

TRABAJO DE FIN DE MASTER

ESTUDIO COMPARATIVO DE LA PRODUCCIÓN DE BIOGÁS MEDIANTE TECNOLOGÍA DE BIORREACTORES ANAEROBIOS DE CODIGESTIÓN A ESCALA LABORATORIO

Presentado por:

Adriana Pacherres Ato

Para la obtención del:

Máster universitario en Ingeniería Ambiental



Curso: 2017/2018

Fecha: Septiembre 2018

Tutor: Alberto Bouzas y Rebecca Serna

ÍNDICE

RESUMEN

1. Introducción	1
1.1. Importancia de la recuperación de recursos de las aguas residuales.....	1
1.2. Tratamiento de aguas residuales	2
1.2.1. Tratamientos biológicos de las aguas residuales	3
1.2.1.1. Sistemas de tratamiento aerobios.....	4
1.2.1.2. Sistemas de tratamientos anaerobios.....	5
1.2.1.3. Tecnologías para el tratamiento anaerobio.....	14
1.2.1.4. Post- tratamiento de efluentes de procesos anaerobios.....	18
2. Objetivos y plan de trabajo	30
3.- Materiales y métodos	32
3.1. Sustratos.....	32
3.2. Descripción de los reactores y las condiciones operacionales.....	34
3.2.1. Ensayo continuo de cogestión anaerobia mesófila	34
3.2.2. Ensayo continuo de cogestión anaerobia termófila.....	37
3.3. Métodos analíticos	39
3.3.1. Sólidos totales (ST), volátiles (SV), suspendidos (SST) y suspendidos volátiles (SSV).....	39
3.3.2. Demanda química de oxígeno (DQO).....	40
3.3.3. Nutrientes.....	41
3.3.4. Contenido en metano del biogás.....	41
3.4. Seguimiento de la estabilidad y eficiencia del proceso biológico	42
3.4.1. Balance de DQO.....	42
3.4.2. Balance de sólidos volátiles	45
3.4.3. Eficiencia del proceso.....	45
3.4.4. Amoníaco.....	46
4. Resultados	48
4.1. Codigestión anaerobia de biomasa algal y fango primario de EDAR en condiciones mesófilas	48
4.1.1. Caracterización de la corriente afluyente para la digestión anaerobia en condiciones mesófilas	48

4.1.2. Análisis de los sólidos totales, suspendidos y volátiles.....	50
4.1.3. Análisis de la DQO	52
4.1.4. Análisis de la evolución de biogás.....	53
4.2. Codigestión anaerobia de biomasa algal y fango primario de EDAR en condiciones termófilas	58
4.2.1. Caracterización del alimento para la digestión anaerobia en condiciones termófilas	58
4.2.2. Análisis de los sólidos totales, suspendidos y volátiles.....	60
4.2.3. Análisis de la DQO	62
4.2.4. Análisis de la evolución de biogás.....	64
4.3. Efecto de la temperatura de operación	69
5. Conclusiones.....	73
6. Bibliografía	76

RESUMEN

RESUMEN

El presente Trabajo Final de Máster (TFM) se enmarca en la tesis doctoral de Rebecca Serna sobre la digestión anaerobia de fangos y microalgas, y la producción de biogás utilizando biorreactores anaerobios con membranas (AnMBR). Este proyecto es una de las líneas de trabajo actuales llevadas a cabo por el grupo de investigación CALAGUA, formado por personal del Instituto de Ingeniería del Agua y Medio Ambiente de la Universitat Politècnica de València y del Dpto. de Ingeniería Química de la Universitat de València, cuyo objetivo final es el desarrollo de esquemas viables que permitan el tratamiento del agua residual urbana mediante el uso de la tecnología de AnMBR.

Un esquema de tratamiento anaerobio permitiría la eliminación de materia orgánica del agua residual urbana con una reducción de la demanda energética significativa y de la cantidad de fango producido se reduce en comparación al proceso aerobio. Por su parte, la filtración con membranas de ultrafiltración permite mejorar el rendimiento de todos los procesos implicados al permitir el desacoplamiento de los tiempos de retención celular (TRC) y los tiempos de retención hidráulica (TRH) en todos los sistemas incluidos. Del esquema mencionado se obtiene un efluente libre de sólidos suspendidos y patógenos, aunque con concentraciones de nutrientes (NH_4^+ y PO_4^{3-}) que la legislación actual no permite usar directamente sobre el terreno, por lo que se busca una alternativa para la eliminación de los nutrientes presentes en el efluente de un AnMBR. Para ello, el grupo CALAGUA propone el uso de la tecnología de membranas acoplada a un fotobiorreactor (tecnología MPBR) donde un cultivo de microalgas resulta efectivo en la remoción de nutrientes.

La ratio C/N, bajo en microalgas derivado de su alto contenido en proteínas, aumenta la concentración de amoníaco y la concentración de ácidos grasos y puede inhibir potencialmente la digestión anaeróbica. La codigestión con residuos ricos en carbono es un método para equilibrar esta relación y superar esta desventaja. Los fangos producidos en la decantación primaria de un proceso de depuración de aguas residuales, son un ejemplo con los que se puede conseguir una producción creciente de biogás a partir de su codigestión con un cultivo de microalgas. Así, el esquema alternativo e innovador que se propone es la combinación de la decantación primaria de una EDAR ubicada en la Cuenca del Carraeixet y un fotobiorreactor, y la digestión conjunta de los fangos producidos (primario y AnMBR) con la biomasa algal proveniente del sistema MPBR con el fin de maximizar la recuperación de la energía en un proceso de depuración de aguas residuales urbanas.

Para obtener resultados extrapolables a plantas reales, se realiza una primera etapa de experimentación a **escala piloto y semi-industrial**. Este TFM se centra en los resultados obtenidos de dos AnMBR pilotos a **escala laboratorio**, operados en condiciones de temperatura mesófila y termófila, permitiendo así la evaluación comparativa de la producción de biogás de los procesos anaerobios, así como de la calidad de su efluente y las diferentes ventajas y desventajas que presentan durante el periodo experimental. Se han obtenido porcentajes de producción de metano óptimos, en el caso de ambos reactores, observándose una mayor biodegradabilidad, respecto a la digestión únicamente de biomasa algas, gracias a la mezcla de la misma con fango de EDAR.

ABSTRACT

The present Master Final Project (TFM) is part of the doctoral thesis of Rebecca Serna on the anaerobic digestion of sludge and microalgae, and the production of biogas using anaerobic bioreactors with membranes (AnMBR). This project is one of the current lines of work carried out by the CALAGUA research group, formed by personnel from the Institute of Water and Environmental Engineering of the Universitat Politècnica de València and the Dept. of Chemical Engineering of the Universitat de València, whose final objective is the development of viable schemes that allow the treatment of urban wastewater through the use of AnMBR technology.

An anaerobic treatment scheme would allow the removal of organic matter from urban wastewater with a significant reduction in energy demand and the amount of sludge produced is reduced compared to the aerobic process. On the other hand, the filtration with ultrafiltration membranes allows to improve the performance of all the processes involved by allowing the decoupling of cell retention times (TRC) and hydraulic retention times (TRH) in all the systems included. From the aforementioned scheme an effluent free of suspended solids and pathogens is obtained, although with nutrient concentrations (NH_4^+ and PO_4^{3-}) that the current legislation does not allow to use directly on the ground, so an alternative for the elimination of nutrients is looked for present in the effluent of an AnMBR. For this, the CALAGUA group proposes the use of membrane technology coupled to a photobioreactor (MPBR technology) where a microalgae culture is effective in the removal of nutrients.

The C/N ratio, low in microalgae derived from its high protein content, increases the concentration of ammonia and the concentration of fatty acids and can potentially inhibit anaerobic digestion. Co-digestion with carbon-rich waste is a method to balance this relationship and overcome this disadvantage. The sludge produced in the primary settling of a wastewater treatment process is an example with which an increasing production of biogas can be achieved from its codigestion with a microalgae culture. Thus, the alternative and innovative scheme proposed is the combination of the primary sedimentation of a WWTP located in the Carraixet Basin and a photobioreactor, and the joint digestion of the sludge produced (primary and AnMBR) with the algal biomass from the system MPBR in order to maximize the recovery of energy in a process of urban wastewater treatment.

To obtain results extrapolables to real plants, a first stage of experimentation is carried out at pilot and semi-industrial scale. This TFM focuses on the results obtained from two AnMBR pilots at laboratory scale, operated under mesophilic and thermophilic temperature conditions, thus allowing the comparative evaluation of the biogas production of the anaerobic processes, as well as the quality of their effluent and the different advantages and disadvantages presented during the experimental period. Optimal methane production percentages have been obtained, in the case of both reactors, observing a greater biodegradability, with respect to the digestion of only biomass algae, thanks to the mixture of same with WWTP sludge.

RESUM

El present Treball Final de Màster (TFM) s'emmarca en la tesi doctoral de Rebecca Serna sobre la digestió anaeròbia de fangs i microalgues, i la producció de biogàs utilitzant bioreactors anaerobis amb membranes (AnMBR). Este projecte és una de les línies de treball actuals dutes a terme pel grup d'investigació CALAGUA, format per personal de l'Institut d'Enginyeria de l'Aigua i Medi Ambient de la Universitat Politècnica de València i del Dpto. d'Enginyeria Química de la Universitat de València, l'objectiu final de la qual és el desenrotllament d'esquemes viables que permeten el tractament de l'aigua residual urbana per mitjà de l'ús de la tecnologia d'AnMBR.

Un esquema de tractament anaerobi permetria l'eliminació de matèria orgànica de l'aigua residual urbana amb una reducció de la demanda energètica significativa i de la quantitat de fang produït es reduïx en comparació al procés aerobi. Per la seua banda, la filtració amb membranes d'ultrafiltració permet millorar el rendiment de tots els processos implicats al permetre el desacoblament dels temps de retenció cel·lular (TRC) i els temps de retenció hidràulica (TRH) en tots els sistemes inclosos. De l'esquema mencionat s'obté un efluent lliure de sòlids suspesos i patògens, encara que amb concentracions de nutrients (NH_4^+ i PO_4^{3-}) que la legislació actual no permet usar directament sobre el terreny, per la qual cosa es busca una alternativa per a l'eliminació dels nutrients presents en l'efluent d'un AnMBR. Per a això, el grup CALAGUA proposa l'ús de la tecnologia de membranes acoblada a un fotobiorreactor (tecnologia MPBR) on un cultiu de microalgues resulta efectiu en la remoció de nutrients.

La ràtio C/N, davall en microalgues derivat del seu alt contingut en proteïnes, augmenta la concentració d'amoníac i la concentració d'àcids grassos i pot inhibir potencialment la digestió anaeròbica. La codigestió amb residus rics en carboni és un mètode per a equilibrar esta relació i superar este desavantatge. Els fangs produïts en la decantació primària d'un procés de depuració d'aigües residuals, són un exemple amb què es pot aconseguir una producció creixent de biogàs a partir del seu codigestió amb un cultiu de microalgues. Així, l'esquema alternatiu i innovador que es proposa és la combinació de la decantació primària d'una EDAR ubicada en la Conca del Carraixet i un fotobiorreactor, i la digestió conjunta dels fangs produïts (primari i AnMBR) amb la biomassa algal provinent del sistema MPBR a fi de maximitzar la recuperació de l'energia en un procés de depuració d'aigües residuals urbanes.

Per a obtindre resultats extrapolables a plantes reals, es realitza una primera etapa d'experimentació a escala pilot i semi-industrial. Este TFM se centra en els resultats obtinguts de dos AnMBR pilots a escala laboratori, operats en condicions de temperatura mesòfila i termòfila, permetent així l'avaluació comparativa de la producció de biogàs dels processos anaerobis, així com de la qualitat del seu efluent i els diferents avantatges i desavantatges que presenten durant el període experimental. S'han obtingut percentatges de producció de metà òptims, en el cas d'ambdós reactors, observant-se una major biodegradabilitat, respecte a la digestió únicament de biomassa algues, gràcies a la mescla de la mateixa amb fang d'EDAR.

INTRODUCCIÓN

1. Introducción

1.1. Importancia de la recuperación de recursos de las aguas residuales

El agua es un recurso necesario para cualquier forma de vida sobre la Tierra. La mayoría de las actividades humanas que emplean agua producen aguas residuales. A medida que aumenta la demanda total de agua, la cantidad de aguas residuales producidas y la carga contaminante total de las mismas aumentan continuamente en el mundo entero.

Frente a la siempre creciente demanda, las aguas residuales están cobrando importancia como fuente de agua alternativa fiable, cambiando el paradigma de la gestión de aguas residuales de “tratamiento y eliminación” a “reutilización, reciclado y recuperación del recurso”.

Las aguas residuales también pueden ser una fuente rentable y sostenible de energía, nutrientes y otros subproductos útiles. Los beneficios potenciales de extraer dichos recursos de las aguas residuales van mucho más allá de la salud humana y ambiental, con consecuencias a nivel de la seguridad alimentaria y energética, así como de mitigación del cambio climático.

A pesar del amplio potencial de las aguas residuales como fuente de recursos sigue estando poco explotado. Puede recuperarse energía en forma de biogás, calefacción/refrigeración y generación de electricidad. Existen tecnologías para la recuperación de energía *in situ* mediante procesos de tratamiento de fangos de depuradora, integrados en plantas de tratamiento de aguas residuales, que hacen posible que pasen de ser los principales consumidores de energía a una condición de neutralidad energética, o incluso a ser productores netos de energía. También hay oportunidades para las energías combinadas y la recuperación de nutrientes.

En el contexto de una economía circular, en que el desarrollo económico se equilibra con la protección de los recursos naturales y la sostenibilidad ambiental, las aguas residuales representan un recurso abundante y valioso.

Luego de un tratamiento, que podrá ser químico, biológico, o físico, las aguas residuales pueden ser reutilizadas, como insumos en diversos procesos productivos, ya sea como fuente de energía, calor o como líquido

La transformación de las aguas residuales de residuo a recursos, disminuye notablemente el impacto en el medioambiente, mejorando la calidad del agua disponible, de los ecosistemas existentes y en definitiva de la vida de las personas.

El uso de las aguas residuales como recursos, produce beneficios económicos, sociales y medioambientales. Si cada institución o empresa que genere cantidades considerables de aguas residuales, puede ella misma reciclar el agua y reutilizarla en sus procesos o aportarla para el proceso de otras, la economía circular comenzaría a funcionar, multiplicando beneficios con cada inicio de un nuevo ciclo.

1.2. Tratamiento de aguas residuales

Debido al contenido irregular y complejo de los contaminantes contenidos en las aguas residuales, es necesaria la combinación de diversos procesos de tratamiento, que tienen como objetivo reducir la carga contaminante de las aguas residuales hasta límites aceptables para el cauce receptor. Dichos tratamientos se llevan a cabo en las Estaciones Depuradoras de Aguas Residuales (EDAR), cuya función básica es recoger las aguas de una población o industria, y después de reducir la contaminación mediante ciertos tratamientos y procesos, la devuelve a un cauce receptor como un río, embalse, mar, etc. Dentro de un esquema general básico de una EDAR se pueden distinguir tres líneas de tratamiento diferenciadas: la línea de agua, la línea de fango y la línea de gas.

Se pueden distinguir tres tipos de tratamientos, que individual o conjuntamente dan lugar a cambios en la calidad del agua:

- **Tratamientos físicos:** se basan en la aplicación de fenómenos físicos como son: la fuerza gravitatoria, la fuerza centrífuga, la fuerza de retención, y la fuerza de cohesión. Entre los tratamientos, realizados en una EDAR, que responden a los procesos físicos se encuentran: el desbaste de sólidos, el desengrasado, el desarenado, la sedimentación, la flotación, entre otros.
- **Tratamientos químicos:** son aquellos provocados por la adición de productos químicos. En ocasiones es conveniente el empleo de reactivos químicos para provocar reacciones químicas que favorecen la eliminación de la contaminación. Relacionados con los procesos químicos hay diversos tratamientos de aguas residuales como son: la floculación, la coagulación, la neutralización, la oxidación, la reducción, el intercambio iónico, la absorción, y la desinfección.
- **Tratamientos biológicos:** son los que producen cambios en la calidad del agua utilizando reacciones bioquímicas, asociadas a organismos vivos. Los microorganismos crecen utilizando los contaminantes del agua como fuente de carbono y/o como fuente de energía, convirtiéndolos en nueva biomasa, dióxido de carbono y otros compuestos inocuos. Los sistemas más característicos son: fangos activados, lagunas aireadas, lagunaje, filtros percoladores, biodiscos, lechos de turba (Ferrer, J. & Seco, A., 2007), biorreactores de membrana y reactores de manto de lodos y flujo ascendente (UASB, Upflow Anaerobic Sludge Blanket).

Los tratamientos de depuración de aguas residuales se diseñan para disminuir la contaminación del agua residual. Para ello se combinan de manera estudiada diversos procesos. Cada tratamiento tiene un objetivo concreto en la depuración según en la fase que se encuentre. Hay ocasiones, que por la composición del agua o el destino final del efluente se recomiendan hacer variaciones en los tratamientos convencionales. De forma general podemos clasificar los tratamientos en cuatro grandes grupos:

- **Pretratamiento:** se eliminan las materias más gruesas, que por su naturaleza o tamaño pueden originar problemas en los tratamientos posteriores. Suele comprender las

operaciones de desbaste, desarenado y desengrasado, aunque en algunos casos puede incluir otras como la regulación y homogeneización de caudales y cargas.

- **Tratamiento primario:** elimina fundamentalmente los sólidos en suspensión (SS), que no se han conseguido eliminar en el pretratamiento, así como parte de la materia orgánica y nutrientes asociados, siendo menos efectivo en estos dos últimos casos. Se utilizan procesos físicos, como decantadores en los que la materia suspendida sedimenta por gravedad. Se pueden combinar con la adición de reactivos químicos, obteniéndose procesos físico-químicos que aumenten la eficacia de la sedimentación, en función de la cantidad y el tipo de coagulante empleado.
- **Tratamiento secundario:** habitualmente, se trata de tratamientos biológicos, que suceden en la línea de agua al tratamiento primario de una EDAR. Su objetivo fundamental es la eliminación de la materia orgánica. Es un tratamiento muy complejo, pero que logra unos rendimientos de eliminación de la materia orgánica biodegradable de hasta un 90 %. En este tipo de tratamiento se pueden encontrar: los fangos activos, las lagunas aireadas, los biodiscos y los biorreactores de membrana, entre otros.
- **Tratamiento terciario:** tiene dos objetivos principales; en primer lugar, la mejora del efluente depurado por exigencias del cauce receptor, en segundo lugar, la mejora del efluente para su empleo para un uso determinado. Se trata de una serie de tratamientos físico-químicos, como la desinfección, filtración, ósmosis, ozonización, etc., destinados a la eliminación de patógenos, nutrientes, y componentes específicos del medio.

Finalmente, cabe mencionar que, en determinadas condiciones, se hace necesario un tratamiento avanzado de aguas residuales en el que se emplean combinaciones adicionales de los procesos y operaciones unitarias comentadas, para remover esencialmente nutrientes, cuya reducción con el tratamiento secundario generalmente no es significativa (Hammaken, A.M. & Romero, E., 2005).

1.2.1. Tratamientos biológicos de las aguas residuales

El tratamiento biológico de las aguas residuales consiste en una serie de procesos de tratamiento que tienen como factor común la utilización de microorganismos, que se mantienen en suspensión en el agua o bien se adhieren a un soporte sólido formando una capa de crecimiento, para llevar a cabo la eliminación de componentes solubles presentes en el agua residual. Los organismos más importantes que intervienen en los sistemas de tratamiento biológico son: bacterias, protozoos, hongos, algas, rotíferos y nematodos.

Los procesos biológicos aprovechan la capacidad metabólica de los microorganismos, de asimilar la materia orgánica y los nutrientes (nitrógeno y fósforo), disueltos en el agua, para su propio crecimiento. Cuando se reproducen, se agregan entre ellos y forman unos flóculos macroscópicos con suficiente masa crítica como para decantar en un tiempo razonable.

Dichos procesos se pueden clasificar, según el aceptor de electrones del metabolismo microbiano, que juega un papel fundamental en la oxidación de la materia orgánica que se pretende eliminar, en tres tipos:

- **Sistemas aerobios:** en presencia de oxígeno (O_2), es dicho elemento el aceptor final de electrones, lo cual conlleva a unos rendimientos energéticos elevados y una importante generación de fangos, dado el alto crecimiento de las bacterias en condiciones aerobias.
- **Sistemas anaerobios:** en este caso el aceptor final de electrones es parte de la propia materia orgánica, que actúa como fuente de carbono. La descomposición de la materia orgánica por las bacterias se realiza en ausencia de O_2 , convirtiéndola en dióxido de carbono (CO_2) y metano (CH_4). Los productos finales de la digestión anaerobia son el biogás y los lodos de digestión. El biogás es una mezcla gaseosa de CH_4 , CO_2 , hidrógeno (H_2), nitrógeno (N_2) y sulfuro de hidrógeno (H_2S), que se puede aprovechar para la producción energética, siendo ésta una importante ventaja frente a los sistemas aerobios; y los lodos de digestión están formados por compuestos no biodegradables y biomasa, se producen en poca cantidad, sumando una ventaja más a dichos procesos.
- **Sistemas anóxicos:** en estos sistemas los aceptores finales de electrones suelen ser los nitratos (NO_3^-), en ausencia de O_2 . Cuando el aceptor final es el nitrato, como resultado del proceso metabólico, el nitrógeno de la molécula de nitrato es transformado en nitrógeno gas. De esta manera, dadas unas ciertas condiciones de operación, se puede conseguir la eliminación biológica del nitrógeno del agua residual (desnitrificación).

1.2.1.1. Sistemas de tratamiento aerobios

Estos sistemas son los más comunes para el tratamiento secundario. Se definen como aquellos realizados por microorganismos que llevan a cabo procesos catabólicos oxidativos, donde la materia orgánica es el reductor que se oxida por un oxidante. En la práctica ese oxidante puede ser el oxígeno, nitrato o sulfato. La oxidación biológica es el mecanismo mediante el cual los microorganismos degradan la materia orgánica contaminante del agua residual. De esta forma, estos microorganismos se alimentan de dicha materia orgánica en presencia de oxígeno y nutrientes.

Estos tratamientos biológicos se pueden diferenciar en función de la disposición de la biomasa, es decir, los microorganismos dentro del reactor. Se distinguen así entre procesos de cultivo en suspensión, siendo el de fangos activos uno de los más convencionales, y procesos de cultivo fijo, como son los lechos bacterias, biodiscos, etc. En el proceso convencional, los microorganismos crecen en suspensión. En los reactores de biodiscos, biofiltros, filtros percoladores o de lecho móvil la biomasa crece adherida a la superficie de un soporte sólido.

En un proceso de fangos activados convencional se diferencian dos operaciones: la oxidación biológica que tiene lugar en el reactor biológico y la separación líquido-sólido que se realiza en el decantador secundario. Una fracción del fango decantado se extrae del sistema (purga) y a continuación pasa a la línea de fangos para su estabilización, o directamente a espesado y/o deshidratación; mientras que el resto del fango se recircula al reactor inicial para mantener la población bacteriana en el sistema.

Los procesos por fangos activos, al contrario que los de cultivo fijo, permiten operar con variaciones de carga másica y tener un control de la concentración de microorganismos en el reactor, así como de la concentración de oxígeno disuelto, aunque éstos supongan mayores costes de aireación. El proceso descrito de fangos activos es el convencional, que funciona bajo tiempos de retención celular (TRC) medios, por lo que los fangos obtenidos necesitan un proceso de estabilización. Actualmente se han desarrollado distintos esquemas y configuraciones de tratamiento para una eliminación conjunta y eficaz tanto de materia orgánica biodegradable, como de nitrógeno y fósforo.

Así mismo, existen otras modificaciones del proceso básico como el proceso de oxidación total, que funciona con valores de TRC elevados, debido a esto los microorganismos presentes compiten por el alimento existente utilizando incluso su propia masa celular. Y además de este proceso, existen otros sistemas biológicos aerobios de cultivo en suspensión como son los reactores discontinuos secuenciales (SBR), lagunas aireadas y reactores biológicos de membranas.

1.2.1.2. Sistemas de tratamientos anaerobios

De forma general, la degradación anaerobia de la materia orgánica es el producto de la interacción mutualística y/o competitiva de diferentes grupos de microorganismos cuyas características cinéticas y termodinámicas, así como los sustratos que utilizan pueden variar ampliamente. La diferenciación entre los distintos grupos de bacterias implicados en la degradación anaerobia de la materia orgánica se basa en los sustratos que utilizan y en los productos finales de su metabolismo. Bajo este criterio, es posible distinguir 3 grupos tróficos diferentes:

Así, el tratamiento anaerobio es un proceso bioquímico en el cual un grupo de diferentes tipos de microorganismos, en ausencia de oxígeno molecular y de nitratos, promueven la transformación de compuestos orgánicos complejos (carbohidratos, proteínas y lípidos) en productos más simples como CH_4 , CO_2 , sulfhídrico (H_2S) y amonio (NH_4^+).

En el proceso de degradación anaerobia de la materia orgánica intervienen, principalmente, microorganismos tales como bacterias y arqueas, tanto anaerobias estrictas como facultativas. Se pueden diferenciar cuatro etapas: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis, que se pueden observar en la figura 1.1 y se describen a continuación:

- *Hidrólisis*

Es la primera fase del proceso anaerobio. En esta fase las partículas y moléculas complejas como son las proteínas, los hidratos de carbono y lípidos, son hidrolizados por enzimas extracelulares producidas por las bacterias acidogénicas. De esta forma se obtienen compuestos solubles más sencillos (aminoácidos, azúcares y ácidos grasos de cadena larga). Los productos de los procesos de hidrólisis son consumidos como sustratos por organismos anaerobios fermentativos o anaerobios oxidadores (Demirel, B., Scherer, P., 2008), que los emplean como fuente de energía y poder reductor en las etapas sucesivas.

La velocidad del proceso de hidrólisis depende fundamentalmente del pH, de la temperatura, del tipo de sustrato, y de la concentración de biomasa con actividad hidrolítica en el sistema (Batstone, D.J., et. al., 2002; Hagos et al., 2016; Kiran et al., 2016), siendo la etapa limitante del proceso en corrientes con elevada presencia de material orgánico particulado (Pavlostathis & Giraldo-Gómez, 1991) y de difícil degradación.

Las bacterias que poseen enzimas hidrolíticas para poder llevar a cabo este proceso son anaerobias facultativas, cuyos géneros más comunes pertenecen a los *phyla Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Chloroflexi* y *Proteobacteria* (Rivière et al., 2009; Sundberg et al., 2013). El género *Clostridium* conforma unas de las bacterias celulotíticas más abundantes (Geng et al., 2010; Germane et al., 2015) junto con *Acetivibrio* y *Bacteroides*. Las bacterias con actividad proteolítica son especies pertenecientes también al género *Clostridium*, así como a los géneros *Proteus* y *Coprothermobacter* (Sasaki et al., 2011); mientras *Anaerovibrio* es uno de los géneros que presenta una alta actividad lipídica (Privé et al., 2013). Sin embargo, la comunidad microbiana que se establece en un reactor anaerobio depende fuertemente de la composición del sustrato a degradar, así como de las condiciones operacionales fijadas, puesto que ambos factores promoverán la dominancia de unos microorganismos sobre otros.

- *Acidogénesis:*

La acidogénesis es un proceso fermentativo, caracterizado por la degradación de los azúcares y de los aminoácidos producidos en la etapa de hidrólisis en ausencia de aceptores o dadores de electrones externos. Este proceso da lugar a la aparición de compuestos orgánicos intermedios más reducidos (propiónico, butírico, láctico, etanol) y a precursores directos de la formación de metano como son el acético y el hidrógeno (H_2) y CO_2 (Gujer & Zehnder, 1983; Speece, 1996). Las proporciones entre los productos de la fermentación varían en función del consumo de H_2 por parte de los microorganismos, de forma que cuando el H_2 es eliminado del medio eficientemente, las bacterias fermentativas no producen etanol, favoreciéndose la producción de H_2 y la liberación de energía en forma de ATP (Gallert & Winter, 2005). La acidogénesis es considerada la etapa más rápida de la degradación anaerobia y los microorganismos involucrados en este proceso son los menos sensibles a la inhibición (Mata-Alvárez, 2003).

La fermentación de azúcares se realiza por distintas rutas metabólicas en función del microorganismo responsable. Los productos finales que podrían obtenerse de este proceso son: H_2 y CO_2 , lactato, etanol, acetato, butirato y propionato.

De igual forma, los productos finales de la fermentación de aminoácidos también dependen de las características del sustrato y de la comunidad microbiana establecida, pudiéndose producir NH_3 , CO_2 , H_2 , H_2S y ácidos grasos volátiles.

Las bacterias involucradas en esta etapa incluyen una amplia variedad de organismos fermentativos, anaerobios obligados y anaerobios facultativos, los cuales pertenecen mayoritariamente a los phyla Firmicutes, Bacteroidetes y Proteobacteria, siendo los géneros más habituales los siguientes: *Clostridium*, *Acidaminococcus*, *Bacteroides*, *Thermobacteroides*, *Streptococcus* y *Enterobacter* entre otros (Mara & Horan, 2003).

- Acetogénesis

La acetogénesis es un proceso que engloba las reacciones de degradación de los productos de las etapas anteriores, bien sean los productos intermedios de la etapa acidogénica o bien los ácidos de cadena larga producidos en la hidrólisis de lípidos, manteniendo a su vez una determinada sinergia con procesos posteriores. A diferencia de los procesos de fermentación, estas reacciones producen la mayor parte de hidrógeno presente en el sistema. La proporción de H_2 formado en esta fase cobra una gran relevancia para el proceso global, puesto que determinará la proporción de acético en el sistema y, por tanto, la ruta metabólica dominante de producción de metano.

La degradación de los ácidos grasos de cadena larga se lleva a cabo mediante una oxidación anaerobia, donde no participan dadores o aceptores de electrones internos.

Los principales productos de esta ruta metabólica son ácidos grasos de cadena corta y precursores directos de metano: hidrógeno, dióxido de carbono y acético. Para que este proceso pueda producirse, las bacterias acetogénicas y los microorganismos consumidores de hidrógeno deben coexistir en una relación sinérgica. Las reacciones asociadas a la oxidación anaerobia de los ácidos grasos son termodinámicamente desfavorables a elevadas presiones parciales de H_2 , por lo que este gas es uno de los mayores inhibidores del proceso. Sin embargo, los microorganismos hidrogenotróficos son capaces de metabolizar el H_2 a muy bajas presiones parciales (3-7 Pa), siendo su presencia necesaria para que el proceso tenga lugar (Cord-Ruwisch et al., 1988).

Los productos intermedios de la etapa de acidogénesis son también degradados mediante oxidación anaerobia. Gracias a este proceso, los ácidos grasos volátiles son transformados a productos más simples que pueden ser metabolizados por los organismos metanógenos: acetato, H_2 y CO_2 . De la misma forma que el proceso anterior, a presiones parciales de hidrógeno bajas, estas reacciones se vuelven termodinámicamente favorables, siendo suficiente el incremento de energía libre para permitir el crecimiento microbiano y la síntesis de ATP.

Por último, el ácido acético también puede producirse a partir de la reducción del CO_2 e H_2 mediante un proceso autótrofo que recibe el nombre de homoacetogénesis. Sin embargo, en condiciones de operación mesófilas (35°C), las bacterias homoacetogénicas necesitan

concentraciones de H₂ mucho más elevadas (520-950 ppm) que las metanogénicas. Por tanto, estos microorganismos no pueden proliferar en ambientes donde se desarrolle la biomasa metanógena hidrogenotrófica (Batstone et al., 2002).

