En el caso de la relación S/I = 1,0, el valor de $p < 0,05$ implica el rechazo de la hipótesis nula de normalidad, por lo que los datos no siguen una distribución normal (Ghasemi y Zahediasl, 2012). Por el contrario, en las relaciones S/I = 0,2 y 0,5, los valores de $p > 0,05$ indican que no se rechaza la hipótesis nula y se puede asumir normalidad en los datos.

Adicionalmente la prueba de Levene arrojó $p = 0,0000$, lo que indica que las varianzas entre los grupos no son homogéneas ($p < 0,05$) (Levene, 1960). Estos resultados justifican el uso de

pruebas no paramétricas para el análisis posterior, como Kruskal–Wallis o Dunn para comparaciones múltiples, de acuerdo con las recomendaciones metodológicas de Zar, (2010) y Ghasemi y Zahediasl, (2012).

Se procedió a aplicar la prueba no paramétrica de Kruskal–Wallis, para comparar el PBM entre las relaciones S/I. A partir de este ensayo se obtuvo un valor de $H = 62,983$ con $p = 0,0000$, dado que $p < 0,05$ y el estadístico $H (62,983)$ supera el valor crítico teórico de la distribución $\chi^2(k - 1; \alpha = 0,05)$, se rechaza la hipótesis nula y se concluye que existen diferencias estadísticamente significativas entre las relaciones S/I evaluadas (Quispe et al., 2019). Posteriormente se realizaron comparaciones múltiples mediante la prueba de Dunn con corrección de Bonferroni para identificar los pares de relaciones S/I con diferencias significativas ($p < 0,05$) (tabla 15) (Dinno, 2015).

Tabla 15. Resultados del análisis no paramétrico de Kruskal–Wallis y post-hoc de Dunn (Bonferroni).

Prueba	Estadístico	p-valor	Interpretación
Kruskal–Wallis	$H = 62,983$	0,0000	Existen diferencias significativas entre los grupos
Dunn (Bonferroni) 0,2-0,5	–	4.83×10^{-07}	Diferencia significativa
Dunn (Bonferroni) 0,2-1,0	–	2.14×10^{-14}	Diferencia significativa
Dunn (Bonferroni) 0,5–1,0	–	3.30×10^{-02}	Diferencia significativa

El análisis post-hoc de Dunn con corrección de Bonferroni muestra que todas las comparaciones por pares presentan diferencias significativas entre sí, evidenciando que el rendimiento metanogénico varía de forma significativa en todas las relaciones S/I (Dinno, 2015).

El análisis estadístico por fases permitió identificar diferencias en la producción de metano. Durante los primeros 8 días no se observaron diferencias significativas entre las relaciones S/I (Kruskal–Wallis, $p = 0.444$), lo cual concuerda con la similitud de las curvas en esta etapa dominada por la hidrólisis rápida de compuestos solubles. En el intervalo de 10 a 30 días sí se detectaron diferencias significativas ($p < 0.001$); la prueba de Dunn mostró que S/I = 0,2 difiere de 0,5 y 1,0, mientras que estas dos últimas no difieren entre sí ($p = 0.278$), lo cual es consistente con la pendiente mayor observada en S/I = 0,2 durante la hidrólisis de polímeros complejos. Finalmente, después del día 30 todas las comparaciones fueron significativas ($p < 0,001$), evidenciando la divergencia entre tratamientos cuando predominan los compuestos de lenta degradación y se acentúa el efecto de la carga orgánica sobre la actividad metanogénica.

Estos resultados indican que a medida que aumenta la carga de sustrato (mayor relación S/I), se observa una disminución del rendimiento metanogénico, lo cual concuerda con el comportamiento mostrado en la Figura 12. Dicho patrón sugiere que relaciones S/I bajas, donde la proporción de inóculo es mayor, favorecen la estabilidad del proceso y una conversión más eficiente del carbono a metano.

Este efecto puede atribuirse a que una mayor presencia de biomasa activa mejora la capacidad tampón del sistema, evitando la acumulación de AGVs y manteniendo el equilibrio entre las fases acidogénica y metanogénica. En contraste, cuando la carga orgánica aumenta, se eleva el riesgo de sobrecarga del sistema y de inhibición parcial de la actividad metanogénica (Vavilin et al., 2008; Angelidaki et al., 2009).

El comportamiento observado es consistente con lo reportado por Angelidaki et al., (2009) y Raposo et al., (2011), quienes señalan que mantener relaciones S/I bajas permite una degradación más completa del sustrato y optimiza la producción de metano.

Los valores de PBM obtenidos con el lodo granular fueron superiores a los reportados para biomasa floculenta bajo condiciones similares. Elbeshbishy et al., (2012) informaron rendimientos de 110–130 mL CH₄/g SV para lodo floculento en relaciones S/I entre 0,25 y 4. En contraste, en este estudio la relación S/I 0,2 alcanzó 245,83 mL CH₄/g SV, y aun cuando el PBM disminuyó en las relaciones 0,5 y 1,0, los valores obtenidos permanecieron por encima de los típicamente observados para lodos floculentos, los cuales son más susceptibles a la inhibición por AGVs. Estos resultados confirman que el lodo granular ofrece mayor estabilidad y mejor desempeño frente a variaciones en la carga orgánica.

Por otra parte, el comportamiento del PBM utilizando un sustrato “ideal” (celulosa), correspondiente al control positivo (CP) de los ensayos, se presenta en la Figura 13. En esta se observa una clara tendencia ascendente y sostenida del PBM para las relaciones S/I 0,2 y 0,5, mientras que la relación S/I 1,0 muestra una producción menor. Este comportamiento confirma que los resultados obtenidos experimentalmente con los RA son válidos, evidenciando que una menor relación S/I promueve una conversión más eficiente a metano y un proceso más estable.

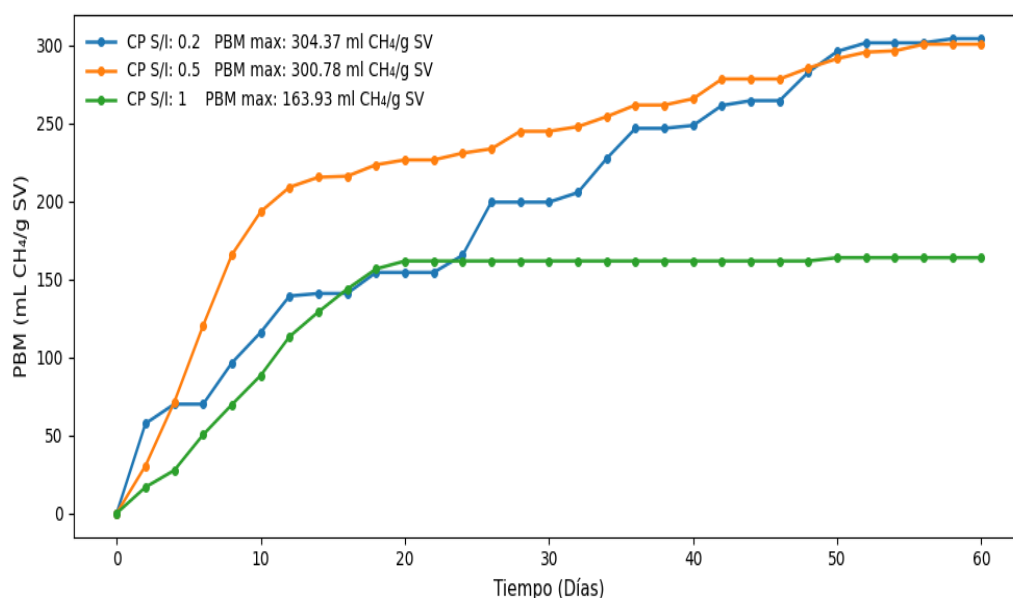


Figura 13. Potencial bioquímico de metano (PBM) para los controles positivos (CP) de cada una de las relaciones.

En el control positivo se observa que durante los primeros días las tres relaciones S/I presentan un comportamiento similar, lo que indica una hidrólisis inicial que ocurre a un ritmo

comparable, tal como ocurre en sustratos altamente biodegradables donde la biomasa no limita la cinética (Batstone et al., 2002; Angelidaki et al., 2009). No obstante, entre los días 5 y 20 la relación $S/I = 0,5$ muestra una mayor velocidad de producción de metano, reflejada en una pendiente más pronunciada; este comportamiento no corresponde a un error experimental, sino a la alta biodegradabilidad de la celulosa, que permite que una carga orgánica moderada estimule temporalmente la actividad celulolítica (Li et al., 2014). En contraste, la curva de $S/I = 0,2$ presenta un patrón escalonado que podría asociarse con breves ajustes en la actividad del consorcio metanogénico debido a la rápida liberación de compuestos solubles. Tras el día 20, las curvas de $S/I = 0,2$ y $0,5$ convergen hacia valores de PBM muy similares, evidenciando una conversión global eficiente, mientras que $S/I = 1,0$ mantiene un rendimiento claramente inferior, coherente con una inhibición sostenida por sobrecarga y acumulación de AGVs (Raposo et al., 2006; Angelidaki et al., 2009; Chen et al., 2008; Vavilin et al., 2008).

El CP validó la eficiencia del ensayo según los criterios de Holliger et al., (2016), quienes establecen que un PBM experimental debe situarse entre el 85 y el 100 % del valor teórico para considerarse aceptable. En este estudio, las relaciones S/I de 0,2 y 0,5 alcanzaron alrededor del 85 % del valor teórico de la celulosa (350 mL CH_4/g SV), lo que sugiere un desempeño adecuado del inóculo y ligeras pérdidas asociadas únicamente a limitaciones cinéticas en las etapas finales. Aunque la relación $S/I = 1,0$ quedó por debajo de este rango, su comportamiento fue coherente con la dinámica esperada en condiciones de sobrecarga, confirmando la funcionalidad del ensayo y la sensibilidad del sistema a variaciones en la relación S/I (Raposo et al., 2006).

La comparación entre el control positivo y los RA muestra que la relación $S/I = 0,5$ se comporta de manera diferente dependiendo del sustrato. En la celulosa, esta relación favoreció temporalmente una mayor velocidad de producción de metano debido a su biodegradabilidad uniforme; sin embargo, en los RA la misma relación resultó inhibitoria, lo que refleja su mayor susceptibilidad a la acidificación y acumulación de AGVs debido a la presencia de compuestos fácilmente fermentables (Li et al., 2011; Zhao et al., 2016). Asimismo, la relación $S/I = 1,0$ del CP mostró un rendimiento relativamente superior al observado en los RA, lo cual confirma que la naturaleza del sustrato influye directamente en la estabilidad del proceso (Angelidaki et al., 2009).

En conjunto, el análisis del CP demuestra que el sistema experimental fue confiable y que las variaciones observadas en la producción de metano responden principalmente a las características intrínsecas del sustrato y la relación S/I , validando la calidad del ensayo según los lineamientos de Holliger et al., (2016).

Al finalizar el ensayo PBM, las mezclas correspondientes a cada relación S/I fueron analizadas para evaluar su estabilidad y el estado final del proceso. Los parámetros fisicoquímicos obtenidos se presentan en la Tabla 16.

Tabla 16. Caracterización fisicoquímica final (pH, AGVs, alcalinidad, IB y DQO) de las mezclas con diferentes relaciones S/I en el ensayo PBM.

