



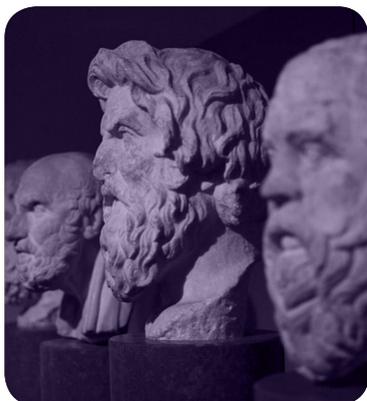
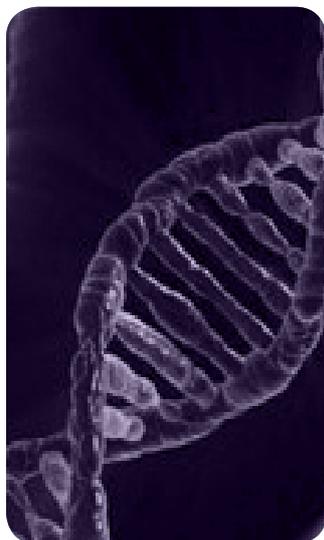
MÁSTERES de la UAM

Facultad de
Ciencias / 16-17

Ingeniería Química



Campus Internacional
excelencia UAM
CSIC+



**Estudio comparativo
de la co-digestión de
la fracción líquida
de la carbonización
hidrotermal de lodo
secundario de EDAR
y fango primario
empleando dos
inóculos**

Noelia Ocaña Moreno

978-84-8344-6215



MASTER UNIVERSITARIO EN INGENIERÍA QUÍMICA

Curso académico 2016-2017

Trabajo Fin de Máster

**Estudio comparativo de la co-digestión de la
fracción líquida de la carbonización
hidrotermal de lodo secundario de EDAR y
fango primario empleando dos inóculos**

Autor: Noelia Ocaña Moreno

**Director: M^a Ángeles de la Rubia Romero, John Villamil
Martínez**

Colaborador/es: Ángel Fernández Mohedano

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, a M^a Ángeles, gracias, gracias y millones de gracias por todas las horas que me has dedicado. Y siempre con una sonrisa. He aprendido muchísimo a tu lado (y también me he reído mucho), te agradezco todo lo que has hecho por mí.

A John, por todo el apoyo y ayuda que me ha dado durante estos meses. Gracias por estar siempre cuando te he necesitado, has sido un gran apoyo para mí. Estoy segura del gran futuro que te espera.

A Ángel, por siempre estar cuando he necesitado ayuda, por ofrecérmela sin yo pedirla. Por confiar en mí, y ayudarme para que todo me fuera siempre bien. Gracias por todo tu apoyo.

A todo el personal del laboratorio, por ayudarme con los equipos y solucionando siempre los pequeños imprevistos rápidamente.

A mis amigas y amigos, por aguantarme y apoyarme en las buenas y en las malas. Os adoro.

A mis padres, mi hermana y mi Emi. Por estar siempre conmigo, por darme vuestro apoyo, vuestra fuerza... Os debo todo lo que soy. Gracias por enseñarme cada día lo importante de la vida. Os quiero muchísimo.

"El éxito es saber tu propósito en la vida, crecer para alcanzar tu potencial y plantar semillas para ayudar a otros." John Maxwell.

ÍNDICE

RESUMEN.....	1
1. INTRODUCCIÓN	2
1.1. Problemática actual	2
1.2. Digestión anaerobia.....	2
1.2.1. Formación de metano	4
1.2.2. Parámetros operacionales importantes en la digestión anaerobia	4
1.3. Co-digestión anaerobia.....	6
1.4. Tratamientos térmicos aplicables a los lodos de EDAR	6
1.4.1. Combustión	7
1.4.2. Gasificación.....	7
1.4.3. Pirólisis.....	7
1.4.4. Carbonización hidrotermal (HTC)	8
OBJETIVOS.....	10
2. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL, MATERIALES Y MÉTODOS	10
2.1. Obtención y caracterización de los sustratos.....	10
2.2. Obtención y caracterización de los inóculos	11
2.3. Ensayos de determinación de potencial bioquímico de metano.....	11
2.4. Métodos analíticos y equipos	13
2.4.1. Sólidos totales, volátiles y fijos.....	13
2.4.2. DQO reflujo abierto y reflujo cerrado.....	13
2.4.3. Carbono Orgánico Total (COT)	14
2.4.4. Carbohidratos	14
2.4.5. pH y alcalinidad	14
2.4.6. Ácidos Grasos Volátiles (AGV).....	14
2.4.7. Nitrógeno Total Kjeldahl (NTK) y nitrógeno amoniacal.....	14
2.4.8. Contenido en metales y análisis elemental.....	14
2.4.9. Cromatografía de gases y espectrometría de masas (CG-EM)	15
2.4.10. Volumen y composición de biogás	15

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	15
3.1. Caracterización.....	15
3.2. Análisis elemental y metales	17
3.3. pH y alcalinidad	18
3.4. Ácidos Grasos Volátiles	20
3.5. Nitrógeno Total Kjeldahl y nitrógeno amoniacal.....	23
3.6. DQO soluble.....	25
3.7. Carbohidratos solubles	27
3.8. Producción específica de metano	28
5. CONCLUSIONES	33
6. BIBLIOGRAFÍA.....	34
ÍNDICE DE FIGURAS	41
ÍNDICE DE TABLAS	41
ÍNDICE DE ACRÓNIMOS	42
7. ANEXOS.....	43
7.1. Cálculos.....	43

RESUMEN

En la actualidad, existe una problemática ambiental provocada por el incremento en la generación de fangos en las estaciones depuradoras de aguas residuales (EDAR), lo que hace imprescindible la actuación para la disminución de éstos y conseguir valorizarlos. Es por ello que, las técnicas de valorización térmica resultan una interesante alternativa para el tratamiento de los fangos, encontrándose entre las más extendidas la combustión, gasificación y pirólisis. Ante los tratamientos existentes actualmente, se propone la aplicación de la carbonización hidrotermal (HTC, siglas en inglés de *Hydrothermal Carbonization*). Se trata de una tecnología que permite el tratamiento de una gran variedad de residuos con un contenido en humedad de hasta 75-90% sin necesidad de un secado previo, a temperaturas relativamente bajas (180-250°C) y a presiones autogeneradas por el propio proceso. La tecnología HTC origina, además de un producto carbonoso de alto valor añadido (*hidrochar*), un residuo líquido de alta carga orgánica que debe ser tratado.

La finalidad del proyecto es evaluar la co-digestión anaerobia como tecnología para el tratamiento del residuo líquido obtenido tras la carbonización hidrotermal de lodos biológicos de depuradora (208°C durante 1h), empleando fango primario como co-sustrato. Para llevar a cabo el estudio, se utilizaron como inóculos dos tipos de lodos anaerobios (floculento y granular), operando en discontinuo en rango mesofílico (35°C) con distintas proporciones de cada sustrato, introduciendo en los reactores una relación de 2 gDQOinóculo/gDQOsustrato.

Para garantizar la correcta monitorización de las diferentes etapas de la digestión anaerobia, se realizaron distintos análisis a la fracción soluble como son pH, alcalinidad, ácidos grasos volátiles (AGV), Nitrógeno Total Kjeldahl (NTK), nitrógeno amoniacal, demanda química de oxígeno (DQOs) y carbohidratos. Además, para la determinación de la producción de metano alcanzada con cada inóculo, se procedió a realizar análisis de potencial bioquímico de metano (BMP, siglas en inglés de *Biochemical Methane Potential*), cuyos resultados se expresaron en función de la DQO del sustrato añadido en cada caso, en condiciones estándar.

Tras la finalización de los experimentos, se obtuvo como resultado una mayor producción de metano empleando como inóculo el lodo granular de cervecera, siendo ésta de 301 ± 11 mL $\text{CH}_{4,\text{STP}}/\text{g DQO}_{\text{adicionada}}$ frente a 204 ± 9 mL $\text{CH}_{4,\text{STP}}/\text{gDQO}_{\text{adicionada}}$ empleando lodo floculento. Además, se observaron mejores resultados en todos los ensayos a medida que la proporción de fracción líquida de HTC iba disminuyendo frente a fango primario, debido a los compuestos recalcitrantes que contiene. No obstante, se ha podido comprobar cómo es posible digerir esta fracción mediante co-digestión anaerobia con fango primario, siendo la relación óptima de entre las estudiadas, utilizando un 25% de HTC y 75% de fango primario.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Problemática actual

Según el Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, los lodos de depuración pueden definirse como "una mezcla de agua y sólidos separada del agua residual, como resultado de procesos naturales o artificiales" [1]. Se generan en las estaciones depuradoras de aguas residuales (EDAR) y en las fosas sépticas. En España, según los datos del Registro Nacional de Lodos (2012), se producen anualmente alrededor de 1.200.000 toneladas (en masa seca) de estos lodos de depuradora.

Debido a la generación de esta gran cantidad de lodos, en la actualidad la correcta gestión de estos desechos, se ha convertido en uno de los problemas ambientales más complicados relacionado con el tratamiento de aguas residuales. Para asegurar la gestión adecuada de este tipo de residuos, las EDAR pueden realizarla en las propias estaciones directamente o encargarla a gestores autorizados, de acuerdo a lo establecido en la Ley 22/2011, de residuos y suelos contaminados [2]. No obstante, esto debe hacerse respetando los principios de la política de residuos en cuanto a la protección del medio ambiente y salud humana, cumpliendo con la prioridad en la gestión de residuos [3], en la que la tendencia actual sitúa la prevención como primer objetivo, seguidas de la reutilización, reciclado y valorización, dejando como última opción la eliminación y deposición en vertederos.

Tras el tratamiento, los lodos pueden someterse a otras operaciones finales para asegurar una calidad correcta en su destino final y de forma ambientalmente segura. De acuerdo a su destino final, los lodos pueden aplicarse en suelos agrícolas [4], pueden ser incinerados en instalaciones de incineración de residuos, coincinerados en cementeras [5,6] o depositados en vertederos siempre que cumplan las condiciones establecidas en la normativa [7]. Según datos del Registro Nacional de Lodos, el 80% de los lodos generados tienen como destino final la aplicación agrícola. Además, se ha logrado reducir notablemente la deposición en vertedero un 8%, pero la incineración va en aumento (en torno a un 4%).

1.2. Digestión anaerobia

Como ya se ha comentado anteriormente, los lodos de depuradora suelen tratarse en la propia estación para reducir su contenido en agua, en patógenos y asegurar la estabilidad de la materia orgánica. Atendiendo al objetivo que se pretenda conseguir, se pueden realizar tratamientos enfocados a la reducción de agua para facilitar el transporte (espesamiento, deshidratación y secado térmico) o estabilización de la materia orgánica para facilitar el

almacenamiento y contacto con el medio ambiente (técnicas de digestión anaerobia y aerobia, compostaje, estabilización térmica, química y oxidación en fase acuosa) [8].

En el proyecto que se ha desarrollado, se han centrado los esfuerzos en la técnica de digestión anaerobia. Se trata de una tecnología de la que se tiene una gran experiencia y conocimiento, pudiendo considerarla como una técnica madura y que se muestra como una opción para el tratamiento de los residuos biodegradables. Se puede realizar atendiendo a varios objetivos, entre los que destacan la producción de biogás para generar energía.

El proceso de digestión anaerobia puede considerarse como un ecosistema donde varios grupos de microorganismos trabajan interactivamente, en ausencia de oxígeno, en la conversión de complejos orgánicos en productos finales, como son CH_4 , CO_2 , H_2S y H_2O , además de generar nuevo material celular [9]. La ruta de degradación anaeróbica de la materia orgánica es un proceso escalonado de varias reacciones en serie y paralelas, que consta de cuatro etapas sucesivas, a saber: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis [9,10]. En la Figura 1 puede verse un esquema del proceso:

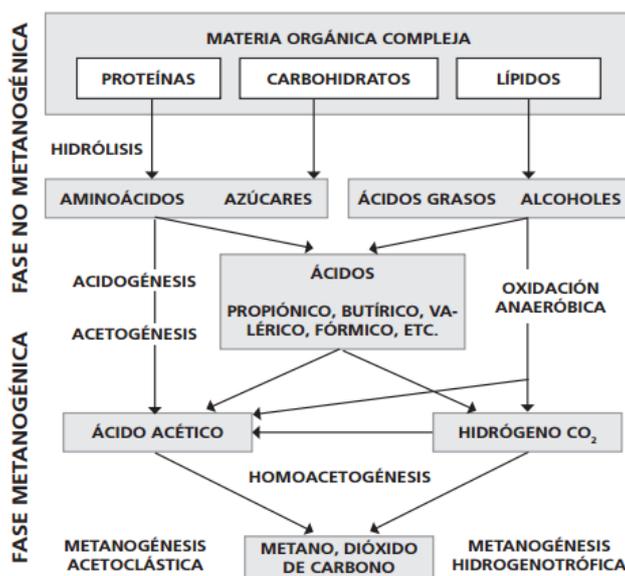


Figura 1. Fases de la digestión anaerobia [11]

Durante la hidrólisis, las enzimas excretadas por bacterias fermentativas convierten los compuestos complejos sin disolver (proteínas, carbohidratos y lípidos) en otros más sencillos, que resultan ser moléculas más pequeñas disueltas (aminoácidos, azúcares, ácidos grasos y alcoholes). Estos compuestos de bajo peso molecular, pasan a través de las paredes y membranas celulares de las bacterias fermentativas acidogénicas, las cuales los convierten en ácidos grasos volátiles (AGV), hidrógeno, dióxido de carbono, amoníaco, sulfuro de hidrógeno, ácido láctico y algunos alcoholes, como el etanol. A esta etapa de la digestión

anaerobia, se le denomina acidogénesis. A continuación, las bacterias acetogénicas que son parte de un grupo metabólico intermedio, convierten los AGV de C₃-C₈ y etanol, en ácido acético, hidrógeno y dióxido de carbono, así como material celular nuevo.

Por último, tiene lugar la metanogénesis donde las *Archaea* metanogénicas transforman los productos de la etapa anterior (ácido acético, hidrógeno y dióxido de carbono) en dióxido de carbono y metano.

Cabe destacar que, para que el proceso sea viable energéticamente los microorganismos acetogénicos y metanogénicos deben trabajar de manera sintrófica, para evitar acumulación de compuestos intermedios

1.2.1. Formación de metano

Uno de los principales objetivos de la digestión anaerobia es la producción de biogás y más concretamente, la generación de metano. Existen dos mecanismos básicos de formación de metano, que se explican a continuación [9]:

- Degradación del ácido acético: en la que las *Archaea* acetotróficas, en ausencia de hidrógeno, producen la degradación del ácido acético que conduce a la formación de metano y dióxido de carbono.
- Reducción del dióxido de carbono, por las *Archaea* hidrogenotróficas, cuando hay hidrógeno disponible, generan metano a partir de la reducción del dióxido de carbono.

La composición global de biogás producido (CH₄+CO₂), puede variar sustancialmente dependiendo de las características de los componentes orgánicos que vayan a ser degradados. Generalmente, la relación típica de metano y dióxido de carbono que suele encontrarse es de 60 a 80% y 20 a 40%, respectivamente [9,11]. Alguno de los usos que puede tener el biogás formado en procesos de digestión anaerobia pueden ser desde la generación de calor, electricidad o como combustible, hasta emplearlo como material base para la síntesis de productos con alto valor añadido como el metanol o el gas natural licuado [12].

1.2.2. Parámetros operacionales importantes en la digestión anaerobia

Estos parámetros sirven para monitorizar y evaluar la estabilidad del proceso de digestión anaerobia, en discontinuo. A continuación, se explican los más importantes:

- Nutrientes. Son necesarios para que el tratamiento biológico sea exitoso debiendo estar presentes en las cantidades suficientes. Por orden de importancia, los nutrientes necesarios para los microorganismos son: azufre, fósforo, hierro, cobalto, níquel, molibdeno, selenio, riboflavina y vitamina B12 [9]. Siendo uno de los más importantes el nitrógeno, ya que se

trata de uno de los principales nutrientes necesarios para el crecimiento de la biomasa anaerobia [11].

