



Educación

Secretaría de Educación Pública



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO®
Instituto Tecnológico de Orizaba

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

OPCIÓN I.- TESIS

TRABAJO PROFESIONAL

“EFECTO DE LA ADICIÓN DE BIOSURFACTANTES EN
EL PROCESO DE DIGESTIÓN ANAEROBIA DE AGUAS
RESIDUALES CON RESIDUOS GRASOS
DE ORIGEN ANIMAL.”

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS
EN INGENIERÍA QUÍMICA

PRESENTA:

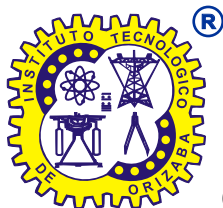
I.Amb. Luis Alfonso Cruz Acevedo

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. Alejandro Alvarado Lassman

CODIRECTOR DE TESIS:

Dr. Michel de la Cruz Canul Chan



ORIZABA, VERACRUZ, MÉXICO.

OCTUBRE 2025



Educación
Secretaría de Educación Pública



Instituto Tecnológico de Orizaba
División de Estudios de Posgrado e Investigación

Orizaba, Veracruz, 15/octubre/2025
Dependencia: División de Estudios de
Posgrado e Investigación.
Asunto: Autorización de Impresión
Opción: I

LUIS ALFONSO CRUZ ACEVEDO
CANDIDATO A GRADO DE MAESTRO EN
CIENCIAS EN INGENIERÍA QUÍMICA
PRESENTE

De acuerdo con el Reglamento de Titulación vigente de los Centros de Enseñanza Técnica Superior, dependiente de la Dirección General de Institutos Tecnológicos de la Secretaría de Educación Pública y habiendo cumplido con todas las indicaciones que la Comisión Revisora le hizo respecto a su Trabajo Profesional titulado:

**EFFECTO DE LA ADICIÓN DE BIOSURFACTANTES EN EL PROCESO DE DIGESTIÓN ANAEROBIA
DE AGUAS RESIDUALES CON RESIDUOS GRASOS DE ORIGEN ANIMAL**

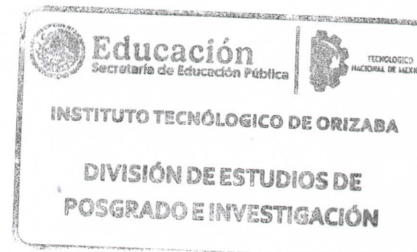
Comunico a usted que este Departamento concede su autorización para que proceda a la impresión del mismo.

ATENTAMENTE

Excelencia en Educación Tecnológica®
CIENCIA-TÉCNICA-CULTURA®

DRA. OFELIA LANDETA ESCAMILLA
JEFA DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE
POSGRADO E INVESTIGACIÓN

ccp. Archivo
OLE/NAVC



2025
Año de
La Mujer
Indígena

Av. Oriente 9 #852 Colonia Emiliano Zapata, C.P. 94320
Orizaba, Veracruz. Tel. 01 (272) 1105360
e-mail: info@orizaba.tecnm.mx www.orizaba.tecnm.mx





Educación
Secretaría de Educación Pública



Instituto Tecnológico de Orizaba
División de Estudios de Posgrado e Investigación

Orizaba, Veracruz, 15/agosto/2025
Asunto: **revisión de trabajo escrito**

DRA. OFELIA LANDETA ESCAMILLA
JEFA DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS
DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
PRESENTE

Los que suscriben, miembros del jurado, han realizado la revisión de la Tesis del (la) C.

LUIS ALFONSO CRUZ ACEVEDO

La cual lleva el título de:

EFFECTO DE LA ADICIÓN DE BIOSURFACTANTES EN EL PROCESO DE DIGESTIÓN ANAEROBIA DE AGUAS
RESIDUALES CON RESIDUOS GRASOS DE ORIGEN ANIMAL.

Y concluyen que se acepta.

ATENTAMENTE
Excelencia en Educación Tecnológica®
CIENCIA-TÉCNICA-CULTURA®

PRESIDENTE: DR. ALEJANDRO ALVARADO LASSMAN
SECRETARIO: DR. MICHEL DE LA CRUZ CANUL CHAN
VOCAL: MI. NORMA ALEJANDRA VALLEJO CANTÚ
VOCAL SUP.: DR. JUAN MANUEL MÉNDEZ CONTRERAS

FIRMA

FIRMA

FIRMA

FIRMA

TA-09-18



2025
Año de
La Mujer
Indígena

Av. Oriente 9 #852 Colonia Emiliano Zapata, C.P. 94320
Orizaba, Veracruz. Tel. 01 (272) 1105360
e-mail: info@orizaba.tecnm.mx www.orizaba.tecnm.mx



RECONOCIMIENTOS

Agradezco ampliamente al Dr. Alejandro Alvarado Lassman y a la M.I.Q. Norma Alejandra Vallejo Cantú por permitirme haber formado parte de su equipo de investigación, además de su invaluable apoyo, recomendaciones y tiempo dedicado para el desarrollo de este proyecto.

De igual forma, al Dr. Michel de la Cruz Canul Chan por haber creído en mí y alentarme a seguir en mi formación profesional, su invaluable apoyo, recomendaciones y tiempo dedicado para el desarrollo de este proyecto.

A CONAHCYT (actual SECIHTI) por otorgarme la Beca Nacional para Estudios de Posgrado con numero de CVU 1321378.

A mis padres Alfonso y Verónica, por creer en mí y su apoyo incondicional en cada de las etapas posesionales de mi vida, sin ellos nada habría sido posible.

RESUMEN

Efecto de la adición de biosurfactantes en el proceso de digestión anaerobia de aguas residuales con residuos grasos de origen animal

Elaborado por: I. Amb. Luis Alfonso Cruz Acevedo

Dirigido por: Dr. Alejandro Alvarado Lassman

Dr. Michel de la Cruz Canul Chan

La digestión anaerobia se posiciona como una tecnología clave para el tratamiento de aguas residuales municipales con alta carga orgánica y para la valorización energética de residuos con alto contenido de lípidos, aceites y grasas (LAGs). No obstante, la baja solubilidad, la flotabilidad y la toxicidad de estos compuestos representan desafíos operativos que limitan su aprovechamiento eficiente. En este estudio, se evaluó el efecto de la adición de biosurfactantes sobre la producción de biogás durante la digestión anaerobia de aguas residuales enriquecidas con LAGs de origen animal.

La metodología experimental incluyó la adaptación de un inóculo anaerobio en un reactor semicontinuo, seguido de la ejecución de pruebas cinéticas de potencial bioquímico de metano (BMP) en microcosmos, bajo condiciones mesofílicas (35 ± 1 °C). Se emplearon concentraciones de 1.0 y 2.5 % v/v de residuos grasos, consideradas elevadas para este tipo de sistemas, calculadas respecto al volumen de operación para facilitar su escalabilidad. La relación sustrato/inóculo fue de 1:3 ($\text{DQO}_T \text{ gSV}^{-1}$). Se evaluaron los efectos del biosurfactante lipopeptídico producido por una cepa nativa (M5), en comparación con el surfactante químico Tween 20 y controles sin surfactantes.

Los resultados mostraron que, bajo condiciones controladas, el sistema con 2.5 % de grasa sin adición de surfactantes alcanzó la mayor producción específica de biogás ($1405.92 \text{ mL gSV}^{-1}$), mientras que la adición de biosurfactante mejoró la estabilidad del proceso y permitió alcanzar una producción de $1279.94 \text{ mL gSV}^{-1}$, con una mayor

eficiencia de conversión de metano ($896.71 \text{ mL gSV}^{-1}$). En contraste, el uso del surfactante químico resultó en una inhibición significativa del proceso, evidenciada por reducciones en la producción de biogás y metano.

El modelado cinético mediante la ecuación de Gompertz modificado y Cone clásico, en conjunto con el análisis estadístico por ANOVA con prueba de Tukey ($\alpha = 0.5$) confirmaron diferencias significativas entre tratamientos. Los sistemas con grasa y biosurfactante mostraron un mejor rendimiento en términos de velocidad máxima de producción y menor periodo de latencia. Finalmente, se identificó que una proporción grasa/surfactante adecuada, así como la estrategia de alimentación gradual empleada en el reactor semicontinuo, favorecieron la adaptación microbiana y la resistencia a cargas elevadas de materia orgánica, incrementando la producción sostenida de biogás.

Este trabajo respalda el potencial de los biosurfactantes como coadyuvantes en el tratamiento anaerobio de residuos grasos y contribuye al desarrollo de tecnologías más eficientes y sostenibles para la generación de bioenergía a partir de residuos orgánicos.

ABSTRACT

Effect of Biosurfactant Addition on the Anaerobic Digestion Process of Wastewater Enriched with Animal-Derived Grease Residues

By: I. Amb. Luis Alfonso Cuz Acevedo

Advisor: Dr. Alejandro Alvarado Lassman

Dr. Michel de la Cruz Canul Chan

Anaerobic digestion is positioned as a key technology for the treatment of municipal wastewater with high organic loads and for the energetic valorization of Fats, Oils and Greases (FOGs). However, the low solubility, buoyancy, and toxicity of these compounds pose significant operational challenges that hinder their efficient conversion. In this study, the effect of biosurfactant addition on biogas production during the anaerobic digestion of wastewater enriched with animal-derived FOGs was evaluated.

The experimental methodology involved the acclimation of anaerobic inoculum in a semicontinuous reactor, followed by kinetic tests of biochemical methane potential (BMP) in microcosms under mesophilic conditions (35 ± 1 °C). Fat concentrations of 1.0 and 2.5 % v/v, considered high for anaerobic systems, were used, based on reactor working volume to ensure future scalability. A substrate-to-inoculum ratio of 1:3 (gDQO⁻¹ gSV⁻¹) was maintained. The effects of a lipopeptide biosurfactant produced by a native strain (M5) were assessed in comparison with the chemical surfactant Tween 20 and control assays without surfactants.

Results showed that under controlled conditions, the system with 2.5 % fat and no surfactants achieved the highest specific biogas production (1405.92 mL gSV⁻¹), while the addition of biosurfactant improved process stability and enabled a production of 1279.94 mL gSV⁻¹, along with higher methane conversion efficiency (896.71 mL gSV⁻¹). In contrast,

the use of the chemical surfactant significantly inhibited the process, as evidenced by a marked reduction in both biogas and methane yields.

Kinetic modeling using the modified Gompertz equation and the classical Cone model, combined with statistical analysis via ANOVA and Tukey's post hoc test ($\alpha = 0.5$), confirmed significant differences among treatments. Systems with fat and biosurfactant exhibited superior performance in terms of maximum production rate and shorter lag phases. Moreover, the use of a proper fat-to-surfactant ratio and the application of a gradual feeding strategy in the semicontinuous reactor supported microbial adaptation and enhanced resistance to high organic loading, leading to increased and sustained biogas production.

This study supports the potential of biosurfactants as coadjuvants in the anaerobic treatment of lipid-rich wastes and contributes to the development of more efficient and sustainable technologies for bioenergy production from organic residues.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	12
JUSTIFICACIÓN.....	14
OBJETIVOS.....	16
CAPÍTULO 1 FUNDAMENTOS TEÓRICOS	18
1.1 Contaminación por aguas residuales	18
1.2 Tipos de aguas residuales	19
1.2.1 Aguas residuales municipales/domesticas	21
1.2.2 La composición de las aguas residuales municipales/domésticas	22
1.3 Sistemas de tratamiento de aguas residuales municipales	25
1.3.1 Tratamiento de aguas residuales con lípidos, aceites y grasas.....	26
1.4 Digestión anaerobia	27
1.4.1 Etapas de la digestión anaerobia.....	29
1.4.2 Factores que afectan la digestión anaerobia	34
1.5 Digestión anaerobia en presencia de lípidos, aceites y grasas	35
1.5.1 β -oxidación de ácidos grasos.....	37
1.6 Pretratamientos para la digestión anaerobia de lípidos, aceites y grasas	39
1.6.1 Adición de mejorantes de la digestión anaerobia	40
1.6.2 Adición de surfactantes en la digestión anaerobia.....	41
1.6.3 Adición de biosurfactantes en la digestión anaerobia.....	42

1.7 Análisis de la dinámica poblacional microbiana durante la digestión anaerobia	47
1.8 Modelos matemáticos para la digestión anaerobia	48
ANTECEDENTES	52
CAPÍTULO 2 MATERIALES Y MÉTODOS	61
2.1 Etapa I – Estabilización del reactor anaerobio	62
2.1.1 Obtención del inóculo	62
2.1.2 Aclimatación del inóculo	63
2.2 Etapa II – Establecimiento de las pruebas de biodegradabilidad	66
2.2.1 Montaje de las pruebas de biodegradabilidad de los residuos grasos de origen animal en microcosmos	66
2.2.2 Determinación del potencial bioquímico de metano sin surfactantes y sin grasas	68
2.3 Etapa III	69
2.3.1 Determinación del efecto de los surfactantes en la biodegradabilidad de los residuos grasos de origen animal	69
2.3.2 Determinación del efecto de los residuos grasos de origen animal en el potencial bioquímico de metano	69
2.3.3 Determinación del potencial bioquímico de metano de los residuos grasos de origen animal y la adición de surfactantes	70
2.3.4 Análisis de la producción de ácidos grasos volátiles	71
2.4 Etapa IV	71
2.4.1 Modelo cinético de Gompertz modificado	71

2.4.2 Modelo cinético de Cone clásico.....	72
2.4.3 Analisis estadistico	73
CAPÍTULO 3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	75
3.1 Etapa I – Estabilización del reactor anaerobio	75
3.1.1 Obtención y caracterización del inóculo.....	75
3.1.2 Obtención y caracterización de la Fracción Líquida de Residuos Sólidos Orgánicos para la adaptación del inóculo	76
3.1.3 Aclimatación del inóculo en un reactor anaerobio semicontinuo	77
3.2 Etapa II – Establecimiento de las pruebas de biodegradabilidad	96
3.2.1 Montaje de las pruebas cinéticas de potencial bioquímico de metano de aguas residuales compuestas por diferentes sustratos en microcosmos.....	96
3.3 Etapa III	98
3.3.1 Obtención y caracterización de los residuos grasos de origen animal (LAGs).....	98
3.3.2 Pruebas para la determinación del Potencial Bioquímico de metano de las aguas residuales compuestas por diferentes mezclas de sustratos en microcosmos..	100
3.3.3 Determinación del efecto de la adición de biosurfactantes en la digestión anaerobia de aguas residuales con presencia de lípidos (LAGs) en microcosmos.....	102
3.3.4 Efecto de la concentración de LAGs y uso de biosurfactantes en el proceso de digestión anaerobia en microcosmos.....	117
3.4 Etapa IV – Evaluación de parámetros cinéticos.....	123

3.4.1 Evaluación de los parámetros cinéticos mediante el Modelo de Gompertz modificado y Cone clásico de las aguas residuales compuestas con 2.5 % v/v de LAGs	123
3.4.2 Modelamiento cinético mediante Gompertz modificado y Cone clásico de los sistemas con 1.0 % v/v de LAGs	126
3.4.3 Análisis estadístico.....	132
CONCLUSIONES	138
RECOMENDACIONES	140
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	142

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1. Etapas de la digestión anaerobia.....	30
Figura 1.2 Ruta metabólica de la biodegradación anaerobia de un triglicérido	37
Figura 1.3 Producción de biosurfactantes, su composición y formación de micelas	43
Figura 1.4 Biosurfactantes y su clasificación basada en su peso molecular	46
Figura 1.5 Modelo simplificado de la digestión anaerobia de biomasa fermentadora de glucosa.....	49
Figura 2.1 Diagrama general de la experimentación.	61
Figura 2.2. Reactor de hidrólisis escala piloto de la Planta de Aprovechamiento de Residuos del Instituto Tecnológico de Orizaba.....	62
Figura 2.3. Reactor anaerobio para la adaptación del inóculo (a), Diagrama del reactor anaerobio para la adaptación del inóculo (b).....	64
Figura 3.1 Comparación de la carga orgánica de entrada y salida del reactor anaerobio con respecto a la producción de biogás durante las tres etapas del proceso de estabilización.....	79
Figura 3.2 Evolución de la remoción de la carga orgánica durante las tres etapas del proceso de estabilización del reactor anaerobio.....	82
Figura 3.3 Comparación de la carga orgánica soluble de entrada y salida del reactor anaerobio con respecto a la producción de biogás durante las tres etapas del proceso de estabilización.....	84
Figura 3.4 Evolución de la remoción de la carga orgánica soluble durante las tres etapas del proceso de estabilización del reactor anaerobio.	85

Figura 3.5 Evolución de la Carga Volumétrica Aplicada respecto a la producción de biogás durante las tres etapas del proceso de estabilización del reactor anaerobio.	86
Figura 3.6 Comparación de la concentración de Sólidos Totales de entrada y salida del reactor anaerobio respecto a la producción de biogás durante las tres etapas del proceso de estabilización.....	89
Figura 3.7 Evolución de la remoción de Sólidos Totales durante las tres etapas del proceso de estabilización del reactor anaerobio.	90
Figura 3.8 Comparación de la concentración de Sólidos Volátiles de entrada y salida del reactor anaerobio respecto a la producción de biogás durante las tres etapas del proceso de estabilización.....	91
Figura 3.9 Evolución de la remoción de Sólidos Volátiles durante las tres etapas del proceso de estabilización del reactor anaerobio.	92
Figura 3.10 Evolución del pH en la entrada y la salida del reactor anaerobio durante las tres etapas del proceso de estabilización.	93
Figura 3.11. Evolución del factor de alcalinidad (α) durante las tres etapas del proceso de estabilización del reactor anaerobio.....	95
Figura 3.12 Comparación de la producción de biogás acumulado durante las pruebas de biodegradabilidad de las aguas residuales compuestas diferentes mezclas de sustratos.	101
Figura 3.13 Comparación de producción de biogás acumulado respecto al consumo de materia orgánica de las aguas residuales compuestas diferentes mezclas de sustratos.	103
Figura 3.14 Comparación de la tasa de producción de biogás empleando aguas residuales compuestas diferentes mezclas de sustratos.....	106

Figura 3.15 Comparación de la producción acumulada de biogás empleando aguas residuales compuestas diferentes mezclas de sustratos.....	107
Figura 3.16 Comparación de la composición de metano en el biogás producido empleando aguas residuales compuestas de diferentes mezclas de sustratos.	108
Figura 3.17 Evolución del pH durante la digestión anaerobia empleando aguas residuales compuestas de diferentes mezclas de sustrato.	109
Figura 3.18 Evolución de la concentración de Sólidos Volátiles durante la digestión anaerobia de las aguas residuales compuestas de diferentes mezclas de sustratos. .	110
Figura 3.19 Galería fotográfica de los diferentes sistemas de digestión anaerobia durante el tratamiento de aguas residuales compuestas con diferentes mezclas a lo largo del tiempo.	113
Figura 3.20 Evolución la concentración de Ácidos Grasos Volátiles durante la digestión anaerobia de las aguas residuales compuestas de diferentes tipos de sustratos.	115
Figura 3.21 Comparación de la tasa de producción de biogás empleando aguas residuales compuestas diferentes mezclas de sustratos y 1% LAGs.....	118
Figura 3.22 Comparación de la producción acumulada de biogás empleando aguas residuales compuestas diferentes mezclas de sustratos y 1% LAGs.....	119
Figura 3.23 Comparación de la composición de metano en el biogás producido empleando aguas residuales compuestas de diferentes mezclas de sustratos y 1% LAGs.	120
Figura 3.24 Galería fotográfica de los diferentes sistemas de digestión anaerobia durante el tratamiento de aguas residuales compuestas con diferentes mezclas y 1 % LAGs a lo largo del tiempo.....	122

Figura 3.25 Análisis de la producción acumulada de biogás durante la digestión anaerobia de las aguas residuales compuestas por diferentes tipos de sustratos empleando el modelo cinético de a) Gompertz modificado y b) Cone clásico.124

Figura 3.26 Análisis de la producción acumulada de biogás durante la digestión anaerobia de las aguas residuales compuestas por diferentes tipos de sustratos y 1 % LAGs empleando el modelo cinético de a) Gompertz modificado y b) Cone clásico.....127

Figura 3.27 Comparación de la producción acumulada de biogás durante la digestión anaerobia de las aguas residuales compuestas por diferentes tipos de sustratos.....129