Mezclas	pH (UND)	AGVs (mEq/L)	AT (mg CaCO ₃ /L)	AB (mg CaCO ₃ /L)	IB	DQO (mg/L)
S/I 0,2	7,61	11,19	3850,00	3340,00	0,13	1535,41
S/I 0,5	7,81	13,59	3736,67	3396,67	0,09	2221,02
S/I: 1,0	7,69	12,49	3913,00	3393,33	0,13	1661,71

DQO inicial del sustrato: 158971,58 mg/L

La caracterización final de las mezclas S/I respalda los resultados obtenidos en los ensayos de PBM y permite interpretar las diferencias observadas entre los tratamientos. En general, los valores de pH se mantuvieron dentro del rango óptimo para la actividad metanogénica, lo que indica que el sistema conservó condiciones adecuadas durante el proceso. Este comportamiento es coherente con los valores de IB, los cuales se mantuvieron en un rango bajo, aun así indicando una adecuada capacidad amortiguadora frente a la generación de AGVs. Estos valores sugieren que la alcalinidad disponible fue suficiente para mantener el equilibrio ácido–base y evitar procesos de acidificación durante la DA.

Los mayores valores de AGVs se registraron en las relaciones S/I de 0,5 y 1,0, lo que indica una mayor acumulación de intermediarios acidogénicos en estos ensayos. Este comportamiento concuerda con la mayor carga orgánica disponible por unidad de biomasa, que favorece tasas más elevadas de hidrólisis y acidogénesis (Appels et al., 2008; Chen et al., 2008), aunque sin llegar a afectar el pH debido a la alcalinidad total y bicarbonática disponible (Gerardi, 2003; Appels et al., 2008; Chen et al., 2008).

Asimismo, la DQO residual fue mayor en las relaciones S/I 0,5 y 1,0, lo que indica que una fracción del sustrato no fue completamente degradada, probablemente debido a limitaciones cinéticas asociadas a la sobrecarga y a la acumulación de AGVs, tal como ha sido reportado en ensayos PBM con carga orgánica elevada (Raposo et al., 2006; Angelidaki et al., 2009; Zhou et al., 2011).

Estos resultados son consistentes con lo observado en las curvas de PBM, relaciones S/I bajas favorecen una mayor conversión orgánica y estabilidad, mientras que relaciones altas disminuyen la eficiencia del proceso debido a la limitada capacidad del inóculo para transformar intermediarios en metano. La coherencia entre pH, AGVs, alcalinidad y DQO confirma la estabilidad del sistema y el adecuado desempeño del lodo granular, en concordancia con los criterios de estabilidad descritos por De Vrieze et al., (2015) y Hülsemann et al., (2020).

8. CONCLUSIONES

El lodo granular proveniente de la industria papelera presentó condiciones iniciales favorables para su uso como inóculo en la digestión anaerobia, destacándose un pH cercano a la neutralidad ($\text{pH} = 7,02$) y una alta fracción orgánica biodegradable (relación $\text{SV/ST} = 92 \%$), lo que confirma la presencia de una biomasa activa y adecuada para operar en condiciones mesofílicas. No obstante, los índices de alcalinidad ($\text{IB} = 0,39$; $\text{AI/AB} = 0,65$) evidenciaron una capacidad tampón limitada frente a la acidez generada, indicando un desbalance entre la alcalinidad disponible y la acumulación de AGVs. En concordancia con estos resultados, y con el fin de garantizar condiciones óptimas para los procesos de degradación, durante la fase experimental se realizaron ajustes de pH conforme a lo descrito en la metodología, asegurando la estabilidad del sistema.

A estas características se suma una adecuada disponibilidad de macro y micronutrientes, suficiente para sostener de forma eficiente las actividades metabólicas, favorecer la estabilidad del sistema y asegurar una actividad biológica equilibrada durante el proceso.

Estas características metabólicas deben interpretarse considerando la procedencia del inóculo. Al provenir de la industria papelera, el lodo granular ha sido previamente expuesto a efluentes ricos en fracciones lignocelulósicas y carbohidratos estructurales, lo que implica una selección microbiana predominante adaptada a compuestos carbonados. Sin embargo, los residuos de alimentos presentan mayor contenido de proteínas y lípidos, generando una matriz orgánica distinta y potencialmente productora de mayores concentraciones de AGVs y compuestos nitrogenados. En este contexto, la estabilidad observada estuvo condicionada por la relación sustrato/inóculo aplicada y por la disponibilidad de biomasa activa capaz de adaptarse a esta nueva composición.

Las actividades metabólicas del inóculo presentaron valores característicos de biomasas granulares activas ($\text{AHE} = 0,65 \text{ gDQO/gSV}\cdot\text{día}$; $\text{AAE} = 5,12 \text{ gDQO/gSV}\cdot\text{día}$; $\text{AME} = 0,31 \text{ gDQO/gSV}\cdot\text{día}$), evidenciando una elevada capacidad de hidrólisis, fermentación y conversión metanogénica. En conjunto estos resultados reflejan una actividad hidrolítica moderada pero suficiente para solubilizar fracciones lignocelulósicas del sustrato, una actividad acidogénica elevada asociada a un consorcio fermentativo capaz de transformar rápidamente carbohidratos solubles en AGVs sin comprometer la estabilidad del sistema y una actividad metanogénica específica que confirma la presencia de arqueas metanogénicas activas y adaptadas, responsables de convertir eficientemente los AGVs en metano.

Los valores experimentales del PBM obtenidos para las relaciones S/I de 0,2; 0,5 y 1,0 fueron de 245,83; 110,22 y 76,44 $\text{mL CH}_4/\text{gSV}$, respectivamente. Las relaciones más bajas favorecieron una conversión más estable, con menor inhibición por AGVs y una mayor degradación del sustrato, evidenciando que una mayor disponibilidad de biomasa activa mejora la eficiencia metanogénica. En particular, la relación S/I de 0,2 alcanzó el mayor rendimiento, seguida de 0,5 y finalmente de 1,0, lo que confirma que cargas orgánicas más bajas promueven una mayor estabilidad operacional y una producción de metano más eficiente.

En conjunto, los resultados obtenidos demuestran que el lodo granular de la industria papelera es un inóculo adecuado y funcional para la digestión anaerobia de residuos de alimentos bajo condiciones mesofílicas. La estabilidad fisicoquímica, las altas actividades metabólicas y los rendimientos obtenidos en los ensayos PBM confirman que el sistema funcionó adecuadamente y cumplió con los objetivos de la investigación.

9. RECOMENDACIONES

Dado que el lodo granular no es un recurso de fácil acceso y puede perder su estructura bajo condiciones de sobrecarga o acumulación de AGVs, se recomienda evaluar su desempeño en reactores continuos con incrementos controlados de carga orgánica y un monitoreo riguroso de pH, alcalinidad y parámetros de estabilidad, con el fin de garantizar la integridad de los gránulos y evitar disminuciones en la actividad metanogénica.

A partir de los resultados obtenidos en esta investigación, también se recomienda escalar y validar el inóculo en sistemas de operación continua o escala piloto alimentados con residuos de alimentos, incorporando seguimiento de cinética y análisis de la composición del biogás para determinar su eficiencia y estabilidad bajo condiciones reales de operación.

También se recomienda optimizar la relación S/I empleando valores bajos a moderados (0,2 a 0,5 g SV /g SV) y aumentar la carga orgánica de forma escalonada únicamente cuando se verifique la estabilidad del sistema (pH cercano a 7, adecuada alcalinidad y ausencia de acumulación significativa de AGVs), con el fin de maximizar el rendimiento metanogénico sin comprometer la funcionalidad del inóculo. De igual manera, resulta pertinente explorar co-digestión con otros sustratos orgánicos que permiten ampliar el rango de aplicación del proceso y mitigar posibles inhibiciones, especialmente en escenarios donde existan variaciones en la composición del sustrato o desequilibrios nutricionales.

Finalmente, se recomienda evaluar la influencia del tipo de digestión (seca, semiseca o húmeda) sobre el desempeño del lodo granular, dado que su estructura y requerimientos sugieren un funcionamiento más eficiente en medios acuosos o de baja concentración de sólidos. En este sentido, resulta relevante comparar las relaciones S/I y el comportamiento del inóculo en digestiones húmeda, semiseca y seca para identificar la modalidad que permite preservar mejor la estructura granular y maximizar la producción de metano.

10. REFERENCIAS

- ABACO. (2022). Informe anual de la Red de Bancos de Alimentos de Colombia. Asociación de Bancos de Alimentos de Colombia
- Adekunle, K. F., & Okolie, J. A. (2015). A Review Of The Biochemical Process Of Anaerobic Digestion. *Advances In Bioscience And Biotechnology*, 06(03), 205-212.
- 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>
- Amha, Y. M., Anwar, M. Z., Brower, A., Jacobsen, C. S., Stadler, L. B., Webster, T. M., & Smith, A. L. (2018). Inhibition of anaerobic digestion processes: Applications of molecular tools. *Bioresource Technology*, 247, 999-1014. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.08.210>
- Amodeo, C., Hafner, S. D., Teixeira Franco, R., Benbelkacem, H., Moretti, P., Bayard, R., & Buffière, P. (2020). How Different Are Manometric, Gravimetric, and Automated Volumetric BMP Results? *Water*, 12(6), 1839. <https://doi.org/10.3390/w12061839>
- ANDESCO. (2024, 14 septiembre). La Gestión De Residuos Sólidos Municipales En Colombia. <https://andesco.org.co/La-Gestion-De-Residuos-Solidos-Municipales-En-Colombia/>
- Angelidaki, I., & Ahring, B. K. (2000). Methods for increasing the biogas potential from the recalcitrant organic matter contained in manure. *Water science and technology : a journal of the International Association on Water Pollution Research*, 41(3), 189–194.
- Angelidaki, I., Alves, M., Bolzonella, D., Borzacconi, L., Campos, J. L., Guwy, A. J., Kalyuzhnyi, S., Jenicek, P., & Van Lier, J. B. (2009). Defining The Biomethane Potential (BMP) Of Solid Organic Wastes And Energy Crops: A Proposed Protocol For Batch Assays. *Water Science & Technology*, 59(5), 927-934. <https://doi.org/10.2166/Wst.2009.040>
- Angelidaki, I., & Ellegaard, L. (2003). Codigestion of manure and organic wastes in centralized biogas plants: Status and future trends. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 109(1–3), 95–105. <https://doi.org/10.1385/ABAB:109:1-3:95>
- Angelidaki, I., & Sanders, W. (2004). Assessment of the anaerobic biodegradability of macropollutants. *Reviews In Environmental Science And Bio/Technology*, 3(2), 117-129. <https://doi.org/10.1007/s11157-004-2502-3>
- Appels, L., Lauwers, J., Degreve, J., Helsen, L., Lievens, B., Willems, K., van Impe, J., Dewil, R. (2011). Anaerobic digestion in global bio-energy production: Potential and

research challenges. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 15(9), 4295–4301. <https://doi.org/10.1016/J.RSER.2011.07.121>

APHA (American Public Health Association), American Water Works Association, Water Environment Federation. Lipps Wc, Braun-Howland Eb, Baxter Te, Eds. (2023) (Standard Methods For The Examination Of Water And Wastewater. 24th Ed. Washington Dc: Apha Press.

APHA-AWWA-WPCF (1998). Standard methods for examination of water and wastewater., 20th. Ed. Washington.