- Relación inóculo/sustrato (RIS). La correcta elección del inóculo es primordial para realizar la digestión anaerobia exitosamente, ya que atendiendo a la naturaleza de éste los microorganismos podrán realizar la degradación del sustrato correctamente o podrá verse inhibida su actividad [13]. A la hora de diseñar el proceso de digestión anaerobia, se deberá tener en cuenta el RIS con el que se va a operar. En los procesos discontinuos la cantidad de sustrato disponible para los microorganismos es fundamental, de ahí la importancia del RIS. Un RIS bajo (inferior a 1,5), puede provocar inhibición de la población microbiana por sobrecarga, mientras que un RIS alto (superior a 2,5) puede llevar a la paralización del proceso por falta de sustrato. [14].
- Temperatura. Se trata de uno de los factores más importantes en la selección de especies microbianas. Los microorganismos no son capaces de adaptarse y controlar su temperatura interna, por ello la temperatura en el interior de la célula es determinada mediante la temperatura externa. Existen tres rangos de temperatura asociados al crecimiento microbiano: psicofílico (4-15°C), mesofílico (20-40°C) y termofílico (50-70°C) [9]. El rango de temperaturas mesofílico (30-35°C) es el más implementado a nivel industrial, debido a que resulta más sencillo el control del proceso de digestión anaerobia además de suponer menores costes operativos [9].
- pH, alcalinidad y AGV. Estos parámetros suelen evaluarse en conjunto para garantizar la correcta monitorización y estabilidad del proceso de digestión anaerobia. Las *Archaea* metanogénicas son muy sensibles a las variaciones del pH, situándose un valor óptimo entre 6,6-7,4 para la producción de metano, no obstante el rango de pH óptimo depende del tipo de microorganismos y sustratos involucrados en la digestión anaerobia [9].

Existen dos factores que afectan al pH en los procesos anaerobios, la concentración de bicarbonato (alcalinidad) y los AGV. Desde el punto de vista operativo, es deseable que la alcalinidad se mantenga en niveles elevados, para que en caso de producirse altas concentraciones de AGV puedan estar tamponadas sin causar una caída sustancial en el pH, que podría provocar inestabilidad e incluso inhibición del proceso.

1.3. Co-digestión anaerobia

Con el objetivo de mejorar el proceso de digestión anaerobia de fangos de EDAR, se han realizado estudios acerca de emplear como alternativa la co-digestión anaerobia con otros residuos [15].

Concretamente, el proceso de co-digestión puede definirse como el tratamiento de dos o más residuos de diferente naturaleza, reportando beneficios sobre el proceso aprovechando la complementariedad de las composiciones de varios flujos de desechos. Este proceso puede suponer ventajas tanto económicas como técnicas [16–19], como puede ser un aumento en el potencial metanogénico, una mejora de la estabilidad del proceso o la posibilidad de utilizar residuos cuyo tratamiento de forma aislada no es viable. Además, la combinación de diferentes residuos puede provocar una mejora en cuanto a la cantidad de nutrientes, es decir, en el ratio C/N. El ratio óptimo varía según el tipo de residuos que se vaya a co-digerir, no obstante el valor general oscila entre 20/1 a 30/1 [20,21].

Un factor importante para la buena consecución de la co-digestión, es la correcta elección del co-sustrato ya que para aumentar la producción de metano en residuos con un elevado contenido en materia orgánica recalcitrante, se debe emplear un co-sustrato con una abundante materia orgánica que sea fácilmente biodegradable. Y en el caso contrario, donde se tenga un residuo fácilmente biodegradable, se recomienda utilizar un sustrato cuyo componente mayoritario sea más lentamente biodegradable, para disminuir la acumulación de AGV que afectarían al proceso. Por esto, la co-digestión de residuos orgánicos con lodos de depuradora mejora sustancialmente el proceso debido a su contenido en micro y macronutrientes, mejoran la relación C/N y facilitan el ajuste del contenido en humedad [22]. Existen numerosos estudios de co-digestión con fangos de depuradora, como puede ser con la fracción orgánica de residuos sólidos urbanos (FORU) [23], empleando pulpa de remolacha azucarera [24] o utilizando fango deshidratado con distintos co-sustratos como: residuo vegetal de alcachofa, harinas cárnicas o aguas de glicerina [11]. No obstante, en ninguno hasta ahora, se ha empleado como co-sustrato para la co-digestión con lodos de depuradora la fracción líquida obtenida tras la carbonización hidrotermal de lodo secundario de EDAR.

1.4. Tratamientos térmicos aplicables a los lodos de EDAR

Atendiendo a las características que presentan los fangos de depuradora (contenido en agua y contaminantes), se pueden emplear distintas técnicas de tratamiento. Entre ellas, se encuentran los tratamientos térmicos que aparecen a continuación.

1.4.1. Combustión

Se trata de una oxidación rápida del material combustible (fango de depuradora) con desprendimiento de calor, empleando un comburente (aire). El proceso ocurre a temperaturas entre 850 y 1.200°C, en presencia de un exceso de oxígeno (>99,99%) para lograr que toda la fracción orgánica presente pase al estado gaseoso. El rendimiento de conversión energético global es alrededor del 20% [15].

Ante una combustión de fangos de depuradora, deben tenerse en cuenta una serie de requerimientos, como son [25]:

- Precalentar el aire de combustión.
- Acondicionar la cámara de combustión para garantizar condiciones lo más adiabáticas posibles. Por tanto, el horno debe llevar un aislamiento térmico muy eficaz.
- Asegurar el mínimo porcentaje de inquemados mediante la elección del correcto tiempo de residencia de los residuos en el horno.

1.4.2. Gasificación

La gasificación es un proceso en el que mediante oxidación parcial de una materia prima sólida, generalmente, se convierte en un gas con moderado poder calorífico. Se suele trabajar entre un 20-30% de oxígeno, a temperaturas del orden de los 600 a 1.100°C [25]. El rendimiento de conversión energético global es alrededor del 23,7% [15].

El gas obtenido, previamente depurado, se denomina gas de síntesis (H_2+CO_2) y puede emplearse como combustible en calderas, motores, turbinas o pilas de combustible. Las cenizas obtenidas del proceso, pueden valorizarse utilizándolas como material de construcción o como fertilizante, entre otras aplicaciones [15,25]. Para el caso concreto de lodos de EDAR, se suelen emplear principalmente reactores de lecho fluidizado, en los que se debe prestar especial atención a la humedad y cantidad de materia inorgánica presente en el fango [15].

1.4.3. Pirólisis

La pirólisis se trata de la descomposición térmica de la materia orgánica en ausencia de oxígeno. El rendimiento de conversión energético global es alrededor del 11,6% [25].

Los compuestos carbonosos del residuo se descomponen dando lugar a tres fracciones: gaseosa (H_2 , CO, CH_4 , C_2H_6 y C_2H_4). No obstante, la proporción de estos gases varía según el tipo de fango de EDAR y del contenido en humedad), líquida (hidrocarburos condensables) y sólida (residuo carbonoso o *char*) [15]. El tipo de proceso de pirólisis se elige atendiendo a la fracción que se desee obtener de manera mayoritaria, realizándose la ruta convencional a una

temperatura de 500°C [25]. En el caso particular de fangos de EDAR, el proceso se vuelve especialmente complejo debido a la diferente naturaleza de los componentes que los forman.

1.4.4. Carbonización hidrotermal (HTC)

La carbonización hidrotermal (HTC, siglas en inglés de *Hydrothermal Carbonization*) resulta un método muy efectivo para transformar biomasa con gran contenido en humedad (75-90%), a temperaturas relativamente suaves, en un producto principalmente carbonoso denominado comúnmente *hidrochar* [26,27]. Esta técnica lleva empleándose desde hace más de un siglo para simular las carbonizaciones naturales, situándose las investigaciones en los últimos años para evaluar su viabilidad y descubrir posibilidades en nuevas aplicaciones [28].

Se trata de un proceso exotérmico desarrollado a temperaturas entre 180-250°C, a presiones entre 9-37 bares (autógenas) para mantener el agua por encima de su punto de ebullición, con pH por debajo de 7 y tiempos de residencia entre 1-72 h [28,29].

El mecanismo del proceso HTC está formado por reacciones de hidrólisis, deshidratación, descarboxilación, polimerización por condensación y aromatización, las cuales tienen lugar simultáneamente formando un mecanismo complejo de reacciones [28].

De forma general, el proceso HTC da como resultado un producto distribuido en tres fases diferentes: una sólida o *hidrochar*, una líquida y una gaseosa [28]. La proporción de cada una de ellas dependerá del tipo de biomasa, contenido en humedad inicial y de las condiciones de operación.

La fase gaseosa se encuentra formada fundamentalmente por CO₂, CO, CH₄ e H₂ [29].

El producto sólido obtenido, contiene una densidad energética que le dota de unas características similares a las del carbón [30]. Tras diversos estudios experimentales del *hidrochar*, se ha obtenido que se trata de un producto adecuado para emplearse como combustible, adsorbente y precursor de carbón activado [27-29].

La fase líquida está formada por compuestos orgánicos e inorgánicos (azúcares y derivados, ácidos orgánicos, compuestos fenólicos y furánicos), la mayor parte de los cuales tienen potencial como precursores químicos y por ello si no son recuperados, se considera una pérdida en el rendimiento del proceso. Los tratamientos biológicos aerobios y anaerobios, se han mostrado eficaces para reducir la carga orgánica del efluente líquido obtenido tras el proceso HTC, reduciendo en gran medida los niveles de carbono orgánico total (COT), demanda química de oxígeno (DQO) y demanda biológica de oxígeno (DBO₅) [28].

En cuanto a las principales ventajas que presenta la carbonización hidrotermal en comparación con otros tratamientos térmicos, son [28,30,31]:

- Los requerimientos energéticos son menores, debido a las temperaturas de trabajo empleadas.
- Permite procesar biomasa con gran contenido en humedad, lo que resulta un factor limitante para el resto de tecnologías en las que habría que aplicar un secado previo, incrementando los costes del proceso. Además, puede emplearse prácticamente cualquier tipo de biomasa y permite procesar desechos complicados de eliminar actualmente, que resultan nocivos para el medio ambiente.
- Se obtiene un producto sólido rico en carbono, cuyas características y propiedades lo hacen idóneo para una gran cantidad de aplicaciones, además de las descritas anteriormente puede emplearse como: enmienda del suelo, fuente de energía e incluso como almacenamiento de energía y/o hidrógeno.
- Estudios han identificado posibles beneficios ambientales asociados al uso de HTC, tales como una reducción en las emisiones de gases de efecto invernadero (GEI), en comparación al resto de tecnologías y la no emisión de olores y ruidos, al tratarse de un sistema cerrado. Además, no compite con el sector alimenticio ya que emplea residuos biogénicos, reportando una eficiencia de transformación de carbono del 100%.

En cuanto a las desventajas que supone emplear la carbonización hidrotermal, vienen dadas principalmente por la correcta gestión de la fracción líquida obtenida tras el proceso. Es necesario tratar esta fracción debido a que puede ocasionar problemas electromecánicos en los equipos. Como ya se ha comentado anteriormente, este residuo está formado por una gran cantidad de compuestos orgánicos, pudiendo valorizarse éstos mediante digestión anaerobia para degradar la materia orgánica que contiene. Además, el tratamiento anaerobio de esta fracción lleva asociado la producción de biogás, pudiéndose aprovechar éste como combustible, entre otros usos [26,28,32].

Actualmente, la pirólisis se trata del competidor directo de la carbonización hidrotermal para el tratamiento de la biomasa [27]. No obstante, la carbonización hidrotermal se trata de una tecnología cada vez más utilizada debido a las ventajas y beneficios que reporta en el proceso de conversión de biomasa. La planta pionera en emplear este tipo de tecnología en el mundo se instaló en Alemania por la compañía AVA-CO2 en el año 2010 [33]. Y más concretamente en España, comenzó a operar la planta de carbonización hidrotermal de biomasa situada en Valencia, por la compañía Ingelia en el mismo año [34].

OBJETIVOS

El objetivo principal del proyecto, es la evaluación de la co-digestión anaerobia como alternativa para el tratamiento de la fracción líquida obtenida tras la carbonización hidrotermal (HTC) de fangos secundarios biológicos de depuradora, empleando como co-sustrato fango primario. Se emplearán distintas relaciones de concentraciones de ambos sustratos y una relación inóculo/sustrato de 2 gDQOinóculo/gDQOsustrato.

Además, se valorarán los siguientes puntos:

- Comparación de dos inóculos anaerobios, lodo floculento de EDAR y lodo granular, para llevar a cabo la co-digestión de líquido HTC con fango primario.
- Caracterización de ambos inóculos y el sustrato fango primario atendiendo a los análisis de sólidos totales, sólidos volátiles, DQOt, pH, y NTK.
- Caracterización de la fracción líquida de HTC de lodos secundarios de EDAR empleada como sustrato, mediante los análisis de DQOt, COT, pH y NTK. Además, se realizará un estudio de identificación de compuestos químicos mediante cromatografía de gases y espectrometría de masas.
- Evaluación de la correcta consecución del proceso de digestión anaerobia, mediante el estudio de diferentes parámetros de forma periódica a lo largo de la experimentación, como son pH, alcalinidad, AGV, NTK, nitrógeno amoniacal, carbohidratos y DQOs.
- Evaluación de la producción específica de metano mediante la metodología BMP (*Biochemical Methane Potential*).

2. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL, MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Obtención y caracterización de los sustratos

Uno de los sustratos empleados en la co-digestión, ha sido la fracción líquida obtenida tras someter al proceso de carbonización hidrotérmica a un fango secundario procedente de un biorreactor de membrana de una depuradora de la industria cosmética de la Comunidad de Madrid [35].

El proceso se llevó a cabo a 208°C durante una hora, en un reactor tipo batch de acero inoxidable de 4 litros de capacidad, marca Zipper Clave. El contenido en humedad del fango secundario utilizado fue del 75%. El reactor se calentó eléctricamente con una rampa de calentamiento de 3°C/minuto, hasta alcanzar la temperatura de trabajo. Para finalizar la

operación, se enfrió mediante un intercambiador de calor, empleando como refrigerante agua de la red pública.

El *hidrochar* obtenido fue separado de la fase líquida utilizando una centrífuga marca Orto Alresa programada a 3.600 rpm durante 60 minutos. La caracterización del sustrato se obtuvo realizando los análisis de DQOt, COT, pH y Nitrógeno Total Kjeldahl (NTK).

El otro sustrato empleado para la co-digestión fue fango primario (FP) procedente de una EDAR de la Comunidad de Madrid. Para su caracterización se realizaron los análisis de sólidos totales, sólidos volátiles, DQOt, pH y NTK.

Todas las muestras se analizaron por triplicado, excepto el pH.

2.2. Obtención y caracterización de los inóculos

En el ensayo I, se utilizó un lodo floculento anaeróbico (digestato) procedente de un biodigestor, que trata fangos residuales de una EDAR municipal de la Comunidad de Madrid. De aquí en adelante, este inóculo se ha denominado con la nomenclatura lodo EDAR (LE).

En el ensayo II, se utilizó lodo granular (LG) procedente de un reactor anaeróbico de flujo ascendente (más conocido como UASB, *Upflow Anaerobic Sludge Blanket*), que opera en régimen mesofílico para tratar los efluentes generados en el procesado de una industria cervecera.

Para la caracterización de los inóculos se realizaron los análisis de sólidos totales, sólidos volátiles, DQOt, pH y NTK (todas las muestras se analizaron por triplicado, excepto el pH).

2.3. Ensayos de determinación de potencial bioquímico de metano

Para determinar la cantidad de metano producido de los sustratos orgánicos durante la co-digestión anaerobia, se realizó el ensayo BMP (*Biochemical Methane Potential*) o también llamado de potencial metanogénico [36,37].

Para la realización de los ensayos se emplearon como reactores, viales de 120 mL de capacidad siendo el volumen de trabajo de 60 mL. Para llevar a cabo la digestión anaerobia se introdujo en cada vial el inóculo correspondiente, sustratos, solución de macro/micronutrientes [38] y agua desionizada. Se fijó la concentración de inóculo en 10 gDQO/L y se utilizó una relación inóculo/sustrato de 2, con lo que la DQOt del sustrato añadido en cada vial fue de 5 gDQO/L.