LISTA DE TABLAS

Tabla 1.1. Clasificación de las aguas residuales, probable composición y efectos contaminantes	20
Tabla 1.2. Demanda hídrica, características y cantidad de aguas residuales generadas por habitante día (Adaptado de SEMARNAT, 2020).	22
Tabla 1.3. Carga contaminante promedio en aguas residuales grises	23
Tabla 1.4. β -oxidación de ácidos grasos comunes en residuos grasos.....	39
Tabla 1.5. Efecto de los pretratamientos en sustratos con alto contenido de lípidos, grasas y aceites	40
Tabla 2.1. Determinaciones fisicoquímicas.....	63
Tabla 2.2. Condiciones iniciales de las pruebas en microcosmos para la determinación de del potencial bioquímico de metano de las aguas residuales compuestas de diferentes mezclas de sustratos.	68
Tabla 3.1.Caracterización del inóculo obtenido del reactor de hidrólisis escala piloto durante su acondicionamiento	75
Tabla 3.2 Caracterización de la Fracción Líquida de RSO	77
Tabla 3.3 Caracterización de la Fracción Líquida de jitomate.	97
Tabla 3.4 Caracterización de los Residuos Grasos de Origen Animal (LAGs).....	98
Tabla 3.5 Condiciones iniciales de las pruebas en microcosmos para la determinación de del potencial bioquímico de metano de las aguas residuales compuestas de diferentes mezclas de sustratos.	100
Tabla 3.6 Comparación del biogás y metano acumulados específicos durante digestión anaerobia de las aguas residuales compuestas de diferentes tipos de sustratos.	111

Tabla 3.7 Comparación de los parámetros fisicoquímicos y producción de biogás y metano acumulados en la digestión anaerobia de aguas residuales compuestas por diferentes tipos de sustratos y 1 % LAGs.	120
Tabla 3.8 Comparación del biogás y metano acumulados específicos durante digestión anaerobia de las aguas residuales compuestas de diferentes tipos de sustratos y 1% LAGs.	121
Tabla 3.9 Parámetros cinéticos obtenidos para el modelo de Gompertz modificado y Cone clásico para las aguas residuales compuestas por diferentes tipos de sustratos en los sistemas de digestión anaerobia.....	125
Tabla 3.10 Parámetros cinéticos obtenidos para el modelo de Gompertz modificado y Cone clásico para las aguas residuales compuestas por diferentes tipos de sustratos y 1 % LAGs en los sistemas de digestión anaerobia.....	130
Tabla 3.11 Análisis de Varianza para biogás acumulado (2.5 % LAGs).....	133
Tabla 3.12 Prueba de comparación de medias por el método de Tukey para biogás acumulado (2.5 % LAGs)	133
Tabla 3.13 Análisis de Varianza para CH ₄ acumulado (2.5 % LAGs).....	134
Tabla 3.14 Prueba de comparación de medias por el método de Tukey para CH ₄ acumulado (2.5 % LAGs)	134
Tabla 3.15 Análisis de Varianza para biogás acumulado (1.0 % LAGs).....	135
Tabla 3.16 Prueba de comparación de medias por el método de Tukey para biogás acumulado (1.0 % LAGs)	135
Tabla 3.17 Análisis de Varianza para CH ₄ acumulado (1.0 % LAGs).....	135
Tabla 3.18 Prueba de comparación de medias por el método de Tukey para CH ₄ acumulado (1.0 % LAGs)	136

NOMENCLATURA

Nomenclatura	Significado
Ácidos Grasos de Cadena	AGCLs
Ácidos Grasos Volátiles	AGVs
Biochemical Methane Potential (Prueba de Potencial Bioquímico de Metano)	BMP
Biosurfactante	BS
Concentración Micelar Critica	CMC
Demanda Química de Oxígeno	DQO
División de Estudios de Posgrado e Investigación	DEPI
Ecuaciones Diferenciales Ordinarias	EDOs
Flotación por Aire Disuelto	DAF
Lípidos, Grasas y Aceites	LAGs
Anaerobic Digestion Model No. 1 (Modelo de Digestión Anaerobia No. 1)	ADM1
Objetivo de Desarrollo Sustentable	ODS
Quantitative Polymerase Chain Reaction (Reacción en Cadena de la Polimerasa en tiempo real)	qPCR
Upflow Anaerobic Sludge Blanket (Reactor Anaerobio de Flujo Ascendente)	UASB
Continuous Stirred-Tank Reactor (Reactor de Tanque Agitado Continuo)	CSTR
Residuos Sólidos Orgánicos	RSO
Sólidos Totales	ST
Sólidos Volátiles	SV
Tiempo de Residencia Hidráulica	TRH

INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas, la contaminación ambiental, particularmente la del agua, ha cobrado relevancia global debido a sus efectos negativos sobre el ciclo hidrológico. La descarga de aguas residuales (AR) en cuerpos receptores representa una de las principales causas de deterioro de este recurso, afectando su disponibilidad en términos de cantidad y calidad (Saravanan *et al.*, 2021). Estas aguas contienen diversos contaminantes derivados del uso doméstico, industrial y agrícola, los cuales, al entrar en contacto con cuerpos acuáticos, disminuyen su calidad y los vuelven inadecuados para usos posteriores (Riffat y Husnain, 2022).

Entre los distintos tipos de AR, las municipales (AR-M), generadas en entornos urbanos y rurales, destacan por su elevada carga orgánica y de nutrientes. Se clasifican comúnmente en aguas negras y grises; estas últimas, que se generan en mayor volumen, contienen lípidos, aceites y grasas (LAGs), los cuales pueden representar hasta el 60 % de la carga orgánica. La presencia de LAGs plantea desafíos importantes para los sistemas de alcantarillado y tratamiento debido a su flotabilidad, baja solubilidad y potencial de obstrucción. Su uso creciente en riego agrícola, ante la escasez hídrica, ha intensificado los riesgos ambientales (Larsen *et al.*, 2013; Collin *et al.*, 2020; IMTA, 2021).

Para mitigar estos impactos, se emplean plantas de tratamiento de aguas residuales, entre las que destaca la digestión anaerobia por su capacidad de transformar materia orgánica en biogás mediante comunidades microbianas en condiciones anóxicas. No obstante, los LAGs suelen excluirse de este proceso por su tendencia a provocar flotación de lodos, lavado de reactores e inhibición microbiológica. Así, frecuentemente se eliminan en pretratamientos, desperdiciando su alto potencial energético ($1.4 \text{ L}_{\text{biogás}} \text{ g}^{-1}$) (Kehrein *et al.*, 2020; Holahan *et al.*, 2022).

Pese a estas limitaciones, la digestión anaerobia de residuos con alto contenido graso constituye una alternativa prometedora para la valorización de desechos y la producción de bioenergía. Para ello, se han desarrollado pretratamientos térmicos, químicos, bioquímicos, entre otros que mejoran la disponibilidad de sustratos y la eficiencia del

proceso, siendo los bioquímicos particularmente atractivos por su viabilidad técnica y económica (Salama *et al.*, 2019).

En este contexto, el uso de biosurfactantes se presenta como una estrategia innovadora. Estas moléculas de origen biológico, a diferencia de los surfactantes sintéticos, son biodegradables, de baja toxicidad y pueden aumentar la biodisponibilidad de compuestos hidrofóbicos. Su aplicación en el tratamiento de aguas residuales con residuos grasos podría potenciar la degradación de LAGs y optimizar la producción de biogás de manera sustentable (Diamantis *et al.*, 2021).

Por tanto, el objetivo de este trabajo es evaluar el efecto de la adición de biosurfactantes sobre la producción de biogás durante la digestión anaerobia de aguas residuales con residuos grasos de origen animal, con el propósito de valorizar estos compuestos y fomentar la generación de biocombustibles.

JUSTIFICACIÓN

El acelerado crecimiento poblacional registrado en las últimas décadas ha generado una serie de problemáticas ambientales, entre las cuales destaca la creciente contaminación hídrica asociada a la generación y manejo inadecuado de aguas residuales. Este fenómeno, estrechamente vinculado con el desarrollo de zonas urbanas y rurales, ha incrementado la descarga de efluentes que contienen altas concentraciones de contaminantes orgánicos e inorgánicos, comprometiendo tanto la salud pública como la estabilidad ecológica de los cuerpos receptores.

Dentro de los diversos compuestos presentes en las aguas residuales municipales, los lípidos, aceites y grasas (LAGs), provenientes principalmente de actividades domésticas, comerciales e industriales relacionadas con la preparación y procesamiento de alimentos, representan una fracción especialmente problemática. La acumulación de LAGs en los sistemas de alcantarillado y tratamiento puede provocar obstrucciones, reducir la eficiencia de los procesos biológicos y generar impactos negativos en los ecosistemas acuáticos, debido a su baja solubilidad, lenta biodegradación y potencial toxicidad.

Frente a esta situación, las estrategias convencionales de separación y confinamiento de grasas, aunque necesarias, no resuelven de manera integral el problema, ya que se limitan a la relocalización de la carga contaminante. En este contexto, la digestión anaerobia se presenta como una alternativa sostenible y económicamente viable para el tratamiento de residuos lipídicos. Este proceso permite la reducción de la carga orgánica y la producción de biogás, gracias al elevado poder energético de los lípidos. No obstante, la aplicación eficiente de esta tecnología enfrenta importantes limitaciones operativas, derivadas de las características fisicoquímicas de los LAGs, como su baja biodisponibilidad, elevada densidad y efectos inhibitorios sobre las comunidades microbianas metanogénicas.

Ante estos desafíos, se han desarrollado diversas estrategias para mejorar la eficiencia del proceso, entre las cuales destaca la incorporación de surfactantes, compuestos capaces de incrementar la solubilidad de sustancias hidrofóbicas mediante la formación

de emulsiones. Particularmente, los biosurfactantes son moléculas de naturaleza anfipática producidas por bacterias, levaduras y hongos, estos han demostrado ser una alternativa prometedora, al facilitar la desestabilización de agregados lipídicos, mejorar su disponibilidad para los microorganismos y reducir la toxicidad del medio. A diferencia de los surfactantes sintéticos, los biosurfactantes presentan alta biodegradabilidad, baja toxicidad y compatibilidad con sistemas biológicos, lo que los posiciona como coadyuvantes ideales en procesos biotecnológicos de tratamiento de residuos orgánicos.

El aprovechamiento de biosurfactantes en la digestión anaerobia de LAGs no solo puede mejorar la eficiencia del tratamiento y aumentar la producción de biogás, sino que también contribuye al aprovechamiento integral de residuos, promoviendo la economía circular y la generación de bioenergía a partir de desechos con alto potencial energético. En este sentido, la presente investigación busca evaluar el efecto de la adición de biosurfactantes sobre la degradación de residuos lipídicos en condiciones anaerobias, como una alternativa tecnológica para el tratamiento de aguas residuales municipales y la valorización energética de residuos orgánicos.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de la adición de biosurfactantes sobre la producción de biogás durante el tratamiento de aguas residuales con residuos grasos de origen animal, mediante digestión anaerobia.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Obtener y caracterizar un inóculo capaz de degradar residuos grasos de origen animal presentes en aguas residuales empleando un reactor anaerobio.
2. Caracterizar diferentes aguas residuales sintéticas compuestas por mezclas de sustratos de origen vegetal, de origen animal y surfactantes para determinar su potencial bioquímico de metano.
3. Evaluar el efecto de la adición biosurfactantes sobre la producción de biogás en tratamiento mediante digestión anaerobia de aguas residuales con residuos de origen animal.
4. Evaluar el efecto de la concentración de residuos grasos de origen animal el proceso de digestión anaerobia de aguas residuales.
5. Establecer una relación de la concentración de residuos grasos de origen animal y la adición de surfactantes con respecto a la producción de biogás en un proceso de digestión anaerobia a través del análisis de los parámetros cinéticos.

CAPÍTULO 1

FUNDAMENTOS TEÓRICOS

CAPÍTULO 1 FUNDAMENTOS TEÓRICOS

1.1 Contaminación por aguas residuales

En las últimas décadas, los problemas de contaminación ambiental han adquirido mayor relevancia a nivel mundial debido a las alteraciones en los ciclos biogeoquímicos, las cuales han incrementado el riesgo sobre la disponibilidad de los recursos naturales. La descarga de aguas residuales en cuerpos de agua constituye una de las principales causas de contaminación hídrica, afectando tanto la cantidad como la calidad de este recurso vital. La contaminación del agua hace referencia al acto de adición de sustancias o formas de energía que, directa o indirectamente, modifican sus propiedades naturales, limitando sus usos legítimos (Afolalu *et al.*, 2022). Este deterioro en la calidad del agua se debe principalmente a la contaminación ocasionada por actividades antropogénicas e industriales (Saravanan *et al.*, 2021).

Las aguas residuales transportan desechos líquidos y sólidos generados por el uso de recursos en hogares, comercios e industrias, conteniendo diversas concentraciones de contaminantes orgánicos, inorgánicos y microorganismos patógenos. Cuando estas aguas alcanzan un cuerpo de agua, generan una contaminación severa que compromete su calidad, volviéndola inadecuada para usos futuros, como el abastecimiento de agua potable (Riffat y Husnain, 2022).

De acuerdo con la UNESCO (2021), cerca del 90 % de las aguas residuales en los países en desarrollo se descarga directamente en cuerpos de agua sin recibir ningún tratamiento previo, lo que compromete la futura disponibilidad del recurso. Ante el aumento en la demanda de agua y su constante contaminación, resulta imprescindible desarrollar y aplicar sistemas de tratamiento de aguas residuales eficientes. Estos sistemas deben permitir la reintegración de los efluentes a los ciclos productivos, con el fin de reducir el estrés sobre el recurso hídrico y mitigar los impactos negativos en los ecosistemas (Sperling, 2007).

1.2 Tipos de aguas residuales

La clasificación de las aguas residuales se basa en su fuente de generación, identificándose cuatro tipos principales (Ali *et al.*, 2021; Edokpayi *et al.*, 2017):

- **Municipales/domésticas:** Estas aguas provienen de áreas residenciales, centros comerciales, instituciones educativas, hospitales y espacios públicos. Contienen desechos humanos y animales, así como residuos sólidos y líquidos generados en actividades cotidianas.
- **Industriales:** Generadas por procesos industriales, estas aguas contienen restos de sustancias y materiales específicos según el tipo de actividad industrial involucrada, presentando una composición química compleja.
- **Pluviales:** Provenientes de sistemas de recolección de agua de lluvia, escorrentías y alcantarillado, contienen grandes cantidades de arena, grava y otros materiales particulados arrastrados por el agua durante eventos de precipitación.
- **Agrícolas:** Resultantes del uso de agua en actividades agrícolas como el riego, la limpieza y el lavado, estas aguas suelen contener residuos de pesticidas, fertilizantes y otros productos químicos utilizados en la producción agrícola.

Los tipos de aguas residuales se diferencian entre sí por su composición y carga contaminante, determinadas por las sustancias con las que han entrado en contacto durante su uso. En la Tabla 1.1 se detalla la carga contaminante y la composición característica de cada tipo de agua residual. Las aguas residuales agrícolas se caracterizan por tener una carga contaminante relativamente baja, ya que provienen de un uso específico. En contraste, las aguas residuales domésticas y pluviales, generadas en áreas rurales y urbanas por una variedad de actividades, presentan una mayor diversidad en su composición. Por otro lado, las aguas residuales industriales se destacan por su alta complejidad, ya que su carga contaminante es variable y depende de los procesos específicos de cada empresa, lo que dificulta la implementación de sistemas de tratamiento eficientes.

Tabla 1.1. Clasificación de las aguas residuales, probable composición y efectos contaminantes (Adaptado de Sperling, 2007).

Contaminante	Tipo de agua residual*				Efecto contaminante
	Domésticas/ Municipales	Industriales	Pluviales	Agrícolas	
Sólidos suspendidos	XXX	Variable	XX	X	• Deposición de lodos • Problemas estéticos • Toxicidad
Materia orgánica biodegradable	XXX	Variable	XX	X	• Aumento en la demanda de oxígeno disuelto • Toxicidad
Nitrógeno fósforo	y XXX	Variable	XX	X	• Eutrofización • Aumento de la toxicidad • Contaminación de mantos acuíferos
Patógenos	XXX	Variable	XX	X	• Enfermedades de transmisión por agua • Toxicidad • Formación de espumas
Pesticidas detergentes	y X	Variable	X	XX	• Reducción de la transferencia de oxígeno • Disminución de la biodegradación • Malos olores • Toxicidad
Metales pesados	X	Variable	X	–	• Inhibición de tratamientos biológicos • Contaminación de mantos acuíferos • Contaminación de suelos
Materia inorgánica (sales)	XX	Variable	–	X	• Salinidad excesiva • Toxicidad en plantas • Disminución de la permeabilidad de suelos

*X: carga baja, XX: carga media y XXX: carga alta.

1.2.1 Aguas residuales municipales/domesticas

Las aguas residuales municipales son el resultado de las diversas actividades cotidianas tanto en centros urbanos como rurales, y se caracterizan por su alta concentración de nutrientes y materia orgánica, provenientes principalmente de desechos humanos y animales, lo que las convierte en un riesgo significativo para los ecosistemas acuáticos y la salud pública (Preisner, 2020).

A nivel global, la urbanización e industrialización descontroladas de las últimas décadas han generado limitaciones significativas en el acceso al agua, especialmente en zonas áridas y semiáridas. En respuesta a esta escasez, muchas de estas regiones recurren al uso de efluentes de aguas residuales industriales y municipales, principalmente para el riego de cultivos, como una medida de disposición. Sin embargo, esta práctica conlleva el riesgo de contaminación de cuerpos de agua, de los sistemas fluviales locales y el suelo (Yu *et al.*, 2019).

En México, la descarga de aguas residuales municipales en cuerpos de agua y zonas áridas se ha convertido en una práctica común durante el último siglo, lo cual es preocupante en el contexto de la escasez y la falta de calidad del agua a nivel mundial. Estas descargas tienen como consecuencia la contaminación de las aguas superficiales y subterráneas, comprometiendo tanto la salud pública como la integridad de los ecosistemas. En este sentido, la implementación de sistemas de tratamiento que permitan la reintegración de efluentes se vuelve cada vez más relevante para sostener la vida y el desarrollo económico (IMTA, 2021).

Al considerar el desarrollo de sistemas de tratamiento, el principal desafío de las aguas residuales municipales radica en su composición diversa, resultado de la mezcla de diversas sustancias químicas empleadas en las actividades humanas cotidianas. La presencia de contaminantes afecta el transporte y la biodisponibilidad de los componentes del agua, además de poseer un efecto tóxico inherente (Yu *et al.*, 2020).

La generación de aguas residuales municipales está directamente relacionada con la demanda hídrica per cápita. Como se muestra en la Tabla 1.2, cerca del 95 % del agua

utilizada diariamente es devuelta en forma de agua residual, la cual contiene una elevada carga orgánica, siendo el carbono su principal componente. Este proviene, en su mayoría, de lípidos, grasas y aceites, derivados de los restos de alimentos y de la limpieza de utensilios de cocina.

Tabla 1.2. Demanda hídrica, características y cantidad de aguas residuales generadas por habitante día (Adaptado de SEMARNAT, 2020).

Demanda de agua (L hab ⁻¹ día ⁻¹)	Descarga de agua (L hab ⁻¹ día ⁻¹)	Contaminación (g hab ⁻¹ día ⁻¹)					
		Sólidos totales (ST)	Sólidos volátiles (SV)	Sólidos inorgánicos	C	N	P
80	76	190	110	80	37	13.9	2.3

1.2.2 La composición de las aguas residuales municipales/domésticas

Las aguas residuales municipales/domésticas se caracterizan por contener desechos humanos y animales, así como residuos de productos químicos, tales como detergentes, productos de limpieza, aguas de lavandería y restos de alimentos. Esta combinación de sustancias confiere a las aguas residuales municipales una elevada y diversa carga orgánica, lo que complica su tratamiento, requiriendo múltiples etapas interconectadas para cumplir con los estándares establecidos en normativas vigentes, como la NOM-001-SEMARNAT-2021.

Las aguas residuales municipales/domésticas pueden subclasificarse en función de la presencia de desechos humanos y animales (Edokpayi *et al.*, 2017):

- **Aguas grises:** generadas durante actividades de limpieza, lavado de utensilios y ropa, cuya carga contaminante proviene principalmente de sustancias químicas como detergentes y productos de limpieza.
- **Aguas negras:** originadas en las descargas de sanitarios y la limpieza de desechos animales, contienen heces y orina.