Aquino, S. F., Chernicharo, C. A. L., Foresti, E., De Lourdes Florêncio Dos Santos, M., & Monteggia, L. O. (2007). Metodologias Para Determinação Da Atividade Metanogênica Específica (Ame) Em Lodos Anaerobios. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, 12(2), 192-201. <https://doi.org/10.1590/S1413-41522007000200010>

Auphimai, C., Rukruam, W., & Chaiprasert, P. (2014). Efficacies of Various Inoculum Sources on Methane Production from Agro-industrial Wastewaters. *Energy Procedia*, 52, 167-172. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2014.07.067>

Babu, R., Prieto Veramendi, P. M., & Rene, E. R. (2021). Strategies for resource recovery from the organic fraction of municipal solid waste. *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering*, 3, 100098. <https://doi.org/10.1016/j.cscee.2021.100098>

Banks, C. J., Zhang, Y., Jiang, Y., & Heaven, S. (2012). Trace element requirements for stable food waste digestion at elevated ammonia concentrations. *Bioresource Technology*, 104, 127–135. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2011.10.068>

Batstone, Damien & Keller, J & Angelidaki, Irini & Kalyuzhnyi, Sergey & Pavlostathis, S & Rozzi, A & Sanders, W & Siegrist, H & Vavilin, Vasily. (2002). Anaerobic Digestion Model No 1 (Adm1). *Water Science And Technology : A Journal Of The International Association On Water Pollution Research*. 45. 65-73.

Blanco, C. D. (2011). Tratamiento Biológico Aerobio Anaerobio-Aerobio De Residuos Ganaderos Para La Obtención De Biogás Y Compost. Doctorado, Universidad De León.265

Bres, P., Beily, M. E., & Crespo, D. (2022). *Ensayo potencial bioquímico metanogénico: Una metodología clave para conocer la energía de las biomasas* (Informe técnico). Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria.

Browne, J. D., & Murphy, J. D. (2013). Assessment of the resource associated with biomethane from food waste. *Applied Energy*, 104, 170–177

Bustos Flores, C., (2009). La Problemática De Los Desechos Sólidos. *Economía*, (27), 121-144. <https://www.redalyc.org/Pdf/1956/195614958006.Pdf>

Burbano Cendales, A. M. (2020). *Evaluación del desempeño acidogénico y metanogénico de un sistema de digestión anaerobia a partir de residuos orgánicos urbanos* [Tesis de maestría, Universidad Nacional de Colombia]. <https://Idus.Us.Es/Bitstream/Handle/11441/102146/Burbano%20cendales%2c%20ary%20mauricio%20tesis.Pdf?Sequence=1&Isallowed=Y>

Cáceres, K. T. & 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 [Http://hdl.handle.net/20.500.11912/5171](http://hdl.handle.net/20.500.11912/5171).

Cai, Y., Zheng, Z., Zhao, Y., Zhang, Y., Guo, S., Cui, Z., & Wang, X. (2018). Effects of molybdenum, selenium and manganese supplementation on the performance of anaerobic digestion and the characteristics of bacterial community in acidogenic stage. *Bioresource Technology*, 266, 166-175. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.06.061>

Campaña, H. H., Airasca, A., Uribe Echevarría, M., Monserrat, V., & Benedetti, P. (2015). Enzimas Como Indicadores Bioquímicos De Evolución De Procesos De Digestión Anaeróbica. [Org.Ar. https://www.aaiq.org.ar/scongresos/docs/06_029/papers/06c/06c_1788_617.pdf](https://www.aaiq.org.ar/scongresos/docs/06_029/papers/06c/06c_1788_617.pdf)

Cámara Moguel, K. C., & Laines Canepa, J. R. (2014). La Digestión Anaerobia Y La Bioquímica. *Kuxulkab*, 17(32). <https://doi.org/10.19136/Kuxulkab.A17n32.380>

Cárdenas-Cleves Lm, Parra-Orobio Ba, Torres-Lozada P; Vásquez-Franco Ch. Perspectivas Del Ensayo De Potencial Bioquímico De Metano - Pbm Para El Control Del Proceso De Digestión Anaerobia De Residuos. *Rev.Ion.* 2016 ;29(1):95-108. <https://doi.org/10.18273/Revion.V29n1-2016008>

Casallas-Ojeda, M. R., Torres-Lozada, P., & Marmolejo-Rebellón, L. F. (2020). Evaluation of simultaneous incidence of head space and temperature on biochemical methane potential in food waste. *Cogent Engineering*, 7(1), 1729514. <https://doi.org/10.1080/23311916.2020.1729514>

Cerón-Vivas, A., Cáceres, K. T., Rincón, A., & Cajigas, Á. A. (2019). Influence of pH and the C/N ratio on the biogas production of wastewater. *Revista Facultad de Ingeniería Universidad de Antioquia*, (92), 70-79.

Chen, Y., Cheng, J. J., & Creamer, K. S. (2008). Inhibition of anaerobic digestion process: A review. *Bioresource Technology*, 99(10), 4044–4064. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.01.057>

Ćurčić, S., Milićević, D., Kilibarda, N., & Peulić, A. (2025). Assessing Biogas Production Potential from Organic Waste and Livestock Byproducts in a Serbian Municipality: Implications for Sustainable Food Systems. *Sustainability*, 17(7), 3144. <https://doi.org/10.3390/su17073144>

DANE. (2018). Encuesta nacional de calidad de vida 2018. Departamento Administrativo Nacional de Estadística.

De La Torre Caritas, N. (2008). Digestión Anaerobia En Comunidades Rurales [Proyecto Fin De Carrera, Universidad Carlos Iii De Madrid]. <https://E-Archivo.Uc3m.Es/Rest/Api/Core/Bitstreams/99136927-9b48-43f6-87a0-A1180ca6a486/Content>

Demichelis, F, Tommasi, T, Deorsola, F, Marchisio, D, Fino, D Effect Of Inoculum Origin And Substrate-Inoculum Ratio To Enhance The Anaerobic Digestion Of Organic Fraction Municipal Solid Waste (Ofmsw), Journal Of Cleaner Production, Volume 351, 2022, 131539, Issn 0959-6526, <https://doi.org/10.1016/J.Jclepro.2022.131539>

De Vrieze, J., Gildemyn, S., Vilchez-Vargas, R., Jáuregui, R., Pieper, D. H., Verstraete, W., & Boon, N. (2015). Inoculum selection is crucial to ensure operational stability in anaerobic digestion. *Applied Microbiology And Biotechnology*, 99(1), 189-199. <https://doi.org/10.1007/s00253-014-6046-3>

Demirel, B., & Scherer, P. (2008). The roles of acetotrophic and hydrogenotrophic methanogens during anaerobic conversion of biomass to methane: A review. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 7(2), 173-190. <https://doi.org/10.1007/s11157-008-9131-1>

Demirel, B. y Yenigün, O. (2002), Procesos de digestión anaeróbica bifásica: una revisión. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 77: 743-755. <https://doi.org/10.1002/jctb.630>

Díaz-Domínguez, E., Rubio, J. Á., Lyng, J., Toro, E., Estévez, F., & García-Morales, J. L. (2025a). Anaerobic Co-Digestion of Sewage Sludge and Organic Solid By-Products from Table Olive Processing: Influence of Substrate Mixtures on Overall Process Performance. *Energies*, 18(14), 3812. <https://doi.org/10.3390/en18143812>

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 [Trabajo De Grado, Universidad Del Valle] <https://Bibliotecadigital.Univalle.Edu.Co/Server/Api/Core/Bitstreams/A9394db6-6f66-48a5-9acc-0522396a30cc/Content>

Díaz, M., Espitia, S. Y Molina, F. (2002). Digestión Anaerobia. Una Aproximación A La Tecnología. Universidad Nacional De Colombia.

Dinno, A. (2015). Nonparametric Pairwise Multiple Comparisons in Independent Groups using Dunn's Test. *The Stata Journal Promoting Communications On Statistics And Stata*, 15(1), 292-300. <https://doi.org/10.1177/1536867x1501500117>

- Donatelli, J. A., & Chang, S. (2024). Biological methane potentials of food waste of different components: Methane yields, production kinetics, and element balance. *Bioresource Technology*, 413, 131435. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2024.131435>
- Echiegu, N. (2014). Kinetic Modelling Of Continuous-Mix Anaerobic Reactors Operating Under Diurnally Cyclic Temperature Environment. *American Journal Of Biochemistry & Biotechnology/American Journal Of Biochemistry And Biotechnology*, 10(2), 130-142. <https://doi.org/10.3844/Ajbbbsp.2014.130.142>
- Elbeshbishy, E., Nakhla, G., & Hafez, H. (2012). Biochemical methane potential (BMP) of food waste and primary sludge: Influence of inoculum pre-incubation and inoculum source. *Bioresource Technology*, 110, 18-25. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.01.025>
- Fao (2019). El Estado Mundial De La Agricultura Y La Alimentación. Oficina De Comunicación Institucional De La Fao. <https://www.fao.org/3/ca6030es/ca6030es.pdf>
- Fao. (2022, 29 Septiembre). Hacer Frente A La Pérdida Y El Desperdicio De Alimentos: Una Oportunidad De Ganar Por Partida Triple. Newsroom. <https://www.fao.org/newsroom/detail/fao-unep-agriculture-environment-food-loss-waste-day-2022/es>
- FAO. (2011). Manual De Biogás. <https://www.fao.org/family-farming/detail/es/c/342734/>
- FAO. (2012). Pérdidas Y Desperdicio De Alimentos En El Mundo – Alcance, Causas Y Prevención. Roma. <https://www.fao.org/4/I2697s/I2697s.pdf>
- FAO. (2013). Food Wastage Footprint: Impacts On Natural Resources. Food And Agriculture Organization. <https://www.fao.org/4/I3347e/I3347e.pdf>
- Fermoso, F. G., van Hullebusch, E., Collins, G., Roussel, J., Mucha, A. P., & Esposito, G. (2019). Trace elements in anaerobic biotechnologies. IWA publishing. <https://doi.org/10.2166/9781789060225>
- Filer, J., Ding, HH y Chang, S. (2019). Método de análisis del potencial bioquímico de metano (BMP) para la investigación de la digestión anaeróbica. *Water*, 11 (5), 921. <https://doi.org/10.3390/w11050921>
- Foresti, E., Zaiat, M., & Vallero, M. (2006). Anaerobic Processes as the Core Technology for Sustainable Domestic Wastewater Treatment: Consolidated Applications, New Trends, Perspectives, and Challenges. *Reviews In Environmental Science And Bio/Technology*, 5(1), 3-19. <https://doi.org/10.1007/s11157-005-4630-9>
- Fuentes C., Carpio J., Prado J., Sánchez P. (2008). Gestión de residuos sólidos municipales <https://hdl.handle.net/20.500.12640/627>