Posteriormente, los viales se sellaron con tapones especiales para evitar fugas de gases volátiles y fueron gasificados con N₂ durante 2-3 minutos para eliminar el oxígeno de su interior. En la Figura 2, puede verse un esquema del montaje del reactor:

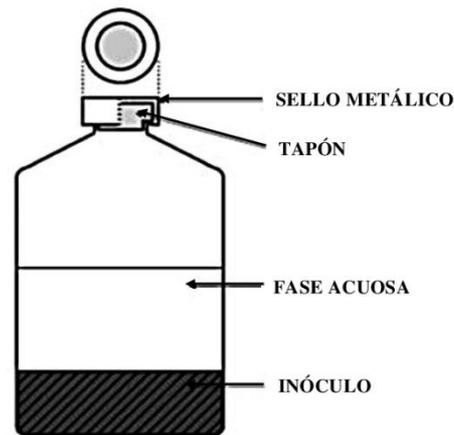


Figura 2. Viales empleados en el ensayo BMP [39]

Tras el curso de la experimentación, los viales se mantuvieron en un baño con una agitación de 80 rpm en un rango de temperaturas mesofílico ($35\pm 1^{\circ}\text{C}$) y además, fueron agitados manualmente a diario para evitar problemas difusionales.

Para cada condición estudiada se prepararon 8 reactores: 5 para el análisis de la fase líquida y 3 para el análisis del biogás. Además, se prepararon 3 blancos para cada condición de estudio y 3 controles con cada tipo de inóculo, no obstante a los blancos y controles únicamente se les hizo un seguimiento de la producción y composición de biogás. En la Tabla 1, pueden verse las distintas condiciones estudiadas, expresadas en porcentaje de DQO:

Tabla 1. Condiciones ensayos BMP expresadas en porcentaje de DQO

	% HTC	% FP
Condición 1	100	0
Condición 2	75	25
Condición 3	50	50
Condición 4	25	75
Condición 5	0	100

Las condiciones que aparecen en la Tabla 1, se hicieron para cada uno de los inóculos, es decir, se montaron un total de 92 reactores. Los viales que contenían los blancos permitían cuantificar el biogás generado por posibles sustratos residuales presentes en los inóculos, para posteriormente restárselo al resto de condiciones y obtener la producción neta (véase apartado 7.1.). Los controles se montaron usando un sustrato simple (almidón), para comprobar que el proceso de digestión se estaba desarrollando correctamente.

Los viales destinados al seguimiento de la fase líquida fueron sacrificados periódicamente en intervalos entre 3 y 7 días, siendo más cortos al comienzo de la experimentación, para

estudiar el progreso de los diferentes parámetros químicos que caracterizan la evolución de la digestión anaerobia en la fase soluble.

Las muestras se centrifugaron a 3.500 rpm durante 15 minutos en una centrífuga marca Orto Alresa y posteriormente, se filtraron a través de filtros de microfibras de vidrio de 47 mm con el equipo de filtración marca Millipore. Una vez filtradas las muestras, se determinaron los siguientes parámetros presentes en la fase soluble: pH, alcalinidad, AGV, DQOs, carbohidratos, nitrógeno amoniacal y NTK, este último parámetro únicamente se determinó en las muestras inicial y final.

El análisis de la producción de biogás se realizó en periodos de entre 1 y 15 días, efectuando un total de 15 medidas para el primer ensayo y 17 medidas para el segundo, siendo de nuevo, los periodos más cortos al inicio de la experimentación. Tras los análisis de biogás, se obtuvieron datos de incrementos de presión y de composición, los cuales se usaron posteriormente para conocer el volumen total de biogás producido en cada periodo de tiempo y el volumen de metano generado. Los ensayos se dieron por finalizados, cuando la presión interna de los reactores anaerobios dejó de aumentar y la producción de metano se hizo nula.

Para simplificar la denominación de los ensayos, la nomenclatura será en base al porcentaje usado de cada sustrato. Por ejemplo, la denominación 100 HTC - 0 FP, hace referencia a un 100% de sustrato HTC y un 0% de sustrato fango primario.

2.4. Métodos analíticos y equipos

En los siguientes puntos, se van a describir los métodos y técnicas empleados para determinar los diferentes parámetros de estudio.

2.4.1. Sólidos totales, volátiles y fijos

Los sólidos totales (ST) y volátiles (SV) se realizaron según los métodos estándar 2540B y 2540E [40]. El valor de los sólidos fijos (SF) se calculó a partir de los ST y SV (Ec. 3).

2.4.2. DQO refluo abierto y refluo cerrado

La determinación de la DQO en refluo abierto se realizó para las muestras con alto contenido en materia orgánica mediante digestión, empleando un digestor de la compañía SELECTA® y posterior valoración con sulfato amónico ferroso (FAS) 0,5N, usando como indicador ferroina [41].

La DQO mediante digestión cerrada, se realizó siguiendo el método estándar colorimétrico 5520-D [40]. La absorbancia se obtuvo mediante un espectrofotómetro modelo UV-6000PC de Jinan Precision Testing Equipment® a una longitud de onda de 600 nm.

2.4.3. Carbono Orgánico Total (COT)

La determinación analítica del COT se ha realizado en base al método de combustión infrarrojo según el método estándar 5310-B [40]. Empleando para ello un analizador de Carbono Orgánico Total, marca Shimadzu modelo TOC-V_{CPN}.

2.4.4. Carbohidratos

Para la determinación de los carbohidratos, se empleó un método colorimétrico [42] en el que la absorbancia se obtuvo mediante un espectrofotómetro modelo UV-6000PC de Jinan Precision Testing Equipment® a una longitud de onda de 490 nm.

2.4.5. pH y alcalinidad

El pH se determinó mediante un pH-metro modelo Crison 20 Basic manteniendo la muestra en constante agitación magnética. La alcalinidad total se obtuvo mediante titración hasta pH 4,3 y la parcial hasta 5,75 empleando un titrador automático modelo Titroline Easy Titrator de Schott Instruments® utilizando H₂SO₄ 0,02 N como agente valorante [43].

2.4.6. Ácidos Grasos Volátiles (AGV)

Los AGV de C₂-C₇, incluyendo las formas iso-, fueron analizados mediante un cromatógrafo de gases marca Varian 430-GC equipado con un detector ionización de llama (FID). La columna capilar utilizada fue de sílice fundida marca NUKOL® con unas dimensiones de 30m de longitud, 0,25mm de diámetro interno y grosor de 0,25µm. La temperatura se incrementó de 120 a 160°C con una rampa de calentamiento de 10°C/min. Siendo helio el gas portador empleado y el gas auxiliar nitrógeno [44].

2.4.7. Nitrógeno Total Kjeldahl (NTK) y nitrógeno amoniacal

El NTK se determinó mediante digestión empleando una unidad de Kjeldahl completa (bomba de vacío, termorreactor y gradilla) de la compañía SELECTA®.

Para la destilación del nitrógeno amoniacal y NTK se empleó un destilador automático Pro-Nitro A Automatic Kjeldahl Steam Distillation System de SELECTA®. Posteriormente, la valorización se realizó de acuerdo al método estándar 4500-E [40].

2.4.8. Contenido en metales y análisis elemental

El contenido en metales del FP, LE y LG, se determinó mediante espectroscopía de emisión atómica con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS), usando para ello el equipo modelo Elan 6000 Sciex Perkin Elmer [45]. Para el análisis elemental de las mismas se utilizó un analizador LECO CHNS-932. El contenido en oxígeno se determinó por diferencia con

respecto a C, H, N, S y el contenido en cenizas de cada muestra, siguiendo el método estándar ASTM D3174-12.

2.4.9. Cromatografía de gases y espectrometría de masas (CG-EM)

La identificación de especies químicas presentes en la fase líquida de HTC, fue realizada mediante el equipo Varian CP-3800/Saturn 2200, con un inyector tipo Varian CP-8200 y un microextractor de la fase sólida tipo Yellow-Green Carbowax/Divinylbenzene. Para la fase estacionaria se utilizó una columna capilar tipo Factor Four VF-5ms. El gas portador fue helio y la inyección de la muestra se llevó a cabo a 220°C. Las identificaciones se evaluaron con la base de datos que ofrecía la biblioteca NIST [46].

2.4.10. Volumen y composición de biogás

El volumen de metano se determinó a partir de la medida de la presión generada en los reactores, mediante un lector de presión electrónico modelo PN7097 de Ifm® (véase apartado 7.1.). La composición del biogás (H₂S, CO₂ y CH₄) se determinó mediante cromatografía de gases empleando un cromatógrafo TRACE 1310 Auxiliar Oven Thermo Scientific con un detector de conductividad térmica (TCD) a 150°C. La temperatura de la columna se mantuvo a 50°C y se utilizó como gas portador helio.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Caracterización

Los resultados tras la caracterización de inóculos y sustratos se muestran en la Tabla 2:

Tabla 2. Caracterización de inóculos y sustratos empleados

	LE	LG	FP	HTC
ST (%)	2,1±0,1	4,6±0,1	5,3±0,1	-
SV (%)	65,8±0,3	87,5±0,1	86,0±0,1	-
SF (%)	34,2±0,3	12,5±0,1	14,0±0,1	-
pH	6,93	7,20	4,92	4,90
DQOt (g O ₂ /L)	24,8±0,8	49,6±7,6	78,9±4,2	110±2,3
NTK (g N/L)	3,9±0,2	5,1±0,1	3,8±0,3	8,4±0,6
P (mg/g)	19,6	11,1	20,3	-
COT (g C/L)	-	-	-	31,7

Como se puede observar en la Tabla 2, la cantidad de sólidos totales en los lodos granulares procedentes de la industria cervecera son mayores que para el lodo EDAR [47]. Asimismo los valores de DQOt y NTK, son también superiores para el lodo granular en comparación con el lodo EDAR.

En cuanto a los valores de pH obtenidos, puede verse cómo ambos sustratos presentan un pH ácido. Comparando ambos sustratos, el líquido HTC contiene mayor DQOt y NTK que el fango primario, debido a la gran cantidad de compuestos orgánicos y nitrogenados que presenta [26,35,48].

Para completar la caracterización de la fracción líquida de HTC, se identificaron los principales compuestos que forman parte de este sustrato mediante la técnica de cromatografía de gases con espectrometría de masas. El cromatograma obtenido es el que se muestra a continuación, en el que se han identificado los picos más importantes:

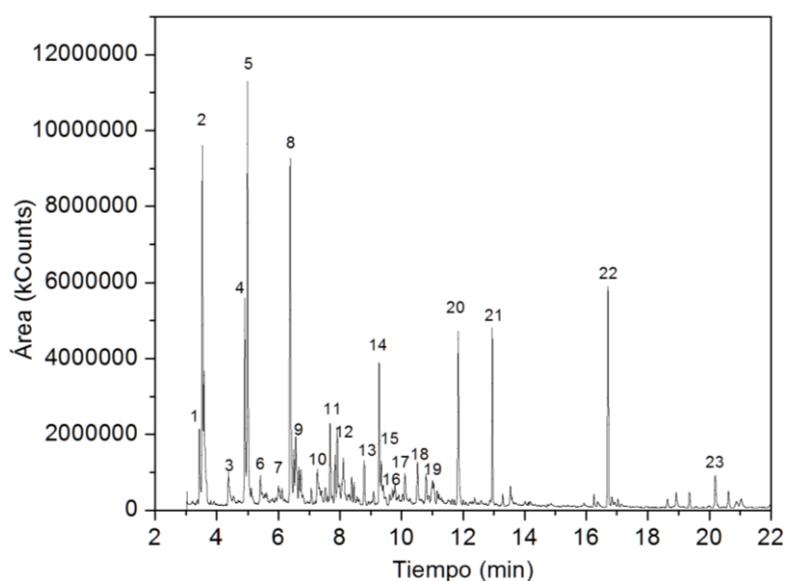


Figura 3. CG-EM para la fracción líquida de HTC

A continuación, se muestra cada pico asociado a la especie química correspondiente:

Tabla 3. Principales componentes en la fracción líquida HTC mediante CG-EM

Nº	Componente	Nº	Componente	Nº	Componente
1	2,5-Dimetilfurano	9	4,5-Dimetil-orto-fenilenodiamina	17	2(1H)-Quinoxalinona
2	4-Pentaloxianilina	10	12,13-Dihidro-7H-dibenzo(a,g)carbazol	18	1-Butanamina
3	N-Acetilcolchinometileter	11	1,2,3,5-Tetrametil-benceno	19	4-Metoxicinamaldehido
4	2-Etil-5-metilpirazina	12	Ácido benzoico	20	2-Metil-5-(1-metiletil)-fenol
5	3-Metoxibenzenamina	13	2,5-Dimetil-3-propil pirazina	21	4-Metoxicinamaldehido
6	2-Etil,1-hexanol	14	2-Metil-6-(2-propenil)-fenol	22	Benzofenona
7	Alcohol olefíco	15	Ácido acético	23	Ácido butil 2-etilexiléster 1,2-Bencenodicarboxílico
8	N,N-Dimetil 1,4-benzenodiamina	16	1H-pirrol, 3-etil-2,4-dimetil-		

Se han seleccionado los picos más representativos atendiendo a la probabilidad de aparición y las especies químicas más comunes encontradas en bibliografía [26,28,46,49–51]. No obstante, no aparecen todos los compuestos que forman parte de la fase acuosa y algunos de los que no se han identificado pueden corresponder a productos intermedios refractarios.

Atendiendo a los resultados, puede comprobarse cómo la fracción líquida obtenida tras la carbonización hidrotermal está formada por una mezcla bastante compleja de diferentes compuestos orgánicos. Entre ellos se encuentran ácido acético, ácido benzoico, alquenos, compuestos fenólicos y aromáticos. Además, se observan compuestos como aldehídos, furanos, pirroles, pirazinas y piridinas.

3.2. Análisis elemental y metales

En la Tabla 4, se muestran los resultados obtenidos en el análisis elemental de los diferentes inóculos y el fango primario, utilizados durante la experimentación:

Tabla 4. Análisis elemental de inóculos y fango primario

Elemento (%)	LE	LG	FP
C	43,6±0,4	45,6±0,3	43,0±0,4
H	6,1±0,1	6,6±0,2	6,1±0,1
N	4,2±0,2	9,8±0,1	4,2±0,3
S	0,7±0,1	0,8±0,02	0,6±0,02
O*	40,4±0,3	36,1±0,5	44,9±0,7
Cenizas	5,0±0,5	1,1±0,1	1,2±0,1

* Por diferencia: $O (\%) = 100 - (\%C + \%H + \%N + \%S + \%Cenizas)$

Los resultados anteriores muestran que el contenido en C, H, N y S para el lodo EDAR y el sustrato fango primario son bastante similares, en comparación con el lodo granular que se distancia de éstos. Mientras que el contenido en cenizas es superior para el lodo EDAR.

En la Tabla 5, se muestra el análisis del contenido en metales de los dos inóculos y el fango primario:

Tabla 5. Contenido en metales de los inóculos y fango primario

Compuesto (mg/g)	LE	LG	FP	Compuesto (mg/g)	LE	LG	FP
				Ca	39,2	41,7	33
Na	3	3,5	3,1	Ti	1,4	1,8	1,5
Mg	3,7	4,5	3,8	Fe	24,8	12,9	28,5
Al	8,9	14,3	9,5	Cu	0,4	0,5	0,4
Si	34,3	36,2	32,8	Zn	0,8	1,3	0,8
K	4,7	5,5	4,9	Pb	0,1	0,1	0,1

La Orden AAA/1072/2013, sobre utilización de lodos de depuración en el sector agrario [52], recoge los valores límite para los metales más nocivos presentes en los lodos de depuradora,

siendo éstos Ni, Cu, Zn, Cd y Pb. En las muestras analizadas, la concentración de estos metales se encuentra muy por debajo del límite establecido. Además, tras el análisis no se detectó la presencia de cromo, níquel ni cadmio.