Las aguas grises representan más del 70% del total de las aguas residuales municipales/domésticas. De estas, las aguas resultantes de la limpieza de utensilios de cocina aportan entre el 50% y 60% de la carga orgánica, compuesta principalmente de residuos de alimentos, detergentes, productos de limpieza y grasas (Larsen *et al.*, 2013). En la Tabla 1.3 se muestra la carga contaminante promedio de los efluentes de aguas grises, destacándose el valor de la Demanda Química de Oxígeno (DQO), que supera en más del 400 % lo establecido por la NOM-001-SEMARNAT-2021. Este valor elevado se debe principalmente a los restos de alimentos, especialmente lípidos, grasas y aceites, los cuales tienen un mayor peso molecular y un mayor número de átomos de carbono.

Tabla 1.3. Carga contaminante promedio en aguas residuales grises (Adaptado de Larsen *et al.*, 2013).

Parámetro	Promedio	Rango	Unidad
pH	7.2 ± 0.52	6.4 – 10.0	-
Turbidez	95 ± 90	20 – 280	NTU
Sólidos Suspendidos Totales (SST)	216 ± 270	2.0 – 1070	
Sólidos Suspendidos Volátiles (SSV)	64	-	mg L ⁻¹
Demanda Química de Oxígeno (DQO)	620 ± 707	7 – 2570	
Nitrógeno total (N _t)	23 ± 38	0.1 – 128	

1.2.2.1 Lípidos, aceites y grasas en aguas residuales municipales/domésticas

Los Lípidos, Aceites y Grasas (LAGs) comprenden un grupo heterogéneo de sustancias químicas que incluye triglicéridos, diglicéridos, monoglicéridos, esteroides, hidrocarburos no volátiles, ceras y otros lípidos complejos, los cuales pueden encontrarse de forma combinada, libres o emulsionados en las aguas residuales (Gurd *et al.*, 2020).

Los LAGs, provenientes principalmente de la producción y elaboración de alimentos, son contaminantes peligrosos presentes en las aguas residuales municipales/domésticas. Al entrar en contacto con el agua, estos compuestos tienden a aglomerarse, formar espumas o flotar en la superficie en forma de películas. Esta acumulación y formación

provoca problemas en los ecosistemas acuáticos, así como en los sistemas de alcantarillado y de tratamiento de aguas. La presencia de LAGs en las aguas residuales exige la integración de estrategias específicas para su remoción o tratamiento, ya que su manejo inadecuado compromete el equilibrio ecológico y la salud pública (Collin et al., 2020).

En México, se estima que la producción de LAGs es de aproximadamente 0.31 toneladas anuales por cada 1000 habitantes. Sin embargo, esta cifra varía según el grado de industrialización de las ciudades. En las zonas más desarrolladas e industrializadas, donde la población frecuenta con mayor regularidad restaurantes y otros establecimientos dedicados a la preparación de alimentos, la producción de LAGs es considerablemente más alta. Esto implica que la generación de estos residuos está directamente relacionada con la actividad económica general. En países desarrollados, donde el consumo y la industrialización son más elevados, la producción y descarga de LAGs en las aguas residuales tiende a ser mayor (Tarcias-Pascacio *et al.*, 2016).

La descarga de aguas residuales con LAGs en cuerpos de agua superficiales tiene consecuencias graves para los ecosistemas acuáticos, tales como la muerte de peces y otros organismos, debido a la obstrucción de la fotosíntesis de algas y plantas acuáticas. Esto ocurre por la formación de una capa impermeable en la superficie del agua que impide el transporte de nutrientes y gases. Para mitigar estos impactos, es fundamental implementar tratamientos efectivos para la remoción de LAGs en los sistemas de saneamiento de aguas residuales municipales (Sanghamitra *et al.*, 2021).

El tratamiento de los LAGs en las aguas residuales también representa una oportunidad para la producción de combustibles alternativos. Dado su alto valor nutricional, algunos microorganismos pueden metabolizar estos contaminantes y generar subproductos de valor agregado como biogás o bioetanol. Este proceso de bioconversión no solo reduce la contaminación por LAGs en aguas superficiales, sino que también permite transformar los residuos en fuentes de energía alternativa (Ahmad *et al.*, 2020).

1.3 Sistemas de tratamiento de aguas residuales municipales

La contaminación de aguas superficiales por aguas residuales plantea escenarios críticos para la sostenibilidad del recurso hídrico, tanto en cantidad como en calidad. Se estima que para el año 2025, el 60 % de la población mundial enfrentará problemas de escasez de agua, y que para 2050 la demanda de agua habrá aumentado aproximadamente un 55% en comparación con el año 2000. Estas proyecciones reflejan la creciente preocupación global por la escasez y contaminación del agua, lo que ha incrementado la presión sobre los gobiernos para mejorar la gestión y saneamiento eficiente de este recurso. En este contexto, se busca cumplir con el Objetivo de Desarrollo Sostenible (ODS) número 6 de la Agenda 2030, impulsando el desarrollo de sistemas de tratamiento de aguas residuales que reduzcan la presión sobre los recursos hídricos, garantizando su reingreso eficiente en los sistemas biológicos y productivos (Herrera-Navarrete *et al.*, 2021).

La implementación de plantas de tratamiento de aguas residuales municipales juega un papel clave en el desarrollo urbano sustentable. Estos sistemas tienen como principales objetivos disminuir los riesgos para la salud humana y minimizar los daños a los ecosistemas, causados principalmente por el exceso de nutrientes, a través del tratamiento adecuado de las aguas residuales. El uso de recursos de manera circular en estos sistemas representa un cambio de paradigma en la búsqueda de tecnologías efectivas que disminuyan la presión sobre los recursos naturales y promuevan la salud pública (Kehrein *et al.*, 2020).

Los sistemas de tratamiento de aguas residuales están conformados por una serie de operaciones físicas, químicas y biológicas, conocidas como trenes de tratamiento. La selección de las operaciones que conforman el tren depende de las características del agua a tratar. En el caso de las aguas residuales municipales/domésticas, es necesario aplicar tanto tratamientos primarios como secundarios: los primeros se enfocan en la remoción de contaminantes que pueden causar problemas operacionales, mientras que los segundos están dirigidos a la eliminación de contaminantes orgánicos solubles (SEMARNAT, 2020).

La selección de un sistema de tratamiento eficiente requiere conocer la naturaleza y la concentración de los contaminantes presentes. Dado que las aguas residuales municipales contienen principalmente materia orgánica disuelta, los tratamientos biológicos resultan ser los más adecuados para su remoción. Además, estos procesos tienen el potencial de generar subproductos como biocombustibles, lo que permite que las plantas de tratamiento no solo reduzcan la contaminación, sino que también se conviertan en productoras de energía alternativa. De este modo, los contaminantes orgánicos pueden transformarse en una fuente de energía que se puede reintegrar a otros procesos productivos (Sikosana *et al.*, 2019).

1.3.1 Tratamiento de aguas residuales con lípidos, aceites y grasas

Se estima que las plantas de tratamiento de aguas residuales reciben diariamente grandes cantidades de LAGs. La mayor parte de estos residuos debe eliminarse durante las etapas de pretratamiento o tratamiento primario para evitar problemas operacionales en las fases posteriores, como la formación de espumas, cúmulos, o el incremento de la demanda de oxígeno para su degradación. Por ello, la implementación de tecnologías eficaces para la remoción de lípidos en las aguas residuales es fundamental para mantener la estabilidad del proceso a largo plazo (Wallace *et al.*, 2017).

Los métodos predominantes para la eliminación de grasas en las plantas de tratamiento incluyen la coagulación química y la flotación por aire disuelto (DAF, por sus siglas en inglés). Estos procesos generan lodos primarios que, tras ser secados, pueden ser coprocesados en aplicaciones que aprovechan las grasas como materia prima. Aunque se utilizan también métodos biológicos, como la degradación aerobia y anaerobia para tratar a los LAGs, su alta demanda de oxígeno, lenta degradación y potencial toxicidad hacen que la separación en lodos primarios siga siendo la técnica más utilizada. Con el uso de coagulantes o DAF, se pueden alcanzar eficiencias de remoción de hasta el 70 % (Collin *et al.*, 2020).

Sin embargo, la separación de grasas en lodos primarios representa una transferencia de la contaminación en lugar de una solución definitiva. Por esta razón, se ha explorado

el desarrollo de tecnologías que permitan el aprovechamiento de estos lodos ricos en grasas, como la producción de biodiesel. Pero, para lograr este objetivo y aprovechar los LAGs presentes en los lodos primarios es necesario implementar métodos de separación, como la extracción por solventes, lo que añade complejidad y costos adicionales al proceso, además de presentar un rendimiento variable en función de los otros componentes presentes en los lodos (De Jesús Villalobos-Delgado *et al.*, 2023).

Dadas estas limitaciones, resulta indispensable integrar LAGs en sistemas que puedan degradar eficientemente estos contaminantes y generar subproductos de valor agregado. La digestión anaerobia es uno de los bioprocesos más prometedores para el tratamiento de estos residuos, ya que, por su alto contenido energético, pueden incrementar de forma significativa la producción de biogás. Así, la digestión anaerobia se presenta como una alternativa viable para el tratamiento de las grasas y aceites presentes en las aguas residuales. Sin embargo, esta operación no es la solución definitiva, debido a las propiedades de estos residuos, es necesaria la aplicación de pretratamientos o mejoras que faciliten su incorporación al proceso, optimizando así la eficiencia del sistema.

1.4 Digestión anaerobia

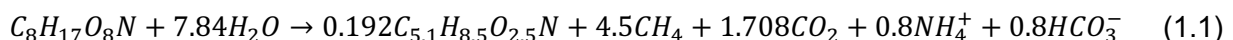
El aumento de la demanda energética global, junto con el crecimiento poblacional que incrementa la generación de residuos sólidos, ha impulsado el desarrollo de tecnologías que permitan sustituir los combustibles fósiles mediante el aprovechamiento de residuos. En este contexto, la digestión anaerobia se destaca como un componente clave en los sistemas de tratamiento de aguas residuales, debido a su capacidad para procesar una amplia variedad de residuos y producir subproductos con valor energético. Esta tecnología ofrece una alternativa prometedora para la producción de combustibles renovables mediante la bioconversión de residuos, contribuyendo a mitigar los efectos de la contaminación generada por aguas residuales (Bhatt y Tao, 2020).

La digestión anaerobia es un proceso biológico en el cual, en ausencia de oxígeno, la materia orgánica se convierte en biogás gracias a la actividad de comunidades microbianas. Este proceso se divide en cuatro etapas interdependientes y que ocurren

de forma simultánea: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis, las cuales dependen de variaciones en el pH durante el tratamiento. El biogás producido está compuesto principalmente por dióxido de carbono (30 – 40 %), metano (55 – 65 %) y otros gases en menor proporción (>1 %). Dada esta composición, el biogás se ha convertido en una fuente importante de energía renovable. Como resultado, existe un creciente interés en investigar métodos que permitan aumentar la producción de biogás utilizando una amplia gama de sustratos (Chew *et al.*, 2021).

La digestión anaerobia es un proceso versátil que permite el uso de diversos residuos como sustrato, y la selección de estos es fundamental para la eficiencia y viabilidad económica del tratamiento. Entre los sustratos más prometedores se encuentran los residuos de comida, debido a su alto contenido de humedad y materia biodegradable (aproximadamente 90 % de SV), lo que favorece el desarrollo de comunidades microbianas. Además, la codigestión de diferentes tipos de sustratos puede mejorar la eficiencia del proceso, ya que la mezcla de nutrientes incrementa la producción de biogás. Cabe destacar que el biogás generado puede complementar otras fuentes de energía renovable, especialmente aquellas dependientes de condiciones climáticas, como la solar o la eólica. Por lo tanto, la digestión anaerobia no solo contribuye a reducir la acumulación de residuos, sino que también mejora la disponibilidad de fuentes de energía renovable (Pilarska *et al.*, 2023).

De manera simplificada, la digestión anaerobia puede explicarse mediante la estequiometría, identificando al donador y al aceptor de electrones, correspondientes al sustrato y al biogás, respectivamente, así como la reacción de síntesis celular. Esto se puede representar mediante la Ecuación 1.1, en la cual se utiliza una fórmula general para los residuos sólidos orgánicos y los microorganismos presentes en el proceso de digestión anaerobia (García-Peña *et al.*, 2011).



Mediante el uso de reacciones estequiométricas, es posible estimar tanto la producción de biogás como la de otros subproductos. Además, estas ecuaciones pueden adaptarse dependiendo del tipo de sustrato utilizado. Sin embargo, en la digestión anaerobia intervienen muchos más factores que los que pueden ser descritos únicamente mediante una ecuación estequiométrica. El cumplimiento de estas relaciones depende de las diversas reacciones que ocurren durante las cuatro etapas del proceso, por lo que es fundamental identificar tanto los parámetros de control como las etapas clave para optimizar la producción final de biogás.

1.4.1 Etapas de la digestión anaerobia

Como se mencionó anteriormente, la digestión anaerobia se desarrolla a través de cuatro etapas, en las cuales se lleva a cabo la degradación de los compuestos orgánicos hasta su metanización. A lo largo de cada etapa, tienen lugar numerosas reacciones complejas entre distintos grupos de microorganismos, que actúan en conjunto para descomponer la materia orgánica y convertirla en biogás. Las etapas del proceso son: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis (Figura 1.1). Estas fases pueden ocurrir de manera simultánea e interdependiente, dependiendo del estado de avance del proceso. Cada etapa se caracteriza no solo por las reacciones y productos específicos que se generan, sino también por la actividad diferenciada de los grupos bacterianos involucrados, cuya prevalencia varía según la fase del proceso (Chew *et al.*, 2021 y Aworanti *et al.*, 2023). A continuación, se describirán las etapas del proceso:

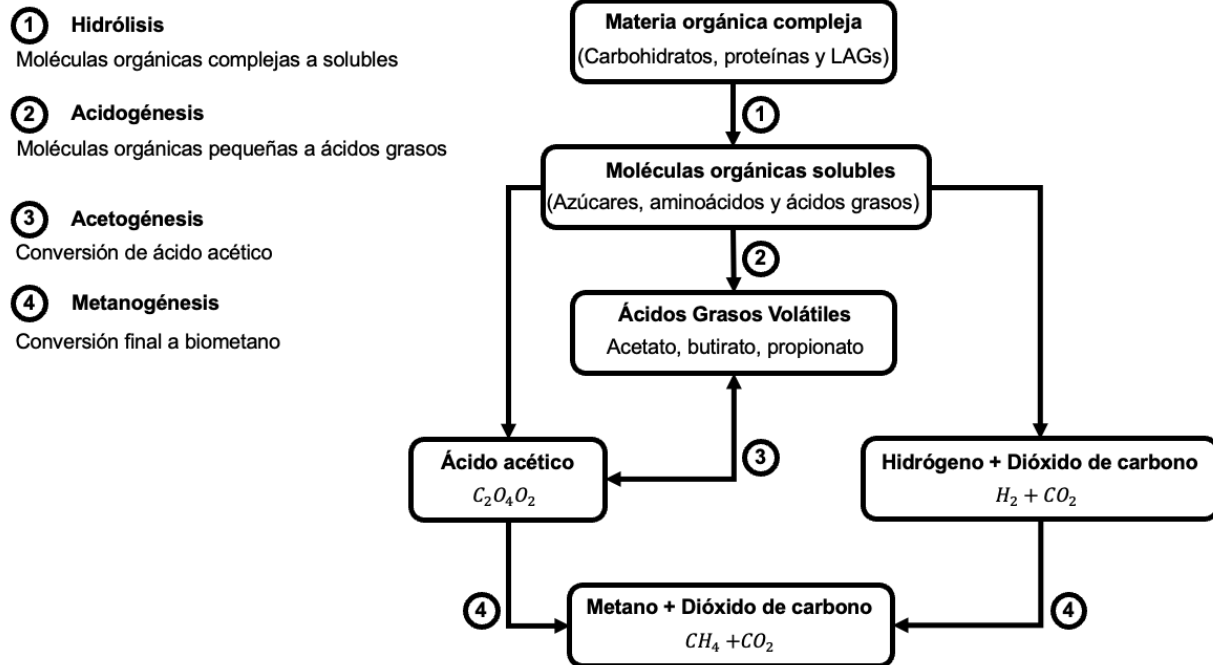
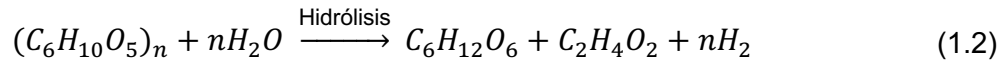


Figura 1.1. Etapas de la digestión anaerobia (Adaptado de Salama *et al.*, 2019).

• Hidrólisis

El primer paso de la digestión anaerobia, esencial para el desarrollo del resto de las etapas, es la hidrólisis. En esta fase, el agua y las enzimas extracelulares segregadas por las bacterias hidrolíticas degradan o despolimerizan las estructuras poliméricas presentes en la celulosa, almidones y proteínas (moléculas de alto peso molecular) transformándolas en sus respectivas unidades simples, como glucosa, ácidos grasos y aminoácidos (moléculas de bajo peso molecular), dependiendo de la composición de la materia orgánica. Las enzimas hidrolíticas más comunes durante esta etapa incluyen la amilasa, celulasa, lipasa, proteasa y pectinasa. Estas enzimas son excretadas en la fase líquida y se adhieren a las membranas microbianas o se inmovilizan en complejos multienzimáticos llamados celulosomas, los cuales interactúan con la materia orgánica para iniciar su degradación. Por lo tanto, la actividad enzimática es de gran importancia durante el proceso hidrolítico de la digestión anaerobia (Uddin y Wright, 2023; Menzel *et al.*, 2020). La reacción general de la hidrólisis se presenta en la Ecuación 1.2.

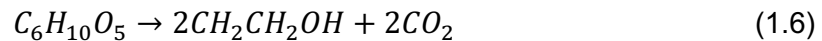
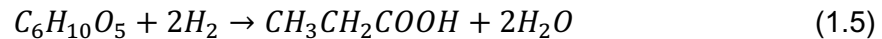
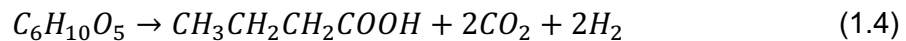
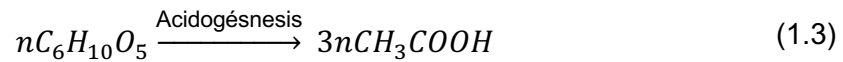


Cabe destacar que la hidrólisis es, en muchos casos, la etapa limitante en cuanto a la velocidad del proceso de digestión anaerobia. Su eficacia depende de la naturaleza de la materia orgánica que se introduce en el sistema, lo cual influye en el crecimiento de las bacterias hidrolíticas, entre las que destacan *Bacteroides*, *Clostridium*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Vibrio* y *Staphylococcus* (Aworanti *et al.*, 2023). Este crecimiento es variable dependiendo de los polímeros presentes en la materia orgánica, así como de la forma y el tamaño de las partículas al ser alimentadas al proceso. La actividad enzimática de estas bacterias no solo depende de la composición del sustrato y el tamaño de las partículas, sino también de factores como el pH, cuyo rango óptimo es entre 5 y 7, y la temperatura, que debe mantenerse entre 30 y 50 °C. Un control adecuado de estas condiciones en la etapa de hidrólisis es esencial para asegurar el correcto funcionamiento de todo el proceso de digestión anaerobia. La interacción eficiente entre el sustrato y el inóculo puede incrementar la producción de biogás y optimizar el desarrollo de las etapas posteriores, las cuales dependen de los productos generados durante la hidrólisis (Chew *et al.*, 2021).