- Gállego-Bravo, A. K., García-Mena, J., Piña-Escobedo, A., López-Jiménez, G., Gutiérrez-Castillo, M. E., & Tovar-Gálvez, L. R. (2023). Monitoring of a microbial community during bioaugmentation with hydrogenotrophic methanogens to improve methane yield of an anaerobic digestion process. *Biotechnology Letters*, 45(10), 1339-1353. <https://doi.org/10.1007/s10529-023-03414-7>
- Garrido-Gómez, J., García-Álvarez, M. T., & Álvarez, A. (2020). Food waste in developing countries: A case study of Colombia. *Waste Management*, 102, 643–653
- Gerardi, M.H. (2003) *The Microbiology of Anaerobic Digesters*. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken. - References - Scientific Research Publishing. <https://www.scirp.org/reference/referencespapers?referenceid=1570594>
- Ghasemi, A., & Zahediasl, S. (2012). Normality tests for statistical analysis: A guide for non-statisticians. *International Journal of Endocrinology and Metabolism*, 10(2), 486–489. <https://doi.org/10.5812/ijem.3505>
- González-Sánchez, M. E., Pérez-Fabiel, S., Wong-Villarreal, A., Bello-Mendoza, R., & Yañez-Ocampo, G. (2015). Residuos agroindustriales con potencial para la producción de metano mediante la digestión anaerobia. *Revista argentina de microbiología*, 47(3), 229-235.
- Grau, J., Terraza, H., Rodríguez Velosa, D. M., Rihm, A., & Sturzenegger, G. (2015). Situación de la gestión de residuos sólidos en América Latina y el Caribe. Núñez, A. (Ed.). <https://doi.org/10.18235/0006297>
- Granzotto, F., Brächer, E. H., Mayer, F. D., Hoffmann, R., & Da Silveira, D. D. (2023). Actualización De Los Procesos De Digestión Anaeróbica De Residuos Orgánicos. *Augm Domus*, (10), 007. <https://doi.org/10.24215/18522181e007>
- Gu, Y., Chen, X., Liu, Z., Zhou, X., & Zhang, Y. (2020). Anaerobic digestion of food waste—Challenges and opportunities. *Bioresource Technology*, 298, 122545.
- Guerrero, J., I. C., Peláez Jaramillo, C. A., & Molina Perez, F. J. (2016). Evaluación De La Co-Digestión Anaerobia De Lodos De Aguas Residuales Municipales Con Residuos De Alimentos. *Revista Ion*, 29(1). <https://doi.org/10.18273/Revion.V29n1-2016005>
- Hafner, S. D., Koch, K., Carrere, H., Astals, S., Weinrich, S., & Rennuit, C. (2018). Software for biogas research: Tools for measurement and prediction of methane production. *SoftwareX*, 7, 205-210. <https://doi.org/10.1016/j.softx.2018.06.005>
- Hori, T., Haruta, S., Ueno, Y., Ishii, M., & Igarashi, Y. (2006). Dynamic Transition of a Methanogenic Population in Response to the Concentration of Volatile Fatty Acids in a Thermophilic Anaerobic Digester. *Applied And Environmental Microbiology*, 72(2), 1623-1630. <https://doi.org/10.1128/aem.72.2.1623-1630.2006>

Hagos, K., Zong, J., Li, D., Liu, C., & Lu, X. (2017). Anaerobic co-digestion process for biogas production: Progress, challenges and perspectives. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 76, 1485–1496. <https://doi.org/10.1016/J.RSER.2016.11.184>

HarnadekColin M. W., GuilfordNigel G.H., and EdwardsElizabeth A.. 2015. Chemical Oxygen Demand Analysis of Anaerobic Digester Contents. *STEM Fellowship Journal*. 1(2): 2-5. <https://doi.org/10.17975/sfj-2015-008>

Hellal, MS, El-Kamah, HM y Doma, HS. Reactor anaeróbico de lodos granulares de circulación interna de alto rendimiento para el tratamiento de aguas residuales de mataderos de ganado y la producción simultánea de biogás. *BMC Biotechnol* 24 , 29 (2024). <https://doi.org/10.1186/s12896-024-00849-2>

He, K., Liu, Y., Tian, L., He, W., & Cheng, Q. (2024). Review in anaerobic digestion of food waste. *Heliyon*, 10(7).

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 Laclos, 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>

Hoornweg, D., & Bhada-Tata, P. (2012). *What a Waste: A Global Review of Solid Waste Management*. World Bank, Washington, DC.

Huaraya Huahualuque, M. Y., & Sancho Moya, T. C. (2020). Estado Del Arte Sobre La Producción De Biogás Mediante La Digestión Anaerobia Como Parte Del Aprovechamiento De La Biomasa Residual Pecuaria. <https://Repositorio.Upeu.Edu.Pe/Server/Api/Core/Bitstreams/9c956c74-Ec8f-437d-9d4e-9579e7c6602d/Content>

Hülsemann, B., Zhou, L., Merkle, W., Hassa, J., Müller, J. y Oechsner, H. (2020). Prueba de potencial de biometano: Influencia del inóculo y el sistema de digestión. *Ciencias Aplicadas* , 10 (7), 2589. <https://doi.org/10.3390/app10072589>

Hulshoff Pol, L. W., de Castro Lopes, S. I., Lettinga, G., & Lens, P. N. L. (2004). Anaerobic sludge granulation. *Water Research*, 38(6), 1376–1389. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2003.12.002>

Hussain, A., & Dubey, S. K. (2015). Specific methanogenic activity test for anaerobic degradation of influents. *Applied Water Science*, 7(2), 535-542. <https://doi.org/10.1007/s13201-015-0305-z>

IEA Bioenergy. (2018). *Food waste digestion: Anaerobic digestion of food waste for a circular economy*. Task 37, Energy from Biogas. Retrieved from

https://www.ieabioenergy.com/wp-content/uploads/2018/12/Food-waste_WEB_END.pdf

Ivanovici, M., Dumitrel, G., Gherman, V. D., Todinca, T., Pana, A., & Ordodi, V. L. (2025). Anaerobic Digestion of Food Waste and Granular Inoculum: Study on Temperature Effect and Substrate-to-Inoculum Ratio on Biogas Production. *Fermentation*, 11(6), 348. <https://doi.org/10.3390/fermentation11060348>

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 & Biodegradation*, 64(7), 601–608. <https://doi.org/10.1016/J.IBIOD.2010.06.013>

Jain, A., Jain, R., & Jain, S. (2020). Quantitative Analysis of Reducing Sugars by 3,5-Dinitrosalicylic Acid (DNSA Method). En *Basic Techniques in Biochemistry, Microbiology and Molecular Biology*. Springer Protocols Handbooks. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9861-6_43

Jaramillo, J., Cepis, & Ops. (2002). Guía Para El Diseño, Construcción Y Operación De Rellenos Sanitarios Manuales. <https://Redrrss.Minam.Gob.Pe/Material/20090128200240.Pdf>

Jiang, J., Gong, C., Wang, J., Tian, S., & Zhang, Y. (2013). Effects of ultrasound pretreatment on the amount of dissolved organic matter extracted from food waste. *Bioresource Technology*, 155, 266-271. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.12.064>

Jiang, Y., McAdam, E., Zhang, Y., Heaven, S., Banks, C., & Longhurst, P. (2019). Ammonia inhibition and toxicity in anaerobic digestion: A critical review. *Journal Of Water Process Engineering*, 32, 100899. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2019.100899>

Jiménez-Ocampo, U. E., Vargas, A., & Moreno-Andrade, I. (2021). Methane production from food waste using a feedback control strategy in a sequencing batch reactor. *Water Science and Technology*, 84(8), 1969–1980. <https://doi.org/10.2166/wst.2021.370>

Galvis J, Vista De Residuos Sólidos: Problema, Conceptos Básicos Y Algunas Estrategias De Solución. (2016). Edu.Co. <https://Revistas.Ucp.Edu.Co/Index.Php/Gestionregion/Article/View/149/146>

Jurado, E., Gavala, H. N., Skiadas, I. V., & Lyberatos, G. (2009). Anaerobic digestion of pulp and paper mill wastewater and sludge. *Water Science and Technology*, 60(3), 615–623

Kamperidou, V., Terzopoulou, P. (2021). Anaerobic Digestion of Lignocellulosic Waste Materials. *Sustainability*, 13(22), 12810. <https://doi.org/10.3390/su132212810>

- Kaza, S., Yao, L. C., Bhada-Tata, P., & Van Woerden, F. (2018). What a Waste 2.0: A Global Snapshot of Solid Waste Management to 2050. En *Washington, DC: World Bank eBooks*. <https://doi.org/10.1596/978-1-4648-1329-0>
- Khadka, A., Parajuli, A., Dangol, S., Thapa, B., Sapkota, L., Carmona-Martínez, A. A., & Ghimire, A. (2022). Effect Of The Substrate To Inoculum Ratios On The Kinetics Of Biogas Production During The Mesophilic Anaerobic Digestion Of Food Waste. *Energies*, 15(3), 834. <https://doi.org/10.3390/En15030834>
- Kim, M., Chowdhury, M., Nakhla, G., & Keleman, M. (2016). Synergism of co-digestion of food wastes with municipal wastewater treatment biosolids. *Waste Management*, 61, 473-483. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2016.10.010>
- Kinyua, M. N., & Rowley, P. (2017). The role of trace elements in anaerobic digestion: A review. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 5(5), 4831-4841. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2017.09.024>
- Koch, K., Plabst, M., Schmidt, A., Helmreich, B., & Drewes, J. E. (2016). Co-digestion of food waste in a municipal wastewater treatment plant: Comparison of batch tests and full-scale experiences. *Waste management (New York, N.Y.)*, 47(Pt A), 28-33. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2015.04.022>
- Koch, K., Lippert, T., & Drewes, J. E. (2017). The Role Of Inoculum's Origin On The Methane Yield Of Different Substrates In Biochemical Methane Potential (Bmp) Tests. *Bioresource Technology*, 243, 457-463. <https://doi.org/10.1016/J.Biortech.2017.06.142>
- Koch, K., Hafner, S. D., & Weinrich, S. (2017). "Inoculum origin and adaptation for biogas production: Influence on process parameters and methane yields." *Waste Management*, 62, 33-42.
- Korsak, L., & Moreno, L. (2006). Evaluation of anaerobic sludge activity in wastewater treatment plants in Nicaragua. *WIT Transactions On Ecology And The Environment*, 1, 571-579. <https://doi.org/10.2495/wp060561>
- Labatut, R. A., Angenent, L. T., & Scott, N. R. (2011). Biochemical methane potential and biodegradability of complex organic substrates. *Bioresource technology*, 102(3), 2255-2264. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.10.035>
- Laureys, D., Leroy, F., Hauffman, T., Raes, M., Aerts, M., Vandamme, P., & De Vuyst, L. (2021). The Type and Concentration of Inoculum and Substrate as Well as the Presence of Oxygen Impact the Water Kefir Fermentation Process. *Frontiers in microbiology*, 12, 628599. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.628599>
- Levene, H. (1960). *Robust tests for equality of variances*. En I. Olkin (Ed.), *Contributions to Probability and Statistics: Essays in Honor of Harold Hotelling* (pp. 278-292). Stanford University Press.