3.3. pH y alcalinidad

El seguimiento del pH permite controlar cómo se está produciendo la digestión anaerobia, debido a que para que ésta tenga lugar el pH debe encontrarse entre unos valores óptimos que impidan que ocurra la inhibición de la actividad de los microorganismos productores de metano [9]. En la Figura 4, puede verse la evolución del pH obtenido para cada ensayo a lo largo de la experimentación:

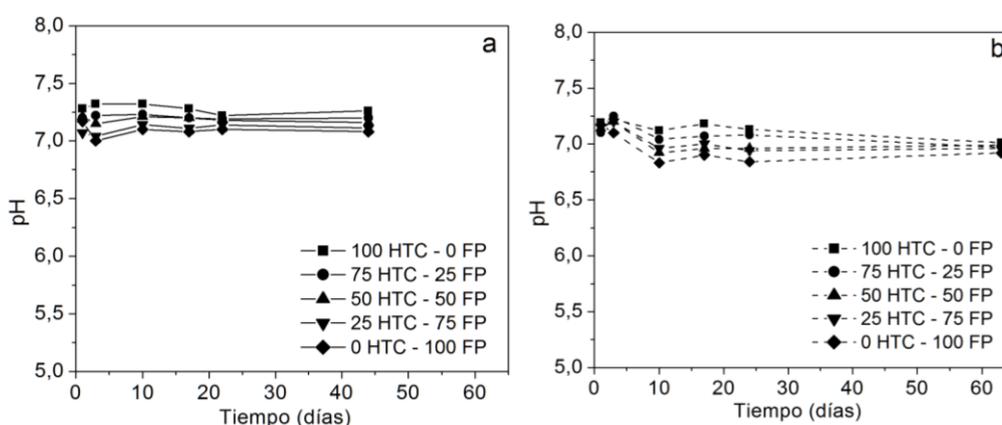


Figura 4. Evolución del pH. Figura a) con inóculo LE, Figura b) con inóculo LG

Como puede verse, para ambos ensayos el valor del pH se ha mantenido en una tendencia relativamente constante y estable durante el desarrollo de los experimentos, variando entre 6,8 y 7,3 el cual es el rango óptimo para el desarrollo de las *Archaea* metanogénicas [53]. Esto se debe a que se han realizado los ensayos en las condiciones adecuadas para favorecer la etapa metanogénica y por tanto, ésta ha tenido lugar correctamente sin producirse efectos inhibidores por pH inadecuados.

La metanogénesis puede quedar totalmente inhibida a pH inferiores a 6,5, debido a que las *Archaea* metanogénicas son extremadamente sensibles a variaciones de éste, por ello es de gran importancia que el pH del medio se mantenga en niveles adecuados [54,55]. Que tenga lugar cierta acidificación en el proceso de digestión anaerobia, puede deberse a velocidades diferentes entre los microorganismos generadores (acidogénicos) y consumidores (metanogénicos) de ácidos [53].

En un proceso de digestión anaerobia bien equilibrado, casi todos los productos de una etapa metabólica se utilizan como sustrato en la etapa siguiente, sin que tenga lugar acumulación

significativa de compuestos intermedios tales como ácidos grasos volátiles, que causarían una caída de pH [22]. No obstante, atendiendo a la Figura 4, el descenso inicial del pH que tiene lugar en ambos ensayos, se produce debido a la etapa de hidrólisis inicial de la digestión anaerobia.

Para ambos ensayos, el valor del pH más alto corresponde al reactor con mayor contenido de fracción HTC, produciéndose una disminución de pH progresiva a medida que disminuye el contenido en éste. Esto se debe a los componentes que forman parte de la fracción líquida de HTC como aparece en la Figura 3, que lo hacen más difícilmente hidrolizable [26].

La regulación adecuada del pH en los reactores anaerobios viene dada fundamentalmente por el bicarbonato (alcalinidad bicarbonática), generado a partir del CO_2 presente en el medio y tras la degradación de las proteínas. La alcalinidad del medio refleja la capacidad tamponadora de éste para evitar variaciones bruscas en el pH, que puedan afectar gravemente al proceso. Para garantizar una correcta capacidad tampón en los sistemas anaerobios, se debe mantener una alcalinidad mínima de $1.500 \text{ mgCaCO}_3/\text{L}$, para evitar así posibles desviaciones por acumulación de ácidos orgánicos y disminución de pH [56]. No obstante, el valor óptimo de alcalinidad se encuentra alrededor de los $2.500 \text{ mgCaCO}_3/\text{L}$ [14]. Se expresa en unidades de carbonato cálcico o bicarbonato, debido a que la digestión anaerobia se encuentra fuertemente influenciada por la presencia de estos compuestos. En la Figura 5, puede verse la evolución de la alcalinidad para ambos experimentos:

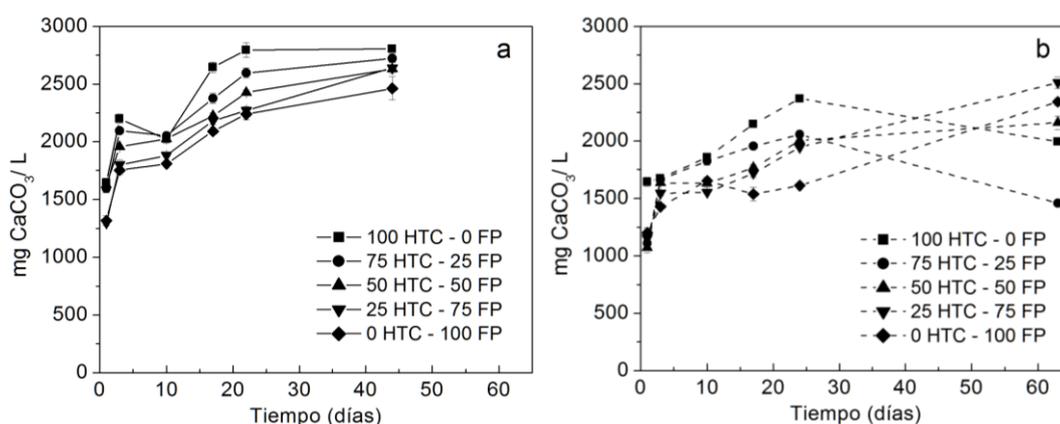


Figura 5. Evolución de la alcalinidad. Figura a) con inóculo LE, Figura b) con inóculo LG

Atendiendo a los resultados obtenidos, puede verse cómo se va incrementando el valor de la alcalinidad en ambos ensayos. Esto se debe a que durante el proceso de digestión anaerobia, se ha ido produciendo una disminución en la cantidad de AGV, esto puede ocasionar una caída en el pH del sistema, por lo que la alcalinidad se verá aumentada para contrarrestar esa disminución. Las *Archaea* metanogénicas, producen alcalinidad en la forma de CO_2 , NH_3 y

HCO_3^- [54]. Que tenga lugar un aumento de la alcalinidad total en el proceso, garantiza una correcta capacidad tamponadora a lo largo de la experimentación. Además, los valores de alcalinidad se han mantenido en los niveles adecuados para la correcta consecución del proceso de digestión anaerobia [14,56].

Los valores mayores de alcalinidad se alcanzan para las muestras con mayor concentración en la fracción líquida HTC, como ocurre con el valor más alto de pH que alcanzan estas muestras. No obstante, para el ensayo II, se detectó una disminución de la alcalinidad para las muestras 100 HTC y 75 HTC en el día 63, lo que viene relacionado con la disminución del pH que se produjo en estas mismas muestras.

Comparando los valores de alcalinidad obtenidos para ambos ensayos de co-digestión, se puede observar cómo ambos se mueven entre límites similares. No obstante, el contenido en AGV inicial para el inóculo LE es inferior al LG como puede verse en el apartado 3.4., por ello los valores de alcalinidad para el primer inóculo resultan ser alrededor de un 18% mayores que para el segundo, al producirse en éste cierta acidificación por la mayor cantidad en ácidos grasos volátiles.

3.4. Ácidos Grasos Volátiles

Los ácidos grasos volátiles se generan durante la etapa de acidogénesis/acetogénesis de la digestión anaerobia, son componentes intermedios que sirven a las bacterias acidogénicas y acetogénicas para producir acetato, que posteriormente emplearán las *Archaea* metanogénicas para la generación de metano. El estudio de los AGV es frecuentemente utilizado para evaluar la evolución del balance entre las distintas especies de microorganismos anaerobios y asegurar así, las condiciones propicias para el adecuado desarrollo de la digestión anaerobia. Para garantizar una correcta monitorización del proceso, se evalúa la producción de AGV junto con el pH y alcalinidad [53].

Los AGV más importantes implicados en la producción de metano son los llamados de cadena corta (C_2 - C_6). Aproximadamente, un 30% de los componentes orgánicos se transforman en ácido propiónico. No obstante, el ácido acético es el más abundante, siendo el precursor de alrededor de un 72% del metano producido. El 15% del metano restante es generado a partir de otros ácidos, tales como fórmico y butírico [9]. A continuación, se muestran los resultados de la evolución de los AGV total para ambos ensayos, expresados como mg DQO/L:

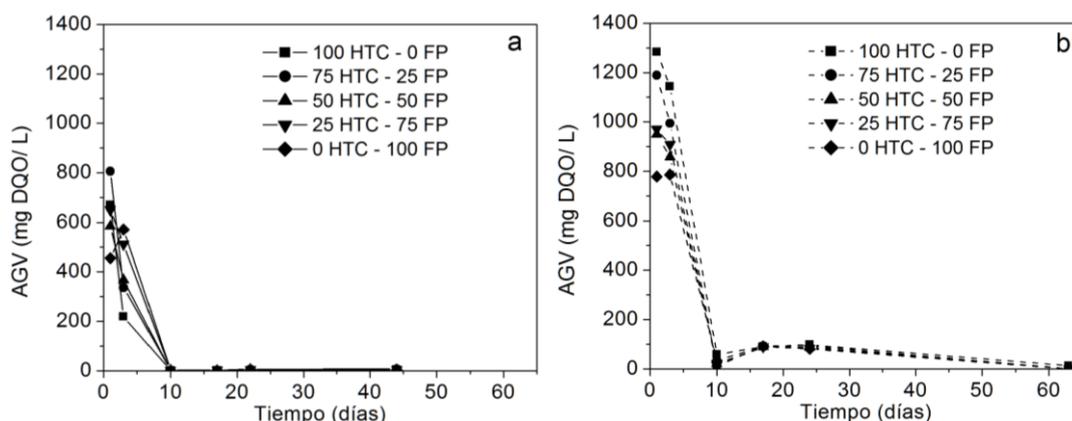


Figura 6. Evolución de los AGV. Figura a) con inóculo LE, Figura b) con inóculo LG

Observando ambas gráficas puede verse cómo la concentración de AGV desciende bruscamente para el día 10 de la experimentación. Esto se debe a que los microorganismos emplean los AGV para convertirlos en acetato y posteriormente a metano. Estudios han demostrado que, la conversión de ácidos grasos volátiles a metano se produce en el orden de ácido propiónico - ácido butírico - etanol - ácido acético, por tanto todos los AGV se transforman primero a ácido acético, para posteriormente descomponerse éste a metano [57].

Los resultados obtenidos muestran que la digestión anaerobia se desarrolla adecuadamente, ya que a medida que disminuye la concentración de AGV, se va produciendo un incremento en el volumen de metano obtenido. No obstante, para el ensayo II se produce un pequeño aumento de los AGV para el día 20. Esta acumulación puede deberse a la disminución de la velocidad de degradación de los mismos por parte de las bacterias acetogénicas, lo que puede causar acidificación en el proceso y consecuentemente una disminución en el rendimiento de metano [58]. No obstante, esto no ocurre, ya que para este día se siguen teniendo condiciones de pH y alcalinidad adecuadas que han garantizado un buen rendimiento de metano. Además, en estudios anteriores, se ha comprobado que la inhibición por AGV no ocurre hasta valores por encima de 1.500 mg/L (expresados en ácido acético) [59] y para ninguno de los ensayos se ha superado dicho valor.

En ambos experimentos, se ha obtenido que la mayor cantidad de ácidos se obtiene para las muestras con mayor contenido en HTC. Esto se debe a la presencia de ácidos orgánicos de alto peso molecular presentes en la fracción líquida HTC, que resultan difícilmente degradables por los microorganismos y por ello para estas muestras, se produce un menor rendimiento de metano [26].

Comparando ambos inóculos, se puede observar que la concentración inicial de AGV es superior empleando como inóculo el LG, no obstante no se observa una disminución de pH que resulte inhibitoria o excesiva, debido a que los valores obtenidos de alcalinidad lo

mantienen entre los límites adecuados para que no resulte inhibitorio, como se ha comentado en el apartado 3.3. Los resultados muestran que a mayor concentración de AGV, mayor será el rendimiento de metano que se logra, que es lo que ocurre para el LG. Esto se debe a que al disponer de mayor cantidad de AGV en el inóculo granular, las bacterias acidogénicas/acetogénicas producirán más acetato y consecuentemente, las Archaea metanogénicas tendrán más sustrato para producir metano [60].

A continuación en la Tabla 6, aparecen las concentraciones individuales de cada ácido obtenidas al comienzo y final de la experimentación para cada ensayo, para la muestra 25 HTC - 75 FP, ya que es la que mejores resultados de co-digestión ha dado:

Tabla 6. Concentración individual de AGV al comienzo y final de la experimentación para cada ensayo, para la muestra 25 HTC-75 FP

		Acético (mg/L)	Propiónico (mg/L)	Butírico (mg/L)	Isobutírico (mg/L)	Valérico (mg/L)	Isovalérico (mg/L)	Caproico (mg/L)
Ensayo I	Inicial	116	78	43	46	50	85	57
	Final	4	0	0	0	0	0	0
Ensayo II	Inicial	146	77	106	59	84	92	56
	Final	0	0	0	0	0	0	0

Los resultados obtenidos para ambos ensayos, muestran cómo la concentración de cada ácido al final de todos los experimentos, salvo en el primer ensayo para el ácido acético, es nula. En ninguno de los ensayos, se detectó la presencia de ácido isocaproico para la muestra 25 HTC - 75 FP, y para ninguna de las muestras se obtuvo ácido heptanoico.

Teniendo en cuenta las concentraciones de cada ácido, se observa cómo se obtienen mayores cantidades de ácido acético en ambos ensayos. Lo que es coherente, ya que como ya se ha comentado anteriormente, este ácido es el precursor del metano y todos los demás AGV se convierten a acético en un proceso bien equilibrado.

No obstante, la degradación del ácido propiónico es muy complicada y es de elevada importancia mantener una baja concentración de este ácido, ya que puede provocar la inhibición de la metanogénesis. Estudios han demostrado que la inhibición por este compuesto depende del pH, por ejemplo para un pH de 7,6, la inhibición tendrá lugar para concentraciones superiores a 3.500 mg/L de ácido propiónico [61,62]. En función de los resultados obtenidos para este ácido, se comprueba que no ha habido inhibición ya que las concentraciones se mantienen muy por debajo del valor descrito.

Los ácidos acético, propiónico y butírico pueden formarse directamente de la fermentación de proteínas, carbohidratos solubles y lípidos [63]. Para el ensayo II, se han obtenido mayores

cantidades de acético y butírico. Esto puede ser debido a que en este segundo ensayo se produce una mayor tasa de degradación de carbohidratos solubles, como puede verse en el apartado 3.6., que para el primer ensayo empleando como inóculo LE. Por tanto, al tener mayor degradación de carbohidratos solubles, se traduce en una mayor generación de este tipo de ácidos y por consiguiente en un incremento de la producción de metano.

Las concentraciones del resto de AGV obtenidas han resultado bajas, siendo superiores para el ensayo II empleando como inóculo el LG. Cabe destacar que la degradación de las formas iso- de los AGV son difícilmente biodegradables por los microorganismos y pueden resultar tóxicas para la digestión anaerobia. No obstante, para ambos ensayos se ha obtenido una degradación completa y no se ha observado la presencia de estas especies al final del ensayo.