Las bacterias acetogénicas son organismos sintróficos y anaerobios estrictos que pueden ser clasificados en dos grupos, el denominado SAO (*Syntrophic Acetate-Oxidizing bacteria*), que solo pueden crecer en presencia de organismos consumidores de hidrógeno como son las archaeas metanogénicas o las bacterias sulfato-reductoras, y el de organismos homoacetógenos (Mara & Horan, 2003). Las bacterias acetotróficas más representativas pertenecen a los siguientes géneros: *Syntrophomonas*, *Syntrophobacter*, *Clostridium* y *Acetobacterium* (Hattori, 2008; Weiland, 2010). Entre las bacterias homoacetogénicas, capaces de producir acetato a partir de CO₂ e H₂, son habituales los géneros *Acetobacterium woodii* y *Clostridium aceticum* (Rincón et al., 2012).

- *Metanogénesis:*

La metanogénesis es la última etapa del proceso anaerobio, donde los productos de las etapas anteriores son transformados en metano y otros productos simples como CO₂ y H₂O, mediante organismos anaerobios estrictos. La formación de metano se produce por tres mecanismos distintos: hidrogenotrófico, acetoclástico y metilotrófico, de los cuales los dos primeros abarcan prácticamente la totalidad del proceso.

En la metanogénesis hidrogenotrófica, el metano es formado a partir de la reducción del CO₂ usando electrones derivados de la oxidación del H₂. Generalmente, el proceso de metanogénesis hidrogenotrófica genera una tercera parte del metano total producido en el proceso (Krumböck & Conrad, 1991), siendo las dos terceras partes restantes producidas a partir de ácido acético.

Como se mencionó anteriormente, esta etapa es vital para la regulación de la presión parcial de hidrógeno del proceso. Es por ello, que los procesos asociados a las bacterias productoras de hidrógeno en la acidogénesis (vía fermentativa) y en la acetogénesis (vía oxidación anaerobia), presentan una sinergia con los procesos asociados a los metanógenos hidrogenotróficos.

La metanogénesis acetoclástica da lugar a metano y CO₂ a partir de ácido acético. Esta ruta metabólica es la responsable de la mayor parte de la producción de metano en condiciones estándar. Sin embargo, sin la presencia de organismos consumidores de H₂, la presión parcial de este gas alcanzaría valores inhibitorios, dando lugar a una acumulación de ácidos en el sistema que harían descender el pH y provocar la inestabilidad del proceso anaerobio. La predominancia de esta ruta metabólica está altamente influenciada por las condiciones operacionales y las características del medio, puesto que elevadas temperaturas de operación y/o elevadas concentraciones de amonio pueden dar lugar al establecimiento de distintas poblaciones microbianas (Karakashev et al., 2005). De hecho, una ruta alternativa a la producción de metano es la llevada a cabo por los microorganismos SAO. En esta ruta, el

acetato es convertido a H_2 y CO_2 para posteriormente ser utilizado por los metanógenos hidrogenotróficos (Schnürer & Nordberg, 2008). El desarrollo de los microorganismos SAO solo ocurre cuando las concentraciones de amonio alcanzan valores inhibitorios para los metanógenos acetoclásticos, ya que los SAO necesitan una media de 28 días para desarrollarse frente a un máximo de 12 días que necesitan los microorganismos acetoclásticos (Ek et al., 2011; Schnürer et al., 1994).

Paralelamente, existe un proceso que, pese a que también consume H_2 y podría favorecer el equilibrio en el sistema, a su vez también es competidor directo de la producción de metano. Los afluentes con presencia de sulfatos propician el desarrollo de bacterias sulfato-reductoras (SRB – Sulfate-Reducing Bacteria) que compiten por el sustrato tanto con los metanógenos como con los organismos acidogénicos y acetogénicos. Las SRB transforman los sulfatos a sulfuros y ácido sulfhídrico, empleando como sustratos H_2 , acético, propiónico, butírico y láctico entre otros y, por tanto, compitiendo en la mayoría de los procesos implicados en la degradación anaerobia.

Los organismos metanógenos representan el más amplio y diverso grupo dentro del dominio Archaea. Las archaeas metanogénicas son estrictamente anaerobias y obtienen su energía de un restringido número de sustratos. De las archaeas taxonómicamente clasificadas, solo unas pocas pueden considerarse acetoclásticas. Del orden *Methanosarcinales*, las archaeas del género *Methanosarcina* son capaces de producir metano bien a partir de H_2 y CO_2 o bien a partir de acetato, mientras que las del género *Methanosaeta* son acetotróficas obligadas. Sin embargo, una amplia variedad de archaeas son capaces de generar metano a partir de H_2 y CO_2 , siendo éstas pertenecientes a los órdenes *Methanobacteriales*, *Methanococcales*, *Methanomicrobiales*, *Methanosarcinales* y *Methanopyrales*. En cuanto a las SRB, normalmente se dividen en oxidadores completos, principalmente representados por la familia *Desulfobacteraceae*, y en oxidadores incompletos, tales como los pertenecientes al orden Desulfovibrionales y a la familia *Desulfobulbaceae*. (Petrova et al., 2002).

En general, la degradación anaerobia de biomasa compleja hasta CH_4 y CO_2 está comprendida por un amplio rango de microorganismos que interactúan de diferentes maneras, desde la competición hasta el sinergismo, dando lugar a una compleja ecología microbiana, cuyo estudio es necesario para la comprensión y optimización del proceso (Greses, 2017).

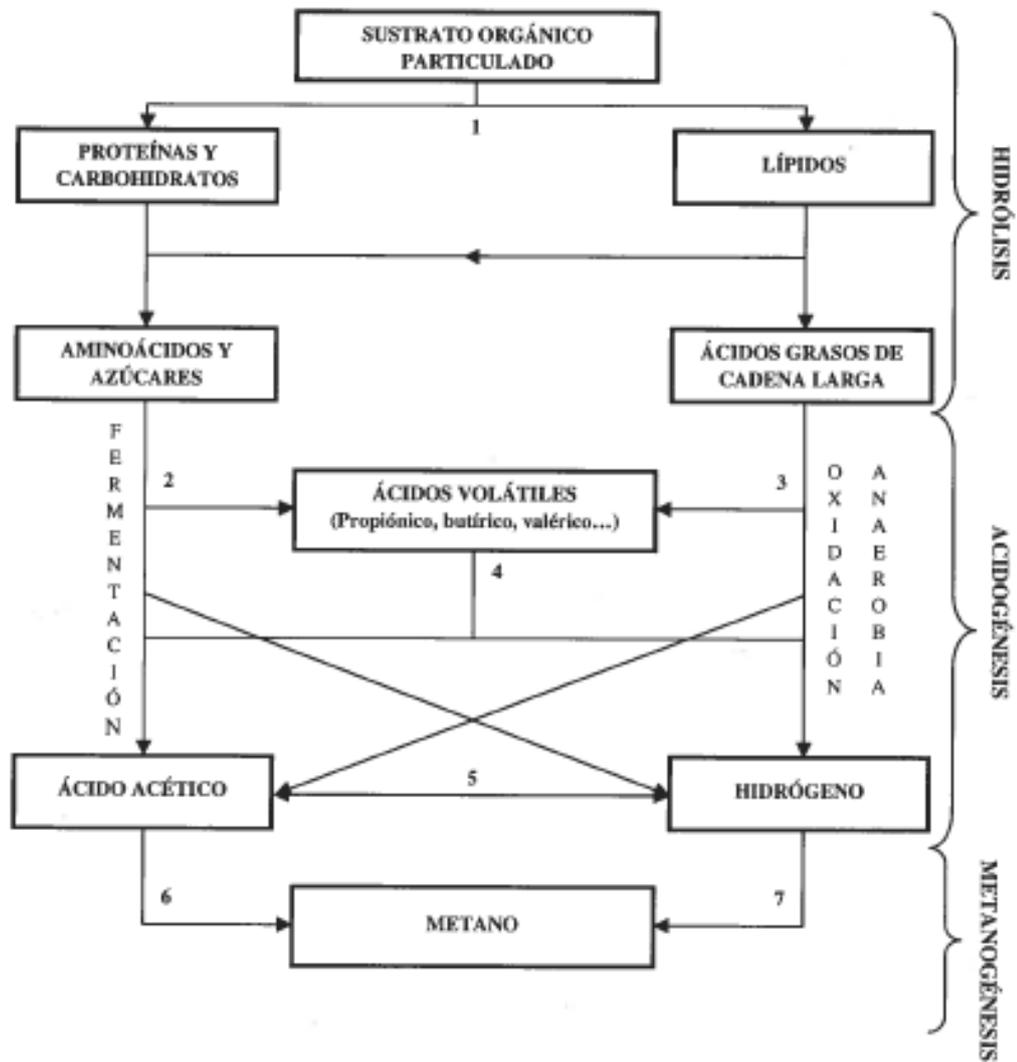


Figura 1.1.- Esquema de los procesos de degradación anaerobia de la materia orgánica.

1.2.1.2.1. Ventajas y desventajas del proceso anaerobio

Resulta ventajoso emplear los procesos anaerobios en la depuración de aguas con elevada concentración de materia orgánica, llevando a un ahorro en los costes de operación puesto que estos procesos no necesitan suministro de oxígeno. Así mismo, es posible hacer uso de instalaciones de cogeneración para aprovechar el biogás generado durante el proceso, de modo que se reduce el consumo energético.

Otra de las ventajas es el uso de sistemas anaerobios es la menor producción de biomasa. Se producen de 6 a 8 veces menos fangos biológicos respecto a los procesos aerobios. De esta manera, también se reducen las necesidades de nutrientes necesarios para llevar a cabo el proceso anaerobio, gracias a la menor cantidad de biomasa producida.

Por el contrario, presentan una serie de inconvenientes que hacen que su implantación no sea muy frecuente y que son:

- La lentitud del proceso anaerobio obliga a trabajar con altos tiempos de residencia, por lo que es necesario diseñar reactores o digestores con una alta concentración de microorganismos.
- Este tipo de proceso tiene una baja efectividad de eliminación de nutrientes, por lo que es posible la necesidad de un tratamiento posterior para afinar los niveles de depuración exigidos por normativa.
- Es un proceso complejo en el que intervienen varios grupos de bacterias que deben estar en correcto equilibrio entre ellas.
- Las bacterias productoras de metano son muy sensibles al pH del medio en el que actúan, por lo que el posible requerimiento de alcalinidad es el factor negativo que tiene un mayor impacto económico dentro de este tipo de proceso.

1.2.1.2.2. Parámetros ambientales y de control del proceso anaerobio

Los principales parámetros ambientales y de control a tener en cuenta debido a su influencia en el proceso de degradación son:

- Temperatura: la velocidad de reacción de los procesos biológicos depende de la temperatura, ya que por regla general a mayor temperatura mayor actividad microbológica y por tanto mayor velocidad de degradación de la materia orgánica.

Los procesos anaerobios en particular, presentan una gran sensibilidad a las variaciones de dicho parámetro. Existen tres rangos de temperatura a los que se puede trabajar:

- Psicrófilo: por debajo de los 25°C
- Mesófilo: entre 25 y 45°C
- Termófilo: entre 45 y 65 °C

Las condiciones mesófilas son las más utilizadas, aunque en los últimos años se han desarrollado estudios del procesos de tratamiento anaerobio bajo condiciones psicrófilas (Bodík, 2000; Gatti, 2010).

- pH y alcalinidad: Por lo general los microorganismos presentan una actividad óptima para un determinado rango de valores de pH. Este pH suele variar entre 6 y 8 aproximadamente. Sin embargo, cada microorganismo presenta su rango óptimo.

Controlar el pH implica conocer si el proceso se desarrolla en las condiciones adecuadas, pues una bajada de pH puede implicar en la degradación anaerobia un desequilibrio con determinados compuestos que pueden ser tóxicos como los ácidos grasos volátiles.

Un pH ácido indica el inicio del proceso anaerobio, cuando la actividad de las bacterias acidogénicas es mayor que la del resto de microorganismos. En este caso, se producen y acumulan altos volúmenes de ácidos orgánicos y el pH comienza a descender. Un nivel de pH inhibitorio para los metanogénicos es de 6,4 (Monnet, 2004). Por el contrario, la metanogénesis puede dar lugar a una concentración más alta de amoníaco, aumentando el pH hasta 8,0, lo cual impedirá la acidogénesis (Lusk, 1999).

Por otra parte la alcalinidad es la forma de medir la capacidad tampón del medio. Esta propiedad se basa fundamentalmente en el equilibrio de dióxido de carbono/bicarbonato. Por tanto, los estados no deseados pueden producirse lentamente, e incluso evitarse, si el sistema tiene una adecuada alcalinidad capaz de amortiguar las variaciones de pH. Valores de la alcalinidad entre 2000 y 2500 mg/l aseguran un buen control del pH y una adecuada estabilidad del sistema (Zhao, 2004). Así mismo, la estabilidad de los sistemas anaerobios viene condicionada por su alcalinidad, o capacidad tamponante del mismo, la cual se puede mantener en valores adecuados mientras el ratio de ácidos grasos volátiles (AGV)/alcalinidad (ALK) sea inferior a 0,25. Valores de este parámetro por encima de 0,3 indican la existencia de problemas y deben tomarse acciones correctoras, mientras que los valores por encima de 0,8 indican una inhibición de la población metanogénica y la acidificación del sistema (Ferrer & Seco, 2007).

- Potencial redox: es indicador de la concentración de oxígeno disuelto presente en el medio, en sus formas O_2 , NO_3 , NO_2 u otras fuentes.

Los microorganismos metanogénicos requieren de ambientes fuertemente reductores, asegurándose una actividad de la biomasa anaerobia óptima con potenciales de oxidación-reducción comprendidos entre los -300 mV y -330 mV, que garantizan las condiciones anaerobias del sistema (Martí, 2007).

- Tóxicos e inhibidores: el proceso de depuración puede llegar a ser inhibido por la presencia de sustancias tóxicas en el sistema. Estas sustancias pueden ser productos de la actividad metabólica de los microorganismos o bien venir con el afluente. Es importante controlar la presencia de estas sustancias, aunque algunas de ellas pueden ser estimuladores del proceso en bajas concentraciones. A continuación se explican los más importantes:

- Amonio/amoniaco

La presencia de amonio en el proceso anaerobio es beneficioso ya que, no solo sirve como nutriente sino que además mantiene la capacidad tamponante del sistema, siendo su concentración inocua para valores de alrededor de 200 mgN·L⁻¹ (Sung & Liu, 2003). Sin embargo, elevadas concentraciones de amonio pueden inhibir el proceso, las cuales varían en función de la temperatura de operación y del pH del medio, ya que estos parámetros afectan a su constante de disociación dando lugar a la aparición de amoníaco en el reactor. A mayores temperaturas y valores de pH, mayor será la producción de amoníaco, el cual es un compuesto altamente inhibitorio (de Lemos, 2007).

Los microorganismos metanógenos son los más sensibles al amoníaco, en especial los acetoclásticos, por lo que elevadas concentraciones de amoníaco se asocian con la perturbación del pH intracelular, la deficiencia de potasio y la inhibición de las reacciones enzimáticas, siendo responsables de bajas producciones de biogás y de la acumulación de ácidos en el sistema (Lee & Day, 2013).

Esta inhibición dependerá de la exposición previa que haya sufrido la biomasa a esas concentraciones de amoníaco, ya que el proceso puede adaptarse a incrementos progresivos de este compuesto (Buendía et al., 2009), y a las condiciones operacionales que se establezcan en el reactor (Chen et al., 2008; Yenigün & Demirel, 2013).

- Ácidos grasos volátiles

Los ácidos grasos volátiles (AGV) son la principal especie intermedia en el proceso anaerobio, y su acumulación en el sistema denota el desequilibrio del mismo. Como se ha explicado anteriormente, una acumulación de ácidos en el reactor puede provocar una caída del pH y, consecuentemente, la inhibición del proceso biológico. Sin embargo, las concentraciones que se consideran inhibitorias dependen de la adaptación de la biomasa y de distintos factores del proceso, como la temperatura de operación y la capacidad tamponante.

- Tiempo de retención celular: se define como el tiempo medio de permanencia de los sólidos en el reactor. La biomasa anaerobia presenta velocidades de crecimiento muy inferiores a la biomasa aerobia, por lo que es indispensable un TRC elevado para el desarrollo de ésta. Para un proceso de digestión anaerobia de fangos se establecen TRC de 15 a 20 días, mientras que si se desea conseguir un fango totalmente estabilizado éste aumenta hasta estar comprendido entre 20 y 25 días. El aumento del TRC aumenta, así mismo, el porcentaje de materia orgánica degradada y la producción de metano, aunque éste último comienza a estabilizarse una vez alcanzado el valor óptimo.

- Características del sustrato: la metabolización de la materia orgánica por parte de la biomasa anaerobia depende en gran medida de su composición y biodegradabilidad. La biodegradabilidad anaerobia es una propiedad intrínseca del sustrato, que indica la fracción del mismo que puede ser degradada mediante la acción de microorganismos en condiciones anaerobias. Esta biodegradación de compuestos orgánicos se ve influenciada por factores como su composición y concentración, su bioaccesibilidad y su biodisponibilidad (Hagos et al., 2016).

Debido a la compleja estructura de la materia orgánica, la bioaccesibilidad se define como el grado de acceso que muestra la matriz compleja de materia orgánica a los microorganismos, representando la máxima cantidad de sustrato que puede ser degradado, mientras que la biodisponibilidad representa la fracción de sustrato que los microorganismos son capaces de hidrolizar en función de su metabolismo, siendo ambos parámetros dependientes del tiempo de retención, la actividad hidrolítica y el pretratamiento aplicado al material orgánico. Dado que la hidrólisis es la etapa limitante en la degradación anaerobia de sustratos complejos, dicha etapa es la responsable de la biodegradabilidad y la velocidad de degradación, siendo

estos factores generalmente caracterizados mediante ensayos en discontinuo del potencial de biometanización (BMP – *Biochemical Methane Potential*) (Hagos et al., 2016).

-Velocidad de carga orgánica: es la cantidad de materia orgánica introducida diariamente en el reactor por unidad de volumen, siendo directamente dependiente de la concentración de sustrato y del tiempo de retención celular fijado (Martí, 2007). Un exceso de velocidad de carga orgánica puede traducirse en una acumulación de ácidos grasos volátiles sin consumir en el sistema, debido a la mayor tasa de crecimiento de la biomasa acidogénica frente a la metanogénica, provocando un consiguiente descenso de pH en el reactor, que afecta directamente a la biomasa metanogénica.

-Agitación: es esencial para favorecer el proceso anaerobio dado en el contenido del digestor. Los objetivos buscados con la agitación son: eliminación de los metabolitos producidos por las bacterias metanogénicas, mezclado del sustrato fresco con la población bacteriana, evitar la formación de costra que se forma dentro del digestor, uniformar la densidad bacteriana y evitar la formación de espacios muertos sin actividad biológica.

El proceso fermentativo involucra un equilibrio simbiótico entre varios tipos de bacterias. La ruptura de ese equilibrio en el cual el metabolito de un grupo específico sirve de alimento para el siguiente puede implicar una merma en la actividad biológica y por ende una reducción en la producción de biogás. Por tanto, en la elección de un determinado sistema de agitación se tendrá siempre presente tanto los objetivos buscados como el perjuicio que puede causar una agitación excesiva debiéndose buscar un punto medio óptimo.

1.2.1.3. Tecnologías para el tratamiento anaerobio

El desarrollo de las tecnologías para el tratamiento anaerobio dio lugar a que estos procesos alcanzaran eliminaciones de materia orgánica comparables a las de los sistemas aerobios, incrementándose su implementación a escala industrial. Mientras que la primera generación de reactores se caracterizó por mantener el TRH igual al TRC así como una deficiente homogenización del sistema, las sucesivas generaciones de reactores se han centrado en desarrollar configuraciones que permitan incrementar el TRC, manteniendo elevados caudales de tratamiento (Díaz-Báez et al., 2002).

Actualmente, los diseños utilizados para el tratamiento anaerobio pueden diferenciarse en función de su capacidad para mantener elevadas concentraciones de microorganismos en el reactor. Dado el lento crecimiento de la biomasa anaerobia, el empleo de elevados tiempos de retención celular promueve el desarrollo de microorganismos con baja tasa de crecimiento (Shin et al., 2011), así como la hidrólisis de sustratos de difícil degradación (Greses, 2017).

Consecuentemente, la adecuada selección de la configuración del biorreactor se ha convertido en un factor crítico para maximizar la producción de biogás dado que, para obtener un proceso anaerobio eficiente con un reducido volumen de trabajo, el diseño debe proporcionar un ambiente óptimo para el desarrollo de dichos microorganismos anaerobios (Kiran et al., 2016).

Estudio comparativo de la producción de biogás mediante tecnología de biorreactores anaerobios de codigestión a escala laboratorio

Por ello, el principal objetivo de los diseños actuales es el de desacoplar el TRC del TRH y mantener un elevado ratio TRC/TRH, con el fin de minimizar el posible lavado de microorganismos del reactor, operar a elevadas velocidades de carga orgánica con un reducido volumen de trabajo y promover la biodiversidad microbiana (Khanal et al., 2017). Así pues, en la actualidad existen 4 estrategias para desacoplar ambos parámetros, las cuales se muestran en la Tabla 1.1.

Entre las tecnologías más avanzadas y novedosas se encuentra la del AnMBR, que se describe a continuación, y en la que se hace hincapié ya que es la elegida por el grupo de investigación CALAGUA para llevar a cabo el desacople de los tiempos de retención celular e hidráulico en los procesos anaerobios controlados de los reactores pilotos a escala laboratorio, mesófilo y termófilo, que se estudian en el presente Trabajo de Final de Máster.

Tabla 1.1.- Estrategias para mantener elevadas concentraciones de microorganismos en un proceso anaerobio (Adaptado de Khanal et al., 2017).

Estrategia	Mecanismo de retención de la biomasa	Tipo de reactor
Recirculación de la biomasa	Sustratos con un elevado contenido en sólidos permiten que los microorganismos se adhieran a ellos formando flóculos sedimentables, que pueden ser recirculados al reactor tras un proceso de sedimentación	CSTR
Formación de un fango granular	Los microorganismos se aglomeran en forma de gránulos que sedimentan en el reactor	UASB ⁽¹⁾ Reactor de lecho granular estático Reactor discontinuo secuencial
Inmovilización de la biomasa en sistemas de cultivo fijo	Los microorganismos crecen adhiriéndose a un medio de soporte inerte, formando una biopelícula.	Filtro anaerobio Reactor rotativo de contacto Reactor de lecho fluidizado Reactor de lecho expandido
Retención de la biomasa	Un sistema de membranas permite retener la biomasa en el interior del reactor.	AnMBR ⁽²⁾
<p>⁽¹⁾ <i>Upflow Anaerobic Sludge Blanket</i> (Reactor anaerobio de flujo ascendente). ⁽²⁾ <i>Anaerobic Membrane BioReactor</i> (Biorreactor anaerobio de membranas).</p>		

1.2.1.3.1. Biorreactor anaerobio de membrana (AnMBR - *Anaerobic Membrane BioReactor*)

Una solución avanzada para mejorar la eficiencia del tratamiento anaerobio es integrar, en un único sistema, un biorreactor anaerobio con un proceso de separación mediante filtración por membrana (AnMBR), de forma que se consigue desacoplar completamente el TRH del TRC.

Este sistema permite separar el agua tratada a la vez que retiene la biomasa en el reactor, promoviendo microorganismos con una baja tasa de crecimiento, evitando por completo el lavado de microorganismos del reactor y reduciendo significativamente el volumen total requerido (Khanal et al., 2017).

Entre estas ventajas cabe destacar la posibilidad de operar el reactor a elevados TRC en una superficie de trabajo reducida, y la obtención de un efluente de elevada calidad. Esta calidad se obtiene al implementar en el reactor una membrana de ultrafiltración, la cual da lugar a un permeado libre de sólidos y patógenos, y con una baja concentración de materia orgánica soluble. Aunque este efluente presente elevadas concentraciones de nutrientes, así como la posible presencia de sulfuros y metano disueltos (Giménez et al., 2012; Khan et al., 2011), su elevada calidad facilita su post-tratamiento ya que esta corriente puede ser reutilizada como fertilizante o para la recuperación de nutrientes como subproducto.

Uno de los factores más importantes en la implementación de un AnMBR es la adecuada selección de la membrana, así como la disposición de ésta en el sistema anaerobio. Las membranas de uso más extendido son las de lámina plana, las de fibra hueca o las tubulares, siendo los diámetros de poro más habituales aquellos que las clasifican como membranas de microfiltración o de ultrafiltración (Skouteris et al., 2012). Así mismo, se han definido distintas configuraciones de reactor en función de la forma de integración de estas membranas en el sistema anaerobio, tal y como se muestra en la Figura 1.2 (Greses, 2017).

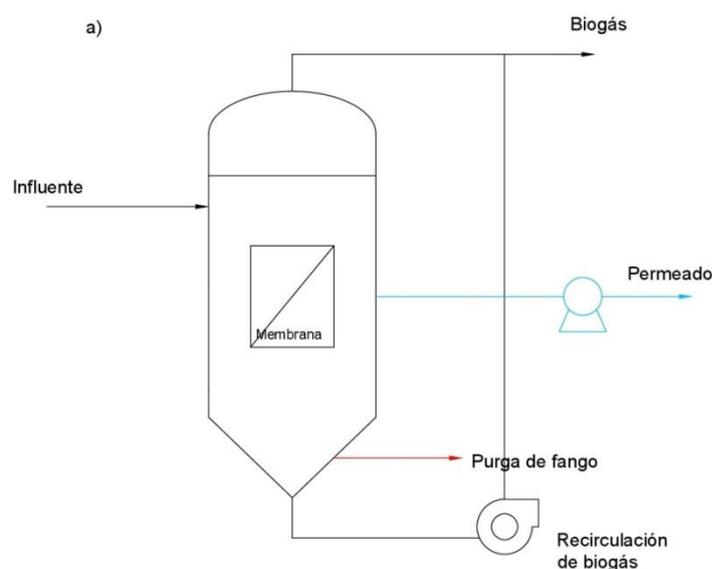


Figura 1.2.1.- Configuraciones de un AnMBR: (a) membrana interna sumergida (Adaptado de Chang, 2014).

En la configuración de membranas sumergidas, la membrana puede estar directamente inmersa en el reactor (Figura 1.2.a) o en un tanque externo conectado al reactor anaerobio y con una continua recirculación del fango entre ambas unidades (Figura 1.2 b). En los dos casos, el biogás generado es inyectado bajo las membranas con el fin de que el burbujeo reduzca la acumulación de fango y el fouling, obteniéndose el permeado mediante un gradiente de presión generado por la presión hidrostática y/o por succión mediante una bomba. La mayor diferencia entre ambas configuraciones se basa en su facilidad de operación, ya que con las membranas sumergidas externas se pueden realizar las operaciones de mantenimiento, reparación o sustitución de la membrana sin necesidad de detener el proceso biológico ni afectar a la operación del reactor.

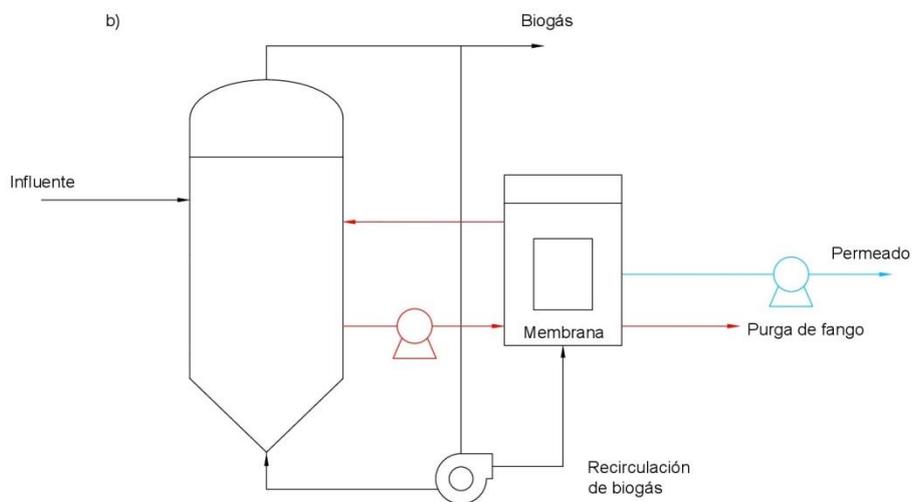


Figura 1.2.2.- Configuraciones de un AnMBR: (b) membrana externa sumergida (Adaptado de Chang, 2014).

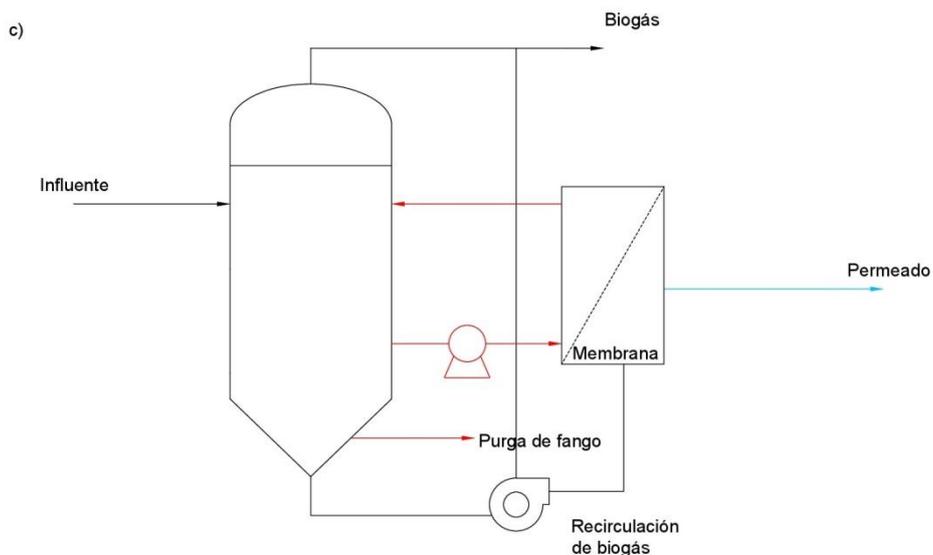


Figura 1.2.3.- Configuraciones de un AnMBR: (c) membrana externa de flujo tangencial (Adaptado de Chang, 2014).

En la configuración de flujo tangencial (Figura 1.2 c), la membrana se encuentra conectada en un sistema externo donde la filtración se lleva a cabo aplicando un elevado flujo tangencial y/o mediante bombeo. La separación por flujo tangencial suele ir asociada a elevadas velocidades de flujo a través de las membranas, así como a elevadas presiones transmembrana (PTM). Estas velocidades de flujo se consiguen con elevados caudales de circulación del fango sobre la superficie de las membranas, reduciéndose así la acumulación de sólidos. Sin embargo, estos elevados caudales incrementan considerablemente el consumo energético asociado al proceso de filtración en comparación con la configuración de membranas sumergidas (Greses, 2017). Por tanto, quedan solventadas así algunas de las desventajas que presentan los procesos anaerobios, mencionados en el apartado 1.2.1.2. *Sistemas de tratamientos anaerobios*.

1.2.1.4. Post- tratamiento de efluentes de procesos anaerobios

Los efluentes de tratamientos anaerobios convencionales se caracterizan por contener una concentración remanente de materia orgánica y sólidos suspendidos, así como presencia de patógenos y elevadas concentraciones de nutrientes. Por ello, generalmente requieren de un post-tratamiento antes de ser vertidos al medio receptor (Khan, 2011), que se elige en función de la tecnología específica con la que se haya llevado a cabo el proceso anaerobio y la eficiencia del mismo, que determinan la calidad del efluente. Así mismo, se ha de tener en cuenta en dicha selección una tecnología sostenible, que permita la revalorización del agua residual, permitiendo su recuperación y la de los nutrientes presentes en ella.