- **Acidogénesis**

El segundo paso de la digestión anaerobia se conoce como acidogénesis, en el cual los productos resultantes de la hidrólisis son transformados o fermentados por bacterias acidogénicas, como *Streptococcus*, *Lactobacillus* y *Clostridium*, en ácidos grasos volátiles (ácido propiónico, butírico y acético), ácidos orgánicos (ácido succínico, valérico y láctico), alcoholes de cadena corta, amonio (NH_4), dióxido de carbono (CO_2), hidrógeno gaseoso (H_2) y sulfuro de hidrógeno (H_2S) (Aworanti *et al.*, 2023). Estas bacterias tienden a preferir la degradación de las macromoléculas en ácido acético, ya que esta ruta metabólica genera mayor energía y acelera su crecimiento, con un tiempo de duplicación que puede ser de aproximadamente 30 minutos. Además, las bacterias acidogénicas pueden tolerar un rango de pH entre 5 y 6. Sin embargo, su rápido crecimiento puede tener repercusiones negativas en el proceso, particularmente cuando los ácidos

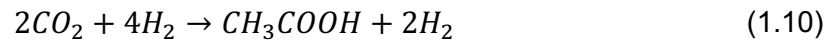
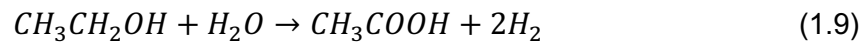
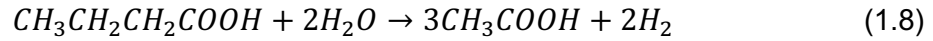
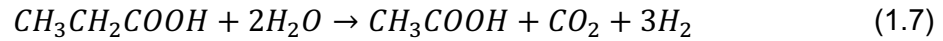
generados no son metabolizados con suficiente rapidez en las etapas posteriores, lo que provoca una disminución en el pH. Durante la acidogénesis, pueden producirse grandes cantidades de CO_2 y H_2 , especialmente cuando la materia orgánica es rica en carbohidratos. Estos subproductos, en particular el H_2 , pueden impactar el resto del proceso, ya que su concentración elevada afecta la formación de productos finales en esta etapa. Esto puede generar que ciertos ácidos producidos no sean aptos para su transformación en metano, haciendo necesaria la intervención de una tercera etapa en el proceso (Embeu *et al.*, 2022). Las reacciones propias de la acidogénesis se presentan en las Ecuaciones 1.3 a 1.6 (Aworanti *et al.*, 2023; Uddin y Wright, 2023).



- **Acetogénesis**

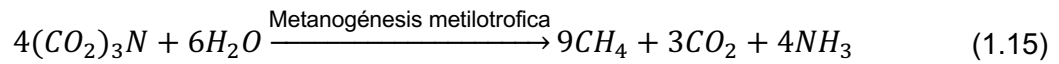
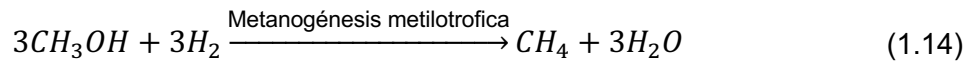
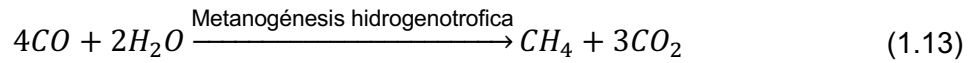
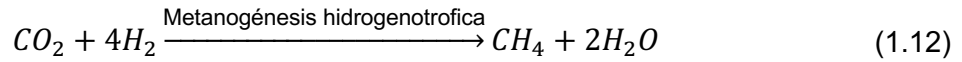
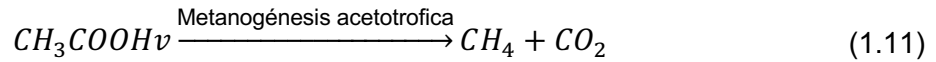
La acetogénesis es el segundo paso para lograr la descomposición de la materia orgánica, en esta etapa las bacterias acetogénicas oxidan de forma anaerobia a los ácidos orgánicos y alcoholes de cadena corta en ácido acético y H_2 . Algunas de las bacterias acidogénicas más comunes son *Bacillus*, *Salmonella*, *Streptococcus*, *Escherichia coli* y *Lactobacillus*, estos microorganismos son estrictamente anaerobios y pueden desarrollarse en ambientes ligeramente ácidos (de 6.0 a 6.2) y no toleran la presencia de oxidantes como el oxígeno o el nitrato, además algunas de estas bacterias son de crecimiento lento, con un tiempo mínimo de duplicación de aproximadamente 2 a 4 días. Durante esta etapa se puede producir la inhibición de la metanogénesis si el H_2 producido no se metaboliza rápidamente por las bacterias

metanogénicas (Uddin y Wright, 2023; Chew *et al.*, 2021). Las reacciones de la acetogénesis se presentan en las Ecuaciones 1.7 a 1.6 (Aworanti *et al.*, 2023; Uddin y Wright, 2023).



- **Metanogénesis**

La etapa final de la digestión anaerobia, conocida como metanogénesis, es donde se produce metano a partir de los productos generados en las etapas anteriores. En este proceso participan microorganismos metanógenos, los cuales se clasifican en tres grandes grupos según el sustrato utilizado durante la metanización: los metanógenos acetotróficos, que tienen afinidad por el ácido acético; los hidrogenotróficos, que prefieren el H_2 y el CO_2 ; y los metilotróficos, que metabolizan componentes como el metilo o la trimetilamina, aunque su contribución a la producción de metano es mínima. La mayor parte de la producción de metano está a cargo de los metanógenos acetotróficos; sin embargo, su tiempo de duplicación es relativamente lento, oscilando entre dos y tres días. Por otro lado, los metanógenos hidrogenotróficos presentan un tiempo de duplicación más rápido, entre 4 y 12 horas, aunque solo contribuyen con aproximadamente el 30% de la producción total de metano en el proceso de digestión anaerobia (Aworanti *et al.*, 2023; Chew *et al.*, 2021). Las reacciones que describen la metanogénesis se presentan en las Ecuaciones 1.11 a 1.15 (Uddin y Wright, 2023; Chew *et al.*, 2021).



1.4.2 Factores que afectan la digestión anaerobia

El control preciso de parámetros clave como el pH, la temperatura, la concentración y composición del inóculo y el sustrato, así como la transferencia de masa, es fundamental para mantener la estabilidad de la digestión anaerobia y garantizar una producción eficiente de biogás.

Cada etapa del proceso depende directamente de la actividad de las comunidades microbianas, cuya eficiencia está influenciada por estos parámetros. Entre ellos, la **temperatura** juega un papel crucial, ya que determina el desarrollo óptimo de los microorganismos. El proceso de digestión anaerobia puede ocurrir en tres rangos de temperatura: psicrófilo (<20 °C), mesófilo (20 – 43 °C, óptimo a 35 °C) y termófilo (50 – 60 °C, óptimo a 55 °C). Las temperaturas mesofílicas y termofílicas favorecen la producción de metano al acelerar la actividad microbiana, con tasas de producción de metano que van desde 0.03 – 0.65 L g⁻¹ SV d⁻¹ en condiciones mesofílicas, y 0.04 – 0.31 L g⁻¹ SV d⁻¹ en condiciones termofílicas. En contraste, en condiciones psicrófilas, el metabolismo se reduce, lo que disminuye el rendimiento del proceso. En general, el rango de 35 – 55 °C resulta el más adecuado para la digestión anaerobia eficiente, mientras que temperaturas más bajas tienden a ralentizar el proceso (Nie *et al.*, 2021).

Otro factor fundamental es el pH, que regula la actividad metabólica de las comunidades microbianas. Durante las etapas de digestión, el pH varía, particularmente en la fase de acidificación, donde un aumento en los ácidos grasos volátiles (AGVs) puede reducirlo. El rango óptimo de pH para las condiciones mesofílicas y termofílicas se encuentra entre 6.8 y 7.2. Si el pH cae por debajo de este umbral y no se estabiliza, la actividad de los microorganismos metanogénicos puede inhibirse, lo que reduciría significativamente la producción de metano. Por ello, es crucial mantener el pH dentro de los niveles óptimos durante todo el proceso (Ryue *et al.*, 2020).

Finalmente, la transferencia de masa es otro aspecto crítico en el tratamiento anaerobio, ya que afecta la disponibilidad de sustrato e inóculo. Para maximizar la eficiencia, es necesario asegurar que los nutrientes estén disponibles para las comunidades microbianas. Sin embargo, sustratos como los lípidos, grasas y aceites presentan dificultades debido a su baja solubilidad y densidad, lo que limita su disponibilidad en el medio. Estos compuestos, aunque poseen un alto potencial bioquímico de metano, requieren estrategias de pretratamiento que optimicen su degradación y permitan una transferencia de masa más eficiente. Así, se puede maximizar la producción de metano, al mismo tiempo que se mitiga la contaminación ambiental por hidrocarburos (Li *et al.*, 2019).

1.5 Digestión anaerobia en presencia de lípidos, aceites y grasas

Como se menciona con anterioridad, la presencia de lípidos, aceites y grasas (LAGs) en aguas residuales plantea diversos retos para su tratamiento. Debido a sus propiedades químicas, los LAGs requieren pretratamientos específicos para su separación antes de ser sometidos a procesos de tratamiento convencionales. Sin embargo, a pesar de estos desafíos, los LAGs se consideran sustratos ideales para la digestión anaerobia, ya que poseen el mayor potencial bioquímico de metano en comparación con otras macromoléculas. Se estima que los lípidos pueden generar hasta 1.4 L de biogás por gramo, en contraste con los 0.9 L g⁻¹ de las proteínas y los 0.8 L g⁻¹ de los carbohidratos (Holahan *et al.*, 2022).

La digestión anaerobia de LAGs representa una oportunidad significativa para cerrar ciclos dentro del concepto de economía circular. Este proceso incrementa la producción de biogás a partir de sistemas de tratamiento de aguas residuales, lo que se traduce en una mayor producción de energías renovables utilizando sustratos que comúnmente se consideran contaminantes. Aproximadamente, mediante la digestión anaerobia de una tonelada de lípidos y grasas, es posible producir hasta 1000 m³ de biogás, equivalentes a 4000 kWh t⁻¹ (considerando la generación de 4 kWh m⁻³ utilizando un motor de combustión interna), lo que se presenta como una alternativa viable para la producción de bioenergéticos mediante técnicas de biorremediación (Diamantis *et al.*, 2021).

No obstante, la digestión anaerobia de LAGs enfrenta diversos desafíos. Debido a su insolubilidad en el agua, estas sustancias tienden a flotar y formar una película superficial, lo que dificulta o incluso impide el transporte del sustrato al interior del reactor. Además, la forma en que se presentan las grasas residuales, generalmente en estado sólido a temperatura ambiente, tiende a generar cúmulos que son difíciles de degradar (Salama *et al.*, 2019).

El proceso de digestión anaerobia de LAGs se inicia con la hidrólisis de los cúmulos de grasas, una etapa donde la solubilidad del sustrato y la adaptación de los microorganismos son limitantes clave, aunque temporales. Sin embargo, el consumo de LAGs puede verse afectado por la producción de ácidos grasos de cadena larga (AGCLs) como subproducto de la hidrólisis (Figura 1.2). La degradación de los AGCLs representa un desafío adicional, dado que su descomposición es más lenta, lo que conlleva a su acumulación en el medio. Los AGCLs son degradados a ácido acético e hidrógeno mediante β -oxidación (Figura 1.2), una ruta metabólica que requiere energía y, por ende, no ocurre de manera espontánea ($\Delta G^0 = +326 \text{ kJ}$ para la degradación de una molécula de ácido oleico). Esta etapa se convierte en un factor limitante para la degradación de LAGs. La acumulación de AGCLs puede provocar la adsorción de estos compuestos a los lodos, lo que incrementa su flotabilidad y disminuye gradualmente la eficiencia del proceso hasta llegar a cero, incluso provocando el fenómeno de lavado del reactor. Además, los AGCLs libres tienen efectos tóxicos sobre los microorganismos, afectando su estructura y función (Ma *et al.*, 2015; Holahan *et al.*, 2022).

Dada la complejidad de los desafíos mencionados, es fundamental implementar pretratamientos que mitiguen los efectos adversos de las grasas en la digestión anaerobia y mejoren el proceso de obtención de biogás. Asimismo, es importante considerar el uso de sustratos ricos en LAGs, que poseen un mayor potencial bioquímico de metano, lo que podría incrementar la producción de biogás a partir de residuos de origen municipal.

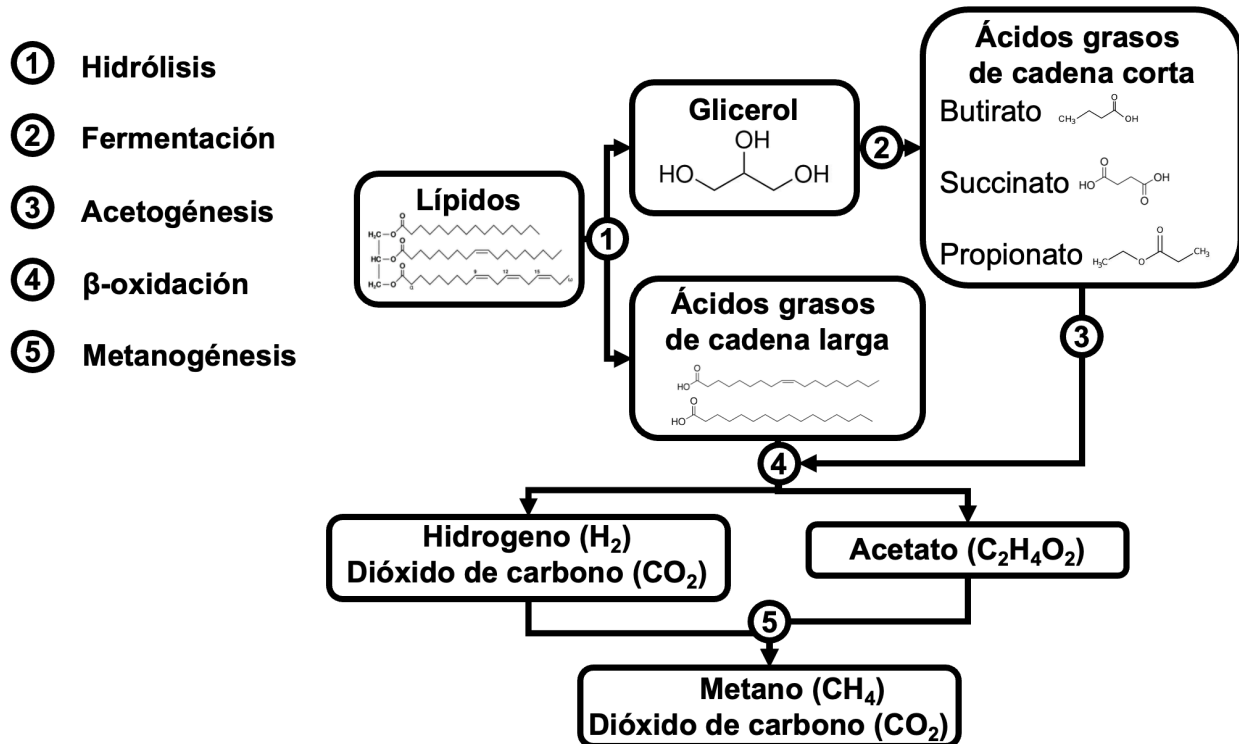
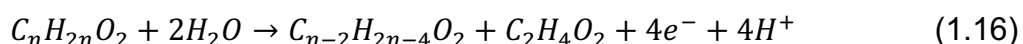


Figura 1.2 Ruta metabólica de la biodegradación anaerobia de un triglicérido (Adaptado de Holahan *et al.*, 2022).

1.5.1 β-oxidación de ácidos grasos

Como se mencionó previamente, la biodegradación de los LAGs durante la digestión anaerobia involucra dos pasos limitantes: la hidrólisis de los cúmulos de lípidos en AGCLs y su posterior β-oxidación, que culmina en la formación de ácido acético e hidrógeno. Estos productos son fundamentales para la etapa de metanogénesis en el proceso de digestión anaerobia. (Holahan *et al.*, 2022) La β-oxidación es la ruta metabólica mediante la cual los AGCLs son degradados. Este proceso enzimático ocurre en el interior de las

bacterias sintróficas y se caracteriza por la degradación cíclica de ácidos grasos saturados e insaturados. El objetivo inicial de esta ruta es convertir los ácidos grasos saturados o de mayor longitud en ácidos grasos saturados de cadena más corta, eliminando dos carbonos en cada ciclo, los cuales se transforman en ácido acético. Por ejemplo, durante la β -oxidación, ácidos grasos como el ácido oleico (C18:1) y el ácido esteárico (C18) se convierten en ácido palmítico (C16) mediante reacciones enzimáticas específicas. La reacción general de la β -oxidación se representa en la Ecuación 1.16 (Diamantis *et al.*, 2021).



La reacción de β -oxidación comienza cuando las enzimas encargadas del transporte y activación de ácidos grasos (Acil-CoA sintetasa) forman la unión Acil-CoA graso, permitiendo el transporte de los AGCLs al interior de la membrana plasmática. Una vez dentro, los ácidos grasos se unen a las proteínas de unión (FABPpm) para su posterior conversión en Acetil-CoA a través de cuatro reacciones enzimáticas. En términos generales, se ha observado que los ácidos grasos saturados son los primeros en incorporarse a la ruta metabólica, mientras que los ácidos grasos insaturados requieren la eliminación de las insaturaciones antes de iniciar su degradación. Sin embargo, no existe un patrón de degradación completamente detallado para estos últimos (Usman *et al.*, 2022).

Es importante destacar que la oxidación de los ácidos grasos no ocurre de manera espontánea; requiere energía para llevarse a cabo, lo que explica que este proceso solo suceda bajo condiciones específicas. En la Tabla 1.4 se presenta de manera detallada la β -oxidación de ácidos grasos como el oleato y el palmitato, dos compuestos de cadena larga que se encuentran comúnmente en residuos grasos. Como se muestra en la tabla, a partir de una molécula de palmitato es posible obtener nueve moléculas de acetato, lo que se traduce en la producción final de nueve moléculas de metano por cada molécula de palmitato degradada. Este proceso pone en evidencia el elevado potencial energético

que poseen los LAGs para la producción de biogás (Holahan *et al.*, 2022 & Diamantis *et al.*, 2021).

Tabla 1.4. β -oxidación de ácidos grasos comunes en residuos grasos (Adaptado de Salama *et al.*, 2019; Holohan *et al.*, 2022; Diamantis *et al.* 2021).

Reacción	Descripción	ΔG^0
Ciclo unico de β -oxidación del Ácido oleico	$C_{18}H_{33}O_2^- + 2H_2O \rightarrow C_{16}H_{31}O_2^- + C_2H_3O_2^- + 2H_2 + H^+$	+38
Ciclo unico de β -oxidación Ácido palmítico	$C_{16}H_{31}O_2^- + 2H_2O \rightarrow C_{14}H_{27}O_2^- + C_2H_3O_2^- + 2H_2 + H^+$	+44
Ciclo completo de β -oxidación del Ácido oleico	$C_{18}H_{33}O_2^- + 16H_2O \rightarrow 9C_2H_3O_2^- + 15H_2 + 8H^+$	+338
Ciclo completo de β -oxidación Ácido palmítico	$C_{16}H_{31}O_2^- + 14H_2O \rightarrow 8C_2H_3O_2^- + 13H_2 + 7H^+$	+353
Metanogénesis	$C_2H_3O_2^- + H_2O \rightarrow HCO_3^- + CH_4$	-31
	$4H_2 + HCO_3^- + H^+ \rightarrow CH_4 + 3H_2O$	-136

1.6 Pretratamientos para la digestión anaerobia de lípidos, aceites y grasas

La digestión anaerobia de aguas residuales con LAGs representa una alternativa prometedora para el tratamiento de residuos y la producción de bioenergía. Como se mencionó anteriormente, los lípidos son las macromoléculas con mayor potencial bioquímico de metano, alcanzando hasta 1.4 L de biogás por gramo de lípidos. Sin embargo, su baja solubilidad y densidad conllevan consecuencias negativas para la biomasa del reactor, provocando su flotabilidad debido a la adsorción de AGCLs, así como envenenamiento por estos compuestos y eventual lavado del biorreactor. Por estas razones, es fundamental implementar pretratamientos que favorezcan la digestión anaerobia de grasas y mitiguen estos efectos adversos, lo que permitirá aumentar la producción de biogás de manera eficiente y sostenible (Holahan *et al.*, 2022).