3.5. Nitrógeno Total Kjeldahl y nitrógeno amoniacal

El nitrógeno es esencial para la síntesis de proteínas y se requiere principalmente como nutriente para los microorganismos en la digestión anaerobia. Cuando el nitrógeno se encuentra en la forma de ión amonio (NH_4^+), contribuye a la estabilización del valor del pH en el biorreactor, donde los microorganismos lo asimilan para la producción de nueva masa celular. Para la correcta monitorización del proceso anaerobio, se ha determinado el valor del Nitrógeno Total Kjeldahl, que representa la suma del nitrógeno orgánico y el nitrógeno amoniacal (N-NH_x) presente en una solución. El valor de NTK no varía durante el proceso de digestión anaerobia, no obstante, a lo largo de la experimentación se ha estudiado el NTK de la fracción soluble por ello los resultados varían del comienzo al final de los ensayos.

En la Tabla 7, pueden verse los resultados obtenidos de NTK soluble al comienzo y al final de la experimentación en ambos ensayos:

Tabla 7. NTK soluble inicial y final obtenidos a lo largo de la experimentación en ambos ensayos

	NTKs (mgN/L) Ensayo I		NTKs (mgN/L) Ensayo II	
	Inicial	Final	Inicial	Final
100 HTC - 0 FP	777±12	1.011±4	259±15	828±6
75 HTC - 25 FP	763±7	868±4	408±8	755±6
50 HTC - 50 FP	648±5	880±6	342±10	614±6
25 HTC - 75 FP	692±6	671±6	335±4	580±7
0 HTC - 100 FP	517±7	650±6	255±10	481±6

Se observa que al aumentar la concentración de co-sustrato HTC, se incrementa el valor de NTK. Siendo la diferencia más notable, empleando una relación de 100 HTC - 0 FP, en la que el valor obtenido al final de la experimentación se ha incrementado más de un 300%. Esto se debe a que el HTC contiene más NTK que el fango primario (Tabla 2). Sin embargo, en

ningún caso se ha superado el valor de 1,7 g/L que resulta inhibitorio para la metanogénesis [64].

Comparando ambos ensayos, para el lodo granular se obtienen menores cantidades de NTK soluble, que empleando el inóculo lodo EDAR. Esta diferencia se debe a que al filtrar la muestra, los gránulos presentes en el inóculo LG desaparecen, y éstos son los que contienen la mayor parte del NTK.

Además, para evaluar la extensión de la etapa de hidrólisis se estudió la evolución del nitrógeno amoniacal. Es el producto de la degradación de proteínas y urea y su distribución en forma de amoníaco (NH_3) o amonio (NH_4^+) varía en función del pH y temperatura del reactor [11,65]. El nitrógeno amoniacal es conocido por tener un cierto efecto tampón en sistemas de digestión anaeróbica, algunos autores han indicado que esta capacidad tampón puede contribuir al mantenimiento de las condiciones favorables para la metanogénesis contrarrestando el efecto de la acumulación de ácidos [66,67]. En la Figura 7, se puede ver la evolución del nitrógeno amoniacal obtenido a lo largo de la experimentación:

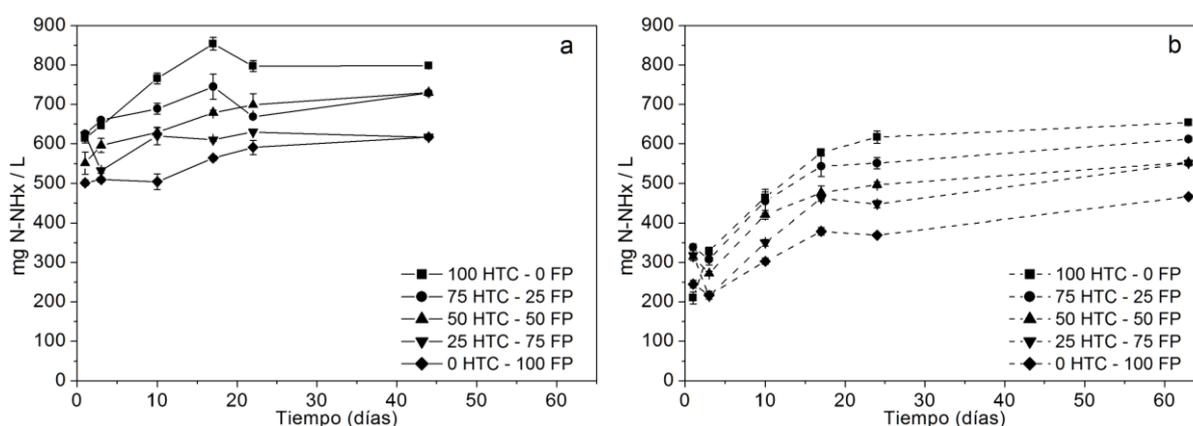


Figura 7. Evolución del nitrógeno amoniacal. Figura a) con inóculo LE, Figura b) con inóculo LG

Los resultados obtenidos para ambos ensayos, muestran cómo el nitrógeno amoniacal va aumentando a lo largo de la digestión anaerobia, como consecuencia de la amonificación de los compuestos orgánicos por la descomposición de las proteínas.

Los valores más altos de nitrógeno amoniacal se alcanzan para las muestras con mayor contenido en HTC, disminuyendo progresivamente a medida que se reduce la cantidad de éste. Esto se debe a que las muestras con mayor proporción de HTC, contienen mayor NTK soluble, como se ha indicado anteriormente. Cabe destacar que, la evolución del nitrógeno amoniacal se encuentra relacionado con la alcalinidad, en la que también se obtuvieron mayores valores al incrementarse la proporción de sustrato HTC [11].

Comparando ambos ensayos, puede verse cómo para el ensayo I empleando como inóculo lodo EDAR, se obtienen valores de nitrógeno amoniacal un 36% superiores que empleando lodo granular. Lo que viene relacionado con lo comentado anteriormente respecto al NTK, en los que se han obtenido valores superiores de NTK soluble para el lodo EDAR que para el granular. Además, cuanto mayor sea la cantidad de AGV, menor será el pH y la concentración de nitrógeno amoniacal [68]. Por tanto, la menor concentración de nitrógeno amoniacal para el ensayo II, puede atribuirse también a mayores cantidades de AGV que contiene, que han podido disminuir la actividad microbiana hidrolítica de enzimas como proteasas y peptidasas, encargadas de la ruptura de las proteínas [55].

Estudios anteriores realizados, muestran que una concentración superior 1700-1800 mg/L N-NHx puede resultar inhibitoria para la metanogénesis [69]. Atendiendo a los resultados que se muestran en la Figura 7, puede verse cómo en ningún caso se superan dichos valores. Además, para los valores de pH obtenidos (6,8-7,3), prácticamente todo el nitrógeno presente se encuentra en la forma de amonio, el cual resulta menos inhibitorio para la digestión anaerobia, y además es un nutriente básico para los microorganismos implicados en el proceso [65].

3.6. DQO soluble

Mediante el estudio de la demanda química de oxígeno, se puede observar la degradación de la materia orgánica durante el proceso de digestión anaerobia. La DQO total del medio está formada por la DQO no biodegradable o recalcitrante y la DQO biodegradable [9,70].

Para la correcta monitorización de la digestión anaerobia se estudia la evolución de la DQO soluble (DQOs), debido a que los microorganismos únicamente degradan la materia orgánica que se encuentra solubilizada.

A continuación, se muestran las gráficas con los resultados obtenidos:

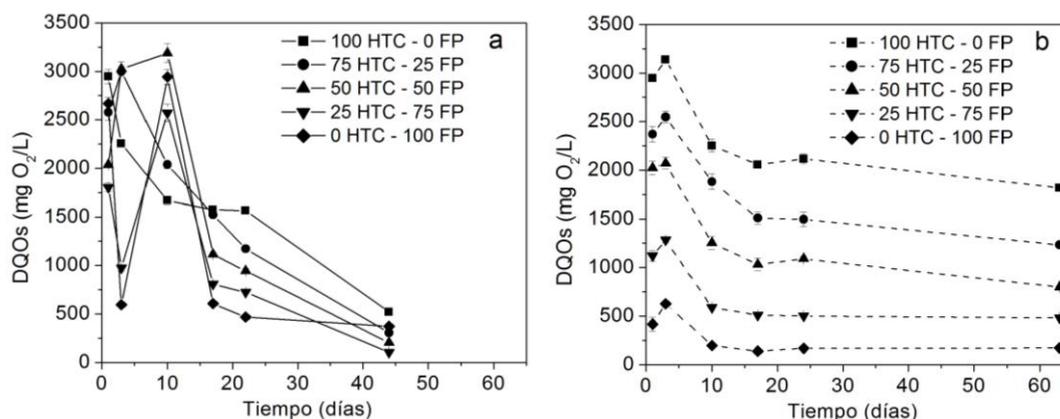


Figura 8. Evolución de la DQOs. Figura a) con inóculo LE, Figura b) con inóculo LG

Como puede verse en la Figura 8, al comienzo de la experimentación se observa un leve incremento de la DQOs, esto se debe a la solubilización de los compuestos orgánicos presentes en los sustratos y además, el propio inóculo aporta DQO que se hidroliza al comienzo de la digestión anaerobia [55]. Posteriormente, la DQOs va disminuyendo a medida que avanza la digestión anaerobia, debido a que los microorganismos van degradando la materia orgánica para generar metano. Para ambos ensayos, puede verse cómo se produce la disminución de la DQOs a partir del día 10 de la experimentación, que es cuando las concentraciones de AGV disminuyeron notablemente, como se comentó en el apartado 3.4. Como es de esperar, los mayores valores iniciales de DQOs se obtienen para la muestra con mayor contenido en HTC, ya que como ya se ha comentado anteriormente, resulta más difícilmente degradable.

Para el ensayo I, se observa un incremento de la DQOs muy acusada en torno al día 10 para las muestras 50, 25 y 0 HTC. Esto se debe a que tiene lugar la hidrólisis de la materia orgánica presente en el fango primario. Como puede observarse, esto únicamente ocurre para las muestras con mayor contenido en este sustrato, debido a que el fango primario se caracteriza por ser en un alto porcentaje muy fácilmente degradable, ya que la mayor parte de la materia orgánica que lo compone son compuestos simples y fácilmente biodegradables. Es por ello que en las muestras en las que la cantidad de fango primario es inferior a la del HTC no se observa la hidrólisis. A partir del día 10, tiene lugar la disminución progresiva de la DQOs hasta que finaliza el ensayo. Al final del experimento, se obtuvieron unos rendimientos de eliminación de DQOs superiores al 90% para todas las condiciones de ensayo, siendo de un 98% para la muestra 25 HTC - 75 FP.

En el ensayo II, no se observa la hidrólisis de forma tan acusada como en el primer ensayo. Y además, se obtienen tasas de eliminación de DQOs entre el 64 y 97%, siendo del 90% para la muestra 25 HTC - 75 FP. Una razón que explique este comportamiento, puede ser debida a que el lodo EDAR se trata de un inóculo que se encuentra totalmente adaptado al fango primario empleado como sustrato, por lo que será más fácil la degradación de este sustrato por parte de los microorganismos que empleando como inóculo lodo granular, al que no se encuentra adaptado. Esto hace que la degradación de la materia orgánica soluble sea más rápida para el primer ensayo y con ello la estabilización en la producción de metano se alcance antes que para el ensayo II, en la que la degradación es más lenta y difícil [71].

Los resultados muestran que existe una sinergia en la degradación de DQOs. Siendo más notable para el ensayo II, en la que la degradación aumentaba a medida que se reducía la cantidad de HTC. No obstante, para el ensayo I no sigue la misma tendencia, ya que cuando

se encuentra el fango primario como único sustrato la degradación es inferior. Este hecho puede deberse a que en las muestras en las que se está realizando la co-digestión, los ácidos presentes en el sustrato HTC pueden ayudar a la hidrólisis final, incrementando la degradación de DQOs.

3.7. Carbohidratos solubles

Una de las fuentes carbonadas más empleadas por los microorganismos quimiotróficos son los glúcidos o carbohidratos. Éstos se degradan durante la etapa de hidrólisis, convirtiéndose en productos solubles (azúcares) más fácilmente degradables por los microorganismos. En la Figura 9, aparece la evolución de la degradación de los carbohidratos solubles a lo largo de la experimentación en cada ensayo:

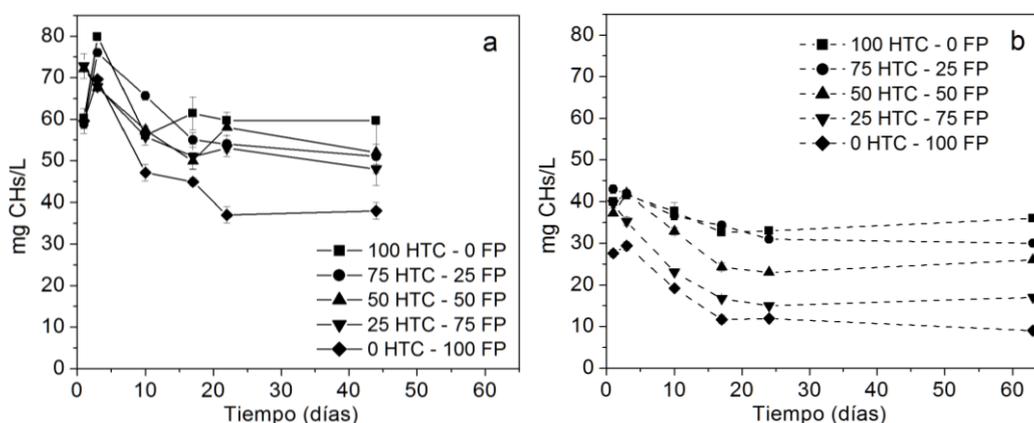


Figura 9. Evolución de los carbohidratos solubles. Figura a) con inóculo LE, Figura b) con inóculo LG

El comportamiento del consumo de los carbohidratos es similar al de la DQOs, no en vano los carbohidratos solubles forman parte de la DQOs. Esto puede apreciarse en las similitudes entre las tendencias obtenidas en las gráficas para ambos ensayos, como aparece en la Figura 8. Durante los 2-3 primeros días se produjo un incremento de los carbohidratos solubles, debido a que tuvo lugar la hidrólisis de la materia orgánica. Este incremento producido durante los primeros días es notablemente superior para las muestras con menor contenido en HTC, debido a que de acuerdo a lo discutido en los anteriores apartados, son más fácilmente degradables. En los días posteriores, se fue produciendo una disminución de carbohidratos, acorde con la disminución de AGV (véase apartado 3.4.) debido a que los microorganismos van degradando esta materia orgánica para generar, tras las sucesivas etapas de la digestión anaerobia, metano. Es por esto que la cantidad de carbohidratos es baja, debido a que un alto porcentaje de los productos solubles son empleados por los microorganismos para producir metano [72].

Comparando los valores obtenidos en función de la concentración de cada sustrato, puede verse cómo se cumple la misma tendencia que en los anteriores ensayos. Donde los valores superiores corresponden a las muestras con mayor contenido en HTC, alcanzando el menor valor la que únicamente lleva fango primario.

En cuanto a los resultados obtenidos con cada inóculo, puede verse cómo las cantidades iniciales de carbohidratos solubles presentes en el inóculo floculento son superiores a las del granular. No obstante, el consumo de estos compuestos al emplear el LG es superior al del LE estando en torno al 40% frente al 23%, respectivamente. Estos resultados coinciden con la producción de metano (véase apartado 3.8.), ya que para el lodo granular se han obtenido mayores cantidades de metano y es por ello que ha habido un mayor consumo de carbohidratos solubles.