1.2.1.4.1. Post-tratamientos convencionales

Los post-tratamientos convencionales se basan en la eliminación de los contaminantes mediante la aplicación de procesos biológicos o químicos que no contemplan la recuperación o reutilización de recursos.

En el caso del efluente de una digestión anaerobia convencional en una EDAR, el tratamiento biológico más habitual para eliminar materia orgánica, nitrógeno y fósforo, consiste en recircular esta corriente a la entrada de la EDAR para tratarla conjuntamente con el agua residual afluente mediante un esquema de tratamiento denominado A₂O (anaerobio-anóxico-óxico), el cual se basa en combinar una etapa anaerobia y otra etapa anóxica con un proceso biológico convencional de fangos activados (Foresti et al., 2006).

El proceso de precipitación química es otra de las técnicas más extendidas en las EDAR para la eliminación de fósforo, el cual se lleva a cabo mediante la dosificación de sales metálicas, normalmente de hierro o aluminio. Sin embargo, este tratamiento no hace posible la recuperación del fósforo ni la reutilización del fango generado para la agricultura, ya que el aluminio es tóxico para muchos cultivos y microorganismos presentes en el suelo, y el hierro solo es asimilado por las plantas en una pequeña fracción. A su vez, la precipitación química de

fósforo incrementa los costes del proceso de depuración tanto por la utilización de reactivos como por el tratamiento y disposición de fango contaminado por metales.

Por todo ello, se hace necesaria la búsqueda de tratamientos alternativos a los convencionales que ofrezcan resultados similares pero con un coste reducido y una mayor sostenibilidad. (Greses, 2017).

Pre-tratamientos de fangos para digestión anaerobia

Los principales pretratamientos se clasifican en:

- **Pretratamientos químicos**

La oxidación y los procesos alcalinos son los pretratamientos más extendidos sobre fangos. La ozonización es el método de oxidación más utilizado, consiguiéndose la solubilización parcial del fango y una mejora en el rendimiento. Otro compuesto ampliamente utilizado es el H₂O₂. Se ha observado además que la solubilización del fango aumenta con la dosis de sustancia alcalina y con la temperatura, hasta alcanzar un punto límite.

- **Pretratamientos mecánicos**

El pretratamiento mecánico más común son los ultrasonidos, que actúan rompiendo la estructura celular y los agregados físicos en función del tiempo, la potencia y la energía aplicada. En este campo se observan mejoras en los rendimientos de producción de biogás del orden de entre 20-140% en sistemas discontinuos, y 10-45% en sistemas continuos.

Otros tratamientos menos extendidos son los que consiguen la ruptura de enlaces mediante centrifugación, con mejoras del orden de 15-26%. También cabe citar la homogeneización a altas presiones de más de 90 bar, o la pulverización del fango con molinos de bolas.

- **Pretratamientos térmicos**

La base experimental es un aumento de la temperatura en el fango por convección, de forma que la hidrólisis es más completa y permite la solubilización del fango, mejorando el proceso de digestión.

Existen estudios previos (Carrère et al., 2010) en los que se aplicó temperaturas de entre 50 y 270°C para la desintegración de los fangos. Sin embargo, por encima de 180°C pueden producirse compuestos inhibidores que reducirían el rendimiento de la digestión (Wilson & Novak, 2009).

Pretratamientos a bajas temperaturas, es decir por debajo de 100°C, reducen la demanda de energía mejorando el balance energético y el aprovechamiento del sistema (Ferrer et al., 2011). Aunque algunos autores consideran este tipo de tratamiento más biológico que térmico puesto que la solubilización es llevada a cabo por la alta actividad de bacterias termófilas (Alzate et al., 2012), se ha comprobado que el pretratamiento térmico cumple su papel como primer paso antes de la digestión (Lu et al., 2008).

Además, se ha llegado a la conclusión de que a bajas temperaturas, es más importante el tiempo de exposición que la propia temperatura (Appels et al., 2010).

En varios estudios (Gavala et al., 2003; Climent et al., 2007; Ferrer et al., 20011; Appels et al., 2010) se ha obtenido un aumento en la producción de metano de entre el 20 y el 60% en pretratamiento térmico de lodos a bajas temperaturas.

1.2.1.4.2. Post-tratamientos sostenibles: microalgas para el tratamiento de aguas residuales

Una alternativa sostenible que permite maximizar la recuperación de recursos es emplear un cultivo de microalgas como post-tratamiento avanzado de corrientes residuales, debido a la capacidad fotosintética de estos organismos que les permite utilizar la energía de la luz solar para sintetizar materia orgánica, a partir de nutrientes y una fuente inorgánica de carbono. El uso de microalgas para el tratamiento de aguas residuales fue inicialmente propuesto por Oswald et al. (1957), pero en las últimas décadas es cuando ha ganado relevancia debido a su potencial de eliminar nitrógeno y fósforo del agua residual, reducir las emisiones de CO₂ y producir una biomasa aprovechable (Rawat et al., 2011, Bharathiraja et al., 2015), mediante una tecnología sencilla y que permite alcanzar eficiencias de eliminación de organismos patógenos superiores al 99% (Gupta et al., 2016).

El cultivo de microalgas puede aplicarse en distintas etapas del ciclo de tratamiento de aguas, bien como tratamiento terciario para evitar problemas de eutrofización en el medio receptor, o tras la etapa de digestión anaerobia (Hidaka et al., 2014). El efluente de una digestión anaerobia presenta elevadas concentraciones de amonio y fosfato, nutrientes esenciales para el crecimiento de las microalgas, lo que convierte a esta corriente en una de las más adecuadas para el cultivo de biomasa algal. Sin embargo, los sistemas convencionales para llevar a cabo la digestión anaerobia, generan un efluente con elevada concentración de sólidos que podría interferir en el crecimiento de las microalgas, ya que la turbidez reduciría la penetración de la luz solar (Uggetti et al., 2014). No obstante, el avance de las tecnologías para el tratamiento anaerobio de aguas residuales, detallado en el apartado 1.2.1.3. *Tecnologías para el tratamiento anaerobio*, ha dado lugar a que el efluente obtenido tras el proceso anaerobio presente calidades muy variables, en función de la configuración de reactor seleccionada. Así pues, desde el punto de vista de la maximización de la recuperación de energía y recursos del agua residual, la combinación del tratamiento anaerobio mediante la tecnología AnMBR con un post-tratamiento basado en el cultivo de microalgas se presenta actualmente como una de las opciones más prometedoras a nivel económico y medioambiental, siendo este esquema de tratamiento considerado como una alternativa a los procesos A₂O convencionales.

Numerosos estudios han demostrado la capacidad de distintas especies de microalgas para conseguir elevados rendimientos de eliminación de los nutrientes presentes en el agua residual urbana (Cai et al., 2013; Li et al., 2011; Manninen et al., 2016). Concretamente, Ruiz-Martinez et al. (2012) demostraron a escala de laboratorio que el cultivo de microalgas puede ser utilizado como post-tratamiento del efluente de un AnMBR, en el que se lleva a cabo el tratamiento anaerobio de agua residual urbana, alcanzando un elevado rendimiento de eliminación de amonio (67.2%) y fosfato (97.8%). Posteriormente, Viruela et al. (2016)

demonstraron la viabilidad del escalado de este post-tratamiento en una planta piloto constituida por fotobiorreactores de placa plana, siendo capaces de obtener un efluente que cumple los límites de vertido de nutrientes establecidos por la Directiva Europea 91/271/CEE para zonas sensibles y un tamaño de población de entre 10000 y 100000 habitantes equivalentes. Puesto que la configuración AnMBR ha sido considerada como una prometedora tecnología para la valorización en forma de biogás de la materia orgánica presente en el agua residual y la recuperación de recursos hídricos (Giménez et al., 2011; Lin et al., 2013; Moñino et al., 2017), su acoplamiento a un sistema de cultivo de biomasa algal contribuye al ya nombrando cambio de paradigma de las aguas residuales, desde el concepto clásico de tratamiento hacia el nuevo concepto de recuperación de recursos. Este sistema integrado presenta numerosas ventajas como son la generación de energía en forma de biogás, la reducción de los costes de tratamiento del agua residual y de las emisiones de gases de efecto invernadero, la obtención de un recurso hídrico susceptible de reutilización y la producción económica de una biomasa algal que permite la recuperación de nutrientes en forma de productos comerciales, así como su valorización en forma de productos de valor añadido para aplicaciones industriales o para la producción de biocombustibles (Safi et al., 2014).

El uso de biomasa algal para la producción de biocombustibles ha sido objeto de estudio a nivel mundial, debido a su carácter renovable, a su elevado potencial de valorización energética y a los beneficios que supone frente al uso de combustibles fósiles.

Biocientíficamente, la biomasa como recurso puede ser considerada como materia orgánica en la que la energía es almacenada en forma de enlaces químicos. La ruptura de dichos enlaces entre las moléculas adyacentes de carbono, hidrógeno y oxígeno por procesos de digestión, combustión o descomposición, da lugar a la liberación de esta energía química almacenada (McKendry, 2002). Paradójicamente, antes del desarrollo y la casi total dependencia de los combustibles fósiles, la conversión de la biomasa abasteció a la humanidad de calor, iluminación y energía durante siglos. Actualmente, la biomasa contribuye entre un 8% y un 15% al suministro energético mundial en forma de calor, electricidad y combustible para el transporte, y se estima que entre el 33% y el 50% de la energía primaria mundial podría llegar a ser suministrada por biomasa en el año 2050 (Vassilev & Vassileva, 2016).

La conversión de biomasa en energía puede llevarse a cabo a través de la combustión directa, de procesos de transformación termoquímicos y de procesos biológicos, dando lugar a biocombustibles sólidos, líquidos y gaseosos, tal y como se muestra en la Figura 1.3. Estos biocombustibles se clasifican en primera, segunda y tercera generación, en función del origen de la biomasa empleada para su obtención.

Así pues, las microalgas han sido ampliamente reconocidas como la materia prima de la denominada tercera generación de biocombustibles, capaces de solventar los problemas asociados a la biomasa empleada en la primera y segunda generación de biocombustibles (Tijani et al., 2015).

Los biocombustibles de primera generación son aquellos que derivan de azúcar, almidón y aceites, extraídos por técnicas convencionales a partir de materias primas involucradas en la cadena alimenticia humana o animal como maíz, caña de azúcar, remolacha, girasoles, colza,

trigo, cebada, soja, patatas, aceite de palma y grasas animales entre otras. Esta primera generación de biocombustibles se caracteriza tanto por su aptitud para ser mezclados con combustibles fósiles, reduciendo las emisiones de CO₂, como por poder emplearse como biocombustible para el transporte. Estos biocombustibles presentan como ventaja que la biomasa utilizada para su producción proviene de cultivos ya establecidos y prácticamente disponibles en todo el mundo, siendo su transformación llevada a cabo mediante una sencilla tecnología ya existente. Sin embargo, presenta una serie de inconvenientes que los limitan como alternativa a los combustibles fósiles. El principal inconveniente es su producción principal como alimentos destinado al consumo humano y animal, entrando por tanto en un conflicto ético, entre cosechar estos cultivos para producir alimentos o combustibles, dado que para la sustitución completa de los combustibles fósiles habría que destinar toda la superficie cultivable a su producción, lo que los convierte en insostenibles (Vassilev and Vassileva, 2016). Así mismo, hacen un uso intensivo del suelo, deteriorándolo, y requieren grandes cantidades de agua y fertilizantes para su cultivo. Puesto que el continuo desarrollo de la humanidad da lugar a un incremento de la demanda energética, se necesitaría destinar mayores superficies a cultivos energéticos intensivos, lo que también supondría una amenaza para la biodiversidad del planeta

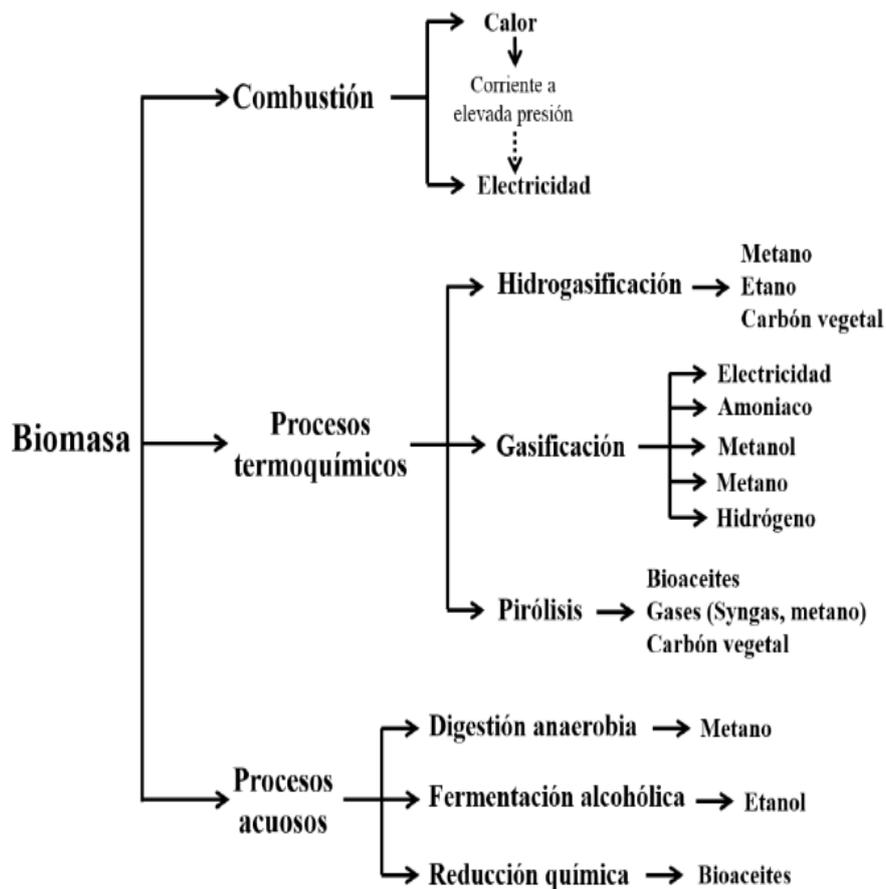


Figura 1.3.- Procesos de conversión energética de la biomasa (Adaptado de Lee and Day, 2013; Qureshi et al., 2013).

La segunda generación de biocombustibles se desarrolló para superar el principal problema de los biocombustibles de primera generación, diferenciándose de éstos en que la biomasa utilizada no proviene de cultivos destinados a la alimentación en primera instancia. La biomasa empleada para generar biocombustibles de segunda generación es principalmente materia lignocelulósica que engloba todo tipo de residuo forestal o agrario, residuo industrial y desechos orgánicos como madera, restos de poda, residuos sólidos urbanos o fango procedente del tratamiento de aguas residuales.

Los biocombustibles de segunda generación presentan más ventajas que los de primera generación ya que no compiten con la producción de alimentos y, normalmente, tienen mayores rendimientos y menores necesidades de superficie, pudiendo utilizar terrenos marginales para su cultivo que no son aptos para la producción de alimentos. Sin embargo, estos biocombustibles presentan una gran desventaja puesto que requieren de tecnologías específicas para llevar a cabo los procesos de conversión termoquímica (gasificación, pirólisis o torrefactado) y de conversión bioquímica (Figura 1.3). La complejidad de estas tecnologías y su todavía baja eficiencia, incrementan el coste de producción que, en muchos casos, resulta económicamente inviable en comparación con el uso de combustibles fósiles. Por lo tanto, su implantación a escala comercial requiere del desarrollo y optimización de las tecnologías para obtener estos biocombustibles. (Greses, 2017).

La problemática asociada a la primera y segunda generación de biocombustibles dio lugar a la tercera generación de biocombustibles, basada en el uso de microalgas. El uso de microalgas para producir biocombustibles presenta numerosas ventajas en comparación con las materias primas empleadas en los biocombustibles de primera y segunda generación. Las microalgas presentan una elevada eficiencia fotosintética y una velocidad de crecimiento de entre 20 y 30 veces superior a la biomasa procedente de cultivos energéticos, así como un elevado rendimiento por unidad de superficie (Schenk et al., 2008). Según la especie, pueden contener hasta el 60% de su peso en forma de lípidos y carbohidratos, un porcentaje muy superior al resto de materias primas lignocelulósicas que les confiere la capacidad de proporcionar hasta 30 veces más biocombustible que los cultivos terrestres (Ullah et al., 2015). Otra de las ventajas de la biomasa algal es que puede ser utilizada como estrategia para reducir las emisiones de CO₂, gracias a su gran capacidad para convertir este gas de efecto invernadero en materia orgánica.

Así mismo, puede ser cultivada en casi cualquier lugar, tanto en agua dulce como salada, sin necesidad de aplicar pesticidas y no requieren de terrenos arables, por lo que no compete con la producción de alimentos. Su gran capacidad de adaptación hace que su cultivo pueda realizarse bajo diferentes condiciones ambientales e incluso en terrenos marginales o aguas residuales, ayudando a prevenir posibles problemas de eutrofización (Vassilev and Vassileva, 2016).

Las características de los lípidos que acumulan las microalgas las hacen adecuadas para la producción termoquímica de biocombustible, ya que presentan un alto nivel de saturación. La transformación de estos lípidos en biodiésel se realiza comúnmente mediante la extracción y transesterificación de los triglicéridos, siendo éste el mismo proceso que se lleva a cabo en los

materiales lignocelulósicos terrestres. El biodiésel obtenido presenta una elevada calidad y estabilidad, lo que permite almacenarlo durante largos periodos de tiempo. Así mismo, el bioaceite puede ser utilizarlo como sustitutivo directo del diésel convencional dadas sus similares propiedades (aunque requeriría la modificación de los motores actuales) o como aditivo en el diésel para reducir las emisiones de gases (Rawat et al., 2013). Sin embargo, los procesos de producción de biodiesel a gran escala requieren de tecnología compleja y energéticamente costosa, por lo que el desarrollo y optimización de los procesos es un factor clave para su implantación a escala industrial ya que solo es viable cuando el contenido en lípidos de las microalgas es superior al 40% (Sialve et al., 2009). Con el fin de reducir estos costes, la biomasa residual del proceso de extracción puede revalorizarse energéticamente en forma de metano, bioetanol o hidrógeno, o dar lugar a subproductos de alto valor añadido.

A pesar de que la biomasa algal parece ser la única fuente de energía renovable capaz de suplir la demanda global de combustibles a largo plazo, siendo reconocida como la respuesta más sostenible, eficiente y respetuosa con el medio ambiente para el cambio climático y la seguridad alimenticia (Schenk et al., 2008; Ward et al., 2014; Ullah et al., 2015; Vassilev & Vassileva, 2016), deben optimizarse ciertos factores tecno-económicos para hacer competitivo el proceso a escala industrial.

Los procesos biológicos presentan una posible alternativa económica para la producción de biocombustibles a partir de microalgas (Figura 1.3), aunque la tecnología no está todavía tan desarrollada como la empleada en la obtención de biodiesel. El butanol y el etanol pueden producirse a través de un proceso de fermentación alcohólica mediante la acción de enzimas fermentativas. El etanol se emplea como aditivo de los combustibles fósiles con el fin de reducir las emisiones, mientras que el butanol contiene una densidad energética similar a la de la gasolina y puede emplearse como sustitutivo de ésta sin necesidad de realizar modificación en los motores actuales. A pesar de que la fermentación alcohólica requiere de pretratamientos para hidrolizar la biomasa, este proceso puede acoplarse a la producción de biodiesel. El residuo algal generado tras la conversión de biomasa a biodiesel, puede ser utilizado como materia prima para la fermentación alcohólica. De esta forma, se evita el uso de pretratamientos y se puede compensar los costes energéticos asociados a la producción de biodiesel (Greses, 2017).

Así es como se abre la línea de investigación de uno de los procesos biológicos que puede reducir los costes de la producción de biodiesel, haciendo uso de la biomasa algal residual por medio de la digestión anaerobia. Este proceso biológico suele tener un bajo rendimiento dada la resistencia a la degradación biológica que exhiben los materiales lignocelulósicos. Puesto que el residuo algal de la producción de biodiesel ya viene parcialmente degradado, el rendimiento de su tratamiento anaerobio se ve incrementado. Consecuentemente, dado que el metano presenta un alto rendimiento energético y es actualmente considerado como la energía renovable por excelencia, así como una posible fuente de energía primaria (Tijani et al., 2015), la comunidad científica está centrando sus esfuerzos en maximizar su producción a través de la digestión anaerobia. Los procesos anaerobios emplean tecnologías sencillas, sin elevados consumos energéticos y que generan como subproducto un digestato, con alto contenido en nutrientes, que puede emplearse como biofertilizante.

1.2.1.4.3. Digestión anaerobia de algas

Fue en los años cincuenta cuando se empezó a considerar la biomasa algal como biocombustible. En las microalgas, la energía solar es convertida a través de la fotosíntesis y almacenada, pudiendo ser después transformada en energía útil a través de la digestión anaerobia para producir metano (Golueke et al., 1957). En comparación con la utilización de otro tipo de vegetación terrestre, la digestión de microalgas da lugar a producciones mayores, debido a las grandes áreas disponibles para su cultivo y crecimiento. Como ejemplo, la biomasa algal puede llegar a producir hasta veinte veces más combustible por hectárea que la soja (Sheehan et al., 1998).

Sin embargo, la digestión de microalgas presenta problemas importantes. La pared celular no es fácilmente biodegradable y puede dar lugar a bajos rendimientos en la producción de metano. Además, su alto contenido en proteínas puede provocar una liberación de amoníaco que inhibe el proceso de digestión (Chen et al, 2008).

Las soluciones más adecuadas para superar los obstáculos presentes son los pretratamientos de la biomasa algal con el objetivo de debilitar la pared celular, la codigestión con un sustrato de elevado contenido en carbono para equilibrar la alta concentración de nitrógeno de las algas, o cambios en las condiciones del proceso de digestión como el tiempo de residencia, la geometría del digestor, la temperatura, etc. (Sialve et al, 2009).

Se han estudiado diferentes parámetros que puedan mejorar el rendimiento de la biomasa algal. Uno de los más destacables es la temperatura. Se ha observado que la digestión es mejor en un rango de temperaturas termófilas, con una producción de biogás más alta. Hasta un aumento del 19% respecto a un rango de temperaturas mesófilo, con una media de producción de $0,25 \text{ L} \cdot \text{g}^{-1} \text{ SV}$ (Golueke et al., 1957).

En cuanto a la proporción de metano en el biogás, Sialve et al. (2009) han determinado que se encuentra entre el 55-70% en la mayoría de los estudios realizados, sin tener en cuenta las especies de algas ni las condiciones de operación.

En el experimento de González-Fernández et al. (2011), se ha comparado la digestión en diferentes muestras, obteniendo una producción de metano de $0,1-0,5 \text{ L CH}_4 \cdot \text{g}^{-1} \text{ SV}$, con un contenido de metano en el biogás del 60-80%, dependiendo de la temperatura del proceso, entre 15 y 52°C y el tiempo de retención hidráulico, entre 3 y 64 días. Estos valores, son relacionables con los obtenidos a partir de otros sustratos: en fangos activos donde la producción de metano está entre $0,15-0,3 \text{ L CH}_4 \cdot \text{g}^{-1} \text{ SV}$ (Ferrer et al, 2011), o con otros tipos de cultivos lignocelulósicos con rendimientos de $0,28-0,34 \text{ L CH}_4 \cdot \text{g}^{-1} \text{ SV}$ (Chandra et al., 2012).

A continuación se muestran en la Tabla 1.2 diferentes resultados obtenidos en varios ensayos de digestión anaerobia de biomasa algal. Se puede observar el tipo de sustrato, las condiciones del ensayo y la producción de metano.

Tabla 1.2.- Resultados de ensayos de digestión anaerobia con diferentes especies de microalgas

	T (°C)	TRH (d)	Carga orgánica (g SV·L·d)	Producción de metano (L/g SV)	CH ₄ (%)
⁽¹⁾ <i>Chorella</i> ⁽¹⁾ <i>Scenedermus</i>	35-30	3-30	1,44-2,89	0,17-0,32	62
⁽²⁾ <i>Biomasa algal</i>	35	28	1	0,42	72
⁽³⁾ <i>Spirulina</i>	35	28	0,91	0,31-0,32	
⁽¹⁾ Golueke et al., 1957; ⁽²⁾ Chen, 1987; ⁽³⁾ Chen, 1987					

Pretratamiento de microalgas para la digestión anaerobia

Los problemas de rendimiento en producción de biogás en la digestión anaerobia de microalgas se deben a la resistencia de la pared celular, que tiene una difícil hidrólisis. Aunque al inicio de la investigación en este ámbito (Golueke, 1957) ya era conocida esta limitación, han de pasar varios años hasta que se abran líneas de investigación al respecto.

Aunque los estudios en cuanto a pretratamiento de algas aún se encuentran en expansión, según la bibliografía, se observa un incremento de la fracción soluble de biomasa algal mediante pretratamiento térmico, con el fin que implica mejores rendimientos en la digestión anaerobia.

Chen & Oswald (1998) estudiaron el pretratamiento de microalgas a diferentes temperaturas (60, 80 y 100°C), con tiempos de exposición de 1, 2 y 3 horas, y concentraciones de sólidos del 3, 6 y 9%, con y sin NaOH.

La conclusión fue que la temperatura era el parámetro más importante en la digestión anaerobia de microalgas con el máximo rendimiento en la producción de metano, 33%, después de 8 horas de exposición a 100°C. Se concluyó también que la adición de NaOH era irrelevante.

Más recientemente, González-Fernández et al. (2012), observaron que el pretratamiento a 70°C de *Scenedesmus* afectaba a la producción de metano (85mL·g⁻¹COD) mientras que a 90°C, la producción aumentaba 2.2 veces en comparación con la digestión de algas sin tratar.

Por otra parte, Alzate et al. (2012), tras el estudio de tres mezclas de algas pretratadas a 55°C durante 12 y 24 horas, llegó a conclusiones diferentes: en la mezcla de *Clamydomonas* y *Scenedesmus*, y de *Acutodesmus* y *Oocystis*, la producción de metano descendía en comparación con la digestión de las mezclas sin tratar. Sin embargo en el caso de *Microspora*, la generación de metano aumentaba 4 y 5% respectivamente para 12 y 24 horas de pretratamiento.

En 2013 Passos, et al, realizaron un estudio aplicando un tratamiento térmico a la biomasa algal donde las variables eran el tiempo de exposición, y la temperatura. Los resultados obtenidos confirmaron que un pretratamiento de entre 55-95°C, durante diez horas,

incrementaba la producción de metano entre un 14% y un 62% en comparación con biomasa algal no pretratada.

1.2.1.4.4. Codigestión anaerobia

La codigestión es la digestión anaerobia de dos o más sustratos de origen diferente. Su principal ventaja consiste en aprovechar la sinergia de la mezcla, compensando las carencias que cada uno de los sustratos tengan por separado. Sus objetivos generales son:

- Aprovechar la complementariedad de los compuestos para dar lugar a procesos más eficaces.
- Compartir instalaciones y unificar metodologías reduciendo así costes de inversión y explotación.
- Amortiguar las variaciones temporales en producción y composición de cada residuo por separado.

En ensayos previos, tanto a escala de laboratorio como a nivel industrial, se han obtenido resultados satisfactorios en la codigestión de diferentes tipos de residuos. Sin embargo, es muy importante determinar la viabilidad de las mezclas antes de realizar los experimentos, puesto que pueden existir tóxicos o inhibidores que invaliden el nuevo producto como co-sustrato para la co-digestión. Debe analizarse también la proporción adecuada de cada residuo con el fin de evitar sobrecargas orgánicas en el digestor así como los parámetros de operación. Por ejemplo, un alto contenido en lípidos de algunos residuos proporciona elevados resultados teóricos de producción de biogás, pero en la práctica, en función de la concentración de ácidos grasos, pueden resultar tóxicos para el crecimiento microbiano. (Galbraith et al., 1971; Hanaki et al., 1981; Koster & Cramer, 1987; Angelidaki & Ahring, 1992).

1.2.1.4.5. Codigestión anaerobia de algas y fangos de EDAR

Como respuesta a la búsqueda de soluciones para elevar el rendimiento de las microalgas en la digestión anaerobia, ha surgido la investigación en la codigestión de algas y fangos de EDAR. Diversos autores (Brune et al., 2009; Khalid et al., 2011; Mata-Álvarez et al., 2011) han anunciado que este tipo de codigestión anaerobia serviría para estabilizar el proceso mediante la mejora de la relación C/N, ya que la digestión anaerobia de las algas se ve limitada en la mayor parte de los casos por un alto contenido en nitrógeno. (C/N de 5,5/1), provocando inhibición en la metanogénesis por amonio (Brune et al., 2009).

Existe poca bibliografía referente a este tipo de codigestión en particular. Samson y Leduy (1983) son los primeros en observar que la adición de fangos primarios, con una proporción del 50% de SV, aumentaba la producción de biogás hasta 2,1 veces.

Más tarde, en 1996, Cecchi et al., realizan un estudio sobre codigestión anaerobia de macroalgas de lagunas y fangos de depuradora en condiciones mesófilas, a 37°C. El resultado fue que, la adición de macroalgas con un porcentaje en ST del 30%, proporcionaba una producción de metano similar a la que se obtenía de la digestión de los fangos puros. Además, concluyeron que en condiciones termófilas, la codigestión no se podía llevar a cabo por la inhibición de los microorganismos en la metanogénesis.

Wang et al (2013) hicieron un estudio sobre codigestión de microalgas *Chlorella* y fangos activos de depuradora. El ensayo se realizó en discontinuo en reactores batch, durante 45 días, y en condiciones mesófilas, y los resultados reflejaron que la producción de biogás respecto a la digestión de *Chlorella* pura, aumentaba en un 73-79%. Se probaron varios porcentajes de biomasa algal 4,11 y 41%, de forma que se produjo entre 453-468 mL·g⁻¹ SV de biogás. Así mismo, en el ensayo de fangos puros obtuvieron 483 mL·g⁻¹ SV, mientras que en el de microalgas puras la producción era de 262 mL·g⁻¹ SV.

Puede afirmarse con este estudio que la codigestión anaerobia de microalgas y fangos en condiciones mesófilas es un enfoque adecuado en términos de producción de biogás.

También en 2013, Olsson et al. llevaron a cabo una investigación sobre la codigestión de microalgas cultivadas en el lago Mclaren y fangos de EDAR durante 35 días, en condiciones tanto mesófilas como termófilas. Los resultados indicaron que con una proporción de microalgas del 12% y fangos 88% en condiciones mesófilas, la producción de biogás aumentaba en un 12% en comparación con la digestión de fangos. Un punto importante de este estudio la observación de que un aumento en la proporción de microalgas da lugar a una reducción en la proporción de metano debido a la presencia excesiva de nitrógeno. También se ratificó el hecho de que la codigestión en condiciones termófilas no es viable.

Basándose en estos resultados previos, podrían abrirse nuevas vías de investigación con otro tipo de residuos similares a los fangos de EDAR con alto contenido en carbono. Para la codigestión con microalgas se prevén buenos resultados al aumentar la relación C/N.