La aplicación de pretratamientos para la digestión de grasas se centra en reducir o destruir los cúmulos de grasas y aumentar la solubilidad del medio, con el objetivo de incrementar la superficie de contacto y la biodisponibilidad del sustrato. En la Tabla 1.5 se presentan algunos de los pretratamientos más comunes utilizados en la digestión anaerobia de aguas residuales que contienen LAGs. Se destaca el método bioquímico, que permite aumentar la remoción de la DQO en más de un 80 %, lo que sugiere la posibilidad de obtener una mayor producción de biogás a través de este enfoque. Además, los métodos de ultrasonido y químicos también pueden incrementar la degradación de la DQO en más de un 30 %. Es importante señalar que los métodos químicos suelen ser más económicos y, por lo tanto, más atractivos para su aplicación a escala industrial (Salama *et al.*, 2019).

Tabla 1.5. Efecto de los pretratamientos en sustratos con alto contenido de lípidos, grasas y aceites (Adaptado de Salama *et al.*, 2019).

Pretratamiento	Sustrato	Condiciones de pretratamiento	Efecto
Ultrasónico	Aceite vegetal usado	2000 kJ kg ⁻¹ _{ST}	+41.932 % de contenido orgánico (emulsificación)
Térmico	Lodos residuales activados	60, 80 y 100 °C	+30 % de producción de biogás
Químico	Lodos residuales activados	7 g NaOH L ⁻¹	+31.7 % de remoción de DQO
Termoquímico	Aceite de cocina usado y residuos de cocina	Agitación a pH 10, 55 °C por 90 min.	+9.9 ± 1.5 % producción de biogás
Bioquímico	Manteca, aceite y grasa.	500 mg L ⁻¹ emulsificante	+87 ± 13% remoción de DQO

1.6.1 Adición de mejorantes de la digestión anaerobia

Como se mencionó previamente, la adición de mejorantes químicos y bioquímicos en la digestión anaerobia presenta alternativas atractivas para el pretratamiento de aguas residuales con LAGs. Estos métodos son económicamente viables y requieren menos modificaciones para su implementación en biorreactores, lo que facilita su escalabilidad

y aplicación en situaciones reales. Sin embargo, es importante destacar que los tratamientos puramente químicos presentan desventajas significativas, ya que implican la adición de bases fuertes que pueden alterar el pH y generar subproductos como sales. Esto, a su vez, requiere la incorporación de sustancias estabilizadoras adicionales o la aplicación de otros tratamientos complementarios. Por otro lado, el uso de emulsificantes, ya sean químicos o bioquímicos, ofrece ventajas como una menor generación de subproductos y un costo operativo reducido. En este contexto, entre los tratamientos químicos y bioquímicos, el empleo de surfactantes se presenta como una opción interesante para potenciar la degradación de sustratos insolubles y favorecer la producción de biogás (Diamantis *et al.*, 2021).

1.6.2 Adición de surfactantes en la digestión anaerobia

El principal desafío para el tratamiento de los LAGs presentes en las aguas residuales radica en su baja o nula solubilidad. Una de las soluciones estudiadas para mitigar este efecto es la estabilización de reactores mediante la emulsificación de grasas a través de la adición de surfactantes (Diamantis *et al.*, 2021).

Los surfactantes son compuestos químicos con una estructura anfipática, lo que significa que poseen una parte hidrofílica (polar) y una parte hidrofóbica (apolar). Esta característica les confiere propiedades tensoactivas y emulsificantes, lo que permite la formación de emulsiones. Debido a estas propiedades, los surfactantes son ampliamente utilizados en diversas industrias a nivel mundial, incluyendo la cosmética, médica y alimentaria. No obstante, su uso más destacado se encuentra en la industria de la limpieza, donde se emplean como aditivos para mejorar la remoción de contaminantes, incluidos los lípidos y otras partículas (Johnson *et al.*, 2021).

Gracias a su estructura anfipática, los surfactantes pueden ser utilizados como pretratamiento para mejorar la digestión anaerobia de LAGs. Esto se logra mediante la estabilización de estas sustancias a través de la formación de emulsiones, lo que reduce su tamaño y la formación de conglomerados, aumentando la relación superficie-volumen. Como resultado, se mejora la disponibilidad de los LAGs como sustrato para los

microorganismos, lo que puede duplicar la producción de biogás, dado el alto potencial bioquímico de los lípidos. Además, este proceso puede reducir la concentración de contaminantes recalcitrantes (Eftaxias *et al.*, 2019).

Sin embargo, los surfactantes de origen sintético pueden representar desafíos para las plantas de tratamiento de aguas residuales, así como para los ecosistemas y la vida en general. Su naturaleza sintética les confiere propiedades tóxicas y recalcitrantes, lo que dificulta su remoción después de su uso. Los procesos necesarios para eliminar los surfactantes, tales como la ultrafiltración, la electrocoagulación o la oxidación, son complejos y pueden resultar costosos y difíciles de implementar a gran escala. A largo plazo, el uso de surfactantes químicos como pretratamiento para mejorar la digestión de aguas residuales que contienen grasas podría plantear desafíos adicionales. Por estas razones, se han buscado alternativas a los surfactantes químicos que posean características clave, como una baja toxicidad y alta biodegradabilidad, lo que las hace más sostenibles y menos perjudiciales para el ambiente y la salud pública (Badmus *et al.*, 2021).

1.6.3 Adición de biosurfactantes en la digestión anaerobia

Ante los problemas asociados al uso de surfactantes químicos en el tratamiento de aguas residuales, se han identificado compuestos similares de origen natural, denominados biosurfactantes. Estas moléculas tienen un origen biológico y su estructura anfipática está compuesta por macromoléculas, donde la parte hidrofílica está formada por lípidos, proteínas o carbohidratos, y la parte hidrofóbica consiste en una cadena de ácido graso. Esta composición confiere a los biosurfactantes propiedades emulsificantes y tensoactivas similares a las de los surfactantes químicos, lo que les permite formar emulsiones (Marcelino *et al.*, 2020).

Los biosurfactantes son metabolitos secundarios producidos principalmente por diversos tipos de microorganismos, como hongos y bacterias, que tienen la capacidad de degradar hidrocarburos. La producción de biosurfactantes está relacionada con el estrés metabólico que experimentan los microorganismos en medios donde el sustrato es

insoluble. En respuesta a este estrés, los microorganismos sintetizan estos metabolitos para aumentar la solubilidad del medio, emulsionando el sustrato y facilitando así el desarrollo de sus actividades metabólicas (Figura 1.3) (El-Sheshtawy *et al.*, 2022).

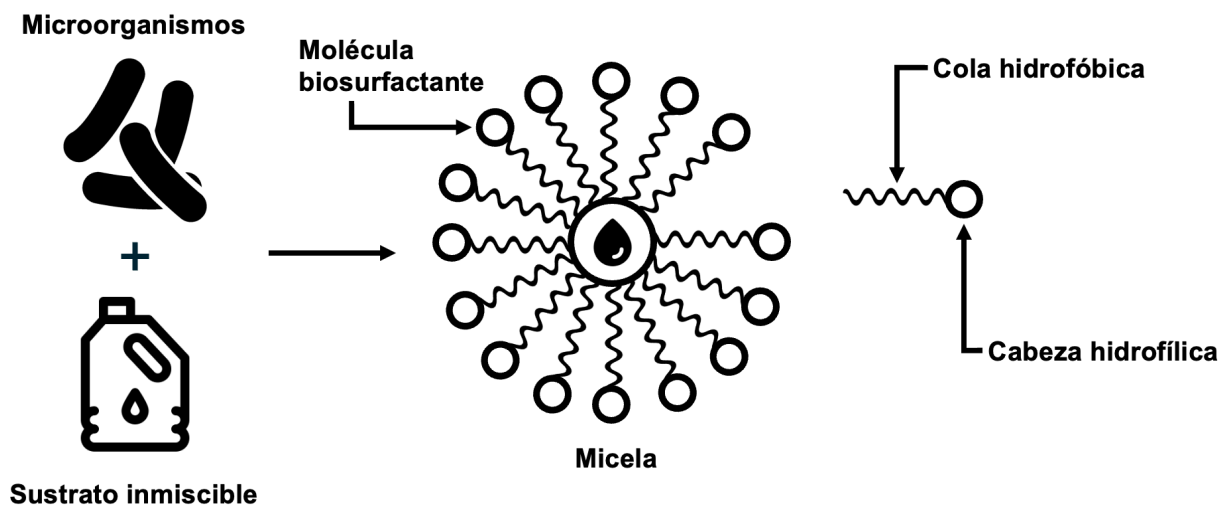


Figura 1.3 Producción de biosurfactantes, su composición y formación de micelas (Elaboración propia)

Debido a su origen biológico, los biosurfactantes presentan un potencial contaminante mínimo, baja toxicidad, mayor selectividad y biocompatibilidad en comparación con sus contrapartes sintéticas. Además, a diferencia de los surfactantes químicos, los biosurfactantes tienen una menor concentración micelar crítica (CMC) y muestran una mayor estabilidad en ambientes extremos, como amplios rangos de pH, temperatura y salinidad. Estas características hacen que los biosurfactantes sean una alternativa viable para su uso en la biorremediación de aguas residuales contaminadas con hidrocarburos, como los LAGs (Faisal *et al.*, 2023; Rivera *et al.*, 2019).

1.6.3.1 Producción de biosurfactantes

La producción de biosurfactantes es una respuesta al estrés metabólico que experimentan ciertos microorganismos en medios contaminados con hidrocarburos, lípidos, aceites, grasas y antibióticos. Algunos microorganismos poseen rutas metabólicas que les permiten utilizar estos hidrocarburos como fuente de carbono. Debido a las características hidrofóbicas de los sustratos, los microorganismos secretan

compuestos anfipáticos que disminuyen la tensión superficial, facilitando su solubilización. Los biosurfactantes son metabolitos secundarios producidos por bacterias, levaduras, hongos y arqueas, con la capacidad de degradar hidrocarburos. Entre sus propiedades más destacadas se encuentran su baja toxicidad, alta biodegradabilidad y funcionalidad en un amplio rango de temperaturas, pH y salinidad. Además, poseen propiedades antibacterianas, antifúngicas y antivirales, lo que amplía su potencial aplicación industrial (Eras-Muñoz *et al.*, 2022).

La composición de los biosurfactantes es variable y está determinada por el tipo de sustrato empleado para su producción. Factores como el tipo de microorganismo y sustrato influyen en el proceso de producción, el cual puede ajustarse según el biosurfactante deseado. Esto hace que los biosurfactantes sean productos flexibles desde el punto de vista biotecnológico, ya que pueden ser producidos tanto por microorganismos constitutivos como inducibles. Además, el uso de materias primas renovables y de bajo costo, como residuos industriales o subproductos agroindustriales, permite optimizar económicamente la producción a pequeña y gran escala (Sundaram *et al.*, 2024).

Diversas fuentes de carbono cumplen con las características necesarias para la producción de biosurfactantes, entre las que destacan residuos industriales como malta, melaza, grasa animal, aceites vegetales, residuos de aceite, productos derivados del petróleo, productos lácteos y residuos de destilería. En los últimos años, ha crecido el interés por materiales de bajo costo, y se han estudiado residuos agroindustriales y alimentarios por su potencial como sustratos rentables. Este enfoque no solo incrementa la rentabilidad del proceso, sino que también facilita la gestión eficiente de residuos generados en grandes cantidades (Sundaram *et al.*, 2024; Sarubbo *et al.*, 2022).

Los sustratos pueden ser tanto hidrófilos como hidrófobos, siendo estos últimos los que suelen generar mayor producción, especialmente cuando se utilizan en concentraciones superiores al 5%. Además de la fuente de carbono, la fuente de nitrógeno es crucial para la síntesis de metabolitos. Estas pueden ser orgánicas (urea, aminoácidos y extractos de levadura) o inorgánicas (nitratos y sulfato de amonio), y su proporción en relación al

carbono C/N debe optimizarse para cada microorganismo. Otros nutrientes como fósforo, manganeso, azufre y hierro también influyen en la producción y composición de los biosurfactantes (Sarubbo *et al.*, 2022).

Microorganismos como *Halobacteriaceae archaeon*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus pumilis* y *Candida tropicalis* han mostrado ser eficientes en la producción de biosurfactantes utilizando sustratos como melaza de dátiles, cáscaras de naranja y bagazo de caña de azúcar. Estos sustratos, además de ser abundantes y de bajo costo, generan productos no tóxicos y respetuosos con el medio ambiente. Residuos ricos en almidón, como los derivados del procesamiento de arroz, mandioca y patata, también han demostrado ser efectivos. Especies como *Bacillus subtilis* y *Bacillus amyloliquefaciens* han producido biosurfactantes en medios suplementados con estos sustratos. Asimismo, residuos lignocelulósicos y oleosos, como los aceites de fritura usados, han sido empleados con éxito por microorganismos como *Pseudomonas aeruginosa* y *Candida bombicola* para la producción de ramnolípidos y soforolípidos, subrayando el valor de estos residuos como sustratos viables y económicos (Mohanty *et al.*, 2021).

1.6.3.2 Tipos de biosurfactantes

Como se mencionó previamente, los biosurfactantes son moléculas flexibles cuya composición puede variar según el sustrato, los microorganismos y las condiciones de producción. En términos generales, su estructura está compuesta por una parte hidrofóbica formada por hidrocarburos de longitud variable, y una parte hidrofílica que puede incluir péptidos, carbohidratos, aminoácidos, alcoholes, y grupos fosfato o carboxilo. La combinación de estas moléculas, junto con la longitud de la cadena de hidrocarburos, determina el peso molecular de los biosurfactantes el cual puede variar de 500 a 1500 Da. Bajo este criterio, se clasifican en biosurfactantes de alto y bajo peso molecular como se muestra en la Figura 4.1 (Sundaram *et al.*, 2024; Sarubbo *et al.*, 2022).

• Biosurfactantes de bajo peso molecular

Los biosurfactantes de bajo peso molecular son altamente efectivos en la reducción de la tensión superficial en las interfaces aire – agua y aceite – agua, lo que les otorga también el nombre de surfactantes. Entre estos se incluyen glicolípidos, lipopéptidos y fosfolípidos. Gracias a su capacidad para disminuir la tensión superficial, este tipo de surfactantes son ampliamente utilizados en procesos de biorremediación, así como en las industrias de detergentes, cosmética, petrolera, química, entre otras (Kumar *et al.*, 2021; Eras-Muñoz *et al.*, 2022).

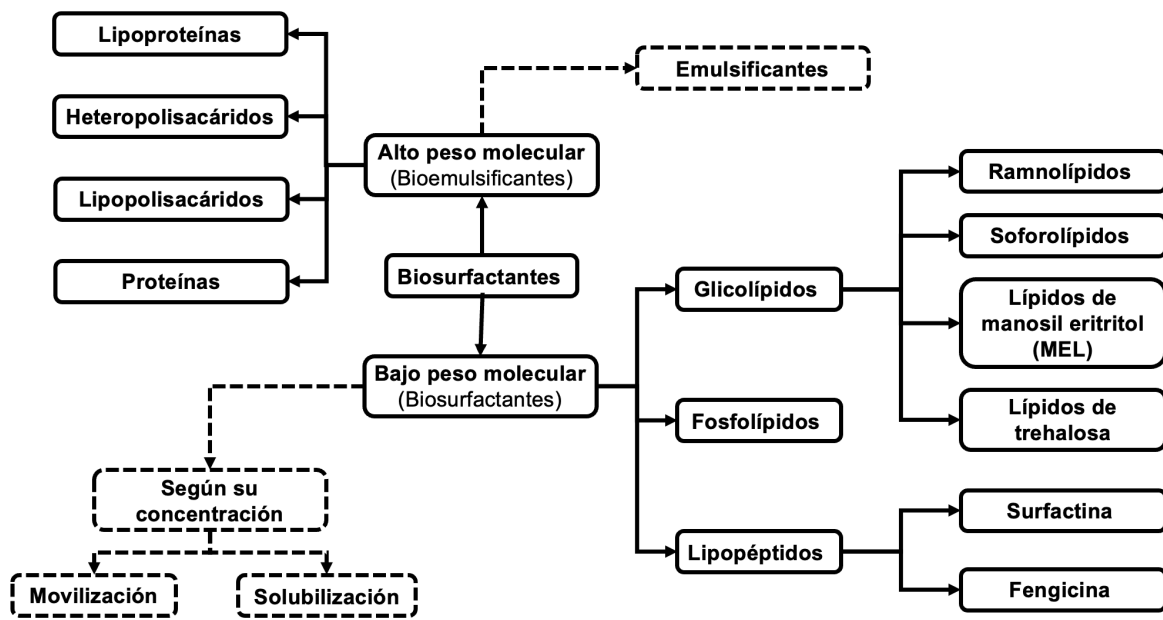


Figura 1.4 Biosurfactantes y su clasificación basada en su peso molecular (Adaptado de Eras-Muñoz *et al.*, 2022).

• Biosurfactantes de alto peso molecular

Los biosurfactantes de alto peso molecular son usados principalmente para estabilizar emulsiones de aceite y agua, por lo que también reciben el nombre de bioemulsificantes. Dentro de esta clasificación se encuentran las lipoproteínas, liposacarido, heteropolisacáridos y proteínas (Sarubbo *et al.*, 2022; Eras-Muñoz *et al.*, 2022).

1.7 Análisis de la dinámica poblacional microbiana durante la digestión anaerobia

La digestión anaerobia es un proceso consolidado para la recuperación de energía a partir de residuos, facilitando su reintegración en las cadenas productivas. Como se ha mencionado, este proceso depende de complejas interacciones microbianas, por lo que su éxito está determinado por la actividad y cooperación metabólica entre las comunidades de microorganismos responsables de la biometanización de la materia orgánica. Estas comunidades incluyen bacterias hidrolíticas, acidogénicas, acetogénicas y arqueas, cada una involucrada en la degradación de la materia orgánica hasta su mineralización. El desarrollo de dichas comunidades no solo depende de la composición del sustrato, sino también de factores operativos como la temperatura, pH, carga orgánica, tiempo de retención hidráulica, disponibilidad de micronutrientes, alcalinidad, concentración de amonio y la relación C/N, entre otros. A pesar de la influencia de estos factores, la digestión anaerobia tiene una notable capacidad de adaptación a condiciones no óptimas, lo cual se debe a la predominancia de microorganismos tolerantes a variaciones ambientales y operacionales desfavorables. Comprender la dinámica poblacional de estas comunidades microbianas es esencial para el diagnóstico, monitoreo y optimización del proceso. Para este análisis, se emplean técnicas moleculares como la hibridación in situ de fluorescencia (FISH), el análisis cuantitativo por PCR en tiempo real (qPCR), perfiles de ácidos grasos fosfolípidos y técnicas de secuenciación de nueva generación (Pasalari *et al.*, 2021; Lim *et al.*, 2020).

La comprensión de la dinámica de las poblaciones microbianas durante la digestión anaerobia, especialmente en el tratamiento de residuos difícilmente degradables como los LAGs. La adaptación microbiana permite una mayor eficiencia en la degradación de nutrientes con propiedades tóxicas como los AGCLs, los cuales suelen inhibir a microorganismos clave como los acetógenos y metanógenos si no son metabolizados adecuadamente. En particular, el uso de consorcios microbianos aclimatados incrementa la presencia de algunos géneros como *Syntrophomonas* y *Methanosarcina* que establecen relaciones sintróficas críticas para el metabolismo de los AGCLs y la producción de metano. De este modo, optimizar las condiciones para el desarrollo de comunidades microbianas específicas no solo facilita una mayor producción de biogás,

sino que también permite una operación estable y eficiente de los sistemas anaerobios, superando las limitaciones inherentes a la acumulación de compuestos que pueden ser inhibitorios.

1.8 Modelos matemáticos para la digestión anaerobia

Como se mencionó anteriormente, la digestión anaerobia es un proceso resultado de diversas interacciones entre grupos microbianos, cada uno caracterizado por su metabolismo y su rol en las distintas etapas del proceso. Para entender mejor estas interacciones, se han desarrollado modelos matemáticos que permiten describir y optimizar los sistemas de tratamiento anaerobio, mejorando el entendimiento de las operaciones y las condiciones óptimas de funcionamiento. El uso de estos modelos no solo facilita el control del proceso, sino que también permite predecir su comportamiento y resultados. Los modelos empleados para la digestión anaerobia se dividen en dos categorías principales: los modelos mecanicistas, que se basan en principios biológicos, y los modelos basados en datos, los cuales se construyen a partir de datos empíricos, utilizando ecuaciones que relacionan las variables de entrada y salida monitoreadas durante un proceso real (Walid *et al.*, 2021).