3.8. Producción específica de metano

Uno de los objetivos importantes del presente estudio, era evaluar la producción de metano generada en las diferentes condiciones de ensayo. En la Figura 10, se muestran los resultados de la producción específica de metano para ambos experimentos, en condiciones estándar (0°C y 1 atm) por gramo de materia orgánica añadida (expresada como $DQO_{adicionada}$):

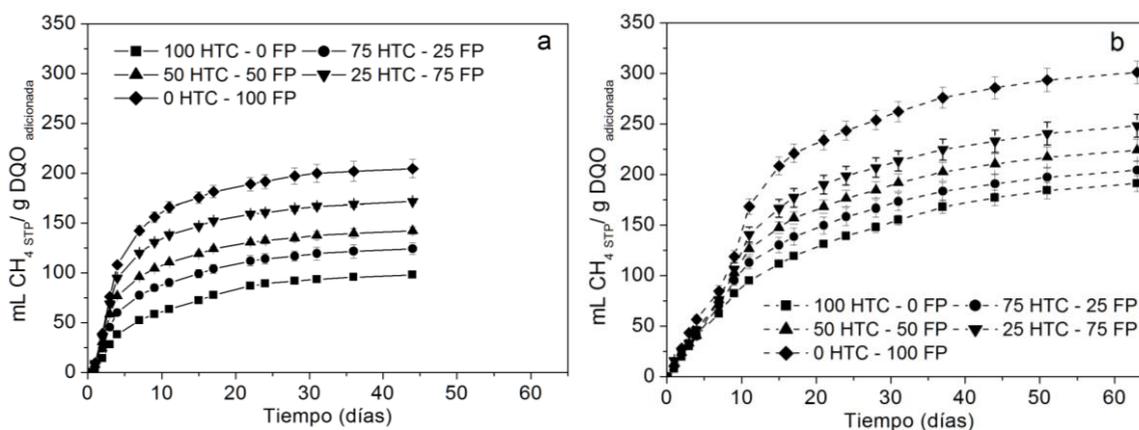


Figura 10. Producción específica de metano. Figura a) con inóculo LE, Figura b) con inóculo LG

Atendiendo a la figura anterior, puede verse cómo en ambos casos la mayor producción de metano se ha logrado para las condiciones 0 HTC - 100 FP, produciéndose una disminución progresiva a medida que aumenta la cantidad de líquido HTC. Esto se debe a la presencia de compuestos recalcitrantes en la fracción líquida obtenida tras el tratamiento hidrotermal [26].

Comparando ambos estudios, puede verse cómo al comienzo de la experimentación la producción de metano va aumentando rápidamente, debido a que en la fase inicial se produce la conversión a metano de los componentes más fácilmente biodegradables. Y se estabiliza en

el ensayo I a partir del día 25 y en el ensayo II se produce a partir de los 40 días. Por tanto, se puede observar cómo al utilizar lodo granular como inóculo, en lugar de lodo EDAR, se produce una estabilización de la actividad metanogénica más tardía [71]. Esto puede deberse a que el lodo de EDAR se trata de un inóculo adaptado al sustrato fango primario, por tanto la degradación tiene lugar de una forma más sencilla y rápida.

Una de las razones por las que la producción de metano se mantiene constante en ambos ensayos, se debe a la disminución en la generación de AGV, por lo que los microorganismos no disponen de más fuente de carbono para formar metano, ya que los ensayos son en discontinuo [73]. Además, la producción máxima obtenida de metano en este segundo estudio es considerablemente superior a cuando se emplea el lodo EDAR como inóculo, siendo ésta de 204 ± 9 mLCH_{4,STP}/gDQO_{adicionada} mientras que empleando lodo granular es de 301 ± 11 mLCH_{4,STP}/gDQO_{adicionada}. Algunas de las razones para explicar esta diferencia en el comportamiento, se deben al origen de cada inóculo y las características físicas y microbiológicas de ambos.

En la digestión anaerobia intervienen varios tipos de microorganismos: las bacterias acidogénicas y acetogénicas y las *Archaea* metanogénicas, siendo éstas las responsables de la producción de metano y encontrándose en mayor cantidad en los lodos granulares de la industria cervecera [13,53]. Esto además, se corrobora por la cantidad de sólidos presentes en este inóculo [74].

Estudios han mostrado que los gránulos procedentes de aguas residuales de la industria cervecera muestran una estructura formada por varias capas, encontrándose en capas cercanas a la superficie microorganismos metanogénicos acetototróficos (*Methanosaeta*) y pocas bacterias. Mientras que el interior del gránulo contiene principalmente restos de células que sirven como soporte para las poblaciones de *Archaea* y bacterias [75]. Debido a esta distribución que presentan los microorganismos metanogénicos en el lodo granular, se ve favorecida la producción de metano para este tipo de inóculo. De forma general, en la disposición de los gránulos, las *Archaea* se encuentran protegidas en el interior de éstos y se verán menos afectadas ante cualquier situación de estrés o cambios en el medio, a los que son extremadamente sensibles. Mientras que en el lodo floculento, se encontrarán más expuestas ante cualquier perturbación en el medio, traducándose en una disminución de la actividad y como consecuencia menor producción de metano.

Otras investigaciones, han reportado que para concentraciones de DQO 1-5 gDQO/L se tienen gránulos más grandes (2-4 mm) predominados por las *Methanosaeta* y que a mayor tamaño de los gránulos mayor será la cantidad de metano producido, al existir mayor proporción de

estos microorganismos [76]. Existen investigaciones relacionadas, en las que se han corroborado que empleando lodo granular se alcanza mayor producción de metano [59,77]. Por ejemplo, Rincón *et al.* utilizaron tres tipos de inóculo (lodo granular de cervecera, lodo de EDAR y lodo granular de bebidas gaseosas) en la digestión anaerobia de residuos agroindustriales, obteniendo producciones de metano un 7,5% superiores para el lodo granular de cervecera que para el lodo EDAR [13]. Todo lo anterior puede explicar porqué la producción de metano para el inóculo granular, resulta superior a la del lodo EDAR.

Si se comparan ambas producciones con la teórica ($350 \text{ mLCH}_{4,\text{STP}}/\text{gDQO}$), empleando como inóculo lodo EDAR se ha obtenido un rendimiento a metano de un 58%, mientras que empleando lodo granular ha sido de un 86%. Ambas producciones son inferiores a la teórica debido a que en la práctica el rendimiento se verá disminuido, ya que parte de la materia orgánica es a menudo inaccesible y difícilmente biodegradable anaeróbicamente a causa de la estructura de ésta; además, no todo el sustrato se utiliza para formar metano, sino que una fracción de éste, aproximadamente entre el 5-15% de la DQO inicial, se utiliza para sintetizar nueva biomasa celular [14].

Si se observan las producciones de metano alcanzadas para las muestras 25 HTC - 75 FP, se han obtenido $172 \pm 1 \text{ mLCH}_{4,\text{STP}}/\text{gDQO}_{\text{adicionada}}$ empleando como inóculo el lodo EDAR y $248 \pm 11 \text{ mLCH}_{4,\text{STP}}/\text{gDQO}_{\text{adicionada}}$ para el lodo granular. Siendo el porcentaje molar de metano obtenido con cada inóculo para esta muestra de 64% para el LE y de 68% para el LG, lo que indica que se han alcanzado los porcentajes de metano propios de la digestión anaerobia [11].

Con respecto a la interacción de los inóculos con ambos sustratos, no se dispone de información bibliográfica. No obstante, puede observarse cómo empleando el lodo EDAR como inóculo al incluir el HTC como co-sustrato, puede influirle de manera negativa inhibiendo de cierta forma la metanogénesis.

Si se comparan los resultados obtenidos en ambos ensayos, con estudios anteriores en los que únicamente se realizó digestión anaerobia a la fracción líquida obtenida tras la carbonización hidrotermal, pueden verse ciertas analogías. Como por ejemplo, se realizó un estudio comparativo de la evolución del potencial metanogénico empleando como inóculos lodo EDAR y lodo granular procedente del procesado de remolacha azucarera, en el que se consiguieron resultados similares en cuanto a la obtención de menor rendimiento de metano cuanto mayor fuera el contenido en líquido HTC, dando una producción máxima de metano de 178 ± 25 y $136 \pm 3 \text{ mLCH}_{4,\text{STP}}/\text{gDQO}_{\text{adicionada}}$ para el LE y LG, respectivamente utilizando una concentración inicial de lodo baja (10 gDQO/L) y un RIS de $2 \text{ gDQO}_{\text{inóculo}}/\text{gDQO}_{\text{sustrato}}$ [39]. Atendiendo a la producción máxima obtenida, se ha encontrado que realizando la

digestión anaerobia a la fracción líquida de HTC de vinazas de maíz a 220°C, se obtuvo una producción de metano cercana a 300 mLCH_{4,STP}/gDQO_{adicionada}, la cual es superior a las obtenidas en la co-digestión [32]. No obstante, existe un estudio en el que se realizó digestión anaerobia a la fracción líquida de HTC de lodos secundarios de EDAR en semicontinuo, y se obtuvo una producción de metano en torno a 180 mLCH_{4,STP}/gDQO_{adicionada} [78], la cual es ligeramente superior a la obtenida en la co-digestión con LE, pero con el LG se supera claramente dicho valor.

En cuanto a co-digestión con la fracción líquida de HTC de lodo de EDAR, únicamente existe un experimento en el que se utilizó FORU como co-sustrato, dando una producción de metano de 181±1 mLCH_{4,STP}/gDQO_{adicionada} para la muestra que contenía un 25% HTC y 75% FORU [79]. Los resultados obtenidos en este estudio, son similares al realizar la co-digestión empleando el lodo floculento de EDAR como inóculo, mientras que al utilizar LG esos resultados mejoran en un 27%. No obstante, atendiendo a los resultados obtenidos en estudios anteriores, puede verse cómo no mejora sustancialmente la digestión anaerobia del HTC al co-digerirlo con fango primario, excepto si se emplea como inóculo lodo granular de cervecera.

Actualmente, no hay estudios en los que se haya realizado co-digestión anaerobia empleando la fracción líquida de HTC de lodos residuales de depuradora con fango primario, por ello la comparación de los resultados no es posible en este momento. No obstante, a raíz de los datos obtenidos puede comprobarse cómo sí es posible que tenga lugar la digestión anaerobia del líquido HTC, aunque los rendimientos logrados sean considerablemente inferiores a no emplear este co-sustrato. Por ello, esta técnica puede resultar una buena opción para tratar el residuo líquido obtenido tras la carbonización hidrotérmica, introduciéndola en bajos porcentajes (inferiores al 25% en DQO_{adicionada}) en la co-digestión con fangos de depuradora. Además, mediante esta tecnología se logra valorizar ambos residuos obteniendo biogás, con un porcentaje alto en metano.

Por último, en la Figura 11 se ha realizado la comparación para ambos ensayos, de los parámetros DQOs, AGV y producción de metano (en términos de DQO) para la muestra 25 HTC - 75 FP:

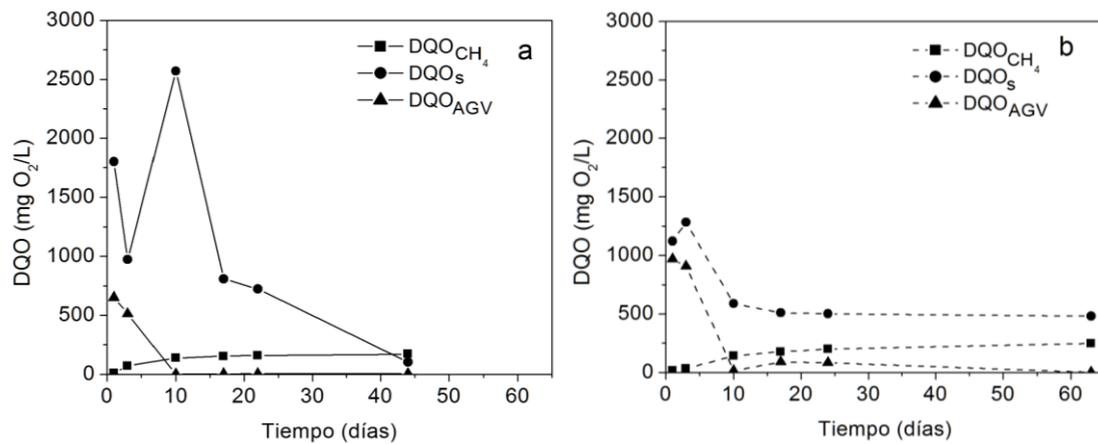


Figura 11. Comparación DQOs, AGV y CH₄ en términos de DQO para la muestra 25 HTC-75 FP. Figura a) con inóculo LE, Figura b) con inóculo LG

En ambos ensayos, puede verse cómo coincide la hidrólisis de la materia orgánica soluble (DQOs) en torno al día 10 de la experimentación, con la caída en la concentración de AGV. Y además, el incremento en la producción de metano ya no resulta tan acusado como en los primeros días. Con estas gráficas se puede apreciar claramente, cómo al ir disminuyendo los AGV la producción de metano se incrementa, hasta que éstos desaparecen y se mantiene constante.

No obstante, para el segundo ensayo puede verse cómo a pesar de que la degradación de la materia orgánica parece haber finalizado en torno al día 15, la producción de metano continúa siendo superior a la del ensayo I. Es posible que el sustrato HTC intervenga en el proceso rompiendo los gránulos que conforman el lodo granular, pudiendo provocar que al fragmentarse estos gránulos liberen materia orgánica que se convierta a metano e incrementen la producción para este segundo ensayo. Además, influirá la estructura por capas de este tipo de inóculos y la distribución de microorganismos que presentan, tal y como se ha comentado anteriormente.

5. CONCLUSIONES

Tras la obtención de los resultados, se han deducido las siguientes conclusiones principales:

- ✓ El uso de un lodo granular de cervecera como inóculo en la co-digestión anaerobia, conduce a mayores producciones de metano, obteniendo unos rendimientos con respecto a la producción teórica del 86% frente al 58% obtenido con inóculo floculento de EDAR.
- ✓ A medida que aumenta el contenido de la fracción líquida de HTC como co-sustrato, va disminuyendo la producción de metano debido a que el HTC contiene compuestos recalcitrantes difícilmente biodegradables, que resultan inhibitorios para la digestión anaerobia.
- ✓ La relación de sustratos que mejores resultados proporciona en la co-digestión, de entre todas las estudiadas, es la de 25% de HTC y 75% de fango primario.
- ✓ La degradación de la materia orgánica (expresada como porcentaje de eliminación de DQO) es más lenta y dificultosa con el lodo granular que varía entre el 64 y 97%, frente al lodo de EDAR que presenta eliminaciones superiores al 90% en todas las condiciones de ensayo. Esto se debe a que el inóculo floculento se encuentra totalmente adaptado al fango primario, lo que hace que la degradación de la materia orgánica de este co-sustrato sea más sencilla y rápida.
- ✓ En ninguno de los ensayos se han observado AGV al final de la experimentación, obteniéndose un aumento del nitrógeno amoniacal y NTK soluble en ambos, como consecuencia de la conversión de las proteínas, provocando que al solubilizarse intervenga junto con la alcalinidad del medio para garantizar unas correctas condiciones de pH en el proceso.
- ✓ La tecnología HTC es una opción viable para la valorización de los fangos residuales de depuradora, dando lugar a un producto de alto valor añadido que puede emplearse como carbón activo, entre otros usos. Además, la fracción líquida obtenida tras el proceso, es susceptible de ser empleada como sustrato en la digestión anaerobia, logrando así la producción de biogás. Se propone la carbonización hidrotermal como alternativa para implantarla a nivel industrial, permitiendo introducir la fracción líquida de HTC en pequeños porcentajes (inferiores al 25% en DQO_{adicionada}) para co-digerirla con fango primario de depuradora, logrando así la valorización de ambos residuos, obteniendo biogás con un elevado contenido en metano (superior al 60%).