OBJETIVOS

2. Objetivos y plan de trabajo

La tendencia actual en el campo de la gestión integral de las aguas residuales se redirige desde el tratamiento convencional, que contemplaba únicamente la obtención de los niveles de depuración requeridos, a los sistemas de tratamiento actuales, sistemas que han de disponer de la tecnología necesaria para la recuperación tanto del agua como de los recursos contenidos en ella. Con el fin de evaluar el funcionamiento de estos tratamientos innovadores, se analizan tanto su capacidad para la eliminación de los contaminantes contenidos en el agua residual, como su capacidad y eficiencia para transformar éstos mismo en recursos aprovechables, como energía y nutrientes.

Como objetivos principales del presente Trabajo de Final de Máster, se definen:

- La evaluación de la producción de biogás a través de un proceso de codigestión anaerobia de microalgas con fangos primarios de EDAR en ensayos continuos en reactores AnMBR a escala de laboratorio.
- El estudio de la influencia de dos parámetros operacionales, como son la temperatura y la carga orgánica, sobre el proceso.
 - Estudio comparativo de temperaturas termofílicas y mesofílicas.
 - Estudio de la influencia del cambio de carga orgánica sobre el reactor operado en condiciones termofílicas.

MATERIALES Y MÉTODOS

3.- Materiales y métodos

3.1. Sustratos

Las microalgas, empleadas como co-sustrato para la codigestión anaerobia, llevada a cabo en los biorreactores anaerobios con membranas (AnMBR) a escala piloto de laboratorio (cuyas características y operación se describirán en el apartado 3.2. *Descripción de los reactores y las condiciones operacionales*) proceden de un sistema de fotobiorreactores con membranas de ultrafiltración a escala de planta piloto industrial, denominado MPBR (*Membrane PhotoBioReactor*). Dicho sistema es empleado para eliminar los nutrientes del efluente procedente de un tratamiento de agua residual urbana anaerobio mediante el uso de la tecnología AnMBR, también a escala piloto industrial, con el objetivo de demostrar la eficiencia de dicho esquema de tratamiento como estrategia sostenible para la depuración y posterior recuperación de los recursos contenidos en el agua residual. Ambas plantas piloto, de escala industrial, pertenecen al grupo de investigación CALAGUA y se encuentran situadas en la EDAR de la Cuenca del Carraeixet (Valencia, España).

La planta AnMBR a escala piloto industrial, cuya imagen se muestra en la Figura 3.1, trata anaeróticamente agua residual urbana real procedente del tratamiento primario de la EDAR del Barranco del Carraeixet, es decir, tras el decantador primario. El funcionamiento y operación de esta planta, así como la automatización y el sistema de control utilizado han sido previamente detallados por Giménez et al. (2011).

La elevada eficacia de eliminación de materia orgánica que se alcanza en esta planta piloto de escala industrial deriva en un efluente libre de sólidos suspendidos y patógenos, gracias al uso de membranas de ultrafiltración (Giménez et al., 2011; Moñino et al., 2017). Sin embargo, como ya se ha comentado en la introducción, el proceso de digestión anaerobia tiene un bajo rendimiento en la eliminación de nutrientes, por lo que dicho efluente presenta elevadas concentraciones de nitrógeno y fósforo, que pueden ser recuperados en forma de biomasa algal (Ruiz-Martinez et al., 2012). Por ello, este efluente es dirigido seguidamente a una planta piloto de escala industrial de fotobiorreactores (MPBR), cuya imagen se muestra en la figura 3.2.

El funcionamiento y operación de esta planta piloto ha sido previamente descrito de forma detallada por Viruela et al. (2016), siendo *Chlorella* spp. El principal género de microalgas que predominó durante todo el periodo experimental (Viruela et al., 2016; Pachés et al., 2012).

La biomasa algal en exceso, purgada de la planta MPBR, será sometida a una digestión anaerobia con el fin de valorizarla energéticamente en forma de biogás. Sin embargo, esta biomasa algal presenta un elevado contenido en agua y debe ser concentrada para poder llevar a cabo la digestión anaerobia con una adecuada carga orgánica. El concentrado de las microalgas se llevó a cabo mediante filtración, usando una membrana externa de flujo tangencial.



Figura 3.1. Vista general de la planta AnMBR a escala piloto industrial.



Figura 3.2. Vista general de la planta MPBR a escala piloto industrial.

Finalmente, el fango utilizado como co-sustrato en la codigestión anaerobia a escala de laboratorio procede del tratamiento primario llevado a cabo en la EDAR del Carraeixet, que posteriormente es espesado para su uso.

Cabe destacar que ambos sustratos, las microalgas y el fango primario espesado, son acondicionados previamente a su uso como mezcla-alimento para los reactores pilotos de escala laboratorio.

3.2. Descripción de los reactores y las condiciones operacionales

La codigestión anaerobia de microalgas y fango de EDAR fue llevada a cabo en dos reactores operados en continuo, bajo diferentes condiciones de temperatura: mesófilas y termófilas. Ambos reactores fueron sellados para prevenir la entrada de aire y las fugas de biogás, y fueron equipados con sensores internos de temperatura, pH, potencial de oxidación-reducción y presión para monitorizar el proceso. Los valores de estas sondas fueron continuamente registrados y graficados mediante un software de adquisición de datos desarrollado por el grupo de investigación CALAGUA.

La temperatura se mantuvo constante en ambos reactores mediante sendas camisas de agua, conectadas a dos baños de recirculación de agua con control de temperatura. El volumen de biogás producido fue medido mediante un caudalímetro de gas conectado a la cabeza de los reactores, capaz de registrar tanto el caudal como el volumen acumulado del biogás producido diariamente (Celdad de Ritter. . A MGC 10 milligas counter - Ritter). La descripción del plan de analíticas para las corrientes, tanto de entrada como salida de ambos reactores se explicará detalladamente en el apartado 3.3. *Métodos analíticos*.

Los reactores fueron alimentados una vez al día de lunes a viernes, repartiéndoli la carga semanal en esos cinco días, alimentándolos una vez al día usando la biomasa fresca de microalgas y el fango primario espesado de la EDAR del Carraeixet (Alboraya – España). Dichos sustratos fueron analizados previamente, con el fin de acondicionarlos hasta la DQO y los ST que se deseaban.

3.2.1. Ensayo continuo de cogestión anaerobia mesófila

Se usó un reactor a escala de laboratorio con camisa de agua para la digestión anaerobia en condiciones mesófilas (35°C). El reactor anaerobio utilizado, con un volumen total de 13 L (9 L de lodo y 4 L de espacio libre), fue inoculado con lodo de un digester mesófilo a escala laboratorio y se agitó continuamente mediante dos vías, la recirculación de biogás. El biogás recirculado, que es el producido durante el proceso, es aspirado del espacio de cabeza por medio de dos soplantes, y reintroducido por la parte inferior del reactor. La Figura 3.3 muestra un esquema y una vista general de este reactor.

El reactor se equipó con un módulo externo de membrana de ultrafiltración de fibra hueca, cuyas características se detallan en la Tabla 3.1, permitiendo la operación a 70 días de TRC mientras se mantenía un TRH de 30 días durante el período de estudio realizado, siendo éste de una duración de 194 días, durante el cual se mantuvo una carga orgánica (OLR) de 0,5 g-d-1-L-1.

El sistema de reactor y módulo de membrana, denominado AnMBR, cuyo esquema se muestra en el Figura 3.3, se mantuvo homogenizado gracias a la continua recirculación del fango desde el reactor al módulo mediante bombeo (BX). Para minimizar la acumulación de los sólidos sobre la membrana (fouling), una parte del biogás producido es recirculado desde la cabeza

Estudio comparativo de la producción de biogás mediante tecnología de biorreactores anaerobios de codigestión a escala laboratorio

del reactor a la parte inferior de la membrana mediante el uso de dos Soplantes (S1 para agitar el reactor y S2 para agitar la membrana). Así mismo, se hizo uso de un condensador cónico de aire, ubicado por encima de la cabeza del reactor, por el cual se hacía circular el reflujo del biogás extraído desde la cabeza del reactor, cuyo calor se difundía a través de las paredes de vidrio del condensador, siendo enfriado por el aire exterior y dejando que gotee. El líquido recogido en la parte cónica del condensador era reintroducido una vez al día al reactor mediante la misma conducción por el que el mismo era purgado a diario.

El reactor fue purgado directamente del tanque de digestión, mientras el permeado se obtuvo por la aplicación de una presión negativa, ejercida por una bomba peristáltica (BX) conectada al módulo de membrana. Cabe resaltar que aunque se llevaba a cabo una analítica completa del alimento y las purgas y filtrados de los reactores, en los intervalos de tiempo que se mencionarán en el apartado 3.3. Métodos analíticos, los lunes, miércoles y viernes se realizaban los ST de los efluentes de ambos reactores, mientras los martes y jueves se realizaban los AGV de los permeados obtenidos de sus respectivas membranas.

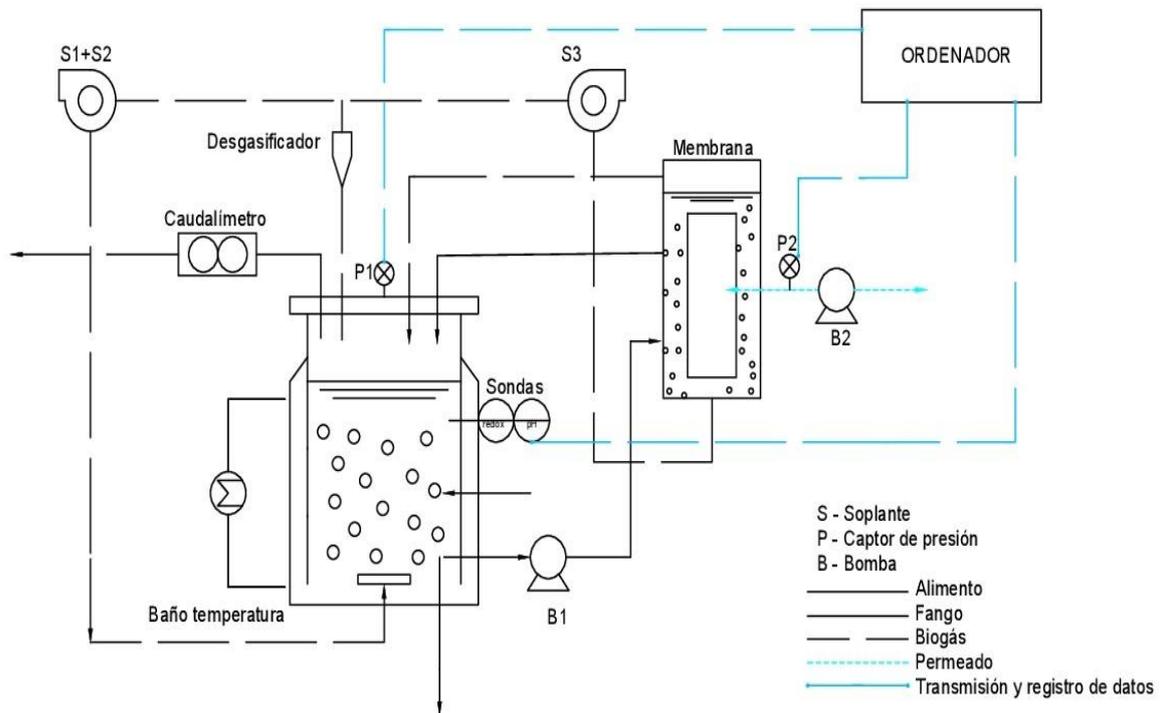


Figura 3.3.- Esquema del reactor AnMBR en condiciones mesófilas.

Tabla 3.1.- Características membrana externa usada en los ensayos continuos de codigestión anaerobia mesófila.

Parámetro	Descripción
Material	Inorgánico
Sistema de membrana	<i>Koch Membrane Systems</i>
Tipo	Membrana de Ultrafiltración de fibra hueca (0,05 μm de tamaño de poro)
Volumen de trabajo	0,9 L

Para llevar a cabo la filtración, la bomba de permeado (B2) se conectó a un controlador, el cual fue programado para que la membrana trabajara en tres etapas de operación: Filtración, contralavado y relajación.

- Filtración: La etapa de filtración empieza tras el purgado del reactor, finalizando cuando se ha alcanzado el volumen de permeado establecido para mantener el TRH. Durante esta etapa, la bomba (B2) ejerce una presión negativa sobre el lado interior de las fibras de la membrana, que proporciona la fuerza impulsora necesaria para que un determinado flujo de permeado pase a través de la pared de las mismas (flujo transmembrana).

- Contralavado: En esta etapa, parte del permeado es impulsado en dirección contraria a la filtración (B2) con el objetivo de eliminar el fouling reversible de la superficie de la membrana. Esta etapa se realiza cada 120 segundos de filtración, teniendo una duración de 20 segundos. La bomba B2 está conectada a un controlador, el cual alterna las etapas de filtración y contralavado cambiando el sentido de funcionamiento de la bomba.

- Relajación: En esta etapa la bomba (B2) permanece parada y no existe flujo en ninguna dirección a través de la membrana. De esta forma se elimina el vacío del interior de las fibras, provocado por el proceso de filtración, y se favorece la eliminación de una parte de la torta formada sobre la superficie exterior de las fibras, gracias al burbujeo continuo del biogás. Una vez alcanzado el volumen de permeado, tras las etapas de filtrado-contralavado, la membrana permanecerá en relajación el resto del tiempo.

Con el objetivo de minimizar las pérdidas de metano arrastrado con el efluente, se instaló en la zona de aspiración de la bomba de permeado un cono desgasificador. El cono desgasificador es una ampliación de la sección de la conducción del permeado con forma de embudo, en el que la entrada del permeado se realiza por un lateral, de modo que el líquido tiende a caer por la acción de la gravedad y el gas se desprende del líquido, ascendiendo y acumulándose en la parte superior.

La presión transmembranal, controlada para la monitorización del rendimiento de la membrana utilizada, se midió mediante un captor de presión situado en la membrana (P2). Así mismo, para el control de la presión en el reactor se situó otro captor de presión en la cabeza del reactor (P1).

3.2.2. Ensayo continuo de cogestión anaerobia termófila

La codigestión anaerobia de la mezcla de biomasa microalgal y el fango primario espesado en condiciones termófilas (55°C) fue llevada a cabo en un reactor a escala de laboratorio con camisa de agua. Una vez inoculado, el reactor fue purgado y alimentado con la mezcla mencionada una vez al día, durante toda la experimentación, repartiéndose la carga en 5 días/semana. Se mantuvieron las condiciones operacionales mostradas en la Tabla 3.2, donde se pueden distinguir dos periodos operacionales como T-I y T-II.

La configuración de este reactor es similar a la del operado en condiciones mesófilas, con un volumen de 9 litros de lodo y 4 litros de espacio libre. Se agitó las 24 horas del día durante su funcionamiento mediante dos vías, la recirculación de biogás y el uso de un equipo de agitación, compuesto por un mezclador de pala ancha conectado a un motor monofásico, siguiéndose el mismo proceso que el explicado en el caso del reactor mesófilo.

El esquema formado por el reactor termófilo y el módulo de membrana correspondiente se presenta en la Figura 3.4, operando de manera similar al reactor mesófilo, aunque con las diferencias del caso. La agitación de la biomasa presente en el biorreactor se realiza mediante el uso de un equipo de agitación, compuesto por un mezclador de pala ancha conectado a un motor monofásico. La velocidad de giro se podía regular mediante el uso de un regulador de potencia, asegurándose la mezcla completa en el interior del reactor, pero sin que ésta misma fuese excesiva y llegase a alterar los procesos biológicos de la población microbiana existente dentro del mismo.

Tabla 3.2.- Condiciones operacionales establecidas en cada período experimental estudiado en el reactor AnMBR termófilo.

Períodos	T-I	T-II
TRC (días)	70	70
TRH (días)	30	30
OLR ($\text{g}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{L}^{-1}$)	0,11	0,33

Existen dos diferencias principales de operación respecto al proceso de codigestión llevado a cabo en condiciones mesófilas:

- 1.- La temperatura de operación es de 55°C, pretendiendo comparar los resultados obtenidos bajo ambas condiciones de operación, así como su efectividad en cuanto a producción de biogás y biodegradabilidad.
- 2.- El material del módulo de membrana es cerámico. De todas las características que presentan las membranas cerámicas de procesos de separación por ultrafiltración, la más importante es la estabilidad química, térmica y mecánica en comparación con las membranas orgánicas, lo que hace posible operar en ocasiones a altas temperaturas (hasta 500 °C) y con valores extremos de pH (pH 1-14) (Antonio Domínguez, 2014). A continuación se presentan las características de la membrana utilizada en este caso:

Tabla 3.3.- Características membrana externa usada en los ensayos continuos de codigestión anaerobia termófila.

Parámetro	Descripción
Material	Cerámico
Sistema de membrana	Likuid Nanotek
Tipo	Membrana de Ultrafiltración <i>cross flow</i> (0,05 μm de tamaño de poro)
Volumen de trabajo	0,9 L

3.- Cambio del punto de carga, en el cambio de período del T-I al T-II (Tabla 3.2), donde se puede observar un aumento de carga de 0,11 a 0,33 $\text{g}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{L}^{-1}$, para determinar si se producía un aumento en la biodegradabilidad y una mayor producción de biogás. Dicho aumento de OLR se efectuó modificando la concentración del afluente, con el fin de mantener el TRH.

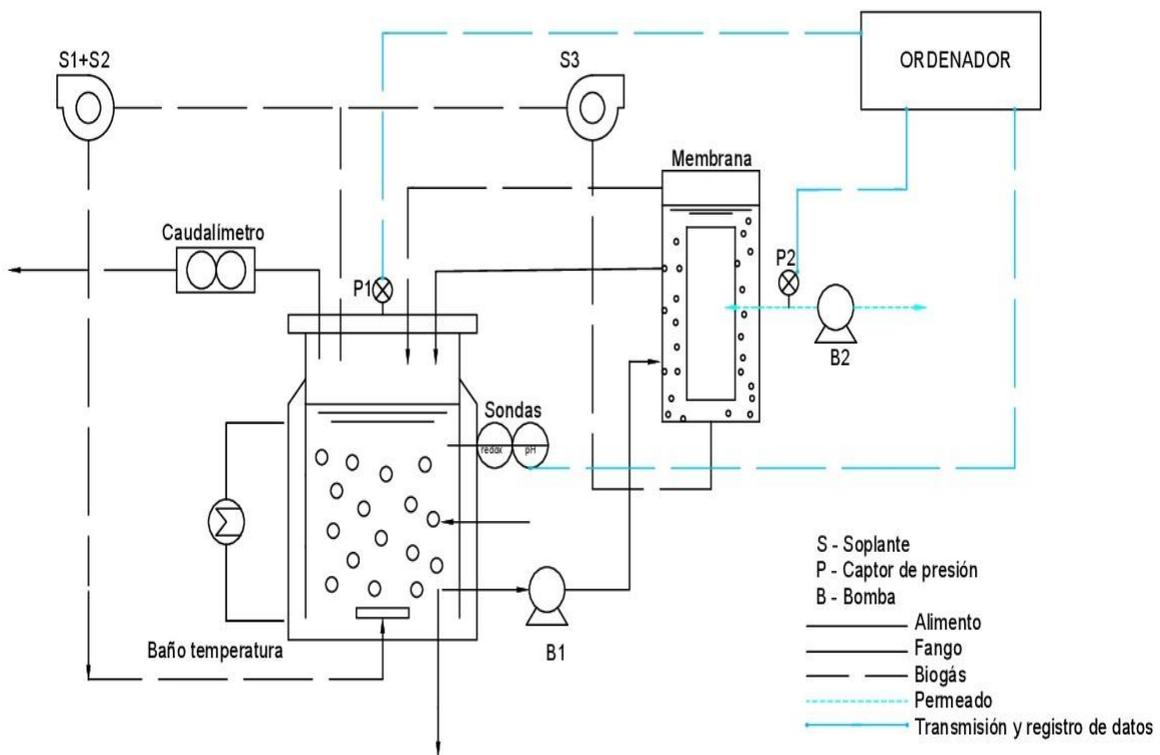


Figura 3.4.- Vista general (a) y esquema del reactor AnMBR en condiciones termófilas.

3.3. Métodos analíticos

Con la finalidad de caracterizar las diferentes corrientes del sistema, y llevar a cabo el seguimiento y caracterización del estado del sistema, se emplearon diversas técnicas analíticas que se describen a continuación.

De forma general, para realizar el seguimiento del estado del sistema, se analizaron en las corrientes y con la frecuencia indicada los siguientes parámetros:

- ✓ Ácidos grasos volátiles de cadena corta (AGV) y alcalinidad (Alk): se hicieron analíticas los días martes y jueves a los permeados obtenidos de la operación de filtrado de las respectivas membranas.
- ✓ pH y Temperatura: se obtuvieron las medidas diarias de las sondas instaladas en los reactores de codigestión anaerobia.
- ✓ Nitrógeno amoniacal (N-NH₄) y ortofosfato (P-PO₄):
 - Los días miércoles de cada semana a los permeados obtenidos de la operación de filtrado de las respectivas membranas.
 - Los días de caracterización completa al alimento empleado para la codigestión.
 - Bisemanalmente al filtrado de las purgas de cada reactor.

Por otra parte, también se analizaron en la purga de los reactores y los sustratos llevados a codigestión los siguientes parámetros:

- ✓ Concentración de sólidos suspendidos totales (SST) y volátiles (SSV) los días que se hicieron caracterización completas de las microalgas y el fango, preparados en lotes de duración mensual; y cada dos semanas en el caso de las purgas.
- ✓ Concentración de sólidos totales (ST) y volátiles (SV) durante la preparación del alimento a codigestión; tres veces por semana en el caso de las purgas.

Adicionalmente, con frecuencia semanal se realizó la caracterización del estado del sistema y la caracterización completa de los sustratos que conforman la mezcla alimento de los reactores, incluyendo:

- ✓ Demanda química de oxígeno total (DQO_T) y soluble (DQO_S).
- ✓ Nitrógeno total (N_T).
- ✓ Fósforo total (P_T).

3.3.1. Sólidos totales (ST), volátiles (SV), suspendidos (SST) y suspendidos volátiles (SSV).

La medida de los sólidos se realizó con el fin de llevar a cabo un seguimiento, tanto del alimento introducido a los reactores como del rendimiento en términos de porcentaje de eliminación de sólidos. Para su determinación se empleó la metodología gravimétrica propuesta en el Standard Methods (APHA, AWWA, WEF, 2005). La concentración de sólidos totales (ST) se determina mediante la eliminación de la humedad, a 105°C, de una muestra sin

filtrar. Después de someter los ST a una temperatura de 550°C, la pérdida de peso se debe a los sólidos volátiles (SV). La concentración de sólidos suspendidos totales (SST) y la de sólidos suspendidos volátiles (SSV) se determina mediante la aplicación del método expuesto para el caso de los sólidos totales, sobre una muestra filtrada a través de un filtro de policarbonato de 0,45 µm. El incremento de peso del filtro se corresponde con los SST.

3.3.2. Demanda química de oxígeno (DQO)

La determinación de la demanda química de oxígeno (DQO) se determinó mediante el análisis de la demanda química de oxígeno (DQO) descrito en el *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2012), siendo su valor empleado para realizar el balance de DQO y calcular el rendimiento del proceso en términos de porcentaje de DQO eliminada.

Esta medida se realizó en función de las distintas corrientes del sistema, se llevó a cabo utilizando diferentes métodos en función de su contenido en material particulado. La DQO de las muestras con un elevado contenido en material particulado se determinó mediante el método del reflujo abierto (5220 B; APHA, 2012), mientras que la DQO de las muestras solubles o con bajo contenido en material particulado, se determinó mediante el método colorimétrico (5220D; APHA, 2012).

Demanda química de oxígeno – método de reflujo abierto

Este método resulta adecuado para muestras heterogéneas, dado que emplea un mayor volumen. Consiste en la oxidación de la materia orgánica con dicromato mediante digestión con reflujo abierto. Este test se lleva a cabo por calentamiento, bajo condiciones de reflujo total, de un determinado volumen de muestra con un exceso conocido de $K_2Cr_2O_7$, en presencia de H_2SO_4 al 96%. El periodo de reflujo estándar es de 120 minutos a 150°C. La reacción es catalizada con Ag_2SO_4 , y se utiliza $HgSO_4$ para eliminar posibles interferencias con los haluros presentes. El exceso de $K_2Cr_2O_7$ se valora con sal de Mohr por medio de valoración potenciométrica redox en un valorador automático Metrohm 702 SM Titrino. Es necesario incluir un blanco, usando agua desionizada, para valorar la sal de Mohr y considerar las posibles interferencias de los reactivos empleados. Así mismo, se realiza la primera medida de DQO con una muestra patrón, que debe tener una concentración aproximadamente de 500 ppm.

Demanda química de oxígeno – método colorimétrico (0-125 ppm)

Este método resulta más económico (dado que se emplean menos reactivos) y genera una menor cantidad de residuos peligrosos que el método del reflujo abierto. Este método resulta adecuado para muestras homogéneas, en las que el volumen de muestra empleado no es decisivo para la obtención de resultados reproducibles. Aunque es necesario realizar diluciones de las muestras que contengan una DQO alta, ya que con el equipo usado (Spectroquant Pharo 300) el rango de medición se encuentra entre 0 y 125 mg/l.

Este método se basa en la absorción de luz a diferentes longitudes de onda de las especies Cr^{3+} y Cr^{6+} . La muestra es llevada al digestor durante 2 horas y a 150°C . Se somete a reflujo en una solución ácido fuerte con un exceso de dicromato. El ión dicromato ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$) oxida la materia con DQO, reduciéndose desde Cr^{6+} hasta Cr^{3+} . Ambas especies son coloreadas, pero absorben a diferentes longitudes de onda. El ión dicromato absorbe fuertemente en la región de los 400 nm, donde la absorción del Cr^{3+} es mucho menor. Por el contrario, el Cr^{3+} absorbe en la región de 600 nm, donde el ión dicromato presenta una absorción cercana a cero. De esta manera, después de la digestión, el dicromato no reducido se cuantifica para determinar la cantidad de dicromato consumido. Se usa sulfato de plata (Ag_2SO_4) como catalizador para la oxidación de compuestos alifáticos lineales. El consumo de oxígeno se obtiene mediante una recta de calibrado, en la que se introducen las medidas obtenidas de absorbancia en spectroquant a una longitud de onda de 446 nm.

3.3.3. Nutrientes

Las concentraciones de ortofosfato (PO_4^-), nitrógeno amoniacal (NH_4^+), nitrato (NO_3^-) y sulfatos (SO_4^{2-}) fueron determinadas siguiendo la metodología propuesta en el Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, AWWA, WEF, 2012) implementados en un analizador automático multiparamétrico (Smartchem 200 de AMS/Alliance Instruments).

El análisis del fósforo total (P_T) se realizó por los métodos 4500-P-B y 4500-P-F, ya que requiere de una previa digestión ácida de la muestra para su determinación, y los ortofosfatos se determinaron según el método 4500-P-F (APHA, 2012). El método consiste en la determinación del ión fosfato por la reacción del molibdato amónico y el tartrato de antimonio y potasio, que forman un complejo de antimonio-fosfomolibdato en medio ácido, que se reduce con el ácido ascórbico a un azul intenso en función de la concentración de fosfato. Posteriormente, se mide la absorbancia a 880 nm y se determina la concentración de fosfato mediante comparación con una curva de calibrado.

Para el análisis del nitrógeno total (N_T) se utilizó el test de determinación de nitrógeno total de la firma Merck. Los compuestos orgánicos e inorgánicos de nitrógeno se oxidan hasta nitratos mediante la digestión ácida en un termoreactor por el método de Koroleff. Estos nitratos con 2,6-dimetilfenol (DMP), en solución sulfúrica y fosfórica forman el compuesto 4-nitro-2,6-dimetil-fenol que se determina fotométricamente a 338 nm empleando un espectrofotómetro marca Spectroquant PHARO 300.

3.3.4. Contenido en metano del biogás

Para determinar la concentración de CH_4 disuelto en el efluente, se utilizó la técnica de análisis estático del espacio de cabeza mediante cromatografía gaseosa (CG). Existen diferentes monográficos que proporcionan detalles teóricos y prácticos relacionados con esta técnica,

para la determinación de la concentración de diferentes compuestos gaseosos disueltos en una fase líquida (Kolb y Etre, 2006; Hachemberg & Schmidt, 1977). Esta técnica se basa en el hecho de que cuando una muestra que contiene compuestos orgánicos volátiles es sellada en un vial, los compuestos orgánicos alcanzarán un equilibrio entre la fase líquida y el espacio de cabeza del vial. La distribución de los compuestos entre las dos fases dependerá de la temperatura, la presión de vapor de cada compuesto, la influencia de la matriz de la muestra en la actividad de los compuestos, y la relación de volúmenes entre el espacio de cabeza y el líquido en el vial (Dietz & Singley, 1979). La composición del espacio de cabeza se determina mediante análisis CG.

3.3.5. Ácidos grasos volátiles (AGV)

Para la determinación de la concentración de ácidos volátiles de cadena corta (mg CH₃COOH/l) y alcalinidad (mg CaCO₃/l), se utilizó el método de valoración ácido-base de 5 puntos propuesto por Moosbrugger et al. (1992). El método consiste en la valoración de la muestra con un volumen de HCl, de concentración conocida y próxima a 0.1 N, hasta alcanzar valores de pH de 6,7, 5,9, 5,2 y 4,3. Se realizó la medida usando un valorador automático potenciométrico (*DMS Tritino 716, Metrhom*), programa informático distribuido por los propios autores del método analítico, basado en el equilibrio químico de las especies involucradas, tomando en cuenta no solo los ácidos grasos volátiles y los carbonatos, sino también los fosfatos, el amonio y los sulfuros, que se presentan comúnmente como ácidos/bases débiles en el agua.

3.4. Seguimiento de la estabilidad y eficiencia del proceso biológico

A continuación se presentan los cálculos correspondientes al seguimiento de la estabilidad y eficacia de biodegradación de los procesos anaerobios con membrana llevados a cabo, cuyos resultados se comentarán e interpretarán en el apartado 4. *Resultados*.

3.4.1. Balance de DQO

El balance de DQO aplicado a ambos sistemas anaerobios con membrana, empleado durante todo el periodo experimental en condiciones mesófilas y termófilas, respectivamente, se corresponde con la siguiente ecuación:

$$Q_{entrada} \cdot DQO_{entrada} = Q_{purga} \cdot DQO_{purgada} + Q_{permeado} \cdot DQO_{permeado} + Q_{CH_4} \cdot DQO_{metanizada} + (Q_{entrada} - Q_{purga}) \cdot DQO_{SRB\ Reactor} + DQO_{acumulada} \cdot V_{reactor} \quad [Ec. 3.1]$$

En esta ecuación (Ec. 3.1), los términos que se corresponden con la DQO de salida del sistema son los correspondientes a la DQO_{purgada} (mg DQO·L⁻¹), que es la DQO presente en el caudal de purga diaria del AnMBR correspondiente, representado como Q_{purga} (L·d⁻¹); la DQO_{permeada} (mg

DQO·L⁻¹), que es la DQO presente en el caudal de permeado obtenido tras el proceso de filtración con membrana; la DQO_{metanizada} (mg DQO·L⁻¹) que es la suma de dos términos, la DQO asociada al metano presente en el efluente y la DQO asociada al metano presente en el biogás generado durante el proceso anaerobio; y la DQO_{SRB Reactor} (mg DQO·L⁻¹) que es la DQO correspondiente a la consumida por las bacterias sulfatoreductoras (SRB) como resultado de la reducción del sulfato por parte de las mismas, siendo la suma de estos dos últimos términos la DQO denominada como la DQO_{biodegradada}.