- Li, Y., Jin, Y., Borrión, A., Li, H., & Wang, X. (2021). Effects of substrate-to-inoculum ratio on performance and microbial community dynamics during anaerobic digestion of food waste. *Waste Management*, 124, 230–239.
- Li, L., He, Q., Wei, Y., He, Q., & Peng, X. (2014). Early warning indicators for monitoring the process failure of anaerobic digestion system of food waste. *Bioresource technology*, 171, 491–494. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.08.089>
- Lim, S. J., & Kim, T.-H. (2014). Applicability and trends of anaerobic granular sludge treatment processes. *Biomass and Bioenergy*, 60, p. 189-202. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2013.11.011>
- Liu, Y., Xu, H.-L., Show, K.-Y., & Tay, J.-H. (2002). Anaerobic granulation technology for wastewater treatment. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 18, 99–113. <https://doi.org/10.1023/A:1014459006210>
- Lorenzo Acosta, Y., & Obaya Abreu, M. C. (2005). La Digestión Anaeróbica. Aspectos Teóricos. Parte I. Icidca. Sobre Los Derivados De La Caña De Azúcar, Xxxix(1),35-48.[Fecha De Consulta 22 De Septiembre De 2024]. Issn: 0138-6204. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=223120659006>
- 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. <https://www.redalyc.org/pdf/2231/223121549002.pdf>
- Lü, F., Bize, A., Guillot, A., Monnet, V., Madigou, C., Chapleur, O., Mazéas, L., He, P., & Bouchez, T. (2014). Metaproteomics of cellulose methanisation under thermophilic conditions reveals a surprisingly high proteolytic activity. *The ISME Journal*, 8(1), 88-102. <https://doi.org/10.1038/ismej.2013.120>
- 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>
- Magdalena Cadelo, J. A. (2021). Anaerobic Digestion Of Microalgae Biomass For Volatile Fatty Acids Production. <https://portal.ciencia.uva.es/documentos/603e19dc441e3004763478b4>
- Mainardis, M., Buttazzoni, M., & Goi, D. (2020). Up-Flow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) Technology for Energy Recovery: A Review on State-of-the-Art and Recent Technological Advances. *Bioengineering (Basel, Switzerland)*, 7(2), 43. <https://doi.org/10.3390/bioengineering7020043>
- Marmolejo, L. F., Torres, P., Oviedo, E. R., Bedoya, D. F., Amezquita, C. P., Klinger, R., Albán, F., & Díaz, L. F. (2009). Flujo de residuos: Elemento base para la sostenibilidad del aprovechamiento de residuos sólidos municipales. *Ingeniería y*

Competitividad, 11(2),79-93. [fecha de Consulta 22 de Octubre de 2025]. versión impresa ISSN: 0123-3033 Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=291323541009>

Marmolejo, L. F., Torres, P., Oviedo, R., García, M., & Díaz, L. F. (2010). *Análisis del funcionamiento de plantas de manejo de residuos sólidos en el norte del Valle del Cauca, Colombia*. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-12372011000200013

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. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(00\)00023-7](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(00)00023-7)

Mata-Alvarez, J., Dosta, J., Romero-Güiza, M. S., Fonoll, X., Peces, M., & Astals, S. (2014). A critical review on anaerobic co-digestion achievements between 2010 and 2013. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 36, 412–427. <https://doi.org/10.1016/J.RSER.2014.04.039>

Mata-Alvarez, J., Dosta, J., Macé, S., & Astals, S. (2011). Codigestion of solid wastes: A review of its uses and perspectives including modeling. *Critical Reviews in Biotechnology*, 31(2), 99–111. <https://doi.org/10.3109/07388551.2010.525496>

Mazzini, S., Borgonovo, G., Scaglioni, L., Bedussi, F., D'Imporzano, G., Tambone, F., & Adani, F. (2020). Phosphorus speciation during anaerobic digestion and subsequent solid/liquid separation. *The Science Of The Total Environment*, 734, 139284. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139284>

Meegoda, J. N., Chande, C., & Bakshi, I. (2025). Biodigesters for Sustainable Food Waste Management. *International Journal Of Environmental Research And Public Health*, 22(3), 382. <https://doi.org/10.3390/ijerph22030382>

Méndez Corredor, S., & Chaparro, T. R. (2022). Evaluación De La Actividad Metanogénica Específica Rápida En Lodo Granular De Industria De Bebidas No Alcohólicas: Estudio Preliminar. *Redbiolac*, 6(2), 24-31.

Ministerio De Vivienda Ciudad Y Territorio. (2013). Decreto 2981 Del 20 de diciembre de 2013. [Http://Wsp.Presidencia.Gov.Co/Normativa/Decretos/2013/Documents/Diciembre/20/Decreto 2981 Del 20 De Diciembre De 2013.Pdf](http://Wsp.Presidencia.Gov.Co/Normativa/Decretos/2013/Documents/Diciembre/20/Decreto%202981%20Del%20De%20Diciembre%20De%202013.Pdf)

Ministerio de Vivienda, Ciudad y Territorio. (2015). *Decreto 1077 de 2015 por medio del cual se expide el Decreto Único Reglamentario del Sector Vivienda, Ciudad y Territorio*. Diario Oficial No. 49.523.

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

- Monte, M.C, Fuente, E, Blanco A, Negro C. (2009). Waste Management From Pulp And Paper Production In The European Union, Waste Management, Volumen 29, Pages 293-308, Issn 0956-053x, <https://doi.org/10.1016/J.Wasman.2008.02.002>. (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956053x08000573>)
- Moreno, L. (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 Psicrófila [Trabajo De Grado]. Universidad Del Valle.
- Moreno, I. del R., & Schamber, P. J. (2024). Fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos. En M. Saidón & S. Sorroche (Eds.), ¿Qué hacer con los residuos? Desafíos y propuestas para gestionar distintos materiales: secos, orgánicos, aceites, electrónicos, baterías, pilas, neumáticos, medicamentos, textiles y de construcciones (Cap. 3).
- Motte, J. C., Escudié, R., Bernet, N., Delgenes, J. P., Steyer, J. P., & Dumas, C. (2013). Dynamic Effect Of Total Solid Content, Low Substrate/Inoculum Ratio And Particle Size On Solid-State Anaerobic Digestion. *Bioresource Technology*, 144, 141–148. <https://doi.org/10.1016/J.Biortech.2013.06.057>
- Mrosso, R., Mecha, A. C., & Kiplagat, J. (2023). Characterization of kitchen and municipal organic waste for biogas production: Effect of parameters. *Heliyon*, 9(5), e16360. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e16360>
- Nayono, S. E. (2010). Anaerobic Digestion Of Organic Solid Waste For Energy Production. Kit Scientific Publishing. <https://doi.org/10.5445/Ksp/1000015038>
- Nguyen, V. T., Beyer, E., Neumann, J., Awe, D., Pfeiffer, W., & Tränckner, J. (2019). Anaerobic treatment of residuals from tanks transporting food and fodder. *Environmental science and pollution research international*, 26(32), 32698–32707. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-3876-z>
- 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(12), 2019–2024. <https://doi.org/10.1016/J.PROCBIO.2003.10.002>
- Oliveira, H. R., Anacleto, T. M., Abreu, F., & Enrich-Prast, A. (2024). New insights into the factors influencing methanogenic pathways in anaerobic digesters. *Anaerobe*, 102925. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2024.102925>
- ONU. (2024, 27 Marzo). El Mundo Desperdicia Más De 1.000 Millones De Platos De Comida Al Día - Informe De La Onu. Un Environment. <https://www.unep.org/es/noticias-y-reportajes/comunicado-de-prensa/el-mundo-desperdicia-mas-de-1000-millones-de-platos-de-comida-al-dia>
De#:~:Text=En%202022%2c%20se%20generaron%201.050,Disponibles%20para%20el%20 Consumo%20 humano.

Owen, W. F., Stuckey, D. C., Healy, J. B., Young, L. Y., & McCarty, P. L. (1979). Bioassay for monitoring biochemical methane potential and anaerobic toxicity. *Applied and Environmental Microbiology*, 37(2), 244–252.

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, Universidad Politécnica De Valencia

Ortiz, M. A. (2011). Medición de la producción de biogás: Métodos y aplicaciones en digestión anaerobia [Tesis de maestría, Universidad Autónoma Metropolitana]. UAM.

Oviedo, E, Marmolejo, L, & Torreos, P. (2014). Influencia de la frecuencia de volteo para el control de la humedad de los sustratos en el compostaje de biorresiduos de origen municipal. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 30(1), 91-100. Recuperado en 11 de febrero de 2026, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-49992014000100008&lng=es&tlng=es.

Palmnowski, L., & Müller, J. (2000). Influence of particle size on the anaerobic digestion of biomass residues. *Agricultural Engineering International: CIGR Journal of Scientific Research and Development*, 2, 1–10.

Pan, S. Y., Tsai, C. Y., Liu, C. W., Wang, S. W., Kim, H., & Fan, C. (2021). Anaerobic co-digestion of agricultural wastes toward circular bioeconomy. *iScience*, 24(7), 102704. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2021.102704>

Paredes, C. A. M., Mendoza, B. F. R., Moreira, S. E. G. (2018). Digestión Anaerobia de las Aguas Residuales de la industria del Café Instantáneo. *Revista Espamciencia* Issn 1390-8103, 9(1), 23-32.

Parra Huertas, R. A. (2015). Digestión Anaeróbica: Mecanismos Biotecnológicos En El Tratamiento De Aguas Residuales Y Su Aplicación En La Industria Alimentaria. *Producción + Limpia*, 10(2), 142-159. Retrieved October 16, 2024, From Http://Www.Scielo.Org.Co/SciELO.Php?Script=Sci_arttext&Pid=S1909-04552015000200014&Lng=En&Tlng=Es

Parra-Orobio, B. A., Vázquez-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 UDCA Actualidad & Divulgación Científica*, 22(1). <https://doi.org/10.31910/Rudca.V22.N1.2019.1220>

Parra-Orobio, B.A.,Torres-Lozada, P.,Marmolejo-Rebellón, L.F.,Cardenas-Cleves, L.M.,Vasquez-Franco, C.,Torres-López, W.A.,Ordoñez-Andrade, J.A.,(2015). Efecto de la relación sustrato-inóculo sobre el potencial bioquímico de metano de biorresiduos de origen municipal. *Ingeniería Investigación y Tecnología*, 16 (04), 515-526. <https://doi.org/10.1016/j.riit.2015.09.004>

Parra-Orobio, B. A., Torres-Lozada, P., Marmolejo-Rebellón, L. F., Torres-López, W. A., Fuentes-López, L., Ossa-Arias, M. M., & Barba-Ho, L. E. (2016). Evaluación de lodos de PTAR municipales como inóculos en la digestión anaerobia de biorresiduos. *Revista ION*, 29(1), 37–46.

Parra-Orobio, B. A., Angulo-Mosquera, L. S., Loaiza-Gualtero, J. S., Torres-López, W. A., Torres-Lozada, P. (2018). Inoculum mixture optimization as a strategy to improve the anaerobic digestion of food waste for methane production. *Water, Air, and Soil Pollution*, 231(8), 385 <https://doi.org/10.1016/j.jece.2018.01.048>

Parra-Orobio, B. A., Nieto-Mendoza, M., Rivera-Henao, D., Manyoma-Velasquez, P. C., & Torres-Lozada, P. (2025). Flocculent inoculation conditioning as a strategy to improve the anaerobic digestion of food waste. *Environmental Science And Pollution Research*. <https://doi.org/10.1007/s11356-025-36606-x>

Patel, A., Mahboubi, A., Horváth, I. S., Taherzadeh, M. J., Rova, U., Christakopoulos, P., & Matsakas, L. (2021). Volatile Fatty Acids (VFAs) Generated by Anaerobic Digestion Serve as Feedstock for Freshwater and Marine Oleaginous Microorganisms to Produce Biodiesel and Added-Value Compounds. *Frontiers in microbiology*, 12, 614612. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.614612>

Pavlostathis, S. G., & Giraldo-Gomez, E. (1991). Kinetics of anaerobic treatment: A critical review. *Critical Reviews In Environmental Control*, 21(5-6), 411-490. <https://doi.org/10.1080/10643389109388424>

Penna, Ja, Vazoller, R., Campos, Jr Metodología De Estudio De La Actividad Metanogénica Específica.En: Anais 18 el Congreso Brasileño De Ingeniería Sanitaria Y Ambiental, Abes, Salvador, 1995.

Periathamby, A. (2011). Municipal Waste Management. *Waste*, 109–125. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-381475-3.10008-7>

Peveré, A., Guibaud, G., van Hullebusch, E. D., Lens, P. N. L., & Baudu, M. (2006). *Viscosity evolution of anaerobic granular sludge*. *Biochemical Engineering Journal*, 27(3), 315–322. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2005.08.008>

PNUMA. (2021). Informe Anual 2021 [Informe]. https://wedocs.unep.org/bitstream/handle/20.500.11822/37946/Unep_ar2021_sp.P

Pokhrel, D., & Viraraghavan, T. (2004). Treatment of pulp and paper mill wastewater—a review. *Science of The Total Environment*, 333(1–3), 37–58. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2004.05.017>

Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente. (2024). Informe del Índice de Desperdicio de Alimentos 2024: Mensajes clave. https://wedocs.unep.org/bitstream/handle/20.500.11822/45275/Food-Waste-Index-2024-key-messages_SP.pdf?sequence=5&isAllowed=y

Poirrier González, P. (2005). Hidrólisis y acidificación psicrofílica de moléculas complejas en sistemas anaerobios (Tesis doctoral). Universidad de Santiago de Compostela.