La mayoría de los modelos matemáticos para la digestión anaerobia tienen su origen en la ecuación de Monod y las adaptaciones realizadas por John F. Andrews (Ecuación 1.17), quien utilizó ecuaciones diferenciales ordinarias (EDOs) para describir el crecimiento microbiano. Andrews incorporó los principios descritos por Lotka y Volterra, que se emplean para modelar la dinámica de sistemas biológicos mediante EDOs no lineales, como las ecuaciones depredador-presa. Además, integró los conceptos propuestos por Haldane sobre la inhibición del crecimiento celular, aplicados a los elementos presentes en aguas residuales. Estas contribuciones permitieron a Andrews desarrollar ecuaciones que describen tanto el crecimiento de la biomasa (Ecuación 1.18) como los cambios en la concentración de sustrato (Ecuación 1.19) (Wade, 2020).

$$\dot{P} = \frac{V_{max}[S]}{K_M + [S]} \quad (1.17)$$

$$\frac{dX_1}{dt} = \frac{dX_0}{\theta} - \frac{dX_1}{\theta} + \left[\frac{\hat{\mu}}{1 + K_s/S_1 + S_1/K_i} \right] X_1, \quad (1.18)$$

$$\frac{dS_1}{dt} = \frac{dS_0}{\theta} - \frac{dS_1}{\theta} - \frac{1}{Y} \left[\frac{\hat{\mu}}{1 + K_s/S_1 + S_1/K_i} \right] X_1, \quad (1.19)$$

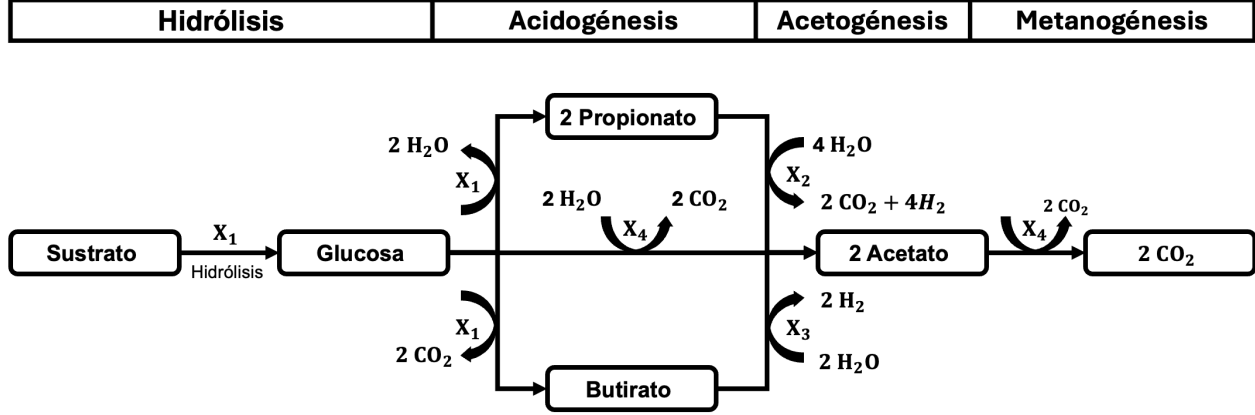


Figura 1.5 Modelo simplificado de la digestión anaerobia de biomasa fermentadora de glucosa. Donde: (X_1), acetogénicos fermentadores de propionato (X_2), acetogénicos degradadores de butirato (X_3) y metanógenos acetoclásticos (X_4), tomado de Bertacchi *et al.*, 2021.

Partiendo del análisis de las etapas de la digestión anaerobia y de las reacciones bioquímicas que ocurren en cada una (Figura 1.5), es posible predecir el comportamiento del proceso modificando parámetros específicos. El Modelo de Digestión Anaerobia No. 1 (ADM1, por sus siglas en inglés) se centra en describir el tratamiento de aguas residuales mediante lodos activados para la producción de biogás, utilizando ecuaciones previamente desarrolladas para representar el crecimiento microbiano, el consumo de sustratos y la producción de productos. A partir de este modelo, se han realizado diversas adaptaciones para su aplicación en otros tipos de biomasa y residuos. Las ecuaciones correspondientes al modelo ADM1 se encuentran entre la 1.20 y la 1.29 (Bertacchi *et al.*, 2021; Badstone *et al.*, 2002).

$$\frac{dS_0}{dt} = -\beta \frac{S_0 X_1}{S_2 + S_3 + S_4 + K_{i,o}} + DY_e S_{oi} + \lambda \left(\sum_{i=1}^6 b_i X_1 \right) - DS_0 \quad (1.20)$$

$$\frac{dX_1}{dt} = (\mu_1 - b_1) X_1 - DX_1 \quad (1.21)$$

$$\frac{dS_1}{dt} = -Y_{glu/X_1}X_1 + \beta \frac{S_0X_1}{S_2 + S_3 + S_4 + K_{i,o}} - DS_1 + S_{1i} \quad (1.22)$$

$$\frac{dX_2}{dt} = (\mu_2 - b_2)X_2 - DX_2 \quad (1.23)$$

$$\frac{dS_2}{dt} = Y_{prop/X_1}\mu_1X_1 - Y_{pro/X_2}\mu_2X_2 - DS_2 + S_{2i} \quad (1.24)$$

$$\frac{dX_3}{dt} = (\mu_3 - b_3)X_3 - DX_3 \quad (1.25)$$

$$\frac{dS_3}{dt} = Y_{but/X_1}\mu_1X_1 - Y_{but/X_3}\mu_3X_3 - DS_3 + S_{3i} \quad (1.26)$$

$$\frac{dX_4}{dt} = (\mu_4 - b_4)X_4 - DX_4 \quad (1.27)$$

$$\begin{aligned} \frac{dS_4}{dt} = & Y_{acet/X_1}\mu_1X_1 + Y_{acet/X_2}\mu_2X_2 + Y_{acet/X_3}\mu_3X_3 - Y_{acet/X_4}\mu_4X_4 - DS_4 \\ & + S_{4i} \end{aligned} \quad (1.28)$$

$$Q = Y_{CH_4/X_4}\mu_4X_4 \quad (1.29)$$

Donde Q ($L\ d^{-1}$) es la producción de biogás respecto al tiempo, S_0 ($g\ L^{-1}$) la concentración de la materia orgánica soluble, $S_{NH_4^+}$ la concentración de amonio, S_1 ($g\ L^{-1}$) la concentración de glucosa, S_2 ($g\ L^{-1}$) la concentración de propionato, S_3 ($g\ L^{-1}$) la concentración de butirato, S_4 ($g\ L^{-1}$) la concentración de acetato, X_1 ($g\ L^{-1}$) la concentración de la acidógenos fermentadores de glucosa, X_2 ($g\ L^{-1}$) la concentración de acetogénicos degradadores de propionato, X_3 ($g\ L^{-1}$) la concentración de acetogénicos degradadores de butirato, X_4 ($g\ L^{-1}$) la concentración de metanogénos acetoclásticos, y μ_1 , μ_2 , μ_3 y μ_4 (d^{-1}) las tasas de crecimiento específico, descritas por las ecuaciones 1.30 a 1.33.

$$\mu_1 = \frac{\mu_{max1}S_1}{K_{S_1} + S_1} \quad (1.30)$$

$$\mu_2 = \frac{\mu_{max_2}}{(1 + K_{S_2}/S_2)(1 + S_2/K_{i,acet/prop})} \quad (1.31)$$

$$\mu_3 = \frac{\mu_{max_3}}{(1 + K_{S_3}/S_3)(1 + S_2/K_{i,acet/but})} \quad (1.32)$$

$$\mu_4 = \frac{\mu_{max_4} K_{i,NH_4^+} S_4}{(K_m X_4 + S_4)(K_{i,NH_4^+} + S_{NH_4^+})} \quad (1.33)$$

Las ecuaciones que describen el modelo ADM1 emplean diversas constantes para caracterizar las tasas de crecimiento microbiano y las inhibiciones que afectan el proceso de digestión anaerobia. Por ejemplo, el modelo considera constantes de inhibición como $K_{i,o} = 0.23 \text{ g L}^{-1}$ para la acumulación de ácidos grasos volátiles (VFAs) y $K_{i,NH_4^+} = 0.5 \text{ g L}^{-1}$ para la inhibición causada por el amonio en la metanogénesis acetoclástica. Las tasas máximas de crecimiento microbiano varían entre las diferentes poblaciones, como $\mu_{max_1} = 0.7 \text{ d}^{-1}$ para los acidógenos y $\mu_{max_1} = 0.45 \text{ d}^{-1}$ para los metanógenos acetoclásticos. Adicionalmente, los coeficientes de rendimiento reflejan la producción o consumo de biomasa y productos como el metano, con $Y_{CH_4/X_4} = 4 \text{ L g}^{-1}$ de biomasa. Estos parámetros permiten modelar de manera precisa las dinámicas microbianas y las interacciones durante la conversión de residuos orgánicos en biogás. (Bertacchi *et al.*, 2021).

La flexibilidad del modelo ADM1 para emplear diversos sustratos permite su adaptación a la degradación de compuestos de difícil descomposición, como las grasas, que representan un sustrato complejo en los procesos de digestión anaerobia. Dada su naturaleza hidrofóbica y su tendencia a formar cúmulos, las grasas requieren una descomposición previa más lenta y compleja. A través del análisis de este modelo, es posible predecir el comportamiento de sistemas que incluyen este tipo de sustratos, lo que facilita su escalamiento y optimización para el tratamiento de residuos grasos y otros materiales complejos. Esta capacidad de adaptación convierte al modelo y al modelamiento de proceso en general, en una herramienta valiosa para la planificación y mejora de procesos anaerobios en diversas aplicaciones.

ANTECEDENTES

El potencial bioquímico de metano de los LAGs ha llevado a diversos investigadores a probar este tipo de sustrato y ver su efecto en la digestión anaerobia. Una de las variables más importantes a conocer en este proceso es la respuesta de las comunidades microbianas y su interacción cuando se encuentran con un sustrato difícilmente degradables. Con la finalidad de estudiar la dinámica poblacional de la digestión anaerobia en presencia de grasas Nakasaki *et al.*, (2019) emplearon aceite vegetal, glicerol y AGCLs como fuente de carbono a diferentes concentraciones; 0.5, 1.0, 1.5 y 2.0 de DQO L⁻¹ en un proceso de digestión anaerobia en un reactor anaerobio de flujo ascendente (UASB), para analizar la composición de las comunidades microbianas durante la digestión anaerobia de lípidos y sus intermediarios en la descomposición de estos. Se demostró que las poblaciones microbianas varían dependiendo del estado de los lípidos empleados durante el proceso, sin embargo, en todos los experimentos *Anaerolineaceae* fue la bacteria dominante y *Methanosaeta* la archea dominante. Se concluyó que los lípidos y el estado de degradación en el que usen influyen en el crecimiento de las cepas bacterianas, afectando la eficiencia del proceso y la producción de biogás.

El estado de las grasas es importante para favorecer la degradación de estas y aumentar la actividad microbiana entre bacterias acetogénicas y metanogénicas, sin embargo existe una limitante que puede cambiar las interacciones microbianas, esta es la transferencia de masa, para estudiar el efecto de la transferencia de masa Eftaxias *et al.*, (2019), emplearon un surfactante de origen vegetal para aumentar la solubilidad del medio y emulsificar aceite de cocina usado con el objetivo de emplear lípidos como sustrato en un proceso de digestión anaerobia. Como resultado, se logró duplicar la biodisponibilidad de la materia orgánica y por lo tanto duplicar la producción de biogás a bajos aumentos de la solubilidad de las grasas (hasta un 2% v/v), sin embargo, al aumenta la solubilidad en porcentajes superiores existe un efecto inhibitorio. Mediante este experimento se destaca que uno de los factores más importantes a tomar en cuenta durante la digestión anaerobia de grasas es la transferencia de masa y como esta se ve favorecida al emplear agentes emulsificantes.

Como se mencionó anteriormente, los LAGs poseen el mayor potencial bioquímico de metano, siendo un sustrato ideal para aumentar la producción de biogás en la digestión anaerobia, con la finalidad de probar este punto Agabo-García *et al.*, (2020) emplearon residuos grasos de origen animal procedentes del agua residual de mataderos en un proceso de co-digestión anaerobia de aguas residuales con el objetivo de demostrar el potencial bioquímico de metano de los lípidos y su potencial para mejorar el proceso de digestión anaerobia. Los experimentos se llevaron a cabo empleando botellas de cristal de 250 mL con 120 mL de inóculo:sustrato relación 2:3, este último a diferentes concentraciones de grasa residual, correspondientes a 0, 1, 5 y 10 %, bajo las siguientes condiciones: temperatura mesofílica y agitación a 45 rpm, como blanco positivo se emplearon aguas residuales sin grasas a manera de contraste. Como resultado se obtuvo que la presencia de concentraciones altas de grasas de 5 y 10% aumenta la producción de metano en comparación a la digestión de aguas residuales ($230 \text{ mL}_{\text{CH}_4} \text{g}^{-1} \text{DQO}_{\text{removida}}$), teniendo una degradación de 66 – 77 % de la DQO y una producción específica de 562 y 777 $\text{mL}_{\text{CH}_4} \text{g}^{-1} \text{DQO}_{\text{removida}}$ respectivamente, demostrando que el uso de grasas en el proceso de digestión anaerobia puede aumentar el rendimiento de biogás en más de un 100% y disminuir la presencia de contaminantes difícilmente degradables.

El potencial bioquímico de metano de los LAGs demostrado por otros autores se ve opacado por su baja solubilidad, para resolver este inconveniente Martínez-Bolaños (2021), empleo sorforolípidos para aumentar la solubilidad del medio y emulsificar aceites de origen vegetal para ser empleados en un proceso de digestión anaerobia. Se demostró que la adición de biosurfactantes tiene un efecto positivo en el proceso, aumentado la degradación de sustratos ricos en grasas y aceites vegetales a la vez que se aumenta la producción de biogás, sin embargo, al adicionar concentraciones altas de biosurfactantes se obtiene un efecto tóxico.

Otra prueba más del potencial de los LAGs para mejorar el proceso de digestión anaerobia fue realizada por Ren *et al.*, (2022) al demostrar que el uso de lípidos en la codigestión de residuos orgánicos puede aumentar hasta en un 30 % la producción de biogás y hasta en un 67 % el contenido de metano de este. El experimento se realizó en un reactor de tanque agitado continuo (CSTR) con un tiempo de retención hidráulica

(HRT) de 30 días, empleando una mezcla de residuos sólidos orgánicos y de aceites vegetales, encontrados comúnmente en los residuos de hogares de china. El reactor se alimentó con una concentración variable de 10 a 60 % lípidos ST^{-1} , aumentada gradualmente, ayudando a la estabilización de lodos.

AVANCES

En la División de Estudios de Posgrado e Investigación (DEPI) del Instituto Tecnológico de Orizaba se han desarrollado diversas investigaciones enfocadas en el tratamiento de la fracción líquida de frutas, verduras y residuos agroindustriales. Estas investigaciones han contribuido al desarrollo de metodologías que resultan pertinentes para el presente trabajo, como se describe a continuación.

Rodríguez-de la Luz (2019), evaluó el aprovechamiento de residuos sólidos de la industria citrícola y excretas bovinas mediante digestión anaerobia, empleando un pretratamiento térmico como estrategia para la eliminación de microorganismos patógenos presentes en el inóculo. Las excretas fueron sometidas a 90 °C durante 1 hora y para su uso en pruebas de biodegradabilidad adicionando residuos sólidos orgánicos citrícolas (RSOC) como sustrato. A partir de las pruebas de biodegradabilidad se determinó una relación inóculo/sustrato de 90/10, con la cual se realizaron tres lotes en condiciones batch, alcanzando remociones de DQO de 41.31, 56.75 y 45.89 % y rendimientos de metano de 1.7850, 3.0699 y 1.2267 $L_{CH_4} gDQO_{rem}^{-1}$, respectivamente. Posteriormente, se realizó la operación del sistema en modo semicontinuo, obteniendo menores remociones de DQO (32.31, 18.79 y 11.25 %) y rendimientos de metano de 2.5943, 1.0318 y 0.1359 $L L_{CH_4} gDQO_{rem}^{-1}$. Aunque los resultados en operación semicontinua fueron inferiores a los obtenidos en modo batch, el estudio demostró la factibilidad de la digestión anaerobia de RSOC empleando inóculo pretratado térmicamente empleando una relación de sustrato e inóculo adecuada para el proceso.

Orduña-Gaytán et al., (2021) evaluaron un sistema de tratamiento compuesto por un reactor anaerobio acoplado a humedales construidos con el objetivo de mejorar la remoción de contaminantes presentes en la fracción líquida de frutas y verduras. El

reactor, fabricado en fibra de vidrio, fue inoculado con rumen bovino fresco y aclimatado bajo condiciones mesofílicas y pH neutro durante un periodo de 365 días. Posteriormente, este sistema fue conectado a un conjunto de humedales construidos tipo híbrido, conformado por 18 unidades con un volumen útil de 11 L. Dos de estas unidades funcionaron como controles, mientras que las restantes contenían las especies ornamentales tropicales *Hippeastrum rutilum* y *Spathiphyllum wallisii*. El sistema híbrido fue alimentado con un influente de 44 gDQO L⁻¹, logrando una remoción del 55 % de la DQO en el reactor anaerobio. El efluente tratado fue distribuido en los humedales, en donde se alcanzó un tiempo de retención hidráulica (TRH) de 72 h y una remoción de nitrógeno entre el 80 y 90 %, con un valor final de DQO de 0.5 gDQO L⁻¹. Los resultados demostraron que un tratamiento anaerobio por sí solo no es suficiente para reducir la carga contaminante de efluentes con alta concentración de materia orgánica; sin embargo, su combinación con humedales construidos mejora significativamente la eficiencia del tratamiento.

Nava-Valente et al., (2022) evaluaron la aplicación de un pretratamiento ácido para incrementar la solubilidad de residuos agroindustriales, específicamente excremento de pollo y bagazo de caña de azúcar, con el fin de mejorar la producción de biogás. Para ello, se utilizó un reactor anaerobio operado de manera semicontinua, inicialmente alimentado con una carga orgánica de 1 kgSV (m³·d)⁻¹, la cual se incrementó progresivamente hasta 3 kgSV (m³·d)⁻¹ después de 90 días. El pretratamiento consistió en la aplicación de ácido acético a concentraciones de 2, 3 y 4 %, con tiempos de contacto de 30, 60 y 90 minutos. Los resultados indicaron un aumento en la solubilidad del sustrato y una mejora en la eficiencia de la hidrólisis, permitiendo reducir el tiempo de retención hidráulica de 19 a 11 días. La producción de biogás se incrementó en más del 120 %, lo que también se reflejó en un aumento considerable en la producción de metano. Estos resultados evidencian que el uso de pretratamientos ácidos puede duplicar la generación de biogás al facilitar la biodegradabilidad de los residuos.

Juárez-García (2022), analizó la dinámica microbiana en reactores de biopelícula sometidos a variaciones operativas con el fin de evaluar su desempeño en la producción

de biogás durante la digestión anaerobia de la fracción líquida de residuos sólidos orgánicos. Para ello, se utilizó un reactor anaerobio híbrido (RAH) con un volumen útil de 2.5 L, operado a 35 ± 2 °C y pH de 6.8-7.2, que contenía 1.5 L de Extendsphere™ colonizado como soporte. El reactor fue evaluado en cuatro etapas con diferentes cargas volumétricas aplicadas (5 – 8, 7 – 8, 15 – 16 y 20 – 21 gDQO L·d⁻¹), monitoreando parámetros fisicoquímicos como pH, DQO, SV, ST, alcalinidad y AGVs. La caracterización microbiana se realizó mediante secuenciación genética masiva a partir de muestras de la biopelícula, identificándose más de 2000 OTUs de bacterias y arqueas. Los resultados mostraron remociones de DQO y SV del 90 %, colonización del soporte mayor al 80 %, y una producción acumulada cercana a 20 L de biogás con un rendimiento de 0.33 L_{CH₄} gDQO_{rem}⁻¹. Se identificó como principal ruta metabólica a la acetoclástica, aunque la presencia de comunidades fermentadoras e hidrogenotróficas sugirió una contribución relevante de la vía hidrogenotrófica en la producción de metano. Estos hallazgos demostraron que el uso de reactores RAH puede favorecer la estabilidad del proceso y la diversidad microbiana, destacando su potencial para optimizar el tratamiento de efluentes con altas cargas orgánicas.