Al hacer uso de un sistema de separación física basado en membranas de ultrafiltración se obtiene un efluente libre de sólidos, por lo cual la DQO total del efluente vendrá dada por la suma de las fracciones solubles de DQO representadas en la ecuación del balance de DQO [Ec. 3.1]. Estas fracciones de la DQO son determinadas de la siguiente forma:

- **DQO_{metanizada}**: este término supone la suma de dos términos, como son, la DQO correspondiente al metano disuelto que el sistema no logra eliminar, y la DQO producida durante del proceso anaerobio. La obtención de estas DQO se detalla a continuación:
 - o **Metano disuelto**: esta determinación se llevó a cabo aplicando la ley de equilibrio de Henry (Ec. 3.2), tal como fue previamente descrito por Giménez et al. (2012). De esta manera, conociendo la fracción molar de metano en el biogás (y_{CH_4}), se puede conocer su fracción molar en el líquido (x_{CH_4}) para una presión (P en atm) y temperatura (T en Kelvin) dadas.

$$P \cdot y_{CH_4} = H_{CH_4} \cdot x_{CH_4} \text{ [Ec. 3.2]}$$

En esta ecuación, H_{CH_4} es la constante de Henry para el metano, la cual es función de la temperatura del sistema, registrada diariamente (T en Kelvin), y viene dada por la siguiente ecuación (Tchobanoglous et al., 2003):

$$H_{CH_4}(T) = 10^{\left(\frac{-675,76}{T} + 6,88\right)} \text{ [Ec. 3.3]}$$

Una vez conocida la fracción molar del metano en la fase líquida y sabiendo que la molaridad del agua (M_{H_2O}) es de 55.56 mol·L⁻¹, pueden obtenerse los moles de metano en la fase líquida (M_{CH_4}) aplicando la siguiente ecuación:

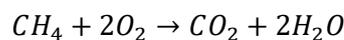
$$x_{CH_4} = \frac{M_{CH_4}}{M_{CH_4} + M_{H_2O}} \text{ [Ec. 3.4]}$$

Así, sabiendo que 1 mol de metano requiere de 64 g de O₂ para su completa oxidación, la concentración de metano disuelto en términos de DQO puede ser calculada como:

$$[CH_4]_{disuelto} = M_{CH_4} \left(\frac{mol}{L} \cdot \frac{64 g}{mol} \cdot \frac{1000 mg}{g} \right) \text{ [Ec. 3.5]}$$

Finalmente, teniendo en cuenta los caudales de purga y permeado, vías mediante las cuales sale del sistema el metano disuelto que no ha podido ser tratado por el sistema anaerobio correspondiente, se obtiene el término de DQO correspondiente a este apartado.

- **Metano del biogás producido:** el volumen de metano se calcula a partir del valor del volumen de biogás evacuado, del cual se obtiene a su vez el valor diario de porcentaje de metano correspondiente. Debido a que de la reacción de oxidación del metano se obtiene que se necesitan 64 g de O₂ para oxidar un mol de CH₄, aplicando la ley de los gases ideales (Ec. 3.6) se calcula el volumen que se produce de metano diariamente por cada gramo de DQO, en condiciones normales (0°C y 1 atm), tal y como se muestra a continuación:



$$P \cdot V = n \cdot R \cdot T \text{ [Ec. 3.6]}$$

$$V = \left(\frac{1 \text{ mol } CH_4}{64 \text{ g } O_2} \right) \cdot 0,082 \cdot T(K)$$

Haciendo uso de la misma ecuación [Ec.3.6], se calcula el metano acumulado diariamente dentro del reactor, teniendo en cuenta el espacio de cabeza de 5 litros, en el que se acumula. La suma de ambos términos aporta el valor de DQO presente en el biogás que produce el sistema anaerobio correspondiente.

- **Sulfuros en el permeado (DQO_s⁻²):** para llevar a cabo la estimación de la DQO asociada a los sulfuros presentes, puede considerarse que se produce una oxidación total desde S²⁻ hasta SO₄²⁻. De esta forma, la oxidación estequiométrica de los sulfuros da lugar a un consumo de 2 moles de O₂ por cada mol de S²⁻. El valor de los sulfuros puede obtenerse mediante su medición directa por espectrofotometría o como el resultado de la siguiente expresión:

$$[S^{2-}] = [S - SO_4]_{\text{alimento}} - [S - SO_4]_{\text{purga}} \text{ [Ec. 3.7]}$$

El balance de DQO se considera cerrado cuando el porcentaje de error entre el término de DQO de entrada (g·d⁻¹) y la suma de los términos que representan la DQO de salida (g·d⁻¹) es inferior al 10%, calculándose dicho error mediante la siguiente ecuación:

$$\%Error_{\text{Balance}} = \frac{DQO_{\text{entrada}} - DQO_{\text{salida}}}{DQO_{\text{entrada}}} \cdot 100 \text{ [Ec. 3.8]}$$

Así mismo, se considera que el proceso ha alcanzado el estado pseudo-estacionario cuando la DQO acumulada (g·d⁻¹) en el reactor es nula, considerándose como tal cuando no representa más de un 5% de la DQO de entrada (g·d⁻¹). El porcentaje de DQO acumulada se calcula mediante la ecuación mostrada a continuación:

$$\%DQO_{\text{Acumulada}} = \frac{DQO_{\text{acumulada}}}{DQO_{\text{entrada}}} \cdot 100 \text{ [Ec. 3.9]}$$

3.4.2. Balance de sólidos volátiles

El balance de sólidos aplicado a un a un sistema AnMBR puede expresarse de la siguiente forma (Giménez, 2014):

$$Q_{entrada} \cdot SV_{entrada} = Q_{purga} \cdot SV_{reactor} + V_{reactor} \cdot SV_{acumulados} \text{ [Ec. 3.10]}$$

donde $Q_{entrada}$ ($L \cdot d^{-1}$) es el caudal alimentado al reactor, $SV_{entrada}$ ($mg \cdot L^{-1}$) son los sólidos volátiles de la mezcla-alimento diaria al correspondiente reactor al que se le hace el balance, Q_{purga} ($L \cdot d^{-1}$) es el caudal purgado, $SV_{reactor}$ ($mg \cdot L^{-1}$) son los sólidos volátiles de la purga diaria, $V_{reactor}$ (L) es el volumen de fango en el reactor y $SV_{acumulados}$ ($mg \cdot L^{-1}$) es la diferencia entre la concentración de sólidos volátiles del fango al inicio y al final del pseudo-estado estacionario establecido para cada periodo experimental.

3.4.3. Eficiencia del proceso

Una vez alcanzado el estado pseudo-estacionario, la eficiencia del proceso fue evaluada en términos de porcentaje de eliminación de DQO (Ec. 3.11), porcentaje de sólidos volátiles y sólidos suspendidos volátiles eliminados (Ec. 3.12 y Ec.3.13), porcentaje de biodegradabilidad (Ec. 3.13), tal y como se muestra a continuación:

$$\%DQO_{eliminada} = \frac{(DQO_{entrada} - DQO_{salida})}{DQO_{entrada}} \cdot 100 \text{ [Ec. 3.11]}$$

$$\%SSV_{eliminados} = \frac{(SSV_{entrada} - SSV_{salida})}{SSV_{entrada}} \cdot 100 \text{ [Ec. 3.12]}$$

$$\%SV_{eliminados} = \frac{(SV_{entrada} - SV_{salida})}{SV_{entrada}} \cdot 100 \text{ [Ec. 3.13]}$$

$$\%Biodegradabilidad = \frac{DQO_{biodegradada}}{DQO_{entrada}} \cdot 100 \text{ [Ec. 3.14]}$$

donde $DQO_{entrada}$ ($g \cdot d^{-1}$) es la DQO de la mezcla-alimento de los reactores, DQO_{salida} ($g \cdot d^{-1}$) es el efluente de los reactores correspondiente a la purga más el permeado, $SSV_{entrada}$ ($g \cdot d^{-1}$) son los sólidos suspendidos volátiles de la mezcla alimentada y SV_{salida} ($g \cdot d^{-1}$) son los sólidos volátiles en la corriente de purga. En cuanto a la biodegradabilidad, ésta se ha calculado como el porcentaje de la materia orgánica que entra al digestor (medida como DQO) que es degradada y transformada en metano y sulfatos. La expresión para el cálculo de la biodegradabilidad (Ec. 3.14) se deriva del balance de DQO al digestor (Ec. 3.1), en el que la DQO que entra al digestor, o bien se acumula en el mismo, o bien sale en forma de metano, en forma de DQO sin degradar con la salida/purga o es consumida por las SBR para la oxidación de sulfuros a sulfatos. Para cuantificar la DQO que se ha eliminado, se ha restado a la DQO de entrada la

suma de las DQO correspondientes a la purga, el permeado y lo acumulado en el digestor, como se puede observar en la siguiente ecuación:

$$\%Eliminación = \frac{DQO_{entrada} - (DQO_{purga} + DQO_{permeado} + DQO_{acumulada})}{DQO_{entrada}} \cdot 100 \text{ [Ec. 3.15]}$$

3.4.4. Amoníaco

La presencia de elevadas concentraciones de amonio en los sistemas anaerobios puede dar lugar a la inhibición del proceso biológico. Por ello, conocer su concentración en los reactores permite evaluar su funcionamiento y correlacionar la evolución de distintos parámetros como la actividad metanogénica, la producción de biogás y la acumulación de AGV en el reactor. La concentración de amoníaco se puede calcular a partir de la ecuación de equilibrio, la cual depende de la concentración total de nitrógeno amoniacal (TAN – *Total Ammonia Nitrogen*) en el medio (Ec. 3.16), el pH y la temperatura. Según la reacción de equilibrio de NH_4^+ / NH_3 , la constante de equilibrio puede expresarse como la relación entre las concentraciones de los reactivos y los productos, tal y como se muestra en la ecuación 3.17:

$$TAN = NH_4^+ + NH_3 \text{ [Ec.3.16]}$$



$$K(T) = \frac{[NH_3] \cdot [H^+]}{[NH_4^+]}$$

donde K es la constante de equilibrio, la cual es dependiente de la temperatura (T en Kelvin), $[NH_4^+]$ es la concentración de amonio en el medio, $[H^+]$ es la concentración de protones en el medio, la cual puede ser conocida a partir del pH, y $[NH_3]$ es la concentración de amoníaco que se desea conocer. La combinación de las ecuaciones 3.16 y 3.17 da lugar a la siguiente expresión matemática, empleada para el cálculo de la concentración de amoníaco en el reactor (Zhang et al., 2012):

$$[NH_3] = \frac{TAN}{1 + \frac{10^{-pH}}{10^{-(0,09018 + 2729,92/T)}}} \text{ [Ec. 3.18]}$$

RESULTADOS

4. Resultados

4.1. Codigestión anaerobia de biomasa algal y fango primario de EDAR en condiciones mesófilas

Se llevó a cabo la codigestión anaerobia de microalgas y fango primario de EDAR en condiciones mesófilas, con el objetivo de evaluar su producción de biogás a través de un ensayo continuo en un reactor AnMBR a escala laboratorio. Este estudio también se realizó con el objetivo de comparar la influencia de las condiciones operacionales sobre el proceso, mediante el estudio comparativo de los resultados obtenidos con los de un segundo reactor AnMBR operado en condiciones termófilas (apartado 4.2. *Codigestión anaerobia de biomasa algal y fango primario de EDAR en condiciones termófilas*).

El periodo experimental tuvo una duración de 192 días, en el que se estableció un TRC de 70 días, un TRH de 30 días y se alimentó con una OLR de $0,5 \text{ g}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{L}^{-1}$. Dichos parámetros operacionales fueron fijados con el fin de comprobar si, bajo esta configuración, se podía obtener una mayor biodegradabilidad de la biomasa alimentada que la reportada en los periodos previos del mismo reactor, dentro del contexto del Doctorado de Rebecca Serna. Durante el primer periodo de operación (PI) las condiciones operacionales fueron de 30 días de TRC y 100 días de TRH, operando a una OLR de $0,38 \text{ g}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{L}^{-1}$, alimentado con biomasa algal únicamente. Durante el segundo periodo (PII) se operó con los mismos TRC y TRH que en el periodo previo, pero alimentando el reactor con una mezcla de microalgas y fango primario. En la Figura 4 se presentan los resultados obtenidos de los periodos mencionados.

	PI	PII
SRT (d)	98.9 ± 3.2	99.2 ± 1.7
HRT (d)	$[29.8 \pm 0.5]$	$[30.1 \pm 0.9]$
Feeding substrate	Microalgae	Microalgae and primary sludge
Methane yield ($\text{mLCH}_4 \text{ g COD}_{\text{inf}}^{-1}$)	0.16 ± 0.05	0.24 ± 0.02
% CH_4 in biogas	65.3 ± 4.3	65.7 ± 6.5
% biodegradation	54.5 ± 6.7	73.1 ± 5.6
% VSS removal	58.7 ± 2.1	63.3 ± 2.9
% COD removal	62.6 ± 2.1	67.5 ± 4.1

Figura 4.- Rendimiento de la digestión de la biomasa de microalgas. Valores medios \pm desviación estándar del estado estacionario para cada periodo (Serna-García et al., 2017).

4.1.1. Caracterización de la corriente afluyente para la digestión anaerobia en condiciones mesófilas

A continuación, en la Tabla 4.1 se presentan las características físico-químicas de la biomasa algal y el fango de EDAR utilizados como cosustratos, datos necesarios para el control del proceso de digestión anaerobia, ya que permite mantener la carga orgánica establecida durante el periodo de estudio, realizar los balances de DQO y Sólidos Volátiles necesarios para identificar el estado pseudo-estacionario y conocer la eficiencia del proceso.

Cabe destacar que la concentración de las microalgas y el fango de EDAR primario espesado durante todo el periodo experimental se fijó en base a su DQO y ST, es decir, que se midieron previamente dichos parámetros, y con respecto a los resultados obtenidos se diluyó (con permeado) o concentró (con microalgas concentradas o fango primario concentrado), obteniéndose la concentración adecuada de ambos parámetro, con el fin de poder mantener la carga orgánica para el TRH y el TRC establecidos.

Según se puede observar en la Tabla 4.1, la mayor parte de la materia orgánica se encuentra en su forma particulada en el afluente al reactor piloto de laboratorio, con un ratio de DQO_s/DQO_T de 8,62%, correspondiente a la mezcla-alimento. También cabe resaltar el hecho de que el porcentaje más alto en la composición del afluente es el de materia orgánica, con un ratio de SV/ST del 85%.

Tabla 4.1.- Caracterización de la biomasa alimentada al reactor mesófilo durante el periodo experimental. Cada parámetro analizado se presenta como media \pm desviación estándar.

Parámetros	Microalgas	Fango	Mezcla-alimento
DQO_T (mg DQO·L ⁻¹)	9729±334	23065±1303	15790±684
DQO_s (mg DQO·L ⁻¹)	914±268	1895±624	1361±386
ST (mg ST·L ⁻¹)	7959±161	16173±411	11646±267
STV (mg STV·L ⁻¹)	6430±203	11795±736	8837±375
SST (mg SST·L ⁻¹)	6502±325	14358±384	10063±237
SSV (mg SSV·L ⁻¹)	5950±284	10896±362	8200±252
N_T (mg N·L ⁻¹)	520±28	494±77	508±25
NH_4^+ (mg N·L ⁻¹)	31±6	107±28	121±29
P_T (mg P·L ⁻¹)	96±41	202±41	211±39
PO_4^{3-} (mg P·L ⁻¹)	11±3	92±36	46±15
SO_4^{2-} (mg SO_4 ·L ⁻¹)	98±31	39±15	81±24
AGV (mg CH_3COOH ·L ⁻¹)	58±18	1039±347	493±154
Alk (mg $CaCO_3$ ·L ⁻¹)	382±81	207±108	391±106

De esta tabla puede obtenerse también que la relación de nutrientes de las microalgas se mantienen en un 0,05, para N/DQO y en 0,009 para P/DQO. Según la bibliografía consultada, estos datos tienen un orden de magnitud similar a los de Grobbelaar (2007), así como los porcentajes que estos nutrientes representan de los sólidos suspendidos totales, que se encuentran en un 7,88% para el ratio N/SST (%) y un 1,46% para el ratio P/SST, y coinciden también con los resultados obtenidos por Golueke et. al. (1957). Este hecho refleja el potencial de recuperación de nutrientes, si se alcanzara un elevado nivel de biodegradación a través de la codigestión anaerobia, ya que se liberarían al medio elevadas cantidades de amonio y fosfatos.

Sin embargo, debido precisamente al alto contenido en nitrógeno de las microalgas, el proceso de digestión anaerobia puede verse afectado debido a la inhibición en la metanogénesis por amonio (Brune et al., 2009). Se pretende, por tanto, alcanzar un mayor nivel de biodegradación con la mezcla de la biomasa algas y el fango de EDAR sin ver ningún efecto inhibitorio gracias a la actividad tampón ofrecida por el fango primario.

Por último, cabe destacar que especie de microalga utilizada como cosustrato a lo largo del periodo experimental es *Chlorella* spp, obtenida bajo unas determinadas condiciones operacionales establecidas en la planta piloto MPBR. Su estructura se caracteriza por presentar una pared celular rígida compuesta por polisacáridos que dificulta su biodegradación. Así mismo, su composición en carbohidratos, proteínas y lípidos puede variar según las condiciones experimentales en las que se cultiven (Biller and Ross, 2014; Tijani et al., 2015). Por tanto, las diferencias operacionales de cultivo de la biomasa algal se pueden ver reflejadas durante el periodo experimental en variaciones en su composición durante la experimentación, lo cual puede traducirse en variaciones en la biometanización obtenida durante el proceso anaerobio.

4.1.2. Análisis de los sólidos totales, suspendidos y volátiles

En la Figura 4.1 a se presenta la evolución de los ST y %SV a lo largo del ensayo en continuo, tanto de la biomasa presente en el reactor como de la mezcla-alimento del proceso de codigestión anaerobia, de forma que pueda observarse su evolución y relación durante el periodo experimental. En la Figura 4.2 b se observa la evolución de los SST y %SSV de estas mismas corrientes. Las líneas verticales representan un período de tiempo acotado, desde el día 48 al día 54 del periodo experimental, durante el cual el reactor piloto de laboratorio fue alimentado erróneamente con microalgas y fango de EDAR a concentraciones por encima de la carga orgánica a la que se estaba operando. Después de dicho periodo cabe mencionar un pico de subida abrupta de los ST y de los SST del reactor mesófilo, ya que el sistema no tiene tiempo de asimilar el exceso de carga. Seguidamente, cuando es capaz de estabilizar se observa un pico de bajada de los ST del reactor. Como se puede observar en esta misma gráfica, a partir del día 84 del periodo experimental los ST, SST, %SV y %SSV del reactor mesófilo evolucionan con una estabilidad que refleja el estado pseudo-estacionario alcanzado.

Como se puede observar en la Figura 4.1 a y Figura 4.1 b, cabe resaltar el elevado porcentaje de sólidos volátiles, tanto totales como suspendidos, de la mezcla-alimento, es decir, materia orgánica biodegradable, con la que se alimenta al reactor piloto de laboratorio durante el periodo experimental. Así mismo, observando los porcentajes de sólidos totales y suspendidos, ambos volátiles, de la purga del reactor mesófilo, se puede apreciar la acumulación de biomasa que se estaba dando en el interior del mismo, respecto a los porcentajes correspondientes a la mezcla-alimento.

Así mismo, como se puede observar en la Figura 4.2, la eliminación de acuerdo al balance presentado en el apartado 3. *Materiales y métodos*, ecuación 3.10, la eliminación tanto de los sólidos volátiles como de los sólidos suspendidos volátiles se mantuvo de forma estable alrededor del 60% durante el periodo pseudo-estacionario.

Estudio comparativo de la producción de biogás mediante tecnología de biorreactores anaerobios de codigestión a escala laboratorio

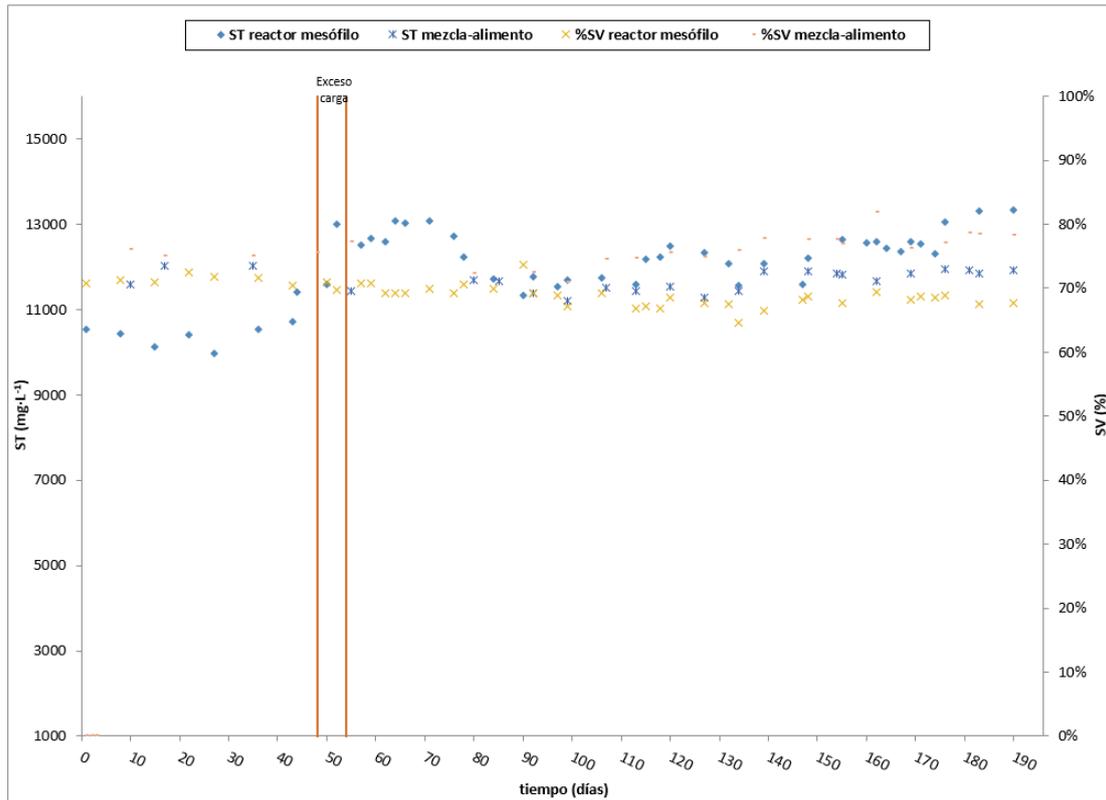


Figura 4.1 a.- Evolución de los sólidos totales y porcentaje de sólidos en el reactor mesófilo y la mezcla-alimento durante el periodo experimental.

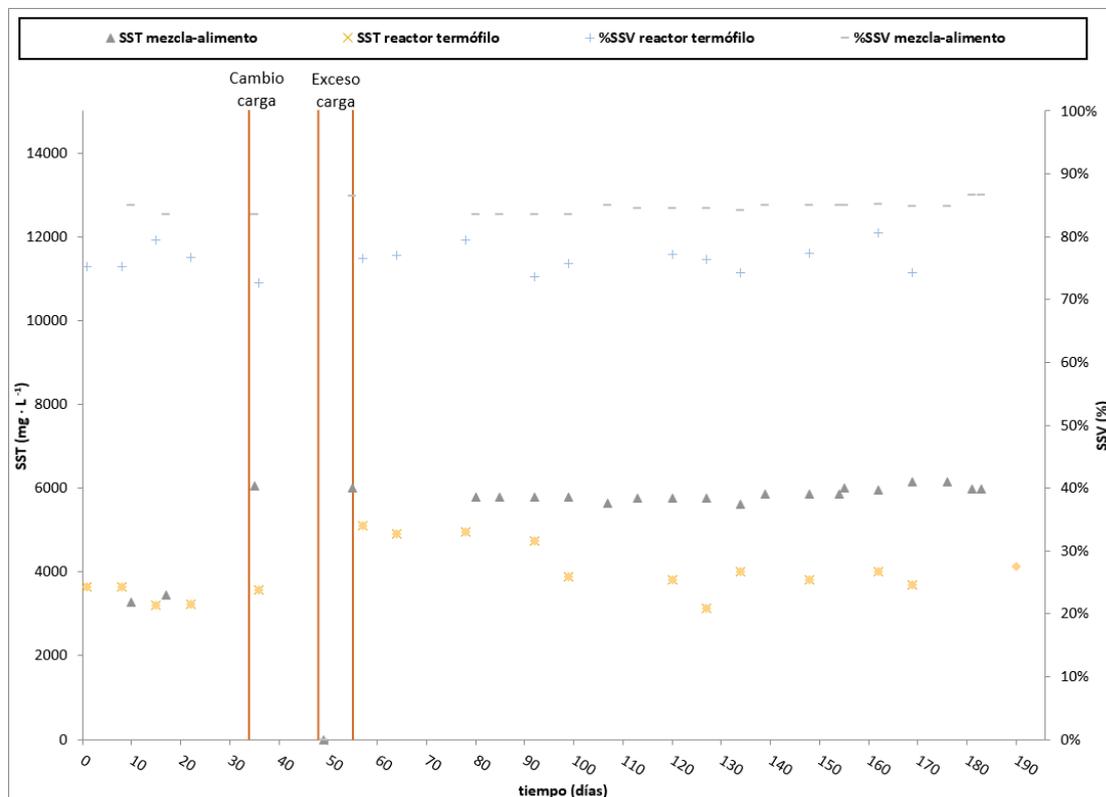


Figura 4.1 b.- Evolución de los sólidos suspendidos y porcentaje de sólidos suspendidos volátiles en el reactor mesófilo y la mezcla-alimento durante el periodo experimental.

4.1.3. Análisis de la DQO

A continuación se presenta la Figura 4.3, donde se puede observar la evolución de la DQO, tanto de la mezcla alimento como de la purga obtenida del reactor piloto de laboratorio a condiciones mesófilas durante el periodo experimental.

Las líneas verticales representan un período de tiempo acotado, durante el cual el reactor piloto de laboratorio fue alimentado erróneamente con microalgas y fango de EDAR a concentraciones por encima de la carga orgánica a la que se estaba operando, como se ha comentado en el apartado anterior. Se hizo una analítica exhaustiva al alimento que se había estado introduciendo al reactor durante estos días, y se puede observar una alta carga de DQO. Como ocurría con la evolución de ST y SST (Figura 4.1 a y Figura 4.1 b) tras ese periodo se observa que la DQO sigue la misma tendencia y se presenta un pico de subida de la DQO del reactor en condiciones mesófilas. Seguidamente se observa una bajada de la propia DQO, tanto de la mezcla-alimento, que vuelve a tener la OLR a la que se estaba trabajando, como de la DQO del reactor piloto de laboratorio. Esto demuestra la capacidad del sistema de autoestabilizarse en un periodo de tiempo determinado; a pesar de ser sometido a una condición puntual de estrés el sistema es capaz de recuperarse y volver al estado pseudo-estacionario en el que se encontraba el proceso previamente. Así mismo, debido a problemas para la obtención de la concentración del fango alimentado a los reactores, dentro del periodo de días experimentales, que se comprenden desde el 137 al 148, se alimentó el reactor con una concentración mayor a la deseada. Por este motivo se observa un pico de DQO en dicho periodo. Sin embargo, dejando a un lado los problemas operacionales puntuales que ocasionan algunos cambios en la evolución del proceso, se puede observar una estabilidad en términos de DQO.

Por otra parte, se hace uso de la ecuación 3.1 para hacer el balance de materia, en este caso, a la DQO del sistema. Como entrada se tiene la DQO ponderada de la mezcla-alimento, microalgas y fango de EDAR, mientras que como salida se tiene la DQO perteneciente a la purga del reactor en condiciones mesófilas, la DQO del permeado obtenido en la operación de filtrado de la membrana, la DQO soluble metanizada, que se encuentra en el permeado, la DQO del metano presente en el biogás que evacúa el tratamiento de digestión anaerobia, y por último, la DQO consumida por las SBR, para la oxidación de sulfuros, presente en el sistema debido a su entrada con la biomasa algal, a sulfatos. La DQO que no se haya contabilizado en alguna de las salidas, y por tanto, ha quedado retenida en el interior del reactor, se asume como la DQO acumulada, término incluido en el balance de DQO mencionado. Durante el periodo pseudo-estacionario se obtiene como media del porcentaje del error, haciendo uso de la ecuación 3.14, un 3,5%, menor al 10% de error entre el término de DQO de entrada ($g\cdot d^{-1}$) y la suma de los términos que representan la DQO de salida ($g\cdot d^{-1}$), considerándose por tanto cerrado el balance de DQO. Por otra parte, los promedios obtenidos durante dicho estado pseudo-estacionario, de biodegradación y eliminación, haciendo uso de las ecuaciones 3.13 y 3.11, respectivamente, alcanzan unos porcentajes del 63,7% de biodegradación de la materia orgánica y un 60,27% de DQO eliminada. Comparando los porcentajes alcanzados con los resultados de la bibliografía para la digestión solamente de

biomasa algal, donde se trabajó en las mismas condiciones de TRC con el género de microalga *Chorella*, y a una carga máxima de 0,4, obteniéndose una biodegradabilidad del 50% (Silvia Greses, 2007), se puede corroborar que la mezcla de microalgas y fango de EDAR alimentados al reactor en condiciones mesófilas, operando a un elevado TRC y TRH, parece incrementar la actividad hidrolítica. Así mismo, dado el lento crecimiento de la biomasa anaerobia, el empleo de elevados tiempos de retención celular promueve el desarrollo de microorganismos con baja tasa de crecimiento (Shin et al., 2011), así como la hidrólisis de sustratos de difícil degradación. Por ello, el principal objetivo del uso de la tecnología de membranas, usada en el diseño de los reactores piloto de laboratorio, es desacoplar el TRC del TRH y mantener un elevado ratio TRC/TRH, con el fin de minimizar el posible lavado de microorganismos del reactor, operar a elevadas velocidades de carga orgánica con un reducido volumen de trabajo y promover la biodiversidad microbiana (Khanal et al., 2017).

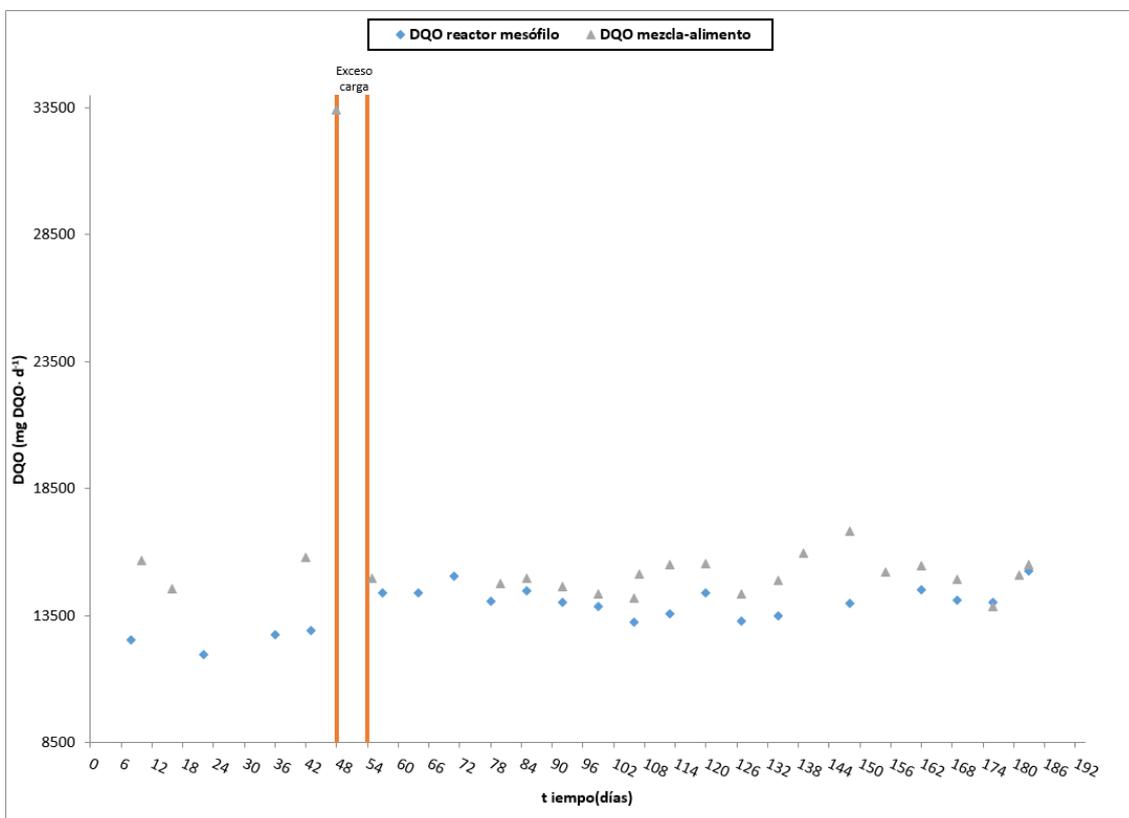


Figura 4.3.- Evolución de la demanda química de oxígeno, de la mezcla alimentada al reactor piloto de laboratorio y del propio reactor, durante el proceso de codigestión anaerobia en condiciones mesófilas.