6. BIBLIOGRAFÍA

- [1] Ministerio de Agricultura Alimentación y Medio Ambiente, “Lodos de depuración de aguas residuales,” (2012). <http://www.magrama.gob.es/es/calidad-y-evaluacion-ambiental/temas/prevencion-y-gestion-residuos/flujos/lodos-depuradora/> (accessed June 1, 2016).
- [2] Ministerio de Agricultura Alimentación y Medio Ambiente, “Ley 22/2011, de 28 de julio, de residuos y suelos contaminados,” BOE. 181 (2011) 85650– 85705.
- [3] Ministerio de Agricultura Alimentación y Medio Ambiente, “Programa estatal de prevención de residuos 23.07.2013,” 2013.
- [4] Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación, “Real Decreto 1310/1990, de 29 de octubre, por el que se regula la utilización de los lodos de depuración en el sector agrario,” BOE. 262 (1990) 32339–32340.
- [5] Ministerio de Medio Ambiente, “Ley 16/2002, de 1 de julio, de prevención y control integrados de la contaminación,” BOE. 157 (2002) 23910–23927.
- [6] Ministerio de Agricultura Alimentación y Medio Ambiente, “Real Decreto 815/2013, de 18 de octubre, por el que se aprueba el Reglamento de emisiones industriales y de desarrollo de la Ley 16/2002, de 1 de julio, de prevención y control integrados de la contaminación,” BOE. 251 (2014) 60502–60511.
- [7] Ministerio de Medio Ambiente, “Real Decreto 1481 / 2001 , de 27 de diciembre , por el que se regula la eliminación de residuos mediante depósito en vertedero,” BOE. 25 (2013) 1–46.
- [8] M.A. Montes-Morán, J.A. Menéndez, “El problema de la gestión de lodos en EDARs,” (2010). [http://digital.csic.es/bitstream/10261/95474/1/El problema de la gestion de lodos en EDARs.pdf](http://digital.csic.es/bitstream/10261/95474/1/El%20problema%20de%20la%20gestion%20de%20lodos%20en%20EDARs.pdf) (accessed June 4, 2016).
- [9] C.A. De Lemos, “Biological wastewater treatment Vol.4: Anaerobic Reactors,” IWA, Londres, 2007.
- [10] H. Sahn, “Anaerobic wastewater treatment,” *Adv. Biochem. Eng. Biot.* 29 (1984) 83–115.
- [11] M. Esteban, “Co-digestión anaerobia de lodo de EDAR con residuos orgánicos de diferente naturaleza: combinación de técnicas experimentales y herramientas matemáticas,” Tesis doctoral. Universidad de Navarra, 2014. <http://dadun.unav.edu/handle/10171/35814>.
- [12] Ministerio de Industria Turismo y Comercio, “Biomasa. Digestores anaerobios,” Instituto para la Diversificación y Ahorro de la Energía, Madrid, 2007.

- [13] B. Rincón, M.C. Portillo, J.M. González, V. Fernández-Cegrí, M.A. De la Rubia, R. Borja, “Feasibility of sunflower oil cake degradation with three different anaerobic consortia,” *Environ. Sci. Heal. Part A.* 46 (2011) 1409–1416.
- [14] F. Raposo, M.A. De La Rubia, V. Fernández-Cegrí, R. Borja, “Anaerobic digestion of solid organic substrates in batch mode: An overview relating to methane yields and experimental procedures,” *Renew. Sustain. Energy Rev.* 16 (2011) 861–877.
- [15] X. Elias, “Reciclaje de residuos industriales. Residuos sólidos urbanos y fangos de depuradora,” 2^a Ed, Ediciones Díaz de Santos, España, 2009.
- [16] J. Mata-Álvarez, V. Nolla-Ardèvol, S. Astals, “Anaerobic co-digestion of pig manure and crude glycerol at mesophilic conditions: Biogas and digestate,” *Bioresour. Technol.* 110 (2012) 63–70.
- [17] J.A. Álvarez, M. Carballa, L. Regueiro, J.M. Lema, “Anaerobic codigestion of agroindustrial wastes,” *Proc. 12th World Congr. Anaerob. Dig.* (2010).
- [18] L. Dai , X., Duon, N., Dong, B., Dai, “High-solids anaerobic co-digestion of sewage sludge and food waste in comparison with mono digestions: Stability and performance,” *Waste Manag.* 33 (2013) 308–316.
- [19] J.V. Robra, S., Serpa da Cruz, R. de Oliveira, AM., Nieto, J.A., Santos, “Generation of biogas using crude glycerin from biodiesel production as a supplement to cattle slurry,” *Biomass Bioenerg.* 34 (2010) 1330–1335.
- [20] Z. Siddiqui, N. Horan, K. Anaman, “Optimisation of C:N ratio for co-digested processed industrial food waste and sewage sludge using the BMP test,” *Int. J.Chem. React. Eng.* 9 (2011) 1–9.
- [21] A. Khalid, M. Arshad, M. Anjum, T. Mahmood, L. Dawson, “The anaerobic digestion of solid organic waste,” *Waste Manag.* 31 (2011) 1737–1744.
- [22] S.E. Nayono, “Anaerobic digestion of organic solid waste for energy production,” KIT Scientific Publishing, Karlsruhe (Alemania), 2009.
- [23] X. Gómez, M.J. Cuetos, J. Cara, A. Morán, A.I. García, “Anaerobic co-digestion of primary sludge and the fruit and vegetable fraction of the municipal solid wastes. Conditions for mixing and evaluation of the organic loading rate,” *Renew. Energy.* 31 (2006) 2017–2024.
- [24] R. Montañés, R. Solera, M. Pérez, “Anaerobic co-digestion of sewage sludge and sugar beet pulp lixiviation in batch reactors: Effect of temperature,” *Bioresour. Technol.* 180 (2015) 177–184.
- [25] X. Elias, “Tratamiento y valorización energética de residuos,” Ediciones Díaz de

- Santos, España, 2005.
- [26] E. Danso-Boateng, G. Shama, A.D. Wheatley, S.J. Martin, R.G. Holdich, “Hydrothermal carbonisation of sewage sludge: Effect of process conditions on product characteristics and methane production,” *Bioresour. Technol.* 177 (2015) 318–327.
- [27] R.K. Garlapalli, B. Wirth, M.T. Reza, “Pyrolysis of hydrochar from digestate: Effect of hydrothermal carbonization and pyrolysis temperatures on pyrochar formation,” *Bioresour. Technol.* 220 (2016) 168–174.
- [28] A. Funke, F. Ziegler, “Hydrothermal carbonization of biomass: A summary and discussion of chemical mechanisms for process engineering,” *Biofuels, Bioprod. Biorefining.* 4 (2010) 160–177.
- [29] D. Basso, D. Castello, M. Baratieri, L. Fiori, “Hydrothermal carbonization of waste biomass: progress report and prospect,” *Eur. Biomass Conf. Exhib. Conf. Proc.* 21 (2013) 1478–1487.
- [30] N.D. Berge, L. Li, J. Flora, K.S. Ro, “Assessing the environmental impact of energy production from hydrochar generated via hydrothermal carbonization of food wastes,” *Waste Manag.* 43 (2015) 203–217.
- [31] AVA-CO₂, “La solución: neutralizar las emisiones de CO₂, evitar la producción de metano y producir energía,” AVA-CO₂ Schweiz AG. (2016). <http://www.ava-co2.com/web/pages/es/tecnologia/carbonizacion-hidrotermal.php?lang=ES> (accessed October 23, 2016).
- [32] B.M. Wood, L.R. Jader, F.J. Schendel, N.J. Hahn, K.J. Valentas, P.J. Mcnamara, P.M. Novak, S.M. Heilmann, “Industrial symbiosis: Corn ethanol fermentation, hydrothermal carbonization, and anaerobic digestion,” *Biotechnol. Bioeng.* 110 (2013) 2624–2632.
- [33] B. Wire, “AVA-CO₂ presenta la primera planta industrial de carbonización hidrotermal (HTC) en el mundo,” *East. Daylight Time.* (2010). <http://www.businesswire.com/news/home/20101026006699/es/> (accessed October 23, 2016).
- [34] Ingelia, “Ingelia,” (2016). <http://www.ingelia.com/> (accessed October 23, 2016).
- [35] J.A. Martín, “Obtención de carbón activo a partir de fango biológico mediante carbonización hidrotérmica,” Trabajo fin de máster. Universidad Autónoma de Madrid, Universidad Rey Juan Carlos, 2015.
- [36] F. Raposo, V. Fernández-Cegrí, M.A. De la Rubia, R. Borja, F. Béline, C. Cavinato, G. Demirer, B. Fernández, M. Fernández-Polanco, J.C. Frigon, R. Ganesh, P. Kaparaju, J.

- Koubova, R. Méndez, G. Menin, A. Peene, P. Scherer, M. Torrijos, H. Uellendahl, I. Wierinck, V. Wilde, “Biochemical methane potential (BMP) of solid organic substrates: Evaluation of anaerobic biodegradability using data from an international interlaboratory study,” *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 86 (2011) 1088–1098.
- [37] L.C. Ferreira, “Evaluación de la biodegradabilidad anaerobia de residuos orgánicos pre-tratados térmicamente,” Tesis doctoral. Universidad de Valladolid. Escuela de Ingenierías Industriales, 2013.
<https://uvadoc.uva.es/bitstream/10324/4439/1/TESIS476-140226.pdf>.
- [38] V. Fernández-Cegrí, M.A. De la Rubia, F. Raposo, R. Borja, “Effect of hydrothermal pretreatment of sunflower oil cake on biomethane potential focusing on fibre composition,” *Bioresour. Technol.* 123 (2012) 424–429.
- [39] J. San Martín, “Evaluación del potencial metanogénico de la fracción acuosa obtenida a partir de la carbonización hidrotérmica de lodos residuales,” Trabajo fin de grado. Universidad Autónoma de Madrid, 2016.
- [40] APHA, AWWA, “Standard methods for the examination of water and wastewater,” 20^a Ed, Joint Editorial Board, 1999.
- [41] F. Raposo, M.A. De la Rubia, R. Borja, M. Alaiz, “Assessment of a modified and optimised method for determining chemical oxygen demand of solid substrates and solutions with high suspended solid content,” *Talanta.* 76 (2008) 448–453.
- [42] M. Dubois, K.A. Gilles, J.K. Hamiton, P.A. Reders, F. Smith, “Colorimetric method for determination of sugars and related substances,” *Anal. Chem.* 28 (1956) 350–356.
- [43] S.R. Jenkins, J.M. Morgan, C.L. Sawyer, “Measuring anaerobic sludge digestion and growth by a simple alkalimetric titration,” *Water Pollut. Control Fed.* 55 (1983) 448–453.
- [44] M.A. De la Rubia, F. Raposo, B. Rincón, R. Borja, “Evaluation of the hydrolytic-acidogenic step of a two-stage mesophilic anaerobic digestion process of sunflower oil cake,” *Bioresour. Technol.* 100 (2009) 4133–4138.
- [45] V.M. Monsalvo, A. Fernández Mohedano, J.J. Rodríguez, “Activated carbons from sewage sludge. Application to aqueous-phase adsorption of 4-chlorophenol,” *Desalination.* 277 (2011) 377–382.
- [46] D. Puyol, V.M. Monsalvo, A. Fernández Mohedano, J.L. Sanz, J.J. Rodríguez, “Cosmetic wastewater treatment by upflow anaerobic sludge blanket reactor,” *J. Hazard. Mater.* 185 (2011) 1059–1065.
- [47] W. Parawira, I. Kudita, M.G. Nyandoroh, R. Zvauya, “A study of industrial anaerobic

- treatment of opaque beer brewery wastewater in a tropical climate using a full-scale UASB reactor seeded with activated sludge,” *Process Biochem.* 40 (2005) 593–599.
- [48] Y. Gao, X. Wang, J. Wang, X. Li, J. Cheng, H. Yang, H. Chen, “Effect of residence time on chemical and structural properties of hydrochar obtained by hydrothermal carbonization of water hyacinth,” *Energy*. 58 (2013) 376–383.
- [49] J. Poerschmann, B. Weiner, H. Wedwitschka, A. Zehnsdorf, R. Koehler, F.D. Kopinke, “Characterization of biochars and dissolved organic matter phases obtained upon hydrothermal carbonization of *Elodea nuttallii*,” *Bioresour. Technol.* 189 (2015) 145–153.
- [50] E. Danso-Boateng, “Biomass hydrothermal carbonisation for sustainable engineering,” Tesis doctoral. Loughborough University, 2015. <https://dspace.lboro.ac.uk/dspace-jspui/handle/2134/19043>.
- [51] Z. Wang, W. Lin, W. Song, “Liquid product from hydrothermal treatment of cellulose by direct GC/MS analysis,” *Appl. Energy*. 97 (2012) 56–60.
- [52] Ministerio de Agricultura Alimentación y Medio Ambiente, “Orden AAA/1072/2013, de 7 de junio, sobre utilización de lodos de depuración en el sector agrario,” *BOE*. 142 (2013) 44966–44973.
- [53] F.J. Molina, “Comportamiento dinámico de digestores anaerobios,” Tesis doctoral. Universidad de Santiago de Compostela, 2007. ISBN-10: 84-612-1689-5.
- [54] L. Appels, J. Baeyens, J. Degève, R. Dewil, “Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge,” *Prog. Energy Combust. Sci.* 34 (2008) 755–781.
- [55] K. Wang, J. Yin, D. Shen, N. Li, “Anaerobic digestion of food waste for volatile fatty acids (VFAs) production with different types of inoculum : Effect of pH,” 161 (2014) 395–401.
- [56] J.M. Lema, R. Méndez, M. Soto, “Bases cinéticas y microbiológicas en el diseño de digestores anaerobios,” *Ing. Química*. (1992) 191–201.
- [57] Y. Wang, Y. Zhang, J. Wang, L. Meng, “Effects of volatile fatty acid concentrations on methane yield and methanogenic bacteria,” *Biomass Bioenerg.* 33 (2009) 848–853.
- [58] A.M. González, “Estudio técnico-económico para la producción de biogás a partir de residuos agrícolas mediante digestión anaerobia,” Trabajo fin de máster. Universidad de Sevilla, 2014. <https://idus.us.es/xmlui/handle/11441/27048>.
- [59] G. Caliskan, G. Giray, T.K. Gundogdu, N. Azbar, “Anaerobic biodegradation of beer production wastewater at a field scale and exploitation of bioenergy potential of other solid wastes from beer production,” *Int. J. Renew. Energy Biofuels*. 2014 (2014).

- [60] M. Henzen, P. Harremoes, “Anaerobic treatment of waste water in fixed film reactors a literatura review,” *Water Sci. Technol.* 15 (1983).
- [61] W.S. Lee, A.S.M. Chua, H.K. Yeoh, G.C. Ngoh, “A review of the production and applications of waste-derived volatile fatty acids,” *Chem. Eng. J.* 235 (2014) 83–99.
- [62] S. Fukuzaki, N. Nishio, M. Shobayashi, S. Nagai, “Inhibition of fermentation of propionate to methane by hydrogen, acetate and propionate,” *Appl Env. Microbiol.* 56 (1990) 719–723.
- [63] J.I. Horiuchi, T. Shimizu, K. Tad, T. Kanno, M. Kobayashi, “Selective production of organic acids in anaerobic acid reactor by pH control,” *Bioresour. Technol.* 82 (2002) 209–213.
- [64] I.H. Franke-Whittle, A. Walter, C. Ebner, H. Insam, “Investigation into the effect of high concentrations of volatile fatty acids in anaerobic digestion on methanogenic communities,” *Waste Manag.* 34 (2014) 2080–2089.
- [65] K. Fricke, H. Santen, R. Wallmann, A. Hüttner, N. Dichtl, “Operating problems in anaerobic digestion plants resulting from nitrogen in MSW,” *Waste Manag.* 27 (2007) 30–43.
- [66] M. Barrantes Leiva, E. Hosseini Koupaie, C. Eskicioglu, “Anaerobic co-digestion of wine/fruit-juice production waste with landfill leachate diluted municipal sludge cake under semi-continuous flow operation,” *Waste Manag.* (2014) 1860–1870.
- [67] X. Liao, S. Zhu, D. Zhong, J. Zhu, L. Liao, “Anaerobic co-digestion of food waste and landfill leachate in single-phase batch reactors,” *Waste Manag.* (2014) 2278–2284.
- [68] C. Liu, H. Li, Y. Zhang, C. Liu, “Improve biogas production from low-organic-content sludge through high-solids anaerobic co-digestion with food waste,” *Bioresour. Technol.* 219 (2016) 252–260.
- [69] O. Yenigün, B. Demirel, “Ammonia inhibition in anaerobic digestion: A review,” *Process Biochem.* 48 (2013) 901–911.
- [70] M.C. Díaz-Báez, S.E. Espitia, F. Molina, “Digestión Anaerobia. Una aproximación a la tecnología,” 1ª Edición, Universidad Nacional de Colombia, Instituto de Biotecnología, Bogotá, Colombia, 2002.
- [71] C.J. Collazos, M.C. Díaz-Báez, “Ensayos de biodegradabilidad anaerobia de efluentes cerveceros con lodo granular y lodo floculento,” *Rev. Ing. E Investig.* 52 (2003) 54–62.
- [72] C.F. Moreno, “Digestión anaerobia de lodos residuales secundarios en reactores en lote y continuo,” Tesis doctoral. Universidad Autónoma Metropolitana de México. Unidad Iztapalapa, 2010.