Posmanik, R., Kim, A. H., Labatut, R. A., Usack, J. G., & Angenent, L. T. (2020). Granular Sludge Is A Preferable Inoculum For The Biochemical Methane Potential Assay For Two Complex Substrates. *Bioresource Technology*, 309(123359), 123359. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123359>

Quispe Andía, A., Calla Vásquez, K. M., Yangali Vicente, J. S., Rodríguez López, J. L., & Pumacayo Palomino, I. I. (2019). *Estadística no paramétrica aplicada a la investigación científica con software SPSS, MINITAB y EXCEL* (1.^a ed.). Editorial EIDEC. ISBN 978-958-52030-9-9.

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* (Barking, London, England), 41(6), 1444–1450. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2006.01.012>

Raposo, F., De la Rubia, M., Fernández-Cegri, V., & Borja, R. (2011). 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>

Regueiro, L., Veiga, P., Figueroa, M., Alonso-Gutierrez, J., Stams, A. J., 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

Ripley, L. E., Boyle, W. C., & Converse, J. C. (1986). Improved alkalimetric monitoring for anaerobic digestion of high-strength wastes. *Journal (Water Pollution Control Federation)*, 58(5), 406–411. <https://www.jstor.org/stable/25042933>

Rivera-Salvador, V., Aranda-Barradas, J. S., Espinosa-Solares, T., Robles-Martínez, F., & Toledo, J. U. (2015). THE ANAEROBIC DIGESTION MODEL IWA-ADM1: A REVIEW OF ITS EVOLUTION. *Ingeniería Agrícola y Biosistemas (En Línea)/Ingeniería Agrícola y Biosistemas*, 1(2), 109-117. <https://doi.org/10.5154/r.inagbi.2010.01.001>

Ryckebosch, E., Drouillon, M., & Vervaeren, H. (2011). Techniques for transformation of biogas to biomethane. *Biomass and Bioenergy*, 35(5), 1633-1645. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2011.02.033>

Rodier, J. (2009). L'analyse de l'eau: Eaux naturelles, eaux résiduaires et eaux de mer (9.^a ed.). París, Francia: Dunod.

Rodríguez, J., Mañunga, T., & Cardenas, C. (2011). Influencia De Las Fracciones De Materia Orgánica Sobre El Desempeño De Un Sistema De Tratamiento De Agua Residual De Una Industria Papelera. *Revista Udca. Actualidad Y Divulgación Científica*, 15, 447-455. [Http://Www.Scielo.Org.Co/SciELO.Php?Pid=S0123-42262012000200023 Script=Sci_arttext](http://Www.Scielo.Org.Co/SciELO.Php?Pid=S0123-42262012000200023 Script=Sci_arttext)

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.

Rocha, M.A.G. (2001) Avaliação E Comparação Entre A Atividade Metagenômica Específica De Esgotos Domésticos E Industriais. In: Anais 21º Congresso Brasileiro De Eng. Sanitária E Ambiental, J. Pessoa.

Sáez, A., & Urdaneta G., Ja (2014). Manejo De Residuos Sólidos En América Latina Y El Caribe. *Omnia*, 20 (3), 121-135. [Fecha De Consulta 16 De Octubre De 2024]. Issn: 1315-8856. [Https://Www.Redalyc.Org/Articulo.Oa?Id=73737091009](https://Www.Redalyc.Org/Articulo.Oa?Id=73737091009)

Samaniego G., José Alfredo, & Pedroza-Sandoval, Aurelio. (2013). Usos potenciales de los ácidos grasos volátiles en suelo, agua y aire. *Terra Latinoamericana*, 31(2), 155-163. Recuperado en 24 de diciembre de 2024, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-57792013000300155&lng=es&tlng=es.

Sánchez-Reyes, Claudian, Patiño-Iglesias, María Eugenia, Alcántara-Flores, José Luis, Reyes-Ortega, Yasmi, Pérez-Cruz, María Ana, Ortiz-Muñoz, Esiquio. (2016). Determinación Del Potencial Bioquímico De Metano (Pbm) De Residuos De Frutas Y Verduras En Los Hogares. *Revista Internacional De Contaminación Ambiental*, 32(2), 191-198. [Https://Doi.Org/10.20937/Rica.2016.32.02.05](https://Doi.Org/10.20937/Rica.2016.32.02.05)

Seghezze, L., Zeeman, G., van Lier, J. B., Hamelers, H. V. M., & Lettinga, G. (1998). A review: The anaerobic treatment of sewage in UASB and EGSB reactors. *Bioresource Technology*, 65(3), 175–190. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(98\)00046-7](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(98)00046-7)

SEMARNAT (2020). Diagnóstico Básico para la Gestión Integral de los Residuos 2020. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales.

Shapiro, S. S., & Wilk, M. B. (1965). An analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika*, 52(3-4), 591-611. <https://doi.org/10.1093/biomet/52.3-4.591>

Singh, A., Singhanian, R. R., Soam, S., Chen, C.-W., Haldar, D., Varjani, S., Chang, J.-S., Dong, C.-D., & Patel, A. K. (2022). Production Of Bioethanol From Food Waste: Status And Perspectives. *Bioresource Technology*, 360(127651), 127651. [Https://Doi.Org/10.1016/J.Biortech.2022.127651](https://Doi.Org/10.1016/J.Biortech.2022.127651)

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; Méndez, R; Lema, J.M. Methanogenic And Non-Methanogenic Activity Tests. Theoretical Basis And Experimental Set Up, *Water Research*, Volume 27, Issue 8, 1993, Pages 1361-1376, Issn 0043-1354, [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(93\)90224-6](https://doi.org/10.1016/0043-1354(93)90224-6).

Soto-Paz, J., Oviedo-Ocaña, E. R., Manyoma, P. C., Marmolejo-Rebellón, L. F., Torres-Lozada, P., Barrena, R., Sánchez, A., & Komilis, D. (2020). Influence of mixing ratio and turning frequency on the co-composting of biowaste with sugarcane filter cake: a mixture experimental design. *Waste And Biomass Valorization*, 11(6), 2475-2489. <https://doi.org/10.1007/s12649-019-00592-2>

Sun, H., Wu, S. y Dong, R. (2016), Monitoreo de ácidos grasos volátiles y alcalinidad de carbonatos en digestión anaeróbica: Metodologías de titulación. *Chem. Eng. Technol.*, 39: 599-610.

Tg, I., Haq, I., & Kalamdhad, A. S. (2022). Factors Affecting Anaerobic Digestion For Biogas Production: A Review. Elsevier Ebooks, 223-233. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85792-5.00020-4>

Takashima, M., & Speece, R. E. (1989). Mineral nutrient requirements for high-rate methane fermentation of acetate at low SRT. *Research Journal of the Water Pollution Control Federation*, 61(11/12), 1645–1650. <http://www.jstor.org/stable/41480385>

Tauber, J., Parravicini, V., Svoldal, K., & Krampe, J. (2019). Quantifying methane emissions from anaerobic digesters. *Water Science & Technology*, 80(9), 1654-1661. <https://doi.org/10.2166/wst.2019.415>

Toja Ortega, S., Pronk, M., & de Kreuk, M. K. (2021). Anaerobic hydrolysis of complex substrates in full-scale aerobic granular sludge: enzymatic activity determined in different sludge fractions. *Applied microbiology and biotechnology*, 105(14-15), 6073–6086. <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11443-3>

Torres, P., Pérez, A., Cajigas, Á. A., Jurado, C., & Ortiz, N. (2007). Selección De Inóculos Para El Tratamiento Anaerobio De Aguas Residuales Del Proceso De Extracción De Almidón De Yuca. *Ingeniería De Recursos Naturales Y Del Ambiente*, (6), 105-111. <https://www.redalyc.org/Pdf/2311/231120826010.Pdf>

Torres Lozada, P., & Pérez, 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.[Fecha De Consulta 29 De Octubre De 2024]. Issn: 1692-9918. <https://www.redalyc.org/Articulo.Oa?Id=231116434001>

Tonanzi, B.; Galípoli, A.; Gianico, A.; Annesini, MC; Braguglia, CENTÍMETRO Conocimientos en el Anaerobic Hydrolysis Process para Extraer el Estado miPD y Metaes de Activar el Lodo. *Microorganismos* 2021 , 9 , 2523. <https://doi.org/10.3390/microorganismos912252>

United Nations Environment Programme (Unep) (2024). Global Waste Management Outlook 2024: Beyond An Age Of Waste – Turning Rubbish Into A Resource. Nairobi. <https://wedocs.unep.org/20.500.11822/44939>

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* (New York, N.Y.), 48, 193–198. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2015.11.012>

Valentin, M. T., Ciolkosz, D., & Białowiec, A. (2024). Influence of inoculum-to-substrate ratio on biomethane production via anaerobic digestion of biomass. *Environmental microbiology reports*, 16(6), e70009. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.70009>

Valentin, M. T., & Białowiec, A. (2024). Impact of using glucose as a sole carbon source to analyze the effect of biochar on the kinetics of biomethane production. *Scientific Reports*, 14(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-024-59313-y>

Vavilin, V. A., Fernandez, B., Palatsi, J., & Flotats, X. (2008). Hydrolysis kinetics in anaerobic degradation of particulate organic material: An overview. *Waste Management*, 28(6), 939–951. <https://doi.org/10.1016/J.WASMAN.2007.03.028>

Veeken, A., & Hamelers, B. (2000). Effect of substrate-seed mixing and leachate recirculation on solid state digestion of biowaste. *Water Science & Technology*, 41(3), 255-262. <https://doi.org/10.2166/wst.2000.0079>

Velásquez-Piñas, J. A., Calle-Roalcaba, O. D., Miramontes-Martínez, L. R., Alonso-Gómez, L. A. (2023). Evaluación Económica Y Ambiental De Las Tecnologías De Utilización Del Biogás Y Perspectivas Del Análisis Multicriterio. *Revista Ion*, 36(1). <https://doi.org/10.18273/Revion.V36n1-2023003>

Verein Deutscher Ingenieure. (2006). Vdi 4630: Fermentation Of Organic Materials - Characterization Of The Substrate, Sampling, Collection Of Material Data, Fermentation Tests. Düsseldorf, Alemania: VDI-Gesellschaft Energietechnik.