4.1.4. Análisis de la evolución de biogás

En la Figura 4.4 se puede observar la evolución de la producción de biogás, tanto diaria, que contempla el biogás evacuado durante los días de experimentación debido al tratamiento de codigestión anaerobia, como la producción semanal, que el biogás evacuado a diario durante la operación del reactor piloto de laboratorio en condiciones mesófilas. En dicha figura, al igual que en el caso de los sólidos y la DQO, se observan dos líneas verticales que acotan el periodo

de tiempo durante el que se alimentó erróneamente un exceso de carga, tras el cual no observa un pico de subida en la producción diaria de biogás, reflejada también en la producción semanal. Seguidamente se observa un pico de bajada de dicha producción, con oscilaciones hasta que consigue estabilizarse el sistema. Así mismo, en esta misma figura se representa el porcentaje de metano correspondiente al biogás producido en el tratamiento anaerobio, que se mantiene en valores entre el 62 y 74%, lo cual demuestra una alta producción específica de metano haciendo uso de la mezcla de biomasa algal y fango de EDAR para el proceso de codigestión anaerobia., en comparación con los resultados de la bibliografía, obtenidos en la digestión solamente de biomasa algal.

Durante el periodo de duración del ensayo continuo se ha registrado una media de rendimiento de metano producido por gramo de DQO consumido, representado como Y_{CH_4} de $0,22 \text{ L CH}_4 \cdot \text{g}^{-1} \text{ DQO}$.

Finalmente, cabe destacar la variabilidad de los datos de producción de biogás. Esto puede ser debido a algunos problemas operacionales como: cambios puntuales de temperatura de 1 o 2 grados registrados por fallos en la recirculación del sistema, que afectan sensiblemente a la codigestión anaerobia, o problemas en el sistema de detección de biogás por presencia de alguna fuga puntual de gas.

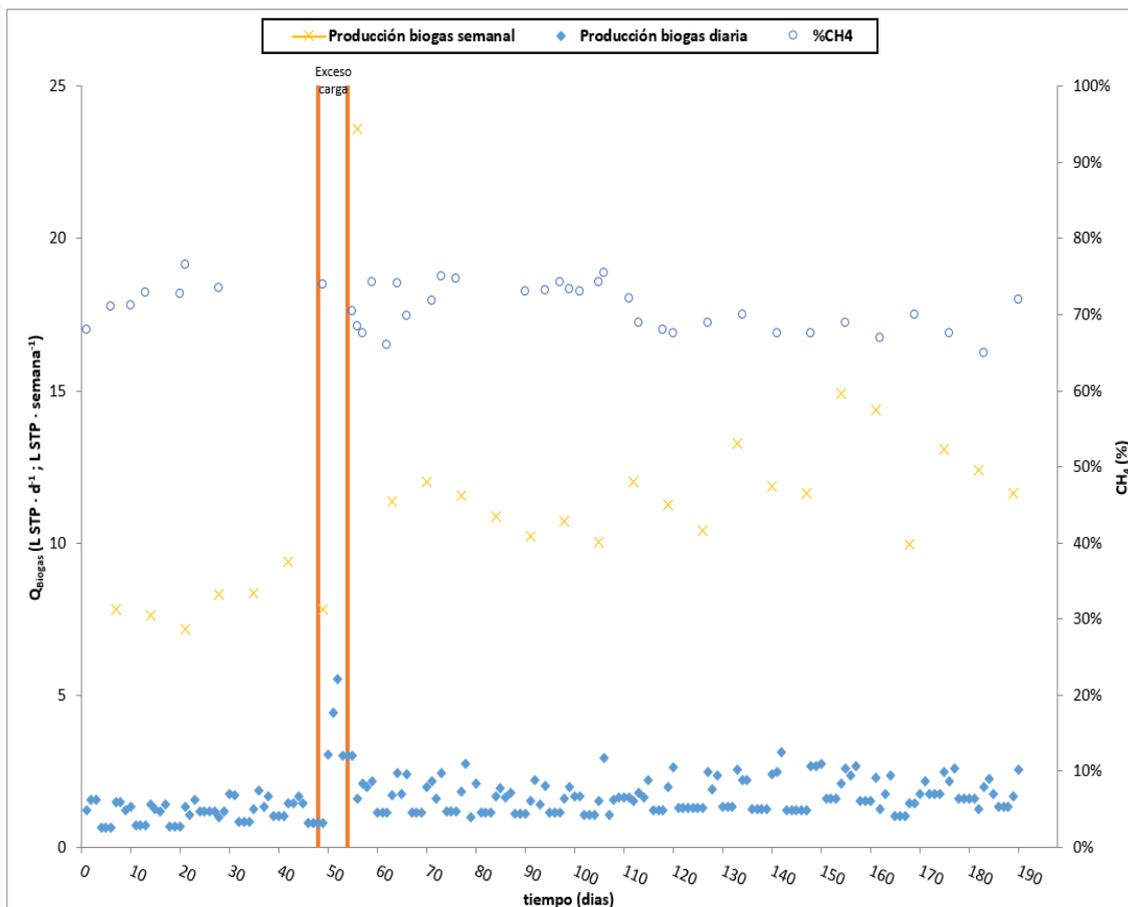


Figura 4.4.- Evolución de la producción de biogás diaria y semanal; y del porcentaje de metano en la misma durante el periodo experimental.

4.1.5. Análisis de los AGV y la alcalinidad del sistema.

A continuación se presenta en la Figura 4.5 la evolución de los ácidos grasos volátiles y la alcalinidad dentro del sistema, factores importantes a tener en cuenta debido a su potencial de inhibición del proceso anaerobio. Se representa también el periodo de exceso de carga que se tuvo durante la experimentación, debido a una concentración del alimento errónea. Seguidamente, a partir del día 89 se observa un pico de subida abrupta de la concentración de AGV, la cual puede deberse a una ligera acumulación de concentración de AGV en el interior del reactor piloto de laboratorio, disponibles para las arqueas y las bacterias matanogénicas, debido a una presencia mayor de componente soluble, proveniente del exceso de carga acotado en la gráfica de la Figura 4.5, que provoca una mayor hidrólisis del sustrato. Dado que las bacterias hidrolíticas tienen una mayor tasa de crecimiento que los microorganismos metanógenos, se produjo una ligera acumulación temporal de ácidos en el sistema. A medida que el proceso evolucionó, estos AGV fueron descendiendo como consecuencia del desarrollo y adaptación de los metanógenos, ya que se volvieron a las condiciones operacionales normales de funcionamiento. A su vez, la baja concentración de AGV (Figura 4.5), en todo momento por debajo de $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (Mara and Horan, 2003), lo cual confirma, tanto al inicio como al final del periodo experimental la estabilidad del sistema.

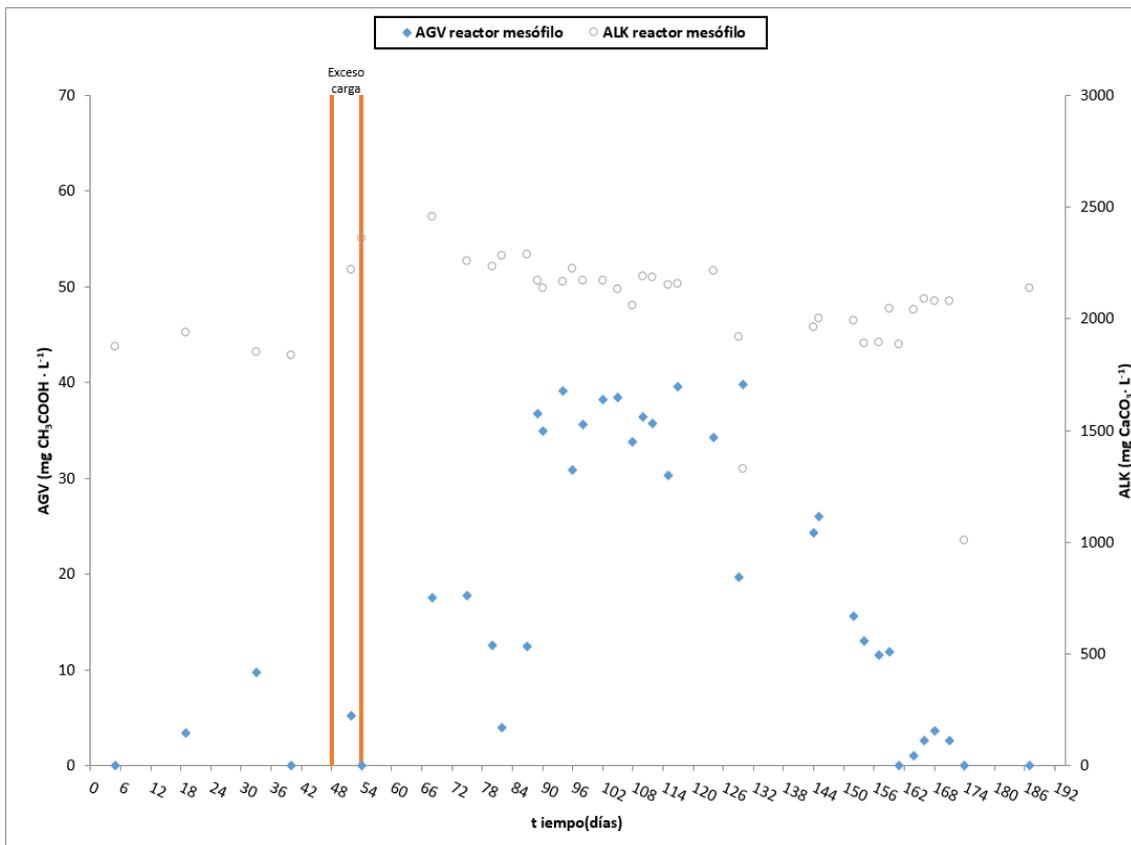


Figura 4.5- Evolución de la concentración de ácidos grasos volátiles y alcalinidad presentes en el reactor mesófilo durante el periodo experimental.

4.1.6. Análisis de los nutrientes del sistema

A continuación, en la Figura 4.6 se puede observar la evolución del nitrógeno total y su forma soluble, el amonio, durante el proceso de codigestión anaerobia en el reactor piloto de escala laboratorio en condiciones mesófilas. En esta figura se pueden observar tanto las concentraciones de entrada con el alimento como las de salida, correspondientes a la purga del reactor y el permeado obtenido en la operación de filtración de la membrana del sistema AnMBR. En la Figura 4.7 se observan las concentraciones para las corrientes mencionadas, en este caso, de fósforo total y su forma soluble, fosfato.

Cabe mencionar que durante el periodo de exceso de carga no fueron medidos el amonio ni el nitrógeno total de las salidas, ya que no eran medidas representativas del sistema a las condiciones de operación establecidas. Así mismo, existe una variabilidad considerable respecto a los nutrientes de la corriente afluyente, debido a que ambos sustratos, microalgas y fango de EDAR eran obtenidos en la planta piloto MPBR y la EDAR del Carraeixet, respectivamente, donde según las condiciones operacionales dichas concentraciones podían oscilar.

Como se ha mencionado en la caracterización de los cosustratos, la biomasa algal presenta un alto contenido en nitrógeno y fósforo en su forma particulada, por lo que se esperaba una elevada liberación de amonio y fosfato tras alcanzar elevados porcentajes de biodegradabilidad. Efectivamente, como se puede observar en la Figura 4.6, la biodegradación de las microalgas en el interior del reactor produce una liberación de amonio que se puede observar en los resultados obtenidos de amonio en la corriente afluyente, alcanzando concentraciones en el reactor muy superiores a las introducidas con el alimento, ya que mientras en la corriente de entrada hay una concentración media de amonio de $121 \text{ mg N-NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$, en la corriente de salida dicha concentración se eleva a un valor medio de $409,5 \text{ mg N-NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$. Esta corriente efluente del proceso tendría, por tanto, usos posibles como alimento a un proceso biológico con biomasa algal, así como el digestato obtenido, tendría posibles usos como fertilizante.

Sin embargo, como se puede comprobar en la Figura 4.7 no existe una liberación así de representativa de fosfatos, debido a que se está dando un proceso de precipitación incontrolada del mismo en el interior del reactor (datos no mostrados).

Cabe resaltar que la elevada concentración de nitrógeno en la biomasa algal podría dar lugar a la inhibición de la digestión anaerobia debido a la presencia de amoniaco en el reactor. Sin embargo, se pudo comprobar que en todo momento dicha concentración se mantenía lejos de de las concentraciones inhibitorias, de la actividad metanogénica reportadas por numerosos estudios (Garcia & Angenent, 2009; Siles et al., 2010; Sung & Liu, 2003), ya que como media alcanzó una concentración de $6,2 \text{ mg N-NH}_3 \cdot \text{L}^{-1}$.

Estudio comparativo de la producción de biogás mediante tecnología de biorreactores anaerobios de codigestión a escala laboratorio

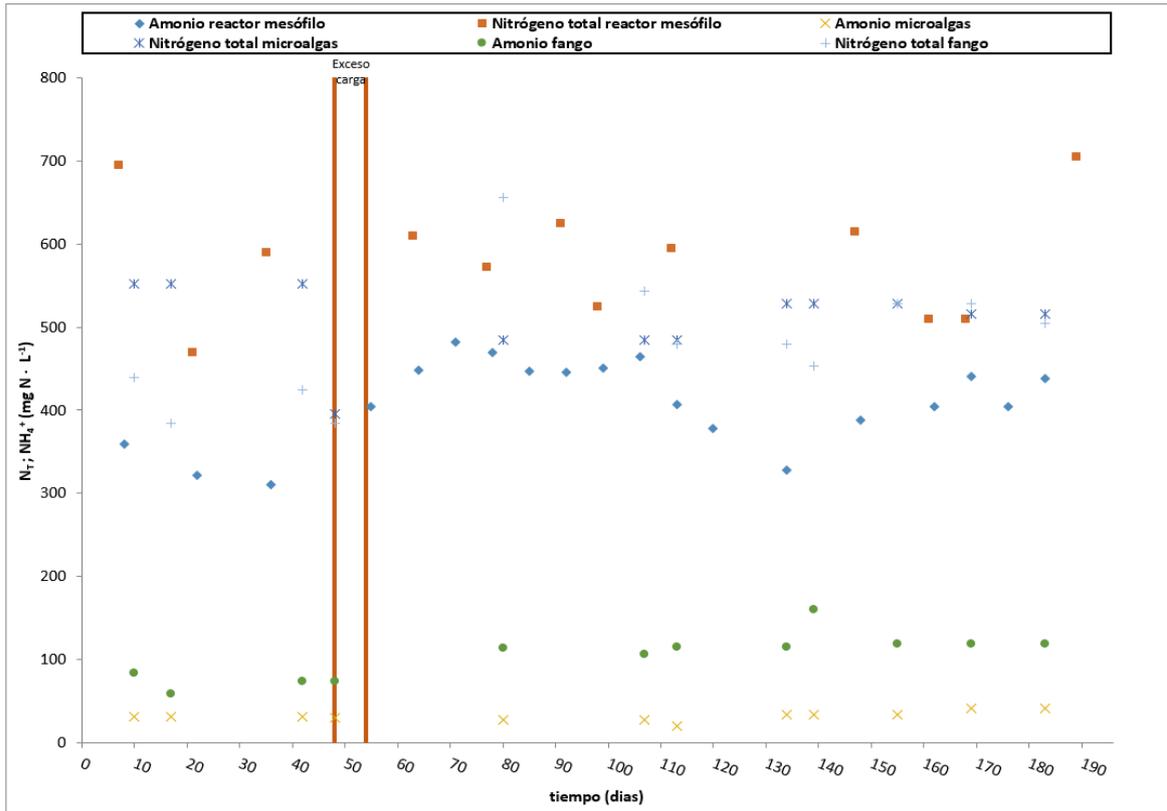


Figura 4.6- Evolución de la concentración de nitrógeno total y amonio presentes en el reactor termófilo y la mezcla-alimento durante el periodo experimental.

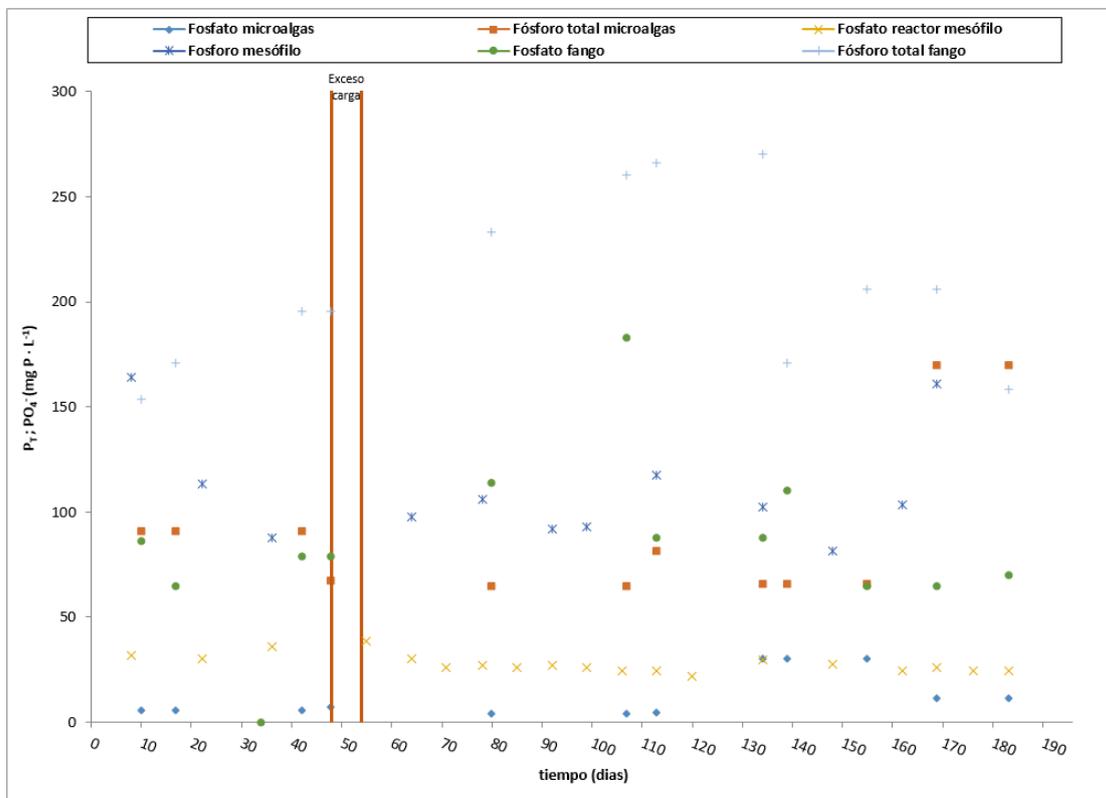


Figura 4.7- Evolución de la concentración de fósforo total y fosfatos presentes en el reactor mesófilo y la mezcla-alimento durante el periodo experimental.

4.2. Codigestión anaerobia de biomasa algal y fango primario de EDAR en condiciones termófilas

Así mismo, se llevó a cabo la codigestión anaerobia de microalgas y fango primario de EDAR en condiciones termófilas, con tres objetivos en este caso, i) evaluar su producción de biogás a través de un ensayo continuo en un reactor AnMBR a escala laboratorio, ii) comparar la influencia de las condiciones operacionales sobre el proceso, mediante el estudio comparativo de los resultados obtenidos con los de un segundo reactor AnMBR operado en condiciones mesófilas y iii) evaluar la influencia de la carga orgánica sobre el proceso de codigestión anaerobia.

La experimentación tuvo una duración de 192 días, dividido en dos subperiodos que se describieron en el apartado 3.2.2. *Ensayo continuo de cogestión anaerobia termófila*. El primer periodo fue operado en prácticamente la totalidad del subperiodo por Rebecca Serna, como parte de su doctorado, en el que se tenía establecido un TRC de 70 días y un TRH de 30 días, alimentado con una OLR de $0,15 \text{ g}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{L}^{-1}$, dichas condiciones operacionales se mantuvieron desde el día 1 hasta el día 33 del periodo estudiado en este trabajo, mientras el segundo periodo mantuvo el TRC y el TRH cambiando la OLR a $0,30 \text{ g}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{L}^{-1}$ desde el día 34 hasta el día 192 del periodo experimental. Dichos parámetros operacionales fueron fijados con el fin de comprobar si, bajo esta configuración, se podía obtener una mayor biodegradabilidad de la biomasa alimentada que la reportada en los periodos previos del mismo reactor, dentro del contexto del Doctorado de Rebecca Serna. Pese a que el primer periodo es de poca duración, se hará una comparativa con los resultados obtenidos después del cambio de carga del alimento a codigestión anaerobia.

A partir de los resultados experimentales obtenidos de la digestión anaerobia en condiciones termófilas (55°C) a escala de laboratorio, al igual que en el caso del reactor mesófilo, se analiza la biodegradación del sistema en términos de producción de metano, así como la calidad del efluente, con un contenido alto en nutrientes N y P, en sus formas solubles, en comparación al afluente.

4.2.1. Caracterización del alimento para la digestión anaerobia en condiciones termófilas

A continuación, en la Tabla 4.2 se presentan las características físico-químicas de la biomasa algal y el fango de EDAR utilizados como cosustratos, diferenciándose entre los dos subperiodos de operación, como T-I y T-II, respectivamente necesarios para el control del proceso de digestión anaerobia, ya que permite mantener la carga orgánica establecida durante el periodo de estudio, realizar los balances de DQO y Sólidos Volátiles necesarios para identificar el estado pseudo-estacionario y conocer la eficiencia del proceso.

Al igual que en el reactor mesófilo, la concentración de las microalgas y el fango de EDAR primario espesado durante todo el periodo experimental se fijó en base a su DQO y ST, con el fin de poder mantener la carga orgánica para el TRH y el TRC establecidos para cada

Estudio comparativo de la producción de biogás mediante tecnología de biorreactores anaerobios de codigestión a escala laboratorio

subperiodo experimental. Según se puede observar en la Tabla 4.2, la mayor parte de la materia orgánica se encuentra en su forma particulada en el afluente al reactor piloto de laboratorio, con un ratio de DQO_s/DQO_T de 18,52% para el subperiodo T-I y de 17,12% para el subperiodo T-II, correspondientes a la mezcla-alimento. Así mismo, cabe destacar el hecho de que el porcentaje más alto en la composición del afluente es el de materia orgánica, con un ratio de SV/ST del 76% para ambos subperiodos de experimentación.

Sin embargo, debido precisamente al alto contenido en nitrógeno de las microalgas, el proceso de digestión anaerobia puede verse afectado, provocando la inhibición en la metanogénesis por amoniaco (Brune et al., 2009). Este hecho se hace más presente en condiciones termófilas, ya que la concentración en equilibrio del amoniaco presente en el reactor aumenta al aumentar la temperatura de operación, y por tanto se habrá de controlar con mayor restricción. Se pretende, por tanto, alcanzar un mayor nivel de biodegradación con la mezcla de la biomasa algas y el fango de EDAR evitando la posible inhibición por amoniaco.

Por último, cabe destacar que la especie de microalga utilizada como cosustrato a lo largo del periodo experimental es *Chlorella spp*, al igual que en el reactor piloto de laboratorio mesófilo, obtenida bajo una determinadas condiciones operacionales establecidas en la planta piloto MPBR. Por tanto, las diferencias operacionales de cultivo de la biomasa algal se pueden ver reflejadas durante el periodo experimental en variaciones en su composición durante la experimentación, lo cual puede traducirse en variaciones en la biometanización obtenida durante el proceso anaerobio.

Tabla 4.2.- Caracterización de la biomasa alimentada al reactor termófilo durante cada período experimental. Cada parámetro analizado se presenta como media \pm desviación estándar.

Co-sustratos	Microalgas		Fango		Mezcla-alimento	
	T-I	T-II	T-I	T-II	T-I	T-II
DQO_T (mg $DQO \cdot L^{-1}$)	3149 \pm 96	5672 \pm 455	7415 \pm 358	12913 \pm 790	5068 \pm 201	8947 \pm 431
DQO_s (mg $DQO \cdot L^{-1}$)	641 \pm 43	996 \pm 263	1303 \pm 131	2189 \pm 603	939 \pm 77	1532 \pm 307
ST (mg $ST \cdot L^{-1}$)	2667 \pm 34	4665 \pm 91	5450 \pm 162	9450 \pm 308	3914 \pm 87	6817 \pm 150
STV (mg $STV \cdot L^{-1}$)	2184 \pm 29	3766 \pm 122	3911 \pm 75	6926 \pm 258	2958 \pm 46	5180 \pm 236
SST (mg $SST \cdot L^{-1}$)	2216 \pm 10	3845 \pm 179	4779 \pm 167	8453 \pm 212	3365 \pm 308	5930 \pm 140
SSV (mg $SSV \cdot L^{-1}$)	2037 \pm 34	3521 \pm 141	3611 \pm 49	6420 \pm 233	2745 \pm 258	4837 \pm 166
N_T (mg $N \cdot L^{-1}$)	165 \pm 26	302 \pm 17	137 \pm 13	310 \pm 42	157 \pm 10	305 \pm 19
NH_4^+ (mg $N \cdot L^{-1}$)	37 \pm 9	26 \pm 6	71 \pm 18	107 \pm 33	91 \pm 17	128 \pm 35
P_T (mg $P \cdot L^{-1}$)	33 \pm 3	56 \pm 26	54 \pm 4	96 \pm 16	62 \pm 2	111 \pm 29
PO_4^{3-} (mg $P \cdot L^{-1}$)	7 \pm 1	11 \pm 3	76 \pm 15	89 \pm 22	41 \pm 2	74 \pm 17
SO_4^{2-} (mg $SO_4 \cdot L^{-1}$)	105 \pm 29	100 \pm 35	52 \pm 13	41 \pm 15	97 \pm 19	71 \pm 28
AGV (mg $CH_3COOH \cdot L^{-1}$)	59	68 \pm 18	673	989 \pm 343	252	477 \pm 156
Alk (mg $CaCO_3 \cdot L^{-1}$)	331	344 \pm 15	251	207 \pm 108	401	364 \pm 92

4.2.2. Análisis de los sólidos totales, suspendidos y volátiles

En la Figura 4.8a se presenta la evolución de los ST y %SV a lo largo del ensayo en continuo, tanto de la biomasa presente en el reactor como de la mezcla-alimento del proceso de codigestión anaerobia en condiciones termófilas, de forma que pueda observarse su evolución y relación durante el periodo experimental. En la Figura 4.8b se presenta la evolución de los SST y %SSV para las corrientes mencionadas.

La primera línea vertical gruesa de la Figura 4.8 a y la Figura 4.8b (día 34), representa el día en el que se hizo el cambio de carga orgánica alimentada al reactor, duplicando la misma, y observándose posteriormente un pico de subida progresiva en los sólidos totales del reactor termófilo. Seguidamente, se tienen dos líneas verticales, acotadas entre los días 48 y 54, que representan un período de tiempo durante el cual el reactor piloto de laboratorio fue alimentado erróneamente con microalgas y fango de EDAR a concentraciones por encima de la carga orgánica a la que se estaba operando, como ya se ha mencionado en el caso del reactor piloto de laboratorio en condiciones mesófilas. Los ST iban en aumento desde la subida de carga mencionada, aumento que se incrementa por el problema de exceso de carga. Se puede observar que, desde el día 54 hasta el 94 del periodo experimental, los sólidos se mantienen en valores superiores a los habituales, alrededor de los $6500 \text{ mg ST}\cdot\text{L}^{-1}$, ya que el sistema no es capaz de asimilar toda la carga, pero seguidamente, con el tiempo se puede observar a partir del día 94 una tendencia de descenso de los ST. Tras un periodo de tiempo de 110 días desde la subida de carga, los sólidos se estabilizan entorno a los valores del primer periodo T-I, de una media de $4500 \text{ mg ST}\cdot\text{L}^{-1}$, siendo a partir del día 148, en general, desde el cual se observa que los ST, SST, %SV y %SSV del reactor termófilo evolucionan con una estabilidad que refleja el estado pseudo-estacionario alcanzado.

Como se puede observar en la Figura 4.8, cabe resaltar el elevado porcentaje de sólidos volátiles, tanto totales como suspendidos, de la mezcla-alimento, es decir, materia orgánica biodegradable, con la que se alimenta al reactor piloto de laboratorio durante el periodo experimental y que conllevará a un porcentaje elevado de solubilización de la misma. Al igual que en el caso del reactor mesófilo, observando los porcentajes de sólidos totales y suspendidos, ambos volátiles, de la purga, se puede apreciar la acumulación de biomasa que se estaba dando en el interior del mismo, respecto a los porcentajes correspondientes a la mezcla-alimento.

Durante el periodo de días comprendido entre el 85 y el 138 hubo una serie de problemas operacionales: por una parte, durante los primeros 7 días, del periodo mencionado, se alimentaron ambos reactores con fango que tenía una concentración de sólidos y DQO mayor a la que se estaba alimentando, ya que no se consiguió una concentración adecuada de sólidos con el fango primario del Carraeixet espesado. Seguidamente se obtura la conducción correspondiente a la bomba de recirculación del reactor, por lo cual se produce una subida de la temperatura abruptamente, al no estar recirculando el fango. Por último, el agitador empieza a fallar, parándose por intervalos desconocidos de tiempo, por lo que hubo que efectuar un cambio de equipamiento de agitación.