- <http://tesiuami.izt.uam.mx/uam/aspuam/presentatesis.php?recno=15414&docs=UAMI15414.pdf>.
- [73] Q. Wang, M. Kuninobu, H.I. Ogawa, Y. Kato, “Degradation of volatile fatty acids in highly efficient anaerobic digestion,” *Biomass and Bioenergy*. 16 (1999) 407–416.
- [74] I. Angelidaki, M. Alves, D. Bolzonella, L. Borzacconi, J.L. Campos, A.J. Guwy, S. Kalyuzhnyi, P. Jenicek, J.B. Van Lier, “Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: A proposed protocol for batch assays,” *Water Sci. Technol.* 59 (2009) 927–934.
- [75] Y. Saiki, C. Iwabuchi, A. Katami, Y. Kitagawa, “Microbial analyses by fluorescence in situ hybridization of well-settled granular sludge in brewery wastewater treatment plants,” *J. Biosci. Bioeng.* 93 (2002) 601–606.
- [76] J.H. Tay, G.Y. Yan, “Influence of substrate concentration on microbial selection and granulation during start-up of upflow anaerobic sludge blanket reactors,” *Water Environ. Res.* 68 (1996) 1140–1150.
- [77] M.A. Pereira, M.. Mota, M.M. Alves, “Operation of an anaerobic filter and an EGSB reactor for the treatment of an oleic acid-based effluent: influence of inoculum quality,” *Process Biochem.* (2002) 1025–1031.
- [78] B. Wirth, T. Reza, J. Mumme, “Influence of digestion temperature and organic loading rate on the continuous anaerobic treatment of process liquor from hydrothermal carbonization of sewage sludge,” *Bioresour. Technol.* 198 (2015) 215–222.
- [79] A.M. González, “Digestión y co-digestión anaerobia de la fracción orgánica de residuos urbanos (FORU). Optimización de la cuantificación de metano,” Trabajo fin de grado. Universidad Autónoma de Madrid, 2016.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Fases de la digestión anaerobia	3
Figura 2. Viales empleados en el ensayo BMP	12
Figura 3. CG-EM para la fracción líquida de HTC.....	16
Figura 4. Evolución del pH. Figura a) con inóculo LE, Figura b) con inóculo LG	18
Figura 5. Evolución de la alcalinidad. Figura a) con inóculo LE, Figura b) con inóculo LG..	19
Figura 6. Evolución de los AGV. Figura a) con inóculo LE, Figura b) con inóculo LG.....	21
Figura 7. Evolución del nitrógeno amoniacal. Figura a) con inóculo LE, Figura b) con inóculo LG.....	24
Figura 8. Evolución de la DQOs. Figura a) con inóculo LE, Figura b) con inóculo LG	25
Figura 9. Evolución de los carbohidratos solubles. Figura a) con inóculo LE, Figura b) con inóculo LG.....	27
Figura 10. Producción específica de metano. Figura a) con inóculo LE, Figura b) con inóculo LG.....	28
Figura 11. Comparación DQOs, AGV y CH ₄ en términos de DQO para la muestra 25 HTC-75 FP. Figura a) con inóculo LE, Figura b) con inóculo LG	32

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Condiciones ensayos BMP expresadas en porcentaje de DQO	12
Tabla 2. Caracterización de inóculos y sustratos empleados	15
Tabla 3. Principales componentes en la fracción líquida HTC mediante CG-EM	16
Tabla 4. Análisis elemental de inóculos y fango primario	17
Tabla 5. Contenido en metales de los inóculos y fango primario	17
Tabla 6. Concentración individual de AGV al comienzo y final de la experimentación para cada ensayo, para la muestra 25 HTC-75 FP	22
Tabla 7. NTK soluble inicial y final obtenidos a lo largo de la experimentación en ambos ensayos	23

ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

AGV	Ácidos Grasos Volátiles
BMP	<i>Biochemical Methane Potential</i>
CG-EM	Cromatografía de gases - Espectrometría de masas
CHs	Carbohidratos solubles
COT	Carbono Orgánico Total
DA	Digestión Anaerobia
DBO	Demanda Biológica de Oxígeno
DQOs	Demanda Química de Oxígeno soluble
DQOt	Demanda Química de Oxígeno total
EDAR	Estación Depuradora de Aguas Residuales
FAS	Sulfato Amónico Ferroso
FID	<i>Flame Ionization Detector</i>
FORU	Fracción Orgánica de Residuos Sólidos Urbanos
FP	Fango Primario
GEI	Gases de Efecto Invernadero
HTC	<i>Hydrothermal Carbonization</i>
ICP-MS	<i>Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry</i>
LE	Lodo floculento de EDAR
LG	Lodo Granular
MAGRAMA	Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente
N-NH _x	Nitrógeno Amoniacal
NTK	Nitrógeno Total Kjeldahl
RIS	Relación Inóculo Sustrato
SF	Sólidos Fijos
ST	Sólidos Totales
STP	<i>Standard Temperature and Pressure</i>
SV	Sólidos Volátiles
TCD	<i>Thermal Conductivity Detector</i>
UASB	<i>Upflow Anaerobic Sludge Blanket</i>

7. ANEXOS

7.1. Cálculos

1. Sólidos totales, volátiles y fijos

Para determinar los sólidos totales y volátiles se utilizaron las siguientes expresiones, respectivamente:

Ec. 1

$$ST (\%) = \frac{P_{\text{crisol+res } 105^{\circ}\text{C}}(\text{mg}) - P_{\text{crisol}}(\text{mg})}{P_{\text{crisol+muestra húmeda}}(\text{mg}) - P_{\text{crisol}}(\text{mg})} \cdot 100$$

Ec. 2

$$SV (\%) = \frac{(P_{\text{crisol+res } 105^{\circ}\text{C}}(\text{mg}) - P_{\text{crisol}}(\text{mg})) - (P_{\text{crisol+res } 550^{\circ}\text{C}}(\text{mg}) - P_{\text{crisol}}(\text{mg}))}{P_{\text{crisol+res } 105^{\circ}\text{C}}(\text{mg}) - P_{\text{crisol}}(\text{mg})} \cdot 100$$

Donde:

- SF: sólidos fijos (mg)
- SV: sólidos volátiles (mg)
- $P_{\text{crisol+muestra húmeda}}$: peso del crisol junto con el de la muestra húmeda (mg)
- $P_{\text{crisol+res } 105^{\circ}\text{C}}$: peso del crisol tras dejarlo secar a 105°C (mg)
- $P_{\text{crisol+res } 550^{\circ}\text{C}}$: peso del crisol tras dejarlo secar a 550°C (mg)

Para obtener los sólidos totales (SF), se realiza la siguiente diferencia:

Ec. 3

$$SF (\%) = ST (\%) - SV (\%)$$

2. DQOs

Datos aportados por el equipo: Absorbancia a 600 nm.

Recta de calibrado obtenida:

Ec. 4

$$DQOs \left(\frac{\text{mg } O_2}{L} \right) = ((2455,2 \cdot \text{Absorbancia}_{\text{muestra}}) + 3,2179) \cdot \text{Dilución}$$

Donde:

- $\text{Absorbancia}_{\text{muestra}}$: absorbancia obtenida de la muestra a 600 nm
- Dilución: dilución a la que se ha realizado el ensayo

3. Carbohidratos

Datos aportados por el equipo: Absorbancia a 490 nm.

Recta de calibrado obtenida:

Ec. 5

$$\text{Carbohidratos} \left(\frac{\text{mg } O_2}{L} \right) = ((96,223 \cdot \text{Absorbancia}_{\text{muestra}}) + 1,1334) \cdot \text{Dilución}$$

Donde:

- Absorbancia_{muestra}: absorbancia obtenida de la muestra a 490 nm
- Dilución: dilución a la que se ha realizado el ensayo

4. Alcalinidad

Datos aportados por el equipo: Volumen de H₂SO₄ 0,02N hasta pH=4,3

Ec. 6

$$\text{Alcalinidad} \left(\frac{\text{mg } CaCO_3}{L} \right) = \frac{V_{H_2SO_4}(L) \cdot N_{H_2SO_4} \left(\frac{eq}{L} \right) \cdot 50.000 \left(\frac{\text{mg } CaCO_3}{eq} \right)}{V_{\text{muestra}}(L)}$$

Donde:

- V_{H₂SO₄}: volumen de H₂SO₄ necesario para la titración de la muestra (L)
- N_{H₂SO₄}: normalidad del H₂SO₄ empleado para la titración (eq/L)
- V_{muestra}: volumen de muestra adicionada (L)
- 50.000: parámetro que permite el cambio de unidades equivalente

5. Ácidos Grasos Volátiles

Datos aportados por los equipos: Área de cromatografía.

Rectas de calibrado obtenidas:

➤ Ácido acético

Ec. 7

$$\frac{C_{\text{ác.acético}}}{C_{\text{patrón interno}}} = \left(\frac{A_{\text{ác.acético}}}{A_{\text{patrón interno}}} - 0,0103 \right) / 0,3309$$

➤ Ácido propiónico

Ec. 8

$$\frac{C_{\text{ác.propiónico}}}{C_{\text{patrón interno}}} = \left(\frac{A_{\text{ác.propiónico}}}{A_{\text{patrón interno}}} + 0,0374 \right) / 0,6001$$

➤ Ácido isobutírico

Ec. 9

$$\frac{C_{\text{ác.isobutírico}}}{C_{\text{patrón interno}}} = \left(\frac{A_{\text{ác.isobutírico}}}{A_{\text{patrón interno}}} + 0,0608 \right) / 0,594$$

➤ Ácido butírico

Ec. 10

$$\frac{C_{\text{ác.butírico}}}{C_{\text{patrón interno}}} = \left(\frac{A_{\text{ác.butírico}}}{A_{\text{patrón interno}}} + 0,1159 \right) / 0,7588$$

➤ Ácido isovalérico

Ec. 11

$$\frac{C_{\text{ác.isovalérico}}}{C_{\text{patrón interno}}} = \left(\frac{A_{\text{ác.isovalérico}}}{A_{\text{patrón interno}}} + 0,2378 \right) / 0,9157$$

➤ Ácido n-valérico

Ec. 12

$$\frac{C_{\text{ác.n-valérico}}}{C_{\text{patrón interno}}} = \left(\frac{A_{\text{ác.n-valérico}}}{A_{\text{patrón interno}}} + 0,1117 \right) / 0,7328$$

➤ Ácido isocaproico

Ec. 13

$$\frac{C_{\text{ác.isocaproico}}}{C_{\text{patrón interno}}} = \left(\frac{A_{\text{ác.isocaproico}}}{A_{\text{patrón interno}}} + 0,1545 \right) / 0,7488$$

➤ Ácido n-caproico

Ec. 14

$$\frac{C_{\text{ác.n-caproico}}}{C_{\text{patrón interno}}} = \left(\frac{A_{\text{ác.n-caproico}}}{A_{\text{patrón interno}}} + 0,1598 \right) / 0,7508$$

➤ Ácido heptanoico

Ec. 15

$$\frac{C_{\text{ác.heptanoico}}}{C_{\text{patrón interno}}} = \left(\frac{A_{\text{ác.heptanoico}}}{A_{\text{patrón interno}}} + 0,2092 \right) / 0,7891$$

Donde:

- C: corresponde a la concentración del analito (mg/L)
- $C_{\text{patrón interno}}$: concentración del patrón interno (ácido crotónico) (mg/L)
- A: corresponde al área obtenida para el analito
- $A_{\text{patrón interno}}$: área obtenida para el patrón interno

La suma de AGV totales se ha expresado en ácido acético y esto en su valor de DQO (mgDQO/L).

6. Nitrógeno Total Kjeldahl y nitrógeno amoniacal

Datos aportados por el equipo: Volumen de H₂SO₄ 0,02N empleado en la valoración de las muestras y el blanco.

Se aplica la siguiente expresión:

Ec. 16

$$N - NH_x \left(\frac{mg \text{ NH}_x}{L} \right) = \frac{(V_{H_2SO_4 \text{ muestra}}(L) - V_{H_2SO_4 \text{ blanco}}(L)) \cdot N_{H_2SO_4 \text{ blanco}} \left(\frac{eq}{L} \right) \cdot 14.000 \left(\frac{mg \text{ N} - mg \text{ NH}_x}{eq} \right)}{V_{\text{muestra}}(L)}$$

Donde:

- $N - NH_x$: concentración de NH_x obtenida (mg NH_x/L)
- $V_{H_2SO_4 \text{ muestra}}$: volumen de H₂SO₄ necesario para la valoración de la muestra (L)
- $V_{H_2SO_4 \text{ blanco}}$: volumen de H₂SO₄ necesario para la valoración del blanco (L)
- V_{muestra} : volumen de muestra adicionada (L)
- 14.000: parámetro que permite el cambio de unidades equivalente

7. Volumen de metano

Los datos aportados por los equipos fueron: área de cromatografía y presión en el reactor.

Para determinar los moles totales de biogás se utilizó la ecuación de los gases ideales y la presión obtenida en el interior de los reactores, como puede verse a continuación:

Ec. 17

$$\Delta n_{\text{biogás}}(\text{moles}) = \frac{\Delta P (\text{atm}) \cdot V_{\text{libre reactor}}(L)}{R \left(\frac{\text{atm} \cdot L}{K \cdot \text{mol}} \right) \cdot T_{\text{ensayo}}(K)}$$

Donde:

- $\Delta n_{\text{biogás}}$: diferencia de moles de biogás (moles)
- ΔP : diferencia de presión (atm)
- $V_{\text{libre reactor}}$: corresponde al volumen no ocupado por la fase líquida. Todos los reactores se montaron con el mismo volumen de 60 mL \Leftrightarrow 0,06 L
- R: constante de gases ideales, cuyo valor en las unidades correspondientes es de 0,082 atm·L/K·mol

- T_{ensayo} : la temperatura fue la misma para todos los viales, encontrándose en el rango mesofílico y siendo de $35 \pm 1 \text{ } ^\circ\text{C} \Leftrightarrow 308,15 \pm 1 \text{ K}$

A continuación, se obtiene el volumen de biogás en condiciones estándar de la siguiente forma:

Ec. 18

$$\Delta V_{\text{biogás},STP}(L) = \frac{\Delta n_{\text{biogás}}(\text{moles}) \cdot R \left(\frac{\text{atm} \cdot L}{\text{K} \cdot \text{mol}} \right) \cdot T^{\circ}(K)}{P^{\circ}(\text{atm})}$$

Donde, T° y P° son 0°C y 1 atm , respectivamente.

Para la determinación de los incrementos de volumen de metano producido, es necesario obtener primero el porcentaje en moles de éste. Para ello se utilizaron las áreas de CH_4 , CO_2 y H_2S obtenidas con el cromatógrafo para las muestras y el patrón usado ($59,84\% \text{ CH}_4 + 7,35\% \text{ H}_2\text{S} + 29,8\% \text{ CO}_2$). Por tanto, para obtener los moles de metano se aplicó la siguiente expresión:

Ec. 19

$$n_{\text{CH}_4}(\%) = \text{área}_{\text{CH}_4} \cdot \frac{(\% \text{CH}_4 \text{ patrón} / 100)}{\text{área}_{\text{CH}_4 \text{ patrón}}} \cdot 100$$

Una vez obtenidos los moles de metano en el biogás, se determinó el volumen de metano correspondiente de la siguiente forma:

Ec. 20

$$\Delta V_{\text{CH}_4,STP}(L) = \frac{\Delta V_{\text{biogás},STP}(L) \cdot n_{\text{CH}_4}(\%)}{100}$$

Para conocer la producción neta de metano que se estaba obteniendo a partir de los sustratos exclusivamente, bastó con restar el valor del volumen de metano obtenido para cada muestra menos el valor obtenido para el blanco.

Ec. 21

$$\Delta V_{\text{CH}_4 \text{ neta},STP}(mL) = \Delta V_{\text{CH}_4 \text{ muestra}}(mL) - \Delta V_{\text{CH}_4 \text{ blanco}}(mL)$$