Vian, J., Velasco-Pérez, A., Solar-González, R., García-Herrera, T., Puebla, H., & Vivar-Vera, G. (2024). Particle Size Effect on Anaerobic Digestion of Fruit and Vegetable Waste. *Fermentation*, 10(9), 485. <https://doi.org/10.3390/fermentation10090485>

Vigueras-Carmona, SE, Velasco-Pérez, A., Montes-García, MM, Puebla, H., Rodríguez-Jara, M., & Vian, J. (2025). Efecto del tamaño de las partículas sobre la

biodegradabilidad y la cinética durante la digestión anaeróbica de residuos de frutas y verduras. *Procesos*, 13 (4), 937. <https://doi.org/10.3390/pr13040937>

Wang, C. Y., Yuan, H., Wang, X., Zhu, N., & Lou, Z. (2016). *Characterization of anaerobic granular sludge using a rheological approach*. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 489, 8–15. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2015.10.046>

Wang, Z., Hu, Y., Wang, S., Wu, G., & Zhan, X. (2023). A critical review on dry anaerobic digestion of organic waste: Characteristics, operational conditions, and improvement strategies. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 176, 113208. <https://doi.org/10.1016/J.RSER.2023.113208>

Ward, A. J., Hobbs, P. J., Holliman, P. J., & Jones, D. L. (2008). Optimisation Of The Anaerobic Digestion Of Agricultural Resources. *Bioresource Technology*, 99(17), 7928–7940. <https://doi.org/10.1016/J.Biortech.2008.02.044>

Wilson, D. C., Velis, C., & Cheeseman, C. (2006). Role of informal sector recycling in waste management in developing countries. *Habitat International*, 30(4), 797–808. <https://doi.org/10.1016/J.HABITATINT.2005.09.005>

Wintsche, B., Glaser, K., Sträuber, H., Centler, F., Liebetrau, J., Harms, H., & Kleinstaub, S. (2016). Trace elements induce predominance among methanogenic activity in anaerobic digestion. *Frontiers in Microbiology*, 7, 2034. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.02034>

Wu, D., Li, L., Zhen, F., Liu, H., Xiao, F., Sun, Y., Peng, X., Li, Y., & Wang, X. (2022b). Thermodynamics of volatile fatty acid degradation during anaerobic digestion under organic overload stress: The potential to better identify process stability. *Water Research*, 214, 118187. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2022.118187>

Wu, F., Hu, Y., Chen, Y., Zhang, Y., & Zhou, Q. (2022a). Effect of activated carbon/graphite on enhancing anaerobic digestion of waste activated sludge. *Frontiers in Microbiology*, 13, 999647. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.999647>

Xu, F., Li, Y., Ge, X., Yang, L., & Li, Y. (2018). Anaerobic digestion of food waste – Challenges and opportunities. *Bioresource Technology*, 247, 1047–1058. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2017.09.020>

Yepez, L. E. (2017). Evaluación Del Incremento De La Temperatura En La Digestión Anaeróbica De King Grass Y Gallinaza Para La Producción De Metano (Doctoral Dissertation, Zamorano: Escuela Agrícola Panamericana, 2017.). <https://Bdigital.Zamorano.Edu/Server/Api/Core/Bitstreams/5ef97438-5863-467d-Aa31-8386d2687a37/Content>

- Yenigün, O., & Demirel, B. (2013). Ammonia inhibition in anaerobic digestion: A review. *Process Biochemistry*, 48(5–6), 901–911. <https://doi.org/10.1016/J.PROCBIO.2013.04.012>
- Yoon, Y. M., Kim, S. H., Shin, K. S., & Kim, C. H. (2014). Effects of substrate to inoculum ratio on the biochemical methane potential of piggery slaughterhouse wastes. *Asian-Australasian journal of animal sciences*, 27(4), 600–607. <https://doi.org/10.5713/ajas.2013.13537>
- Yu Liu, Hai-Lou Xu, Shu-Fang Yang, Joo-Hwa Tay, (2003). Mechanisms And Models For Anaerobic Granulation In Upflow Anaerobic Sludge Blanket Reactor, *Water Research*, Volume 37, Issue 3, Pages 661-673, Issn 0043-1354, [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(02\)00351-2](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(02)00351-2).
- Zar, J. H. (2010). *Biostatistical Analysis* (5th ed.). Pearson Education.
- Zieliński M, Kazimierowicz J, Dębowski M. Advantages And Limitations Of Anaerobic Wastewater Treatment—Technological Basics, Development Directions, And Technological Innovations. *Energies*. 2023; 16(1):83. <https://doi.org/10.3390/En16010083>
- Zhang, B., Zhang, L. L., Zhang, S. C., Shi, H. Z., & Cai, W. M. (2005). The Influence of pH on Hydrolysis and Acidogenesis of Kitchen Wastes in Two-phase Anaerobic Digestion. *Environmental Technology*, 26(3), 329–340. <https://doi.org/10.1080/09593332608618563>
- Zhang, C., Su, H., Baeyens, J., & Tan, T. (2014). Reviewing the anaerobic digestion of food waste for biogas production. *Renewable And Sustainable Energy Reviews*, 38, 383-392. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.05.038>
- Zhou, Y., Zhang, Z., Nakamoto, T., Li, Y., Yang, Y., Utsumi, M., & Sugiura, N. (2011). Influence of substrate-to-inoculum ratio on the batch anaerobic digestion of bean curd refuse-okara under mesophilic conditions. *Biomass and Bioenergy*, 35(7), 3251–3256. <https://doi.org/10.1016/J.BIOMBIOE.2011.04.002>
- Zou, J., Cai, L., Lin, J., Wang, R., Li, J., & Jia, M. (2023). Anaerobic fermentation of aerobic granular sludge: Insight into the effect of granule size and sludge structure on hydrolysis and acidification. *Journal of Environmental Management*, 343, 118202. <https://doi.org/10.1016/J.JENVMAN.2023.118202>
- Zhou, N., Xiao, Z., & Chen, D. (2024). Formation/characterization of humin-mediated anaerobic granular sludge and enhanced methanogenic performance. *Bioresource Technology*, 399, 130603. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2024.130603>

ANEXOS

ANEXO 1. Producción diaria de biogás estimada mediante mediciones manométricas en digestión anaerobia a 35 °C para relaciones S/I de 0,2; 0,5 y 1,0.

DIA	RELACIÓN 0,2			RELACIÓN 0,5			RELACIÓN 1,0		
	Botella	Presión antes de purgar	Presión después de purgar	Botella	Presión antes de purgar	Presión después de purgar	Botella	Presión antes de purgar	Presión después de purgar
0	III - S/I: 0.2 – 35°C	0		III - S/I: 0.5 – 35°C	0		III - S/I: 0.2 – 35°C	0	
	III - S/I: 0.2 – 35°C - R	0		III - S/I: 0.5 – 35°C - R	0		III - S/I: 0.2 – 35°C - R	0	
	III - S/I: 0.2 – 35°C – R2	0		III - S/I: 0.5 – 35°C – R2	0		III - S/I: 0.2 – 35°C – R2	0	
	III - B – 35°C	0		III - B – 35°C	0		III - B – 35°C	0	
2	III - S/I: 0.2 – 35°C	74		III - S/I: 0.5 – 35°C	116		III - S/I: 0.2 – 35°C	268	
	III - S/I: 0.2 – 35°C - R	72		III - S/I: 0.5 – 35°C - R	74		III - S/I: 0.2 – 35°C - R	214	
	III - S/I: 0.2 – 35°C – R2	75		III - S/I: 0.5 – 35°C – R3	135		III - S/I: 0.2 – 35°C – R2	191	
	III - B – 35°C	0		III - B – 35°C	0		III - B – 35°C	0	
4	III - S/I: 0.2 – 35°C	52		III - S/I: 0.5 – 35°C	199		III - S/I: 0.2 – 35°C	542	262
	III - S/I: 0.2 – 35°C - R	83		III - S/I: 0.5 – 35°C - R	34		III - S/I: 0.2 – 35°C - R	487	265
	III - S/I: 0.2 – 35°C – R2	68		III - S/I: 0.5 – 35°C – R4	268		III - S/I: 0.2 – 35°C – R2	268	
	III - B – 35°C	5		III - B – 35°C	5		III - B – 35°C	5	
6	III - S/I: 0.2 – 35°C	72		III - S/I: 0.5 – 35°C	274		III - S/I: 0.2 – 35°C	414	291
	III - S/I: 0.2 – 35°C - R	122		III - S/I: 0.5 – 35°C - R	4		III - S/I: 0.2 – 35°C - R	403	303
	III - S/I: 0.2 – 35°C – R2	91		III - S/I: 0.5 – 35°C – R5	314		III - S/I: 0.2 – 35°C – R2	195	
	III - B – 35°C	0		III - B – 35°C	0		III - B – 35°C	0	
8	III - S/I: 0.2 – 35°C	119		III - S/I: 0.5 – 35°C	315		III - S/I: 0.2 – 35°C	396	

	III - S/I: 0.2 – 35°C - R	172		III - S/I: 0.5 – 35°C - R	0		III - S/I: 0.2 – 35°C - R	393	
	III - S/I: 0.2 – 35°C - R2	135		III - S/I: 0.5 – 35°C - R6	378		III - S/I: 0.2 – 35°C - R2	177	
	III - B – 35°C	0		III - B – 35°C	0		III - B – 35°C	0	
10	III - S/I: 0.2 – 35°C	158		III - S/I: 0.5 – 35°C	341		III - S/I: 0.2 – 35°C	467	174
	III - S/I: 0.2 – 35°C - R	242		III - S/I: 0.5 – 35°C - R	0		III - S/I: 0.2 – 35°C - R	449	75
	III - S/I: 0.2 – 35°C - R2	192		III - S/I: 0.5 – 35°C - R7	448	185	III - S/I: 0.2 – 35°C - R2	200	
	III - B – 35°C	0		III - B – 35°C	0		III - B – 35°C	0	
12	III - S/I: 0.2 – 35°C	174		III - S/I: 0.5 – 35°C	351		III - S/I: 0.2 – 35°C	274	
	III - S/I: 0.2 – 35°C - R	278		III - S/I: 0.5 – 35°C - R	0		III - S/I: 0.2 – 35°C - R	209	
	III - S/I: 0.2 – 35°C - R2	222		III - S/I: 0.5 – 35°C - R8	268		III - S/I: 0.2 – 35°C - R2	181	
	III - B – 35°C	0		III - B – 35°C	0		III - B – 35°C	0	
14	III - S/I: 0.2 – 35°C	227		III - S/I: 0.5 – 35°C	348		III - S/I: 0.2 – 35°C	308	
	III - S/I: 0.2 – 35°C - R	344		III - S/I: 0.5 – 35°C - R	0		III - S/I: 0.2 – 35°C - R	251	
	III - S/I: 0.2 – 35°C - R2	274		III - S/I: 0.5 – 35°C - R9	308		III - S/I: 0.2 – 35°C - R2	213	
	III - B – 35°C	45		III - B – 35°C	45		III - B – 35°C	45	
16	III - S/I: 0.2 – 35°C	274		III - S/I: 0.5 – 35°C	285		III - S/I: 0.2 – 35°C	326	
	III - S/I: 0.2 – 35°C - R	371		III - S/I: 0.5 – 35°C - R	0		III - S/I: 0.2 – 35°C - R	275	
	III - S/I: 0.2 – 35°C - R2	277		III - S/I: 0.5 – 35°C - R10	334		III - S/I: 0.2 – 35°C - R2	219	
	III - B – 35°C	71		III - B – 35°C	71		III - B – 35°C	71	
18	III - S/I: 0.2 – 35°C	283		III - S/I: 0.5 – 35°C	351		III - S/I: 0.2 – 35°C	428	216