Estudio comparativo de la producción de biogás mediante tecnología de biorreactores anaerobios de codigestión a escala laboratorio

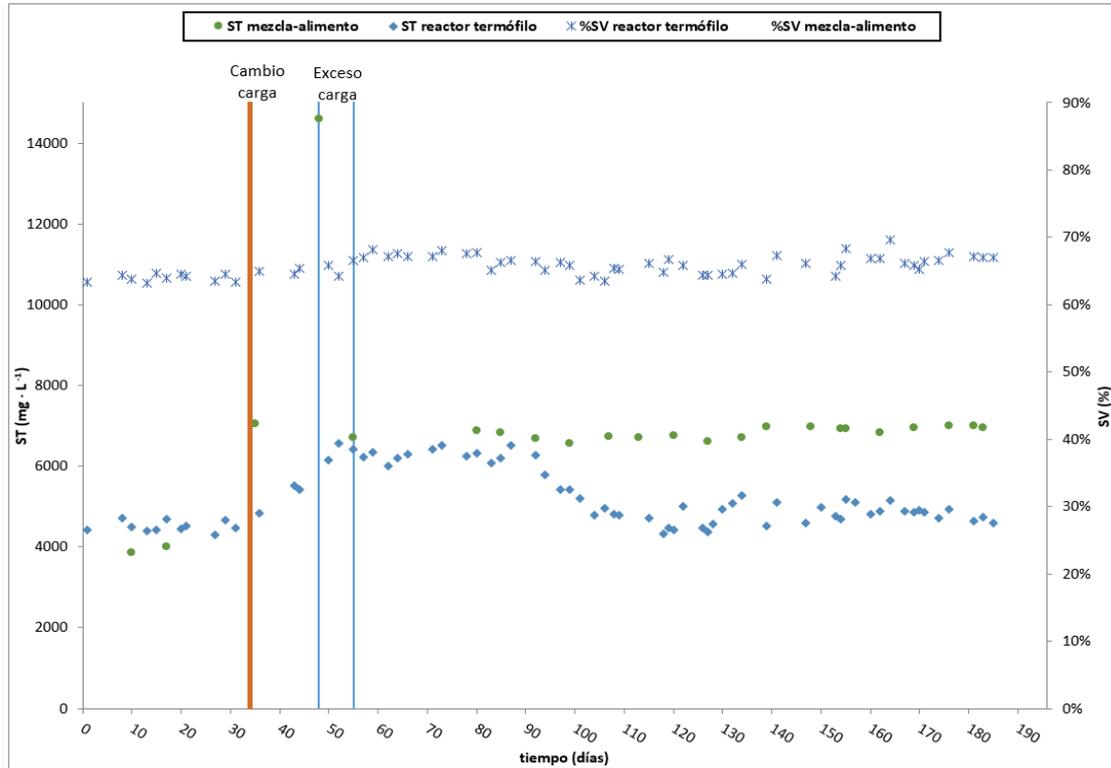


Figura 4.8 a.- Evolución de los sólidos totales y porcentaje de sólidos volátiles en el reactor termófilo y la mezcla-alimento durante ambos periodos experimentales.

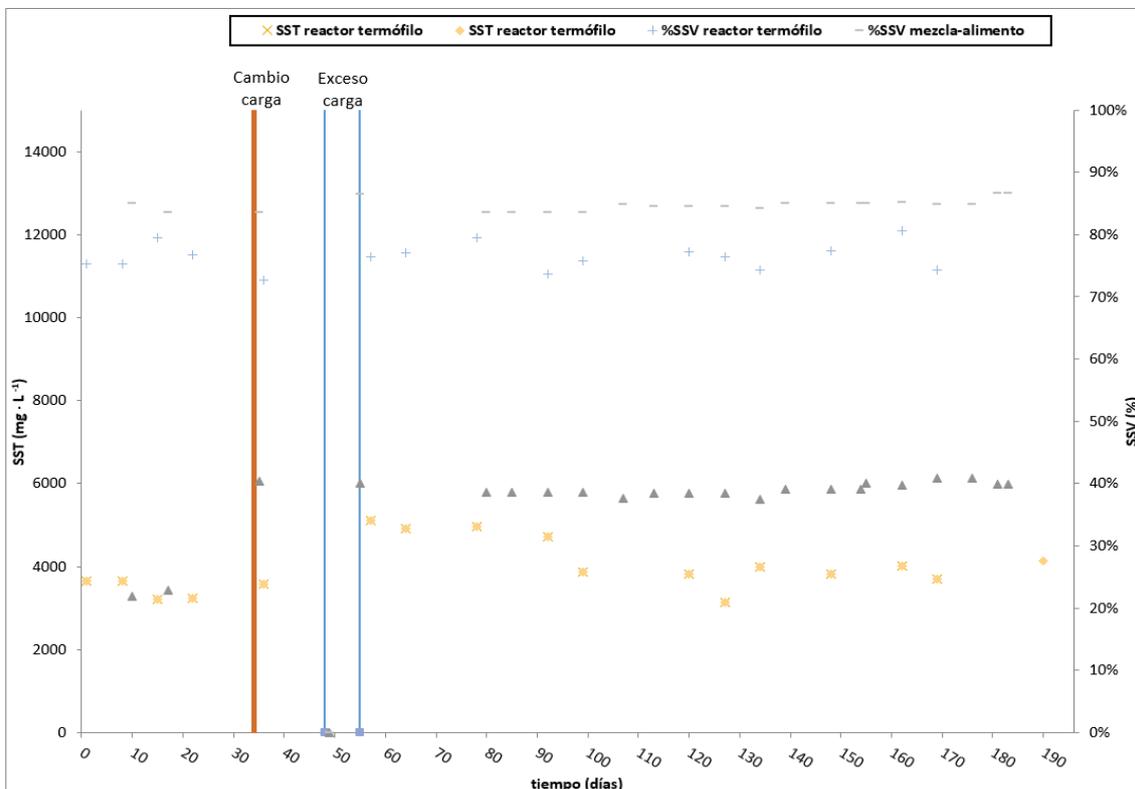


Figura 4.8 b.- Evolución de los sólidos suspendidos y porcentaje de sólidos suspendidos volátiles en el reactor termófilo y la mezcla-alimento durante ambos periodos experimentales.

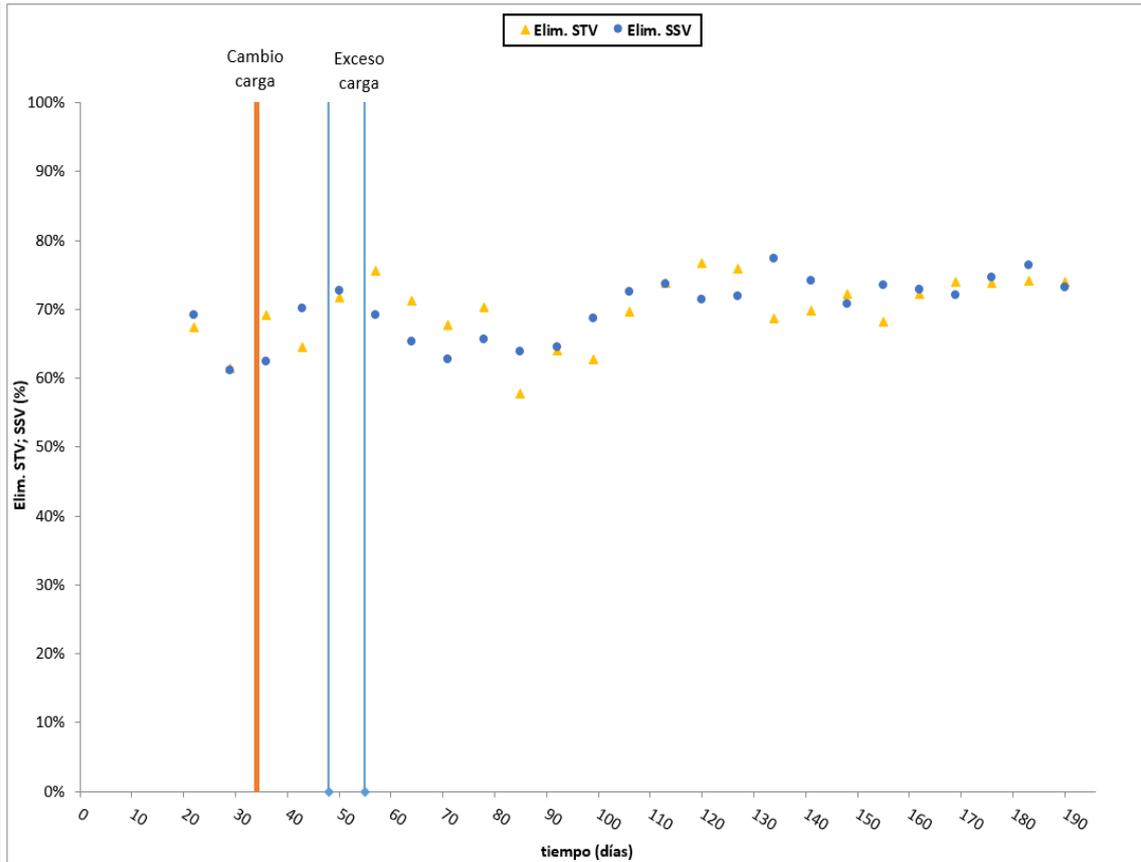


Figura 4.9.- Evolución de la eliminación de sólidos volátiles y sólidos suspendidos volátiles durante el proceso de codigestión anaerobia en condiciones termófilas.

4.2.3. Análisis de la DQO

A continuación se presenta la Figura 4.10, donde se puede observar la evolución de la DQO, tanto de la mezcla alimento como de la purga obtenida del reactor piloto de laboratorio a condiciones termófilas durante el periodo experimental.

La primera línea vertical gruesa, ubicada en el día número 34 del periodo experimental, corresponde al cambio de OLR desde $0,15 \text{ g}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{L}^{-1}$ a $0,30 \text{ g}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{L}^{-1}$, es decir, se ha duplicado la carga orgánica que se alimenta al reactor, con la cual se observa un aumento progresivo de la DQO, que sigue la tendencia de los sólidos del reactor.

Por otra parte, las líneas verticales (desde el día 48 al día 54 del periodo experimental) representan un período de tiempo acotado, durante el cual, al igual que el reactor mesófilo, el reactor piloto de laboratorio a condiciones termófilas fue alimentado erróneamente con microalgas y fango de EDAR a concentraciones por encima de la carga orgánica a la que se estaba operando. Se hizo una analítica exhaustiva del alimento que se había estado introduciendo al reactor en esos 7 días y se observa una alta carga de DQO. La DQO del reactor ya tenía una tendencia de subida debido al aumento de la carga orgánica desde 0,15 hasta 0,3

mg DQO $\cdot d^{-1} \cdot L^{-1}$, pero, tras este problema de alimentación de un exceso de carga, la subida se incrementa.

Tras unos días, la DQO deja de subir y se mantiene estable, por encima de los valores habituales, entre 8200 y 6000 mg DQO $\cdot d^{-1} \cdot L^{-1}$, y tras 110 días desde el cambio en el punto de carga operacional, se observa como la DQO vuelve a los valores previos a todos los cambios operacionales. Se asume así que el sistema ha sido capaz de amortiguar todos los cambios, asimilar toda la carga orgánica de la corriente afluyente, incluido el pico de exceso de carga muy superior al habitual y vuelve a entrar en un periodo pseudo-estacionario presentando los mismos valores de ST y DQO que los que se presentaban en el periodo pseudo-estacionario T-I.

Cabe destacar que, debido a problemas para la obtención de la concentración del fango alimentado a los reactores, dentro del periodo de días experimentales, que se comprenden desde el 137 al 148, se alimenta con fango concentrado. Por ello se observa un pico de DQO en dicho periodo. Se alcanza el estado pseudo-estacionario durante los últimos 54 días de ensayo experimental, **ya que, como ya se ha mencionado en el apartado de 4.2.2. Análisis de los sólidos totales, suspendidos y volátiles, se tienen problemas operacionales que afectan también a la DQO de la purga del reactor, teniéndose oscilaciones de dicha medida en el tiempo.**

Por otra parte, se hace uso de la ecuación 3.1 para hacer el balance de materia, en este caso, a la DQO del sistema. Durante el periodo pseudo-estacionario se obtiene como media del porcentaje del error, haciendo uso de la ecuación 3.14, un 4,7%, menor al 10% de error entre el término de DQO de entrada ($g \cdot d^{-1}$) y la suma de los términos que representan la DQO de salida ($g \cdot d^{-1}$), considerándose por tanto cerrado el balance de DQO.

Los promedios obtenidos durante dicho estado pseudo-estacionario, de biodegradación y eliminación, haciendo uso de las ecuaciones 3.13 y 3.11, respectivamente, alcanzan unos porcentajes del 77,2% de biodegradación de la materia orgánica y un 72,5% de DQO eliminada. Teniéndose en cuenta la bibliografía consultado, donde Olsson *et al.* (2013) llevaron a cabo una investigación sobre la codigestión de microalgas cultivadas en el lago Mclaren y fangos de EDAR durante 35 días, en condiciones tanto mesófilas como termófilas, cuyos resultados indicaron que con una proporción de microalgas del 12% y fangos 88% en condiciones mesófilas, la producción de biogás aumentaba en un 12% en comparación con la digestión de fangos únicamente, mientras que la codigestión en condiciones termófilas fallaba. Cabe destacar que en el ensayo piloto de laboratorio del reactor termófilo en este caso sí ha dado resultados muy positivos.

Por tanto, se corrobora que la mezcla de microalgas y fango de EDAR alimentados al reactor en condiciones termófilas, operando a un elevado TRC que incrementa la actividad hidrolítica, desacoplado del TRH mediante el uso de membrana, que mantiene un caudal de tratamiento fijado, se promueve el desarrollo de microorganismos involucrados en la degradación de la mezcla alimentada, maximizando la biodegradabilidad y la eliminación de DQO del sistema.

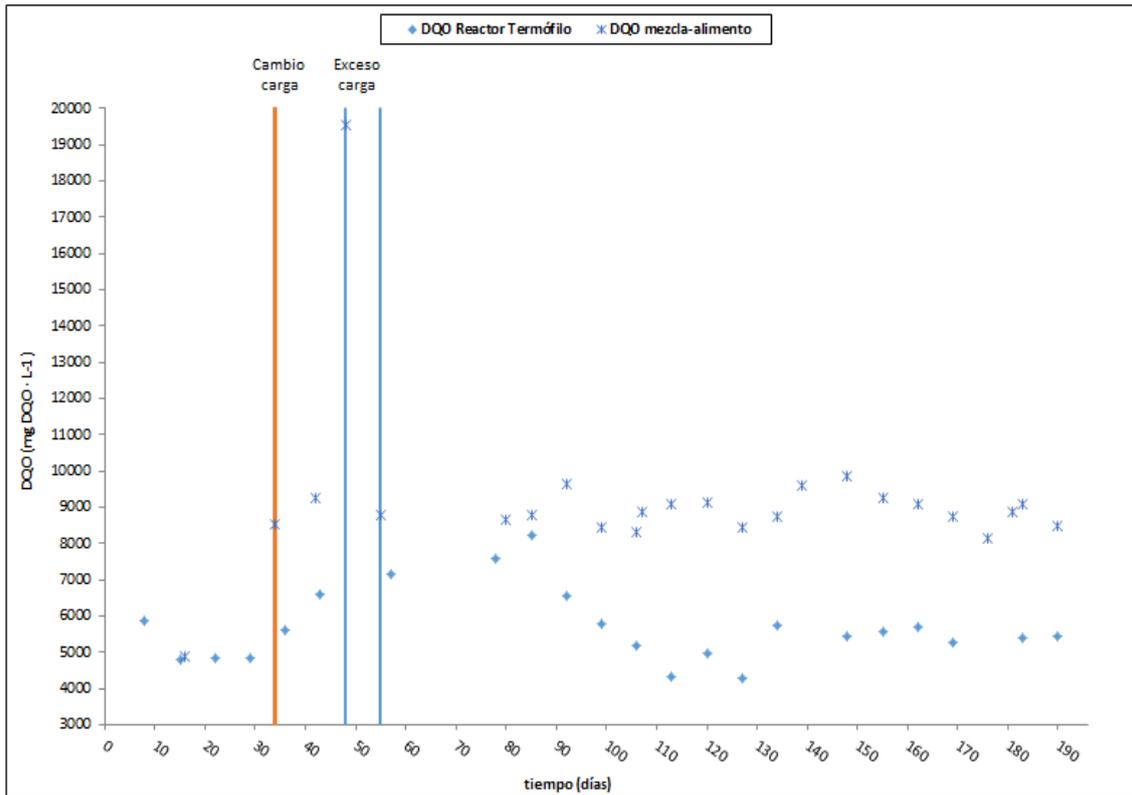


Figura 4.10.- Evolución de la demanda química de oxígeno, de la mezcla alimentada al reactor piloto de laboratorio y del propio reactor, durante el proceso de codigestión anaerobia en condiciones termófilas.

4.2.4. Análisis de la evolución de biogás

En la Figura 4.11 se puede observar la evolución de la producción de biogás, tanto diaria, que contempla el biogás evacuado durante los días de experimentación debido al tratamiento de codigestión anaerobia, como la producción semanal. En dicha figura, al igual que en el caso de los sólidos y la DQO, se observan dos líneas verticales que marca el periodo de cambio de carga, prácticamente al doble, con lo que se puede observar un aumento en la producción tanto diaria como semanal, progresivo, de la producción de biogás y del porcentaje de metano del mismo. Seguidamente se observa el periodo de tiempo durante el que se alimentó erróneamente un exceso de carga, tras el cual no observa un pico de subida en la producción diaria de biogás, reflejada también en la producción semanal. Tras este periodo se observa un pico de bajada de dicha producción, con oscilaciones hasta que consigue estabilizarse el sistema. Adicionalmente, en esta misma figura se representa el porcentaje de metano correspondiente al biogás producido en el tratamiento anaerobio, que se mantiene en un valor medio del 65% para el segundo subperiodo experimental, lo cual demuestra una alta producción específica de metano haciendo uso de la mezcla de biomasa algal y fango de EDAR para el proceso de codigestión anaerobia., en comparación con los resultados de la bibliografía, obtenidos en la digestión solamente de biomasa algal.

Estudio comparativo de la producción de biogás mediante tecnología de biorreactores anaerobios de codigestión a escala laboratorio

Durante el periodo de duración del ensayo continuo se ha registrado una media de rendimiento de metano producido por gramo de DQO consumido, representado como Y_{CH_4} de $0,27 \text{ L CH}_4 \cdot \text{g}^{-1} \text{ DQO}$.

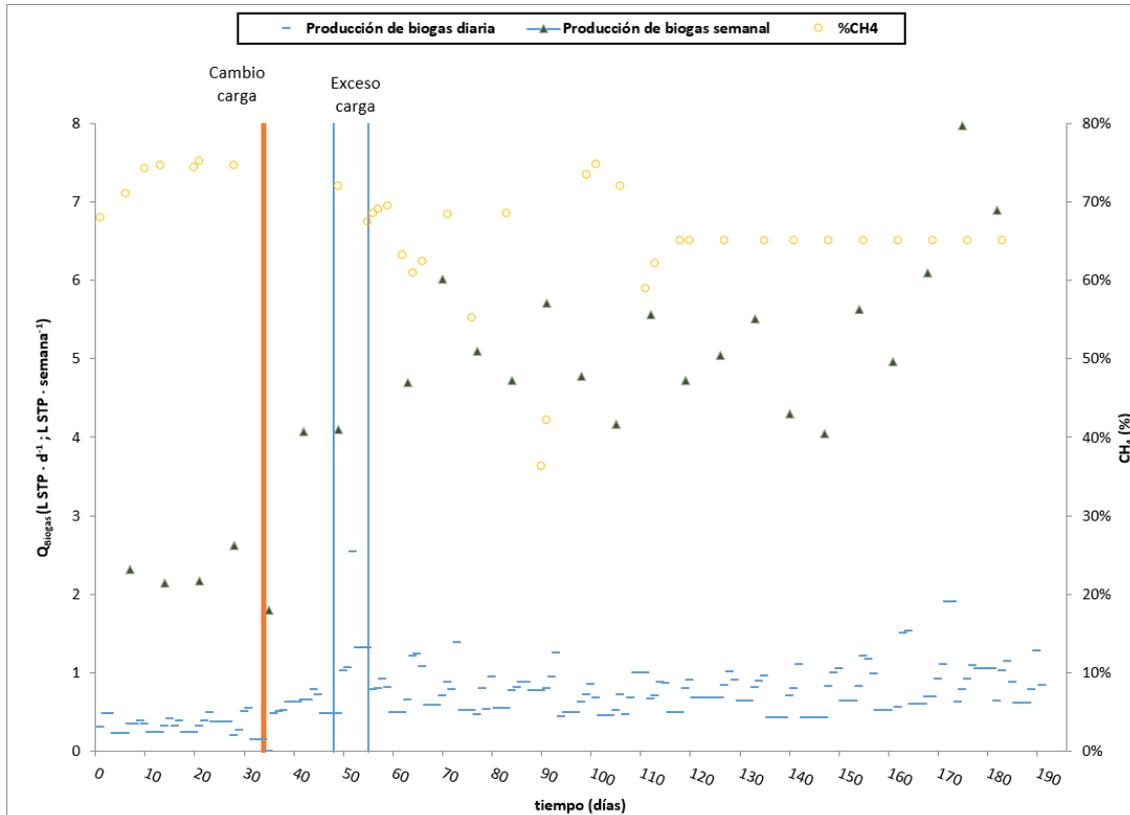


Figura 4.11.- Evolución de la producción de biogás diaria y semanal; y del porcentaje de metano en la misma durante el periodo experimental.

4.2.5. Análisis de los AGV y la alcalinidad del sistema.

A continuación se presenta en la Figura 4.12 la evolución de los ácidos grasos volátiles y la alcalinidad dentro del sistema, factores importantes a tener en cuenta debido a su potencial de inhibición del proceso anaerobio en condiciones termófilas. Se puede observar el cambio de carga que tiene lugar, posterior al cual se tiene una acumulación progresiva de los AGV, ya que al tener mayor componente soluble a la entrada (materia orgánica biodegradable), se da un mayor grado de hidrólisis en el sistema. Esto coincide con la acumulación de sólidos y DQO que se vio en el mismo periodo. Sin embargo, también se representa el periodo de exceso de carga que se tuvo durante la experimentación, entre los días número 48 y 54 del periodo experimental, donde se observa una acumulación aún mayor de AGV, incluso superando la concentración que algunos autores reportan como inhibitorio, ya que existen valores mayores a $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (Mara and Horan, 2003). Se controló el proceso de forma exhaustiva durante los días posteriores a este problema y se vio que finalmente el sistema fue capaz de amortiguar los cambios. La acumulación de AGV se debe a que el exceso de carga provoca una mayor

componente soluble a la entrada y por tanto, la hidrólisis funciona a mayor velocidad que la metanogénesis. Por tanto, dado que las bacterias hidrolíticas tienen una mayor tasa de crecimiento que los microorganismos metanógenos, se produjo una ligera acumulación temporal de ácidos en el sistema. A medida que el proceso evolucionó, estos AGV fueron descendiendo como consecuencia del desarrollo y adaptación de los metanógenos, ya que se volvieron a las condiciones operacionales normales de funcionamiento. A su vez, la baja concentración de AGV (Figura 4.5), en todo momento durante el segundo periodo experimental, por debajo de $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ confirma la ausencia de inhibición del proceso.

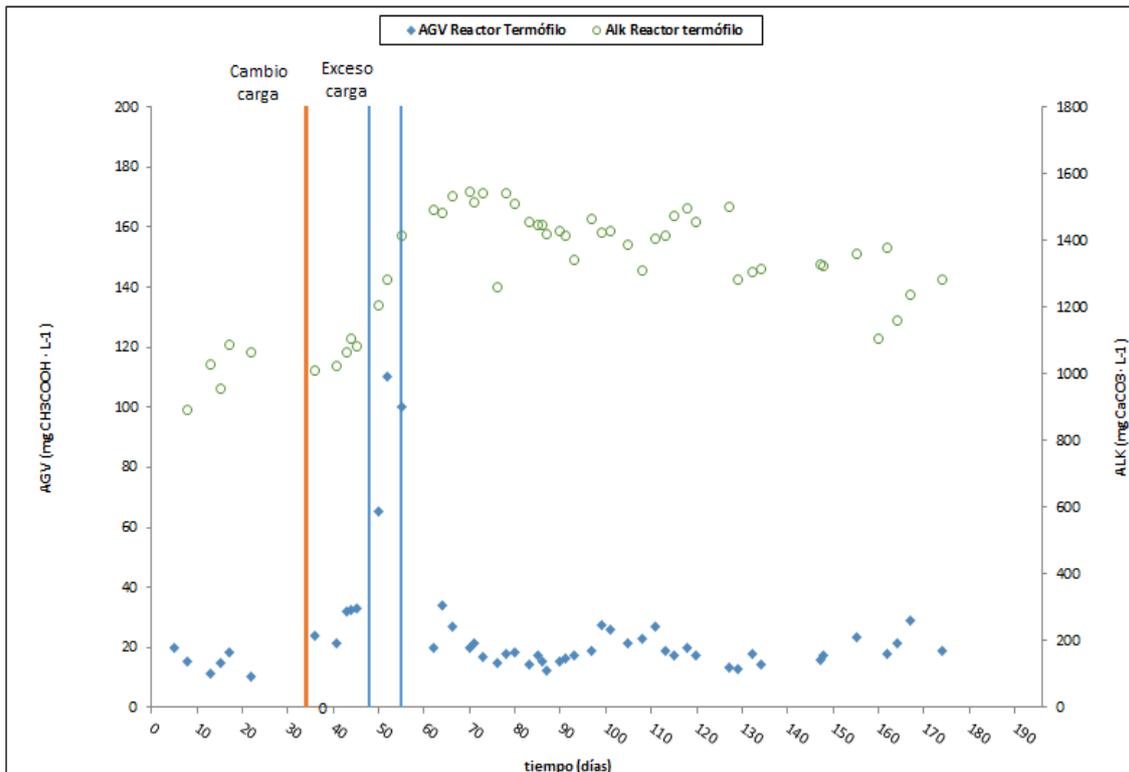


Figura 4.12- Evolución de la concentración de ácidos grasos volátiles y alcalinidad presentes en el reactor termófilo durante el periodo experimental.

4.2.6. Análisis de los nutrientes del sistema

A continuación, en la Figura 4.13 se puede observar la evolución del nitrógeno total y su forma soluble, el amonio, durante el proceso de codigestión anaerobia en el reactor piloto de escala laboratorio en condiciones mesófilas. En esta figura se pueden observar tanto las concentraciones de entrada con el alimento como las de salida, correspondientes a la purga del reactor y el permeado obtenido en la operación de filtración de la membrana del sistema AnMBR. En la Figura 4.14 se observan las concentraciones para las corrientes mencionadas, en este caso, de fósforo total y su forma soluble, fosfato.

Así mismo, debido a la importancia del control de concentración de amoniaco en el interior del reactor, por su potencial inhibitorio, se representa también dicha concentración. Sin embargo, se pudo comprobar que en todo momento dicha concentración, de valor medio $3,45 \text{ mgN-}$

$\text{NH}_3 \cdot \text{L}^{-1}$ en el primer periodo y $10,6 \text{ mgN-NH}_3 \cdot \text{L}^{-1}$ en el segundo, se mantenía lejos de las concentraciones inhibitorias de la actividad metanogénica reportadas por numerosos estudios (García and Angenent, 2009; Siles et al., 2010; Sung and Liu, 2003), que abarcan desde $40 \text{ mgN-NH}_3 \cdot \text{L}^{-1}$ hasta $900 \text{ mgN-NH}_3 \cdot \text{L}^{-1}$ (Appels et al., 2008; Belmonte et al., 2011; Buendía et al., 2009; Liu and Sung, 2002; Yenigün and Demirel, 2013), por lo que no hay un valor establecido para la inhibición de un proceso anaerobio.

Cabe mencionar que, como se puede observar en la Figura 4.13, entre los días número 48 y 54 del periodo experimental, donde se observa una acumulación aún mayor de AGV (Figura 4.12), se aprecia a su vez una concentración superior de amoníaco, entre valores desde 500 a $600 \text{ mgN-NH}_3 \cdot \text{L}^{-1}$, a los valores obtenidos habitualmente, entre $16,2$ y $15,5 \text{ mgN-NH}_3 \cdot \text{L}^{-1}$, esto es debido a que en la etapa de acidogénesis se están produciendo tanto AGV como NH_3 .

Cabe destacar que durante el periodo de exceso de carga no fueron medidos el amonio ni el nitrógeno total de la salida, así como tampoco el fósforo total ni el fosfato, ya que no eran medidas representativas del sistema a las condiciones de operación establecidas. Así mismo, existe una variabilidad considerable respecto a los nutrientes de la entrada, debido a que ambos, microalgas y fango de EDAR eran obtenidos en la planta piloto MPBR y la EDAR del Carraeixet, respectivamente, donde según las condiciones operacionales dichas concentraciones podían oscilar.

Al igual que en el reactor mesófilo, como se ha podido observar en la caracterización de los cosustratos, la biomasa algal presenta un alto contenido en nitrógeno y fósforo en su forma particulada, por lo que se esperaba una elevada liberación de amonio y fosfato tras alcanzar elevados porcentajes de biodegradabilidad. Efectivamente, como se puede observar en la Figura 4.13, la biodegradación de las microalgas en el interior del reactor produce una liberación de amonio que se puede observar en los resultados obtenidos de amonio en el permeado, alcanzando concentraciones en el reactor, con un promedio de 169 y $305 \text{ mgN-NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$ para el primer y el segundo periodo respectivamente, muy superiores a las introducidas con el alimento, de valores medios de 91 y $127 \text{ mgN-NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$ para T-I y T-II, respectivamente. Así mismo, cabe destacar el notable aumento de la concentración de amonio en la purga del reactor termófilo, comparando los periodos T-I y T-II.

Sin embargo, como se puede comprobar en la Figura 4.14 no existe una liberación así de representativa de fosfatos, debido a que se tiene precipitación incontrolada del mismo en el interior del reactor (datos no disponibles).

Estudio comparativo de la producción de biogás mediante tecnología de biorreactores anaerobios de codigestión a escala laboratorio

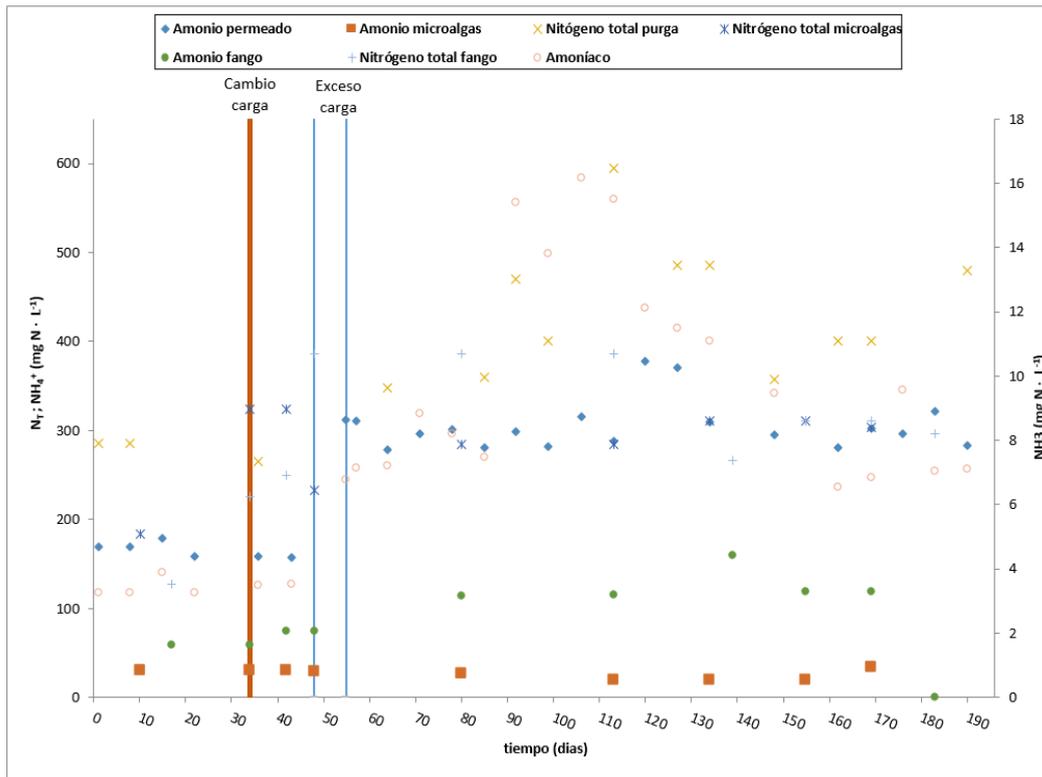


Figura 4.13- Evolución de la concentración de nitrógeno total y amonio presentes en el reactor termófilo y la mezcla-alimento durante el periodo experimental.