Castillo-Vargas (2023), investigó la valorización de residuos sólidos urbanos orgánicos (RSUO) mediante la integración de carbonización hidrotérmica (CHT) y digestión anaerobia como estrategia para la producción conjunta de bioenergéticos sólidos y gaseosos. Para ello se empleó un reactor de alta presión en el que los RSUO fueron tratados a 180, 190, 200 y 210 °C, con tiempos de residencia de 1, 2 y 3 h y presión autoregulada, obteniendo un hidrochar sólido y un efluente líquido. Este último fue alimentado de manera continua en un reactor anaerobio híbrido (RAH) a escala laboratorio, operado con una carga orgánica de 5 gDQO L·d⁻¹. Los resultados mostraron que la primera etapa permitió obtener hidrochar con un poder calorífico superior a 15 MJ/kg, mientras que en la segunda etapa se alcanzaron rendimientos de metano de hasta 0.34 L_{CH₄} gDQO_{rem}⁻¹ bajo condiciones de 180 °C y 1 h de residencia, logrando eficiencias de remoción de DQO cercanas al 100 % en menos de 24 h. De esta manera, el estudio evidenció que las condiciones de operación influyen de manera determinante tanto en la calidad de los coproductos de la CHT y por lo tanto en la recuperación de metano,

posicionando a la combinación de estas tecnologías como una alternativa prometedora para la obtención de bioenergéticos durante el manejo integral de RSUO.

Hernández-Palagot (2023), desarrolló un inóculo anaerobio especializado para el consumo de sustratos complejos con presencia de inhibidores, particularmente D-limoneno, compuesto característico de los residuos sólidos cítricos (RSC). Para ello se empleó un reactor anaerobio híbrido (RAH) operado de manera continua durante 145 días bajo condiciones mesófilas (35 ± 1 °C) y una carga volumétrica de $5 \text{ gDQO L} \cdot \text{d}^{-1}$, alimentado con fracción líquida de residuos sólidos orgánicos (RSO) y mezclas RSO:RSC en proporciones 70:30, 50:50 y 30:70 (% v/v). Se monitorearon parámetros fisicoquímicos, producción de biogás y colonización de biopelícula, además de realizar análisis metagenómico mediante secuenciación shotgun. Al emplear la mezcla 30:70, se alcanzaron remociones de DQO superiores al 95 %, producción de 3000 mL/d y un rendimiento de $342 \text{ mL}_{\text{biogás}} \text{ gDQO}_{\text{rem}}^{-1}$, con colonización del soporte entre 38 y 51 %. La caracterización de la biopelícula reveló como especies dominantes a *Mesotoga infera* y *Methanothrix soehngenii*, confirmándose la vía acetotrófica como principal ruta de metanogénesis. Estos resultados evidencian la viabilidad de obtener un inóculo adaptado al consumo de sustratos cítricos con presencia de inhibidores, aportando bases para optimizar la producción de biogás a partir de residuos agroindustriales con alta carga inhibitoria.

Galván-Hernández (2024), exploró el aprovechamiento de la fase líquida generada en el proceso de carbonización hidrotérmica (CHT) de biomasa citrícola como sustrato para digestión anaerobia con fines de producción de biogás. La CHT fue realizada en un reactor de alta presión operado a 180 °C con tiempos de 1, 2 y 3 h, empleando cáscara y naranja entera en relación residuo/agua de 1:1, obteniéndose hidrochar y bioaceite como coproductos. La biodegradabilidad del bioaceite fue evaluada en un reactor anaerobio híbrido (RAH) de 2.5 L con 1.5 L de Extendosphere™ colonizado, operado a 35 ± 2 °C y pH 6.8 – 7.2 en cinco etapas experimentales. El biorreactor fue acondicionado con fracción líquida de jitomate como sustrato bajo condiciones batch y semicontinuas, para posteriormente introducir el bioaceite de cáscara y naranja entera en cargas de 5 y

8 gDQO L⁻¹d⁻¹. Los resultados mostraron que el bioaceite de cáscara presentó bajas eficiencias de remoción de DQO, mientras que el bioaceite de naranja entera permitió alcanzar remociones de hasta 90 %. En cuanto a la producción de biogás, se generaron 6 L día⁻¹ en la etapa de introducción del bioaceite de naranja entera, incrementándose hasta 8.5 L al aumentar la carga orgánica, con rendimientos de metano entre 0.33 y 0.345 L_{CH₄} gDQO_{rem}⁻¹. En la etapa final, al reintroducir la fracción líquida de jitomate, la producción alcanzó 9 L diarios con un rendimiento de 0.35 L_{CH₄} gDQO_{rem}⁻¹. Estos resultados evidencian la viabilidad de aprovechar el bioaceite derivado de CHT como co-sustrato en digestión anaerobia, ampliando las alternativas de valorización energética de residuos.

Amador-Gonzales (2024), evaluó la influencia de la adición de óxido de grafeno reducido (OGr) como mejorante en el proceso de digestión anaerobia para la generación de biogás a partir de residuos de frutas y verduras. El nanomaterial fue sintetizado mediante el método de Hummers modificado con ácido ascórbico como agente reductor verde. La adición del nanomaterial se realizó mediante la impregnación de este en matrices poliméricas sintéticas en una concentración de 30 mg/mL para ser usadas como soporte. Durante la inoculación se establecieron tres fases experimentales con diferente grado de dependencia de la biopelícula, alcanzando remociones de DQO del 84.69, 56.19 y 55.9 %, lo que demostró la biocompatibilidad del OGr con los microorganismos responsables de la digestión anaerobia. Las pruebas de potencial bioquímico de metano (PBM) evidenciaron un efecto positivo en la producción de biogás rico en metano, con porcentajes de CH₄ de entre 65 a 68 % respecto al sistema control con un 60.95 %. Estos resultados confirman que la incorporación de nanomateriales como el OGr es posible mejorar la eficiencia de la digestión anaerobia y potenciar la recuperación en el marco del aprovechamiento de residuos orgánicos.

En el marco de la presente investigación, se cuenta con un reactor anaerobio estático construido en fibra de vidrio, con capacidad de 8 L, recubierto con pintura antirreflejante para minimizar el impacto térmico de la radiación solar. Este equipo ha sido acondicionado para albergar el inóculo que será utilizado en los ensayos experimentales. El sistema cuenta con una bomba peristáltica para la alimentación del reactor, así como

con salidas para el efluente y recirculación del contenido, integrando conexiones de válvulas de PVC SCH80 de $\frac{1}{2}$ pulgada. Adicionalmente, se ha incorporado una conexión de $\frac{1}{4}$ de pulgada para la instalación de un manómetro tipo columna en pulgadas de agua (in H₂O), marca Intrutek, con el propósito de monitorear la producción de biogás a partir de los cambios de presión interna en el reactor.

CAPÍTULO 2

MATERIALES Y MÉTODOS

CAPÍTULO 2 MATERIALES Y MÉTODOS

El desarrollo del presente estudio se llevó a cabo siguiendo la estrategia experimental ilustrada en la Figura 2.1, presentada en forma de diagrama de flujo. La metodología general se estructuró en cuatro etapas, de las cuales las etapas I, II y III corresponden a los procedimientos experimentales centrados en el crecimiento y manipulación de la biomasa, mientras que la etapa IV se centró en el análisis de los datos obtenidos en las fases experimentales previas.

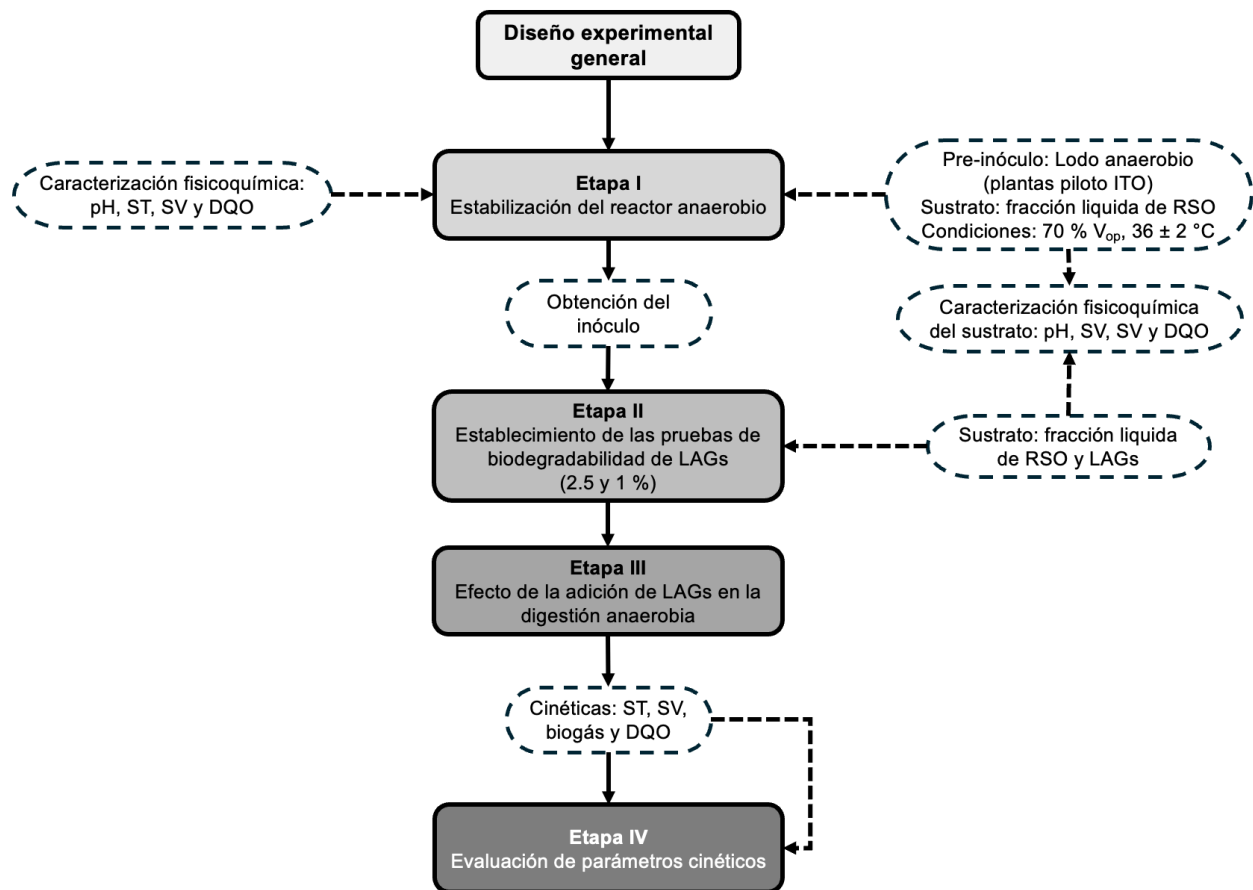


Figura 2.1 Diagrama general de la experimentación.

2.1 Etapa I – Estabilización del reactor anaerobio

2.1.1 Obtención del inóculo

El inóculo empleado para la experimentación fue obtenido del reactor de hidrólisis a escala piloto, operado en modo semicontinuo y ubicado en la planta de aprovechamiento de residuos sólidos orgánicos del Instituto Tecnológico de Orizaba (Figura 2.2). Este reactor contiene lodos acondicionados para el tratamiento de lixiviados generados a partir de residuos orgánicos de la estación de transferencia del Mercado Emiliano Zapata, Orizaba. El equipo tiene una capacidad total de 250 L, con un volumen operativo de 200 L, y fue aclimatado previamente utilizando la fracción líquida de frutas y verduras.



Figura 2.2. Reactor de hidrólisis escala piloto de la Planta de Aprovechamiento de Residuos del Instituto Tecnológico de Orizaba.

El inóculo se caracterizó fisicoquímicamente evaluando los parámetros de ST, SV, DQO Total y Soluble, pH y Alcalinidad total (factor α), como se muestra en la Tabla 2.1.

Tabla 2.1. Determinaciones fisicoquímicas.

Determinación	Unidades	Metodología	Referencias
pH	-	Determinación mediante el uso de electrodo/pHmetro.	NMX-AA-008-SCFI-2016
Sólidos Totales (ST)	%	Determinación por método gravimétrico mediante calentamiento y calcinación de muestras.	NMX-AA-034-SCFI-2015
Sólidos Volátiles (SV)	%		
Demanda Química de Oxígeno Total y Soluble (DQO)	g L ⁻¹	Determinación por medio de digestión de la muestra en una solución de dicromato de potasio (K ₂ CrO ₇) en presencia de ácido sulfúrico (H ₂ SO ₄) y catalizador de sulfato de plata (Ag ₂ SO ₄).	NMX-AA-030/2-SCFI-2011
Alcalinidad Total	%	Determinación mediante la titulación con solución estándar de H ₂ SO ₄ 0.02 N.	APHA-AWWA-WPFC

2.1.2 Aclimatación del inóculo

Para la realización de las pruebas de potencial bioquímico de metano (BMP, por sus siglas en inglés) en microcosmos, se adaptó el inóculo recolectado previamente para su uso en producción continua. Esta adaptación se llevó a cabo en un reactor anaerobio de 8 L de capacidad total, operado al 80 % de su volumen (6.5 L de volumen de trabajo) y equipado con agitación por recirculación (Figura 2.3). El reactor se aclimató empleando como sustrato la fracción líquida de frutas y verduras recolectadas en la estación de transferencia del Mercado Emiliano Zapata, en Orizaba (Jitomate y plátano en relación 4:1 p/p sin adición de agua). Las condiciones de operación fueron: pH de 7.5 ± 0.5 ,

ajustado con bicarbonato de sodio grado comercial (NaCOH_3) y temperatura controlada de $36 \pm 2^\circ\text{C}$.

La fracción líquida de los residuos sólidos orgánicos se preparó siguiendo el procedimiento descrito por Orduña-Gaytán *et al.* (2021). Este proceso consistió en la selección manual de los residuos de interés (Jitomate y plátano), eliminando aquellos de naturaleza fibrosa y lignocelulósica. Posteriormente, se redujo manualmente el tamaño de las partículas, y la materia orgánica fue triturada sin adición de agua, empleando únicamente la humedad de los propios residuos. La mezcla triturada fue finalmente tamizada y filtrada empleando malla con abertura de 1.0 mm (equivalente a una malla número 18 según el estándar ASTM E11.) para obtener la fracción líquida.

Una vez obtenida la fracción líquida se cara fisicoquímicamente evaluando los parámetros de ST, SV, DQO Total y Soluble y pH, como se muestra en la Tabla 2.1.

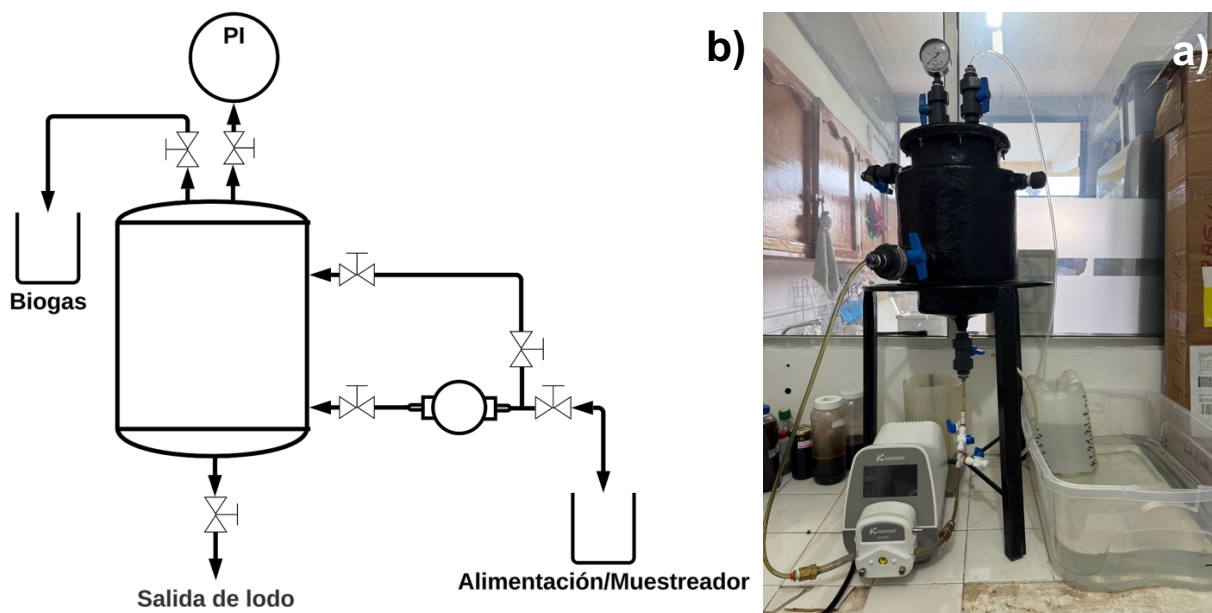


Figura 2.3. Reactor anaerobio para la adaptación del inóculo (a), Diagrama del reactor anaerobio para la adaptación del inóculo (b).

El monitoreo del biorreactor incluyó la caracterización fisicoquímica de las corrientes de entrada (sustrato), salida y del licor mezclado. Los parámetros evaluados abarcaron ST,

SV, pH, DQO total y soluble, pH y alcalinidad total (factor α), de acuerdo con lo descrito en la tabla 2.1.

La producción de biogás se registró mediante el método volumétrico, basado en el desplazamiento de fluidos en colectores externos, en donde el volumen de líquido desplazado fue equivalente al volumen de biogás generado (Figura 2.2). Para permitir la comparación con los datos de la literatura, el volumen de biogás fue normalizado a condiciones estándar (25 °C y 1 atm) mediante la ley de los gases ideales, como se muestra en la Ecuación 2.1, siendo 36 °C y 1.001 atm las condiciones de medición. (Filer *et al.*, 2019; Holliger *et al.*, 2021).

$$V_{norm} = V_{medido} \left(\frac{P_{ref}}{P_{medido}} \right) \left(\frac{T_{medido}}{T_{ref}} \right) \quad (2.1)$$

2.1.2.1 Cálculo de la Carga Volumétrica Aplicada

Para la evaluación del desempeño del reactor anaerobio, se calculó la Carga Volumétrica Aplicada (CVA) como el cociente entre la carga orgánica introducida diariamente (en términos de DQO) y el volumen útil del reactor. El volumen útil del sistema fue de 6.5 L, y la alimentación se realizó de forma discontinua, incorporando 2 L de sustrato en periodos de 2 a 4 días, lo que equivale a un caudal oscilante entre 1.0 a 0.5 L día⁻¹ dependiendo de la etapa de operación. La concentración de DQO del sustrato varió entre 5.44 ± 0.68 y 33.22 ± 4.72 g L⁻¹, por lo que la CVA fluctuó en un rango de 0.99 ± 0.15 a 2.51 ± 0.45 gDQO L⁻¹ día⁻¹ a lo largo del periodo de operación. Estos valores fueron determinados utilizando la ecuación 2.2:

$$CVA = \frac{C_{DQO} Q_{prom}}{V_{reactor \text{ útil}}} \quad (2.2)$$

Donde C_{DQO} corresponde a la concentración de demanda química de oxígeno del sustrato (g L⁻¹), Q_{prom} al caudal promedio diario de alimentación (L día⁻¹) y $V_{reactor \text{ útil}}$ (L). La CVA

se empleó como parámetro clave para analizar el efecto de la carga orgánica sobre la eficiencia de remoción y la producción de biogás

2.2 Etapa II – Establecimiento de las pruebas de biodegradabilidad

2.2.1 Montaje de las pruebas de biodegradabilidad de los residuos grasos de origen animal en microcosmos

La determinación de la biodegradabilidad de los residuos grasos de origen animal en aguas residuales en sistemas anaerobios en microcosmos se realizó en botellas serológicas de 120 mL, operadas al 70 % de su volumen (Volumen de trabajo 84 mL), empleando agua destilada y buffer de fosfatos pH 7.2 como medio líquido. La relación S_0/X_0 de sustrato/inóculo se estableció en 1:3 para sustratos de difícil degradación, expresada en gSV y DQO (gDQO gSV^{-1}). La preparación de los sustratos y los detalles de las pruebas experimentales se describen en las siguientes secciones. Para asegurar condiciones de anaerobiosis, se empleo N_2 durante 1.5 minutos para desplazar el aire en el interior de las botellas selladas (Holliger *et al.*, 2021; Hafner *et al.*, 2020; Parra-Orobio *et al.*, 2015).