	III - S/I: 0.2 – 35°C - R	382		III - S/I: 0.5 – 35°C - R	0		III - S/I: 0.2 – 35°C - R	348	
	III - S/I: 0.2 – 35°C - R2	299		III - S/I: 0.5 – 35°C - R11	419	129	III - S/I: 0.2 – 35°C - R2	274	
	III - B – 35°C	105		III - B – 35°C	105		III - B – 35°C	105	
20	III - S/I: 0.2 – 35°C	319		III - S/I: 0.5 – 35°C	358		III - S/I: 0.2 – 35°C	274	
	III - S/I: 0.2 – 35°C - R	428	209	III - S/I: 0.5 – 35°C - R	0		III - S/I: 0.2 – 35°C - R	369	
	III - S/I: 0.2 – 35°C - R2	314		III - S/I: 0.5 – 35°C - R12	183		III - S/I: 0.2 – 35°C - R2	214	
	III - B – 35°C	132		III - B – 35°C	132		III - B – 35°C	132	
22	III - S/I: 0.2 – 35°C	329		III - S/I: 0.5 – 35°C	344		III - S/I: 0.2 – 35°C	314	
	III - S/I: 0.2 – 35°C - R	265		III - S/I: 0.5 – 35°C - R	0		III - S/I: 0.2 – 35°C - R	381	
	III - S/I: 0.2 – 35°C - R2	311		III - S/I: 0.5 – 35°C - R13	217		III - S/I: 0.2 – 35°C - R2	188	
	III - B – 35°C	177		III - B – 35°C	177		III - B – 35°C	177	
24	III - S/I: 0.2 – 35°C	409	17	III - S/I: 0.5 – 35°C	387		III - S/I: 0.2 – 35°C	385	
	III - S/I: 0.2 – 35°C - R	342		III - S/I: 0.5 – 35°C - R	0		III - S/I: 0.2 – 35°C - R	451	185
	III - S/I: 0.2 – 35°C - R3	359		III - S/I: 0.5 – 35°C - R14	289		III - S/I: 0.2 – 35°C - R3	192	
	III - B – 35°C	211		III - B – 35°C	211		III - B – 35°C	211	
26	III - S/I: 0.2 – 35°C	107		III - S/I: 0.5 – 35°C	404	139	III - S/I: 0.2 – 35°C	454	163
	III - S/I: 0.2 – 35°C - R	271		III - S/I: 0.5 – 35°C - R	45		III - S/I: 0.2 – 35°C - R	281	
	III - S/I: 0.2 – 35°C - R4	395		III - S/I: 0.5 – 35°C - R15	347		III - S/I: 0.2 – 35°C - R4	203	
	III - B – 35°C	243		III - B – 35°C	243		III - B – 35°C	243	
28	III - S/I: 0.2 – 35°C	144		III - S/I: 0.5 – 35°C	203		III - S/I: 0.2 – 35°C	232	

	III - S/I: 0.2 – 35°C - R	411	15	III - S/I: 0.5 – 35°C - R	48		III - S/I: 0.2 – 35°C - R	292	
	III - S/I: 0.2 – 35°C – R5	377		III - S/I: 0.5 – 35°C – R16	369		III - S/I: 0.2 – 35°C – R5	206	
	III - B – 35°C	197		III - B – 35°C	197		III - B – 35°C	197	
30	III - S/I: 0.2 – 35°C	206		III - S/I: 0.5 – 35°C	273		III - S/I: 0.2 – 35°C	299	
	III - S/I: 0.2 – 35°C - R	108		III - S/I: 0.5 – 35°C - R	71		III - S/I: 0.2 – 35°C - R	342	
	III - S/I: 0.2 – 35°C – R6	413	102	III - S/I: 0.5 – 35°C – R17	437	52	III - S/I: 0.2 – 35°C – R6	231	
	III - B – 35°C	293		III - B – 35°C	293		III - B – 35°C	293	
32	III - S/I: 0.2 – 35°C	246		III - S/I: 0.5 – 35°C	307		III - S/I: 0.2 – 35°C	336	
	III - S/I: 0.2 – 35°C - R	173		III - S/I: 0.5 – 35°C - R	64		III - S/I: 0.2 – 35°C - R	366	
	III - S/I: 0.2 – 35°C – R7	165		III - S/I: 0.5 – 35°C – R18	135		III - S/I: 0.2 – 35°C – R7	231	
	III - B – 35°C	325		III - B – 35°C	325		III - B – 35°C	325	
34	III - S/I: 0.2 – 35°C	288		III - S/I: 0.5 – 35°C	342		III - S/I: 0.2 – 35°C	363	
	III - S/I: 0.2 – 35°C - R	213		III - S/I: 0.5 – 35°C - R	61		III - S/I: 0.2 – 35°C - R	391	
	III - S/I: 0.2 – 35°C – R8	214		III - S/I: 0.5 – 35°C – R19	177		III - S/I: 0.2 – 35°C – R8	219	
	III - B – 35°C	323		III - B – 35°C	323		III - B – 35°C	323	
36	III - S/I: 0.2 – 35°C	319		III - S/I: 0.5 – 35°C	373		III - S/I: 0.2 – 35°C	398	
	III - S/I: 0.2 – 35°C - R	277		III - S/I: 0.5 – 35°C - R	61		III - S/I: 0.2 – 35°C - R	419	169
	III - S/I: 0.2 – 35°C – R9	249		III - S/I: 0.5 – 35°C – R20	224		III - S/I: 0.2 – 35°C – R9	222	
	III - B – 35°C	315		III - B – 35°C	315		III - B – 35°C	315	
38	III - S/I: 0.2 – 35°C	352		III - S/I: 0.5 – 35°C	396		III - S/I: 0.2 – 35°C	406	143

	III - S/I: 0.2 – 35°C - R	299		III - S/I: 0.5 – 35°C - R	52		III - S/I: 0.2 – 35°C - R	222	
	III - S/I: 0.2 – 35°C – R10	281		III - S/I: 0.5 – 35°C – R21	271		III - S/I: 0.2 – 35°C – R10	205	
	III - B – 35°C	354		III - B – 35°C	354		III - B – 35°C	354	
40	III - S/I: 0.2 – 35°C	355		III - S/I: 0.5 – 35°C	421	166	III - S/I: 0.2 – 35°C	209	
	III - S/I: 0.2 – 35°C - R	301		III - S/I: 0.5 – 35°C - R	63		III - S/I: 0.2 – 35°C - R	246	
	III - S/I: 0.2 – 35°C – R11	283		III - S/I: 0.5 – 35°C – R22	283		III - S/I: 0.2 – 35°C – R11	217	
	III - B – 35°C	377		III - B – 35°C	377		III - B – 35°C	377	
42	III - S/I: 0.2 – 35°C	373		III - S/I: 0.5 – 35°C	225		III - S/I: 0.2 – 35°C	243	
	III - S/I: 0.2 – 35°C - R	326		III - S/I: 0.5 – 35°C - R	61		III - S/I: 0.2 – 35°C - R	271	
	III - S/I: 0.2 – 35°C – R12	301		III - S/I: 0.5 – 35°C – R23	308		III - S/I: 0.2 – 35°C – R12	203	
	III - B – 35°C	359		III - B – 35°C	359		III - B – 35°C	359	
44	III - S/I: 0.2 – 35°C	403	225	III - S/I: 0.5 – 35°C	273		III - S/I: 0.2 – 35°C	273	
	III - S/I: 0.2 – 35°C - R	359		III - S/I: 0.5 – 35°C - R	59		III - S/I: 0.2 – 35°C - R	285	
	III - S/I: 0.2 – 35°C – R13	323		III - S/I: 0.5 – 35°C – R24	341		III - S/I: 0.2 – 35°C – R13	191	
	III - B – 35°C	421	222	III - B – 35°C	421	222	III - B – 35°C	421	222
46	III - S/I: 0.2 – 35°C	286		III - S/I: 0.5 – 35°C	312		III - S/I: 0.2 – 35°C	329	
	III - S/I: 0.2 – 35°C - R	392		III - S/I: 0.5 – 35°C - R	43		III - S/I: 0.2 – 35°C - R	329	
	III - S/I: 0.2 – 35°C – R14	341		III - S/I: 0.5 – 35°C – R25	374		III - S/I: 0.2 – 35°C – R14	188	
	III - B – 35°C	291		III - B – 35°C	291		III - B – 35°C	291	
48	III - S/I: 0.2 – 35°C	303		III - S/I: 0.5 – 35°C	323		III - S/I: 0.2 – 35°C	328	

	III - S/I: 0.2 – 35°C - R	394		III - S/I: 0.5 – 35°C - R	24		III - S/I: 0.2 – 35°C - R	303	
	III - S/I: 0.2 – 35°C – R15	344		III - S/I: 0.5 – 35°C – R26	371		III - S/I: 0.2 – 35°C – R15	174	
	III - B – 35°C	286		III - B – 35°C	286		III - B – 35°C	286	
50	III - S/I: 0.2 – 35°C	326		III - S/I: 0.5 – 35°C	356		III - S/I: 0.2 – 35°C	378	
	III - S/I: 0.2 – 35°C - R	416	122	III - S/I: 0.5 – 35°C - R	38		III - S/I: 0.2 – 35°C - R	371	
	III - S/I: 0.2 – 35°C – R16	362		III - S/I: 0.5 – 35°C – R27	419	77	III - S/I: 0.2 – 35°C – R16	179	
	III - B – 35°C	281		III - B – 35°C	281		III - B – 35°C	281	
52	III - S/I: 0.2 – 35°C	411	132	III - S/I: 0.5 – 35°C	435	105	III - S/I: 0.2 – 35°C	465	23
	III - S/I: 0.2 – 35°C - R	216		III - S/I: 0.5 – 35°C - R	48		III - S/I: 0.2 – 35°C - R	431	214
	III - S/I: 0.2 – 35°C – R17	439	19	III - S/I: 0.5 – 35°C – R28	177		III - S/I: 0.2 – 35°C – R17	203	
	III - B – 35°C	344		III - B – 35°C	344		III - B – 35°C	344	
54	III - S/I: 0.2 – 35°C	188		III - S/I: 0.5 – 35°C	77		III - S/I: 0.2 – 35°C	132	
	III - S/I: 0.2 – 35°C - R	254		III - S/I: 0.5 – 35°C - R	78		III - S/I: 0.2 – 35°C - R	286	
	III - S/I: 0.2 – 35°C – R18	88		III - S/I: 0.5 – 35°C – R29	216		III - S/I: 0.2 – 35°C – R18	222	
	III - B – 35°C	403	307	III - B – 35°C	403	307	III - B – 35°C	403	307
56	III - S/I: 0.2 – 35°C	202		III - S/I: 0.5 – 35°C	94		III - S/I: 0.2 – 35°C	143	
	III - S/I: 0.2 – 35°C - R	262		III - S/I: 0.5 – 35°C - R	89		III - S/I: 0.2 – 35°C - R	289	
	III - S/I: 0.2 – 35°C – R19	105		III - S/I: 0.5 – 35°C – R30	232		III - S/I: 0.2 – 35°C – R19	198	
	III - B – 35°C	288		III - B – 35°C	288		III - B – 35°C	288	
58	III - S/I: 0.2 – 35°C	236		III - S/I: 0.5 – 35°C	137		III - S/I: 0.2 – 35°C	184	

	III - S/I: 0.2 – 35°C - R	306		III - S/I: 0.5 – 35°C - R	118		III - S/I: 0.2 – 35°C - R	325	
	III - S/I: 0.2 – 35°C – R20	112		III - S/I: 0.5 – 35°C – R31	272		III - S/I: 0.2 – 35°C – R20	195	
	III - B – 35°C	341		III - B – 35°C	341		III - B – 35°C	341	
60	III - S/I: 0.2 – 35°C	283		III - S/I: 0.5 – 35°C	176		III - S/I: 0.2 – 35°C	222	
	III - S/I: 0.2 – 35°C - R	341		III - S/I: 0.5 – 35°C - R	143		III - S/I: 0.2 – 35°C - R	365	
	III - S/I: 0.2 – 35°C – R21	183		III - S/I: 0.5 – 35°C – R32	304		III - S/I: 0.2 – 35°C – R21	202	
	III - B – 35°C	442		III - B – 35°C	442		III - B – 35°C	442	