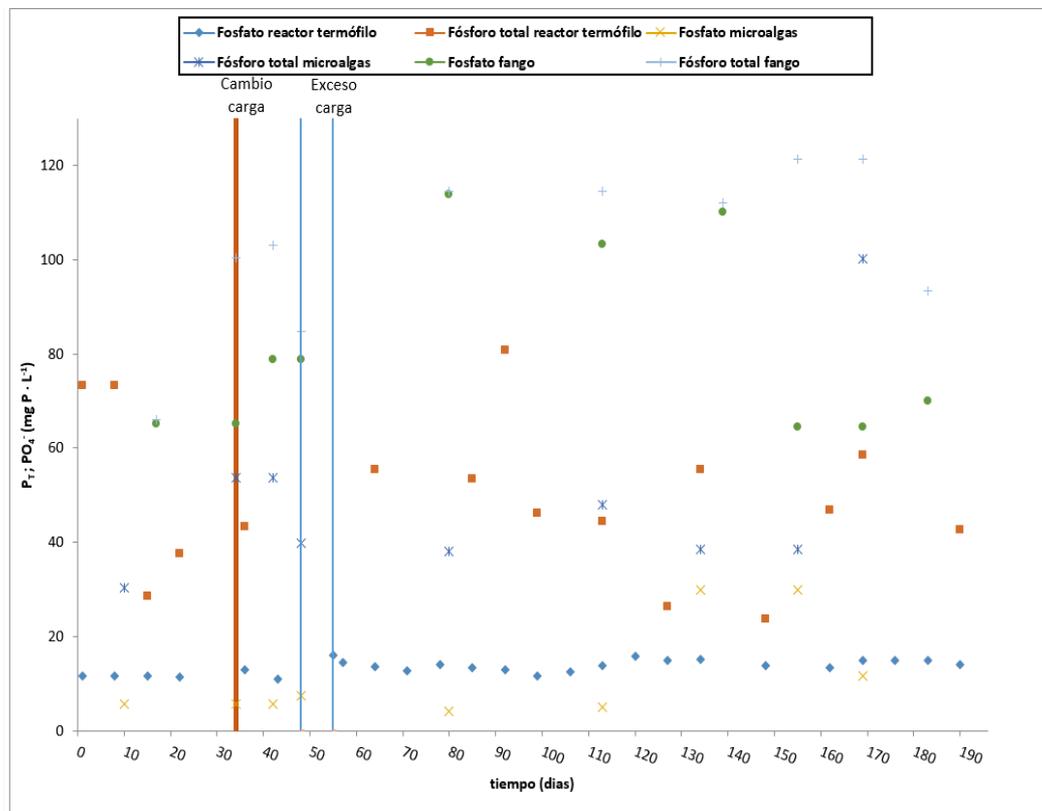


Figura 4.14- Evolución de la concentración de fósforo total y fosfatos presentes en el reactor termófilo y la mezcla-alimento durante el periodo experimental.

4.3. Efecto de la temperatura de operación

La codigestión anaerobia en condiciones termófilas se llevó a cabo bajo los mismos TRC (70 días) y TRH (30 días) que los establecidos en el ensayo de codigestión mesófila. Ambos sistemas estaban dotados con la tecnología AnMBR, que permite el desacople del TRC y el TRH, gracias a las membranas independientes instaladas como un módulo externo del reactor. Así, se operó con un alto valor de TRC manteniéndose un caudal determinado, procurando obtener una mayor biodegradación de la biomasa. Aunque ambos reactores se operaron a puntos de carga distintos, siendo la OLR del reactor mesófilo de $0,5 \text{ g}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{L}^{-1}$ y la OLR del reactor termófilo de $0,3 \text{ g}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{L}^{-1}$ (durante el segundo subperiodo T-II), los resultados obtenidos son comparables puesto que se ven cambios significativos en los valores obtenidos de biodegradabilidad de los sustratos.

En primer lugar, en cuanto al rendimiento del metano producido por gramo de DQO de entrada al sistema, se puede observar un cociente mayor, de 0,26 L de CH_4 por gramo de DQO de entrada al proceso, mientras que en el reactor mesófilo se obtiene un rendimiento de producción únicamente de metano, de 0,21 L de CH_4 por gramo de DQO de entrada, ambos en sus respectivos estados pseudo-estacionarios. El mayor rendimiento obtenido en el AnMBR operado a 55°C denota la mayor actividad hidrolítica de los microorganismos termófilos, lo cual da lugar a una mayor concentración de amonio en el reactor que la obtenida en el reactor mesófilo, que demuestra la mayor capacidad hidrolítica de la comunidad microbiana presente en el reactor termófilo.

Pese a que la concentración de amonio durante el periodo T-II en el reactor termófilo fue notablemente elevada en comparación a la concentración de entrada, no se superaron los límites establecidos en la bibliografía consultada por encima de los cuales se produce una inhibición del proceso, hecho que puede ser corroborado por la estabilidad de los AGV en el reactor y la elevada alcalinidad presente demuestra que la inhibición del proceso no tuvo lugar.

No obstante, una vez alcanzado el estado pseudo-estacionario, los AGV no fueron totalmente consumidos por los microorganismos acetotróficos y transformados a metano, permaneciendo una concentración residual de un promedio de $30 \text{ mgCH}_3\text{COOH}\cdot\text{L}^{-1}$ en el reactor. Esto se debe a que las concentraciones de $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ y la elevada temperatura de operación afectan a la población de archaeas acetoclásticas, en concreto al género *Methanosaeta*, las cuales presentan una mayor sensibilidad a estas condiciones ambientales que las archaeas hidrogenotróficas (Chen et al., 2008; Demirel and Scherer, 2008). El detrimento de los metanógenos acetotróficos junto con la mayor actividad hidrolítica de los microorganismos termófilos da lugar a que se produzca esta ligera acumulación de ácidos en el reactor, y a que se potencie el crecimiento de las archaeas pertenecientes al género *Methanosarcina* (Demirel and Scherer, 2008; Zheng and Raskin, 2000). Este género está compuesto por archaeas acetoclásticas, capaces de crecer en presencia de una elevada concentración AGV pero con una velocidad de consumo de ácidos inferior al género *Methanosaeta*, y por archaeas hidrogenotróficas, potenciándose así la producción de metano por vía hidrogenotrófica (Angenent et al., 2002; Demirel and Scherer, 2008). Sin embargo, esta presencia de AGV no provocó un descenso significativo del pH en el reactor por lo que queda patente la ausencia de

inhibición en el proceso, corroborada también por las concentraciones que se obtuvieron de NH_3 , la no acumulación de sólidos, DQO ni AGV, ya que los valores se estabilizaron alrededor de los habituales, previos a los cambios operacionales, tanto voluntarios como involuntarios. Por tanto, se puede decir que el sistema de tratamiento anaerobio es robusto, ya que es capaz de autoestabilizarse, consiguiendo assimilar así en todo momento los cambios producidos en sus condiciones operacionales, alcanzando el sistema siempre un estado pseudo-estacionario.

4.3.1. Problemas operaciones durante la operación del reactor piloto de laboratorio en condiciones mesófilas y termófilas

A lo largo del periodo experimental se tuvieron una serie de problemas que afectaron a los parámetros de estudio de la evolución del tratamiento de codigestión anaerobia, en condiciones mesófilas, a continuación se procede a la descripción de estos mismos y la presentación de las tablas correspondientes a la ubicación temporal en los que dichos problemas tuvieron lugar:

- La bomba de recirculación, que recircula el fango desde el reactor hasta la membrana, fallaba porque se atascaban pequeñas aglomeraciones en la conducción de la bomba. Esto puede ser debido a que, el fango, a pesar de estar tamizado, puede presentar algunos aglomerados que hacen dicha conducción se atasque. El problema de recirculación conlleva a un aumento de la temperatura en el reactor, al no estar recirculando el fango, y por tanto, ese exceso de temperatura, se convertía después en un descenso de la misma, causando variaciones en la medida del caudal de biogás, ya que se registraban valores de caudal por encima de los habituales en la subida de temperatura, mientras en el descenso, por el contrario, eran registrados valores por debajo de la media habitual. Así mismo, en cuanto a la variación que presentan las figuras de la evolución de sólidos, este problema operacional también influye en la misma, ya que los atascos producían una acumulación de biomasa en el reactor, que no era recirculada hasta que se desatascaba la conducción taponada.

Tabla 4.3.- Periodos problemas operacionales (I).

Periodos	Mesófilo	Termófilo
Número de día experimental	115 – 118; 129; 169; 189	36; 85-89; 163

- El baño de recirculación, en determinadas ocasiones, se vaciaba por evaporación del agua, que conllevaba a un descenso brusco de la temperatura del reactor, que así mismo conllevaba a un vaciamiento de la celda de biogás. Se producían oscilaciones, por tanto, en la medida del caudal de biogás.

Tabla 4.4.- Periodos problemas operacionales (I).

Periodos	Termófilo
Número de día experimental	64; 90

- El equipo de agitación del reactor en condiciones termófilas falla, lo que conlleva a un descenso de sólidos en los sólidos de la purga del mismo, que se acumulaban en el interior al no tener una agitación constante. Se puede observar en la gráfica de evolución de los sólidos del reactor termófilo un descenso de sólidos, provocado por el fallo de agitación.

Tabla 4.4.- Periodos problemas operacionales (I).

Periodos	Termófilo
Número de día experimental	125 - 148

- Se dieron fugas puntuales en determinados puntos del montaje experimental, que se observaron rápidamente por un descenso de presión. Dichos puntos eran localizados y arreglados. Este fallo operacional conllevaba a la necesidad de cerrar la válvula de biogás ubicada en la cabeza del reactor, por lo que también afectaba a la medida del caudal de biogás, ocasionando variabilidad en la medida.

Tabla 4.4.- Periodos problemas operacionales (I).

Periodos	Termófilo
Número de día experimental	180

CONCLUSIONES

5. Conclusiones

- **Conclusiones de la digestión anaerobia de microalgas en condiciones mesófilas**

El estudio de codigestión anaerobia de microalgas y fango de EDAR en continuo a 35°C, puede corroborar tanto la mejora en la producción de metano, de un 13,7% en comparación a las obtenidas por otros estudios de digestión únicamente de biomasa algal, como la necesidad de establecer una elevada actividad hidrolítica para maximizar la eficiencia del proceso. Se confirma, por tanto, que la actividad hidrolítica es mejorada gracias al acople la operación del reactor a elevado TRC con el uso de la tecnología de membranas como sistema físico de separación, puesto que se consiguió alcanzar una biodegradabilidad de *Chorella* spp. y fango primario de EDAR del 63,7%, sin la necesidad de aplicar pretratamientos a las microalgas, a pesar de la elevada resistencia que estas presentan a la degradación biológica debido a la estructura de su pared celular. Así mismo, mediante el proceso de codigestión anaeróbica, se evita cualquier posible inhibición del rendimiento de digestión de la biomasa algal. Los valores promedio logrados para la eliminación de SSV, la eliminación de DQO y la biodegradabilidad también fueron más altos que los obtenidos en un periodo previo del reactor (Figura 4), dentro del contexto del doctorado de Rebecca Serna, en el que se operó el mismo reactor, en unas determinadas condiciones de operación, pero alimentado con biomasa algal únicamente (PI).

La operación del reactor a elevado TRC promueve el crecimiento de microorganismos con baja tasa de crecimiento, fomentando su adaptación a este tipo de sustrato, incrementando la biodiversidad microbiana y, por tanto, potenciando notablemente la actividad hidrolítica del proceso. A su vez, la flexibilidad operacional que proporciona la tecnología de membranas permite trabajar a elevados TRC y altos TRH sin necesidad de incrementar el volumen de reacción, obteniéndose porcentajes de eliminación de DQO y sólidos de 60,27% y 60%, respectivamente. La elevada actividad hidrolítica alcanzada dio lugar a que se redujera en gran medida la producción de fango, y por tanto los costes asociados a su posterior tratamiento. Así mismo, esta elevada eliminación de sólidos permite que el reactor pueda ser operado a elevado TRC sin que se produzca un desmesurado incremento de los sólidos, reduciendo así la necesidad de limpieza de la membrana o la necesidad de grandes volúmenes de reacción.

Por su parte, el efluente presentó una alta concentración de amonio, siendo mayor que el amonio en la corriente de entrada, debido a que éste se encuentra en su mayor parte en forma particulada en la biomasa algal, que exhibe un alto contenido en nitrógeno. Sin embargo, pese a la elevada concentración de amonio, la ausencia de AGV acumulados y el elevado rendimiento del proceso denotaron que la inhibición por amoníaco no tuvo lugar. Esto se debe a que la tecnología de membranas permite incrementar la OLR disminuyendo a su vez la concentración de microalgas en el alimento, lo que reduce la concentración de posibles inhibidores tales como el amoníaco o los compuestos intermedios producidos durante la digestión anaerobia, así como los costes asociados al proceso de concentración de microalgas.

Por tanto, se ha demostrado que la configuración AnMBR es una alternativa tecnológica viable para operar el reactor a elevados TRCs y caudales de tratamiento, permitiendo alimentar

microalgas más diluidas, sin incrementar el volumen de reacción y obteniendo un efluente de elevada calidad, susceptible de ser reutilizado para el cultivo de nueva biomasa algal o la recuperación de nutrientes, siempre y cuando se evite la precipitación incontrolada de fósforo en el interior del reactor.

- **Conclusiones de la digestión anaerobia de microalgas en condiciones termófilas**

El estudio de codigestión anaerobia de microalgas y fango de EDAR en continuo a 55°C, confirmó el efecto positivo que tiene la temperatura de operación sobre la biodegradación de la biomasa presente en el reactor, ya que la elevada actividad hidrolítica de los microorganismos involucrados en la digestión anaerobia termófila produce un incremento de la biodegradabilidad de la biomasa de codigestión del 13,5% con respecto a su digestión anaerobia a 35°C y bajo las mismas condiciones operacionales de TRC y TRH, aunque bajo distinta carga, pues el reactor mesófilo trabajaba a una carga de $0,5 \text{ g}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{L}^{-1}$ mientras el termófilo a una de $0,30 \text{ g}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{L}^{-1}$ (periodo T-II).

Además, se corroboró, al igual que en el caso del reactor operado a condiciones mesófilas, que era posible diluir la concentración de microalgas en el alimento, factor de mayor influencia en el rendimiento del proceso debido a que si se hubiese trabajado con una concentración de microalgas mayor a $20000 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ y con la mayor actividad hidrolítica de los microorganismos termófilos, que produjo la liberación de altas concentraciones de amonio, podría haberse dado lugar a la inhibición parcial del proceso por amoniaco. Gracias a la implementación de un sistema físico de separación al reactor biológico, se pudo operar el reactor a un alto TRC y baja OLR, alimentado así con algas más diluidas, que maximizó la producción de biogás, redujo la producción de fangos y potenció a su vez la recuperación de nutrientes del efluente. A su vez, esta recuperación de nutrientes se podría incrementar minimizando la precipitación incontrolada de fósforo en el interior del reactor.

BIBLIOGRAFÍA

6. Bibliografía

- Alzate, M.E., Muñoz, R., Rogalla, F., Fdz-Polanco, F., Pérez-Elvira, S.I. (2012). Biochemical methane potential of microalgae: Influence of substrate to inoculum ratio, biomass concentration and pretreatment. En *Bioresource Technology*.
- Antonio Domínguez. (2014). *CARACTERIZACIÓN DE MEMBRANAS CERÁMICAS DE NANOFILTRACIÓN: ELIMINACIÓN DE METALES PESADOS*. Cádiz.
- APHA. (2012). En *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. Washington: American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation: 22nd ed.
- Appels, L., Baeyens, J., Degève, J., Dewil, R. (2008). Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge. En *Prog. Energy Combust. Sci.* 34 (págs. 755-781).
- Batstone, D.J., Keller, J., Angelidaki, I., Kalyuzhnyi, S. Pavlostathis, S.G., Rozzi, A., Sanders, W., Siegrist, H., Vavilin, V. (2002). Anaerobic Digestion Model No. 1. *Water Sci. Technol.*, 1.
- Bharathiraja, B., Chakravarthy, M., Ranjith Kumar, R., Yogendran, D., Yuvaraj, D., Jayamuthunagai, J., Praveen Kumar, R., Palani, S. (2015). Aquatic biomass (algae) as a future feed stock for bio-refineries. En *Renew. Sustain. Energy Rev.* 47 (págs. 635-653).
- Biller, P., Ross, A.B. (2014). En *Pyrolysis GC-MS as a novel analysis technique to determine the biochemical composition of microalgae*.
- Buendía, I.M., Fernández, F.J., Villaseñor, J., Rodríguez, L. (2009). Feasibility of anaerobic co-digestion as a treatment option of meat industry wastes. En *Bioresour. Technol.* 100 (págs. 1903–1909).
- Cai, T., Park, S.Y., Li, Y. (2013). Nutrient recovery from wastewater streams by microalgae: Status and prospects. En *Renew. Sustain. Energy Rev.* 19 (págs. 360–369).
- Chang, S. (2014). Anaerobic Membrane Bioreactors (AnMBR) for Wastewater Treatment. En *Adv. Chem. Eng. Sci.* 04 (págs. 56–61).
- Chen, Y., Cheng, J.J., Creamer, K.S. (2008). *Inhibition of anaerobic digestion process*.
- Cord-Ruwisch, R., Seitz, H.-J., Conrad, R. (1988). The capacity of hydrogenotrophic anaerobic bacteria to compete for traces of hydrogen depends on the redox potential of the electron acceptor. En *Arch Microbiol* 149 (págs. 350-357).
- De Lemos, C.A. (2007). Biological Wastewater Treatment: Anaerobic Reactors, Biological wastewater treatment in warm climate regions.
- Demirel, B., Scherer, P. (2008). The roles of acetotrophic and hydrogenotrophic methanogens during anaerobic conversion of biomass to methane. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* 7, 173–190.

- Díaz-Báez, M.C., Vargas, S.L.E., Pérez, F.M. (2002). Digestión anaerobia: una aproximación a la tecnología. Universidad Nacional de Colombia.
- Domínguez, A. J. (s.f.). Obtenido de <http://rodin.uca.es/xmlui/bitstream/handle/10498/18956/Guerrero%20Domínguez%20C%20Antonio%20J.Tesis%20máster.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Ek, A.E.W., Hallin, S., Vallin, L., Schnürer, A., Karlsson, M. (2011). Slaughterhouse waste co-digestion - Experiences from 15 years of full-scale operation. *World Renew. Energy Congr. 2011-Sweden*, (págs. 64-71).
- Ferrer I, Vázquez F, Font X. (2011). Comparison of the mesophilic and thermophilic anaerobic. En *J Residuals Sci Technol.* 8.
- Ferrer, J. & Seco, A. (2007). *Tratamientos biológicos de aguas residuales* (2ª edición ed.). Universidad Politécnica de Valencia.
- 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. En *Environ. Sci. Biotechnol.* 5 (págs. 3-19).
- Gallert, C., Winter, J. (2005). Bacterial Metabolism in Wastewater Treatment Systems, Environmental Biotechnology.
- García, M.L., Angenent, L.T. (2009). En *Interaction between temperature and ammonia in mesophilic digesters for animal waste treatment*.
- Geng, A., He, Y., Qian, C., Yan, X., Zhou, Z. (2010). Effect of key factors on hydrogen production from cellulose in a co-culture of *Clostridium thermocellum* and *Clostridium thermopalmarium*. *Bioresour. Technol.* 101, 4029-4033.
- Germane, K.L., Servinsky, M.D., Gerlach, E.S., Sund, C.J., Hurley, M.M. (2015). Structural analysis of *Clostridium acetobutylicum* ATCC 824 glycoside hydrolase from CAZy family GH105. *Acta Crystallogr. Sect. F Struct. Biol. Commun.* 71, 1100-1108.
- Giménez, J.B., Martí, N., Ferrer, J., Seco, A. (2012). Methane recovery efficiency in a submerged anaerobic membrane bioreactor (SAnMBR) treating sulphate-rich urban wastewater: Evaluation of methane losses with the effluent. En *Bioresour. Technol.* 118 (págs. 67-72).
- Greses, S. (2017). *DEGRADACIÓN ANAEROBIA DE MICROALGAS PROCEDENTES DEL TRATAMIENTO DEL EFLUENTE DE UN REACTOR ANAEROBIO DE MEMBRANAS SUMERGIDAS*.
- Grobbelaar, J.U. (2007). En *Algal Nutrition – Mineral Nutrition, in: Handbook of Microalgal Culture*.
- Gujer, W., Zehnder, A.J.B. (1983). Conversion processes in anaerobic digestion. *Water Sci. Technol.* 15, 127-167.

- Gupta, S.K., Ansari, F.A., Shriwastav, A., Sahoo, N.K., Rawat, I., Bux, F. (2016). Dual role of *Chlorella sorokiniana* and *Scenedesmus obliquus* for comprehensive wastewater treatment and biomass production for biofuels. En *J. Clean. Prod.* 115 (págs. 255-264).
- Hagos, K., Zong, J., Li, D., Liu, C., Lu, X. (2016). Anaerobic co-digestion process for biogas production: Progress, challenges and perspectives. *Renew. Sustain. Energy Rev.*, 0-1.
- Hagos, K., Zong, J., Li, D., Liu, C., Lu, X. (2016). Anaerobic co-digestion process for biogas production: Progress, challenges and perspectives. En *Renew. Sustain. Energy Rev.* (págs. 0-1).
- Hammaken, A.M. & Romero, E. (2005). *Análisis y diseño de una planta de tratamiento de agua residual para el municipio de San Andrés Cholula*. Universidad de las Américas Puebla, Departamento de Ingeniería Civil, Escuela de Ingeniería.
- Hattori, S. (2008). Syntrophic Acetate-Oxidizing Microbes in Methanogenic Environments. En *Microbes Environ.* 23 (págs. 118–127).
- Hidaka, T., Inoue, K., Suzuki, Y., Tsumori, J. (2014). Growth and anaerobic digestion characteristics of microalgae cultivated using various types of sewage. En *Bioresour. Technol.* 170 (págs. 83-89).
- Karakashev, D., Batstone, D.J., Angelidaki, I. (2005). Influence of environmental conditions on methanogenic compositions in anaerobic biogas reactors. En *Appl. Environ. Microbiol.* 71 (págs. 331–338).
- Khan, A.A., Gaur, R.Z., Tyagi, V.K., Khursheed, A., Lew, B., Mehrotra, I., Kazmi, A.A. (2011). Sustainable options of post treatment of UASB effluent treating sewage. *Resour. Conserv. Recycl.* 55.
- Khanal, S.K., Giri, B., Nitayavardhana, S., Gadhamshetty, V. (2017). Anaerobic Bioreactors/Digesters: Design and developments, Current Developments in Biotechnology and Bioengineering. *Elsevier B.V.*
- Kiran, E.U., Stamatelatos, K., Antonopoulou, G., Lyberatos, G. (2016). *Production of biogas via anaerobic digestion. Handbook of Biofuels Production.*
- Krumböck, M., Conrad, R. (1991). Metabolism of position-labelled glucose in anoxic methanogenic paddy soil and lake sediment. En *FEMS Microbiol. Ecol.* 8 (págs. 247–256).
- Lee, J.W., Day, D.M. (2013). Smokeless biomass pyrolysis for producing biofuels and biochar as a possible arsenal to control climate change. En J. Lee. *Advanced Biofuels and Bioproducts.*
- Lin, H., Peng, W., Zhang, M., Chen, J., Hong, H., Zhang, Y. (2013). A review on anaerobic membrane bioreactors: Applications, membrane fouling and future perspectives.

- Manninen, K., Huttunen, S., Seppälä, J., Laitinen, J., Spilling, K. (2016). Resource recycling with algal cultivation: Environmental and social perspectives. En *J. Clean. Prod.* 134 (págs. 495–505).
- Mara, D., Horan, N. (2003). *Handbook of Water and Wastewater Microbiology*.
- Martí, N., Pastor, L., Bouzas, A., Ferrer, J., Seco, A. (2010). Phosphorus recovery by struvite crystallization in WWTPs: Influence of the sludge treatment line operation. En *Water Res.* 44 (págs. 2371-2379).
- Mata-Alvarez, J. (2003). Biomethanization of the organic fraction of municipal solid wastes.
- Mata-Alvarez, J., Dosta, J., Macé, S. & Astals, S. (2011). Codigestion of solid wastes: A review.
- McKendry, P. (2002). Energy production from biomass (part 1): overview of biomass. En *Bioresour. Technol* 83 (págs. 37-46).
- Moñino, P., Aguado, D., Barat, R., Jiménez, E., Giménez, J.B., Seco, A., Ferrer, J. (2017). A new strategy to maximize organic matter valorization in municipalities: Combination of urban wastewater with kitchen food waste and its treatment with AnMBR technology. En *Waste Manag.*
- Olsson L., Shabiiman M.M, Nehrenheim E., Thorin E. (s.f.). Co-digestion of cultivated microalgae and sewage sludge from municipal waste water treatment. *ICAE 2013*.
- Oswald, W.J., Asce, A.M., Gotaas, H.B. (1957). photosynthesis in sewage treatment. En *Am. Soc. Civ. Eng. Paper No 2*.
- Pachés, M., Romero, I., Hermosilla, Z., Martínez-Guijarro, R. (2012). En *PHYMED: An ecological classification system for the Water Framework Directive based on phytoplankton community composition*.
- Pavlostathis, S.G., Giraldo-Gómez, E. (1991). Kinetics of anaerobic treatment: A critical review. *Environ. Control* 21, 411-490.
- Petrova, O.E., Tarasova, N.B., Davydova, M.N. (2002). Biotechnological potential of sulfate-reducing bacteria for transformation of nitrocellulose. En *Anaerobe* 8 (págs. 315–317).
- Privé, F., Kaderbhai, N.N., Girdwood, S., Worgan, H.J., Pinloche, E., Scollan, N.D., Huws, S.A., Newbold, C.J. (2013). Identification and characterization of three novel lipases belonging to families II and V from *Anaerovibrio lipolyticus* 5ST. *PLoS One* 8.
- Qureshi, N., Liu, S., Ezeji, T.C. (2013). En *Cellulosic Butanol Production from Agricultural Biomass and Residues: Recent Advances in Technology*.
- Rawat, I., Ranjith Kumar, R., Mutanda, T., Bux, F. (2011). Dual role of microalgae: Phycoremediation of domestic wastewater and biomass production for sustainable biofuels production. En *Appl. Energy* 88 (págs. 3411–3424).

- Rincón, B., Feroso, F.G., Borja, R. (2012). Olive oil mill waste treatment : Improving the sustainability of the olive oil industry with anaerobic digestion technology, in: Boskou, D.D. Olive Oil - Constituents, Quality, Health Properties and Bioconversions.
- Rivière, D., Desvignes, V., Pelletier, E., Chaussonnerie, S., Guerhazi, S., Weissenbach, J., Li, T., Camacho, P., Sghir, A. (2009). *Towards the definition of a core of microorganisms involved in anaerobic digestion of sludge.*
- Ruiz-Martinez, A., Martín García, N., Romero, I., Seco, A., Ferrer, J. (2012). Microalgae cultivation in wastewater: Nutrient removal from anaerobic membrane bioreactor effluent. En *Bioresour. Technol.* 126 (págs. 247-253).
- Safi, C., Zebib, B., Merah, O., Pontalier, P.-Y., Vaca-García, C. (2014). Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*. En *Renew. Sustain. Energy Rev.* 35 (págs. 265-278).
- Sasaki, K., Morita, M., Sasaki, D., Nagaoka, J., Matsumoto, N., Ohmura, N., Shinozaki, H. (2011). Syntrophic degradation of proteinaceous materials by the thermophilic strains *Coprothermobacter proteolyticus* and *Methanothermobacter thermautotrophicus*. *J. Biosci. Bioeng.* 112, 469-472.
- Schnürer, A., Houwen, F.P., Svensson, B.H. (1994). Mesophilic syntrophic acetate oxidation during methane formation by a triculture at high ammonium concentration. En *Arch. Microbiol.* 162 (págs. 70–74).
- Serna-García et al. (2017). Anaerobic codigestion for improving methane production from microalgae and primary sludge under mesophilic conditions. *Congreso YWP Spain*.
- Shin, S.G., Zhou, B.W., Lee, S., Kim, W., Hwang, S. (2011). Variations in methanogenic population structure under overloading of pre-acidified high-strength organic wastewaters. *Process Biochem.* 46, (págs. 1035-1038).
- Sialve, B., Bernet, N., Bernard, O. (2009). En *Anaerobic digestion of microalgae as a necessary step to make microalgae biodiesel sustainable.*
- Skouteris, G., Hermosilla, D., López, P., Negro, C., Blanco, Á. (2012). Anaerobic membrane bioreactors for wastewater treatment. En *Chem. Eng. J.* (págs. 198-199; 138-148).
- Speece, R.E. (1996). *Anaerobic Biotechnology for Industrial Wastewater.*
- Sundberg, C., Al-Soud, W.A., Larsson, M., Alm, E., Yekta, S.S., Svensson, B.H., Sørensen, S.J., Karlsson, A. (2013). Pyrosequencing analyses of Bacterial and Archaeal richness in 21 full-scale biogas digesters. *FEMS Microbiol. Ecol.* 85.
- Sung, S., Liu, T. (2003). En *Ammonia inhibition on thermophilic anaerobic digestion.*
- Tijani, H., Abdullah, N., Yuzir, A. (2015). En *Integration of microalgae biomass in biomethanation systems.*

- Uggetti, E., Sialve, B., Latrille, E., Steyer, J.P. (2014). Anaerobic digestate as substrate for microalgae culture: The role of ammonium concentration on the microalgae productivity. En *Bioresour. Technol.* 152 (págs. 437-443).
- Ullah, K., Ahmad, M., Sofia, Sharma, V.K., Lu, P., Harvey, A., Zafar, M., Sultana, S. (2015). En *Assessing the potential of algal biomass opportunities for bioenergy industry.*
- Vassilev, S. V., Vassileva, C.G. (2016). Composition, properties and challenges of algae biomass for biofuel application. En *An overview. Fuel* 181 (págs. 1-33).
- Viruela, A., Murgui, M., Gómez-Gil, T., Durán, F., Robles, Á., Ruano, M.V., Ferrer, J., Seco, A. (2016). Water resource recovery by means of microalgae cultivation in outdoor photobioreactors using the effluent from an anaerobic membrane bioreactor fed with pre-treated sewage. En *Bioresour. Technol.* 218 (págs. 447-454).
- Wang, M., Sahu, A.K., Rusten, B., Park, C. (2013). En *Anaerobic co-digestion of microalgae Chlorella sp. and waste activated sludge.*
- Weiland, P. (2010). Biogas production: Current state and perspectives. En *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 85 (págs. 849–860).
- Yenigün, O., Demirel, B. (2013). Ammonia inhibition in anaerobic digestion. En *Process Biochem.* 48 (págs. 901–911).
- Zhao, H.W., Viraraghavan, T. (2004). Analysis of the performance of an anaerobic digestion system at the Regina wastewater treatment plant. En *Bioresour. Technol.* 95 (págs. 301-307).