El potencial bioquímico de metano se determinó siguiendo los estándares de Hafner *et al.* (2020) y Holliger *et al.* (2021). En cada prueba, se aplicaron criterios de validación mediante blancos sin sustrato y controles positivos alimentados para determinar la duración de los experimentos y la efectividad del lodo en la producción de metano con el sustrato específico. Como condición inicial, el inóculo fue acondicionado en el biorreactor a la temperatura del proceso; fue extraído una vez estabilizado, con producción mínima de metano endógeno, el inóculo fue caracterizado fisicoquímicamente mediante los parámetros de ST, SV, DQO Total y Soluble y pH, como se muestra en la Tabla 2.1. Para asegurar su calidad. Para permitir la comparación entre distintos ensayos y con los datos de la literatura, el volumen de biogás fue normalizado a condiciones estándar (25 °C y 1 atm) mediante la ley de los gases ideales, como se muestra en la Ecuación 2.1 (Filer *et al.*, 2019; Holliger *et al.*, 2021). La determinación del porcentaje de metano en las muestras de biogás se realizó mediante el método de absorción química, utilizando una

solución de hidróxido de sodio (NaOH) 4 N, grado reactivo, con el fin de eliminar el dióxido de carbono (CO₂) presente en el gas (Sihlangu *et al.*, 2024; Mohammadpour *et al.*, 2024).

El sustrato empleado en las pruebas de potencial biquímico de metano fue preprado de acuerdo con lo descrito en el apartado 2.2, agredando un paso adicional en el tamizado, empleando un un tamiz con malla número 24 según el sistema ASTM para disminuir la cantidad de sólidos en el sustrato y disminuir la diferencia entre DQO total y soluble, facilitando la cuantificación de la degradación de este en los sistemas de BMP.

Para evaluar el potencial bioquímico de metano (BMP), se establecieron cuatro condiciones experimentales, como se muestra en la Tabla 2.2. La concentración del surfactante se seleccionó con base en su balance hidrofílico-lipofílico (HLB) del surfacante químico. En el caso del Tween 20, con un HLB de 16.7, se trata de un tensioactivo no iónico altamente hidrofílico, lo cual lo hace adecuado para emulsiones del tipo aceite en agua (O/W) (Schick, 1966). Considerando este valor y estudios previos sobre emulsificación de grasas en medios acuosos (Yamamoto y Misawa, 2018; Katsuki *et al.*, 2017; Thanasukarn *et al.*, 2004), se empleó una concentración de 0.5 % v/v, suficiente para favorecer la dispersión de los lípidos sin afectar negativamente el equilibrio microbiano del sistema anaerobio. Este mismo criterio se aplicó para la elección de la concentración del biosurfactante, buscando mantener la comparabilidad entre tratamientos.

Tabla 2.2. Condiciones iniciales de las pruebas en microcosmos para la determinación de del potencial bioquímico de metano de las aguas residuales compuestas de diferentes mezclas de sustratos.

Sistema microcosmo	Composición de la mezcla	Concentración de sustrato	Surfactante (% v/v)	LAGs (% v/v)
SG	Fracción Líquida de jitomate	3 g DQO _T	0.0	0.0
2.5G	Fracción Líquida de jitomate + LAGs		0.0	2.5
2.5G + SQ	Fracción Líquida de jitomate + LAGs + Tween 20		0.5	2.5
2.5G +SQ	Fracción Líquida de jitomate + LAGs + Biosurfactante		0.5	2.5

Los experimentos son descritos de forma detallada en los siguientes apartados.

2.2.2 Determinación del potencial bioquímico de metano sin surfactantes y sin grasas

Para establecer el potencial bioquímico de metano de la fracción líquida de residuos orgánicos y compararlo con otros experimentos, se realizaron pruebas en microcosmos siguiendo el procedimiento del apartado 2.3, empleando dicha fracción como único sustrato. El contenido de las botellas se caracterizó fisicoquímicamente mediante la evaluación de ST, SV, pH, DQO total y soluble (Tabla 2.1). La producción de biogás se evaluó con el método de desplazamiento volumétrico y mediante muestras del espacio gaseoso. La duración de las pruebas se definió por el criterio de Holliger *et al.* (2020), deteniendo el experimento cuando la producción de biogás se estabilizó con una variación de <1 % en tres días consecutivos.

2.3 Etapa III

2.3.1 Determinación del efecto de los surfactantes en la biodegradabilidad de los residuos grasos de origen animal

Con la finalidad de evaluar el efecto del surfactante químico en la digestión anaerobia, se empleó la concentración de 1.0 % v/v. El surfactante utilizado fue Tween 20. La prueba se llevó a cabo en botellas serológicas de 120 mL al 70 % de capacidad operativa (84 mL de volumen de trabajo), con relación de sustrato/inóculo 1:3 y utilizando la fracción líquida de residuos orgánicos como sustrato. La caracterización fisicoquímica (Tabla 2.1) del contenido de las botellas se realizó al inicio y al final de cada prueba, y se evaluó la producción de biogás mediante desplazamiento volumétrico. Las pruebas se detuvieron cuando se observó inhibición, manifestada por una baja o nula producción de biogás.

2.3.2 Determinación del efecto de los residuos grasos de origen animal en el potencial bioquímico de metano

Se ensayaron concentraciones de 1.0 % v/v en prueba preliminar y 2.5 % v/v en prueba experimental (basado en condiciones de inhibición de la digestión anaerobia de residuos grasos, descrito por Eftaxias *et al.*, 2019). Estas concentraciones se establecieron con base en el volumen de operación del sistema, dado que son consideradas elevadas y potencialmente tóxicas para los sistemas anaerobios. Sin embargo, este enfoque permite evaluar el efecto real sobre el proceso y, al mismo tiempo, ofrece una ventaja metodológica al facilitar la escalabilidad futura hacia sistemas de mayor volumen, donde las proporciones respecto al volumen total siguen siendo comparables. Las pruebas de biodegradabilidad se realizaron en botellas de 120 mL al 70 % de su capacidad (84 mL de volumen de trabajo), manteniendo una relación sustrato/inóculo de 1:3. La caracterización fisicoquímica (Tabla 2.1) del contenido de las botellas se realizó durante las diferentes etapas del proceso. La duración de las pruebas se definió de acuerdo con el criterio de Holliger *et al.* (2020), finalizando el experimento cuando la variación en la producción de biogás fue <1 % durante tres días consecutivos. Los residuos grasos de origen animal utilizados en los experimentos fueron recolectados de forma local en un

domicilio particular ubicado en la ciudad de Río Blanco, Veracruz, con el consentimiento del propietario.

Los reiduos grasos de origen animal utilizados en los experimentos fueron recolectados de forma local en un domicilio particular ubicado en la ciudad de Río Blanco, Ver. con el consentimiento del propietario.

2.3.3 Determinación del potencial bioquímico de metano de los residuos grasos de origen animal y la adición de surfactantes

Para evaluar el potencial bioquímico de metano de aguas residuales con residuos grasos de origen animal y la adición de surfactantes, se realizaron microcosmos utilizando una relación sustrato/inóculo de 1:3. Se estableció la siguiente composición del sustrato: fracción líquida de residuos orgánicos (3 gDQO total) y residuos grasos de origen animal en proporción 2.5 % v/v, tomando como referencia un volumen de trabajo de 84 mL. Se añadió un 0.5 % v/v de cada tipo de surfactante (Tween 20 y biosurfactante). La elección del Tween 20 se basó en sus propiedades fisicoquímicas favorables para la emulsificación de grasas, destacando su bajo tamaño de partícula, su uso seguro en aplicaciones alimentarias y su alta estabilidad en sistemas emulsificados, lo que lo convierte en un surfactante ampliamente empleado en medios biológicos (Yamamoto y Misawa, 2018; Katsuki *et al.*, 2017). Por otro lado, el biosurfactante utilizado fue de tipo lipopeptídico, producido por la cepa bacteriana M5, conservada en el Laboratorio de Control de la Contaminación Ambiental de la Facultad de Ciencias Químicas, Orizaba, Veracruz. Este compuesto fue obtenido utilizando residuos grasos de origen animal (1 % v/v) como única fuente de carbono en medio Bushnell-Haas, bajo condiciones de incubación a 25 °C durante cinco días. Posteriormente, el biosurfactante fue extraído mediante un sistema de solventes (Shah *et al.*, 2016) y su equivalencia funcional con el Tween 20 fue evaluada mediante un ensayo de desplazamiento con petróleo modificado (Faisal *et al.*, 2023). La concentración obtenida fue de 0.51 ± 0.013 g/L, equivalente a la del Tween 20. Las pruebas se realizaron siguiendo el procedimiento descrito en el apartado 2.3. El contenido de las botellas fue caracterizado fisicoquímicamente (Tabla 2.1) en intervalos de 48 h. El consumo de grasas se midió conforme a lo descrito en la

norma NMX-AA-005-SCFI-2003, mediante extracción con hexano, y el consumo de AGVs fue evaluado mediante cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC). La producción de biogás y la cuantificación de metano se llevaron a cabo conforme a los procedimientos descritos en los apartados previos, y las pruebas concluyeron cuando la producción de biogás fue inferior al 1 % durante tres días consecutivos, de acuerdo con Holliger *et al.* (2020).

2.3.4 Análisis de la producción de ácidos grasos volátiles

Para evaluar las etapas de la digestión anaerobia y el comportamiento bacteriano durante la degradación de los residuos grasos de origen animal, se realizó el análisis de la composición de los ácidos grasos volátiles (AGVs) empleando el método de cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC, por sus siglas en inglés). Las muestras fueron centrifugadas para obtener el sobrenadante, el cual fue filtrado tres veces utilizando un filtro de membrana de 0.22 μm y posteriormente almacenado a 4 °C en frascos de vidrio ámbar hasta su análisis. La cuantificación de AGVs se centró en la determinación de Ácido Acético (acetato), Ácido Propiónico (propionato) y Ácido Butírico (butirato), utilizando una columna de exclusión iónica PRP-X300 (Hamilton®, EE. UU.) con dimensiones de 150 $\times$ 4.1 mm y un tamaño de partícula de 7 μm . La temperatura de operación tanto de la columna como de las muestras se mantuvo a 25 °C. La fase móvil consistió en una solución de ácido sulfúrico 1 mM (90 %) y acetonitrilo grado HPLC (10 %), con un flujo constante de 350 $\mu\text{L}/\text{min}$. La detección se realizó mediante un detector con lámpara de tungsteno, configurado a una longitud de onda de 210 nm.

2.4 Etapa IV

2.4.1 Modelo cinético de Gompertz modificado

Para describir la cinética de producción acumulada de biogás, se empleó el modelo de Gompertz modificado (Ecuación 2.3), utilizado ampliamente en estudios de digestión anaerobia para estimar parámetros cinéticos (Orangun *et al.*, 2021 y Llanos-Lizcano *et al.*, 2024). Esta herramienta permite modelar la evolución del biogás producido y obtener

la producción máxima teórica (B_{max}), la tasa máxima de producción (R_{max}) y la duración de la fase de latencia microbiana (λ).

$$B(t) = B_{max} * \exp \left[- \exp \left(\frac{R_{max} e}{B_{max}} (\lambda - t) + 1 \right) \right] \quad (2.3)$$

Donde $B(t)$ es el volumen acumulado de biogás en el tiempo t (mL), B_{max} es la producción máxima de biogás (mL), R_{max} es la tasa máxima de producción de biogás (mL día⁻¹), λ representa la fase de retardo (días) y e es la base del logaritmo natural (~ 2.71828). El ajuste del modelo se realizó mediante la herramienta Solver de Microsoft Excel®, minimizando la suma de los errores de cuadrados (RSS) entre los datos experimentales y los valores predichos por el modelo.

2.4.2 Modelo cinético de Cone clásico

Para describir la cinética de producción acumulada de biogás, se utilizó el modelo Cone clásico (Ecuación 2.4), el cual incluye un parámetro de forma adicional (n) que permite capturar la asimetría y posible retardo inicial en la curva de producción.

$$P(t) = \frac{B_{max}}{1 + (k * t)^{-n}} \quad (2.4)$$

Donde $P(t)$ es la producción acumulada de biogás en el tiempo, B_{max} representa la producción máxima de biogás (mL), k es la constante cinética de hidrólisis (día⁻¹) y n es el parámetro adimensional de forma que define la pendiente y retardo del sistema. Este modelo resultó adecuado para describir la evolución de biogás en sustratos con biodegradabilidad limitada o fases de adaptación prolongadas (Prajapati *et al.*, 2018, López-Aguilar *et al.*, 2025 y Hakimi *et al.*, 2023). El ajuste se realizó en Microsoft Excel® utilizando el complemento Solver para minimizar la suma de errores cuadráticos (RSS) entre los valores experimentales y modelados.

2.4.3 Analisis estadístico

La producción de biogás, consumo de DQO y consumo de grasas se analizaron mediante la prueba de análisis de varianza (ANOVA) y prueba de comparación de medias de Tukey para identificar diferencias significativas entre los tratamientos aplicados en las pruebas de digestión anaerobia en microcosmos y cuál de ellos puede presentar un mayor rendimiento. El análisis estadístico se realizó utilizando el software estadístico Minitab en su versión 20.

CAPÍTULO 3

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CAPÍTULO 3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Etapa I – Estabilización del reactor anaerobio

3.1.1 Obtención y caracterización del inóculo

Se realizó la obtención y caracterización fisicoquímica del inóculo del reactor de hidrólisis a escala piloto de la Planta de Aprovechamiento de Residuos del Instituto Tecnológico de Orizaba. Para este fin, se extrajeron 3 L de lodo anaerobio, los cuales fueron acondicionados en un reactor de 4 L, operado en condiciones anaerobias y alimentado cada seis días durante un periodo total de 18 días con la fracción sólida de RSO. Este procedimiento tuvo como objetivo estimular la actividad microbiana, enriquecer la biomasa y optimizar las condiciones iniciales del inóculo.

En la Tabla 3.1 se presenta la comparación de los parámetros fisicoquímicos del inóculo antes y después del acondicionamiento, en donde el antes hace referencia al inóculo recuperado del reactor anaerobio de hidrólisis de escala piloto de la planta de aprovechamiento de residuos del Instituto Tecnológico de Orizaba. Se observa un incremento en la DQO y en los SV, lo cual puede indicar un aumento en la concentración de materia orgánica biodegradable y una mayor proporción de biomasa activa. Estos cambios indican un proceso de activación microbiológica, lo que sugiere que el inóculo se encontraba en un estado metabólicamente activo y con el potencial necesario para iniciar de forma eficiente el proceso de digestión anaerobia en el reactor experimental.

Tabla 3.1. Caracterización del inóculo obtenido del reactor de hidrólisis escala piloto durante su acondicionamiento

Determinación	Unidades	Preinóculo	Inóculo acondicionado
pH	-	8.01	5.27
DQO _T	g L ⁻¹	2.88 ± 0.88	72.57 ± 0.65
DQO _s	g L ⁻¹	0.57 ± 0.40	47.35 ± 0.80
ST	g L ⁻¹	35.13 ± 1.60	42.72 ± 0.78
SV	g L ⁻¹	16.52 ± 0.78	22.98 ± 1.25

3.1.2 Obtención y caracterización de la Fracción Líquida de Residuos Sólidos Orgánicos para la adaptación del inóculo

Para realizar la aclimatación del inóculo, se obtuvo de la fracción líquida de los RSO recolectados en la estación de transferencia del Mercado Emiliano Zapata, Orizaba, Veracruz. Con el objetivo de asegurar un crecimiento adecuado de la biomasa y minimizar perturbaciones ocasionadas por variaciones en la composición del sustrato, se seleccionaron exclusivamente dos residuos frescos de alta disponibilidad: plátano variedad Cavendish (*Musa acuminata*) y jitomate tipo Saladet (*Solanum lycopersicum*), en una proporción 1:4 p/p (plátano/jitomate).

Esta combinación fue seleccionada por su alto contenido de azúcares simples, carbohidratos solubles y compuestos fácilmente fermentables, los cuales pueden, favorecer producción de AGVs, acelerando así el proceso de adaptación microbiana y el inicio de la digestión anaerobia. Además, se ha reportado que sustratos con alta solubilidad, bajo contenido lignocelulósico y ricos en carbohidratos simples presentan una mayor tasa de conversión a biogás, reducen la fase de latencia y permiten un arranque más eficiente del sistema (Chew *et al.*, 2021; Zhu *et al.*, 2024).

Los RSO fueron triturados y homogenizados empleando una licuadora doméstica (marca Osterizer, modelo 6878-013, 16V), sin adición de agua externa. Posteriormente, la mezcla fue tamizada mediante malla de acero inoxidable de 1 mm (malla 18 ASTM E11), con el propósito de eliminar partículas de mayor tamaño y reducir el contenido de componentes lignocelulósicos poco biodegradables.

La Tabla 3.2 presenta la caracterización fisicoquímica de la fracción líquida de los RSO. El pH ácido de 4.56 indica una composición rica en compuestos orgánicos fermentables, condición común en residuos frescos de frutas y vegetales. La DQO_T fue de 91.50 ± 1.06 g L⁻¹, mientras que la DQO_S de 68.20 ± 1.56 g L⁻¹, representando aproximadamente el 75 % de la DQO_T . Esta elevada fracción soluble sugiere la predominancia de compuestos de bajo peso molecular, como azúcares, ácidos orgánicos y metabolitos fácilmente degradables, los cuales pueden favorecer la producción de metano.

Tabla 3.2 Caracterización de la Fracción Líquida de RSO

Determinación	Unidades	FL de RSO
pH	-	4.56
DQO _T	g L ⁻¹	91.50 ± 1.06
DQO _s	g L ⁻¹	68.20 ± 1.56
ST	g L ⁻¹	46.57 ± 1.27
SV	g L ⁻¹	42.00 ± 2.07

Asimismo, la alta carga de SV (42.00 g L⁻¹) confirma el predominio de materia orgánica biodegradable. Aunque el bajo pH podría representar una condición inhibitoria en ausencia de amortiguación, también refleja una fermentación natural previa y la posible acumulación de ácidos grasos volátiles, lo que puede acelerar el inicio del proceso anaerobio si el sistema cuenta con capacidad buffer suficiente.

Para efectos comparativos, estudios previos reportan valores distintos en fracciones líquidas similares: Alvarado-Vallejo *et al.* (2024) registraron 58.44 g L⁻¹ de DQO_T y 3.46 g L⁻¹ de SV en fracción líquida de jitomate, mientras que Orduña-Gaytán *et al.* (2023) reportaron 44.0 g L⁻¹ de DQO_T y 17.33 g L⁻¹ de SV en fracción líquida de residuos orgánicos. Comparativamente, la fracción líquida obtenida en este estudio presenta una mayor concentración de materia orgánica total y soluble, lo que sugiere un sustrato altamente fermentable y adecuado para iniciar y sostener el proceso de digestión anaerobia, especialmente durante las etapas de arranque y adaptación del sistema (Tanguay-Rioux *et al.*, 2022).

3.1.3 Aclimatación del inóculo en un reactor anaerobio semicontinuo

Posterior al periodo de adaptación, se transfirió el inóculo a un reactor anaerobio de 8 L para favorecer su aclimatación y la producción continua de lodo activo. El experimento tuvo una duración total de 220 días, divididos en tres etapas: arranque, aclimatación y adaptación intensiva, todas enfocadas en la adaptación del lodo a cargas diferentes

orgánicas y en favorecer su desarrollo y estabilización para una mayor producción de biomasa activa.

Durante todo el proceso, el reactor fue operado en modo semicontinuo retirando el 30% del líquido contenido el sistema y alimentado con fracción líquida de RSO compuesta por jitomate y plátano, mantenida constante a lo largo del estudio. El TRH se ajustó en cada etapa: 48 horas en la primera, 72 horas en la segunda y 96 horas en la tercera. Este ajuste progresivo tuvo como propósito favorecer la adaptación microbiana y optimizar la producción de biogás.

Durante el proceso de estabilización, se realizó el monitoreo continuo de los parámetros de entrada y salida del reactor, incluyendo la DQO Total y Soluble, ST, SV, pH y Factor de Alcalinidad (α). Para asegurar una mayor estabilidad del proceso se controló el pH de la alimentación, manteniéndolo en niveles óptimos (pH 6.5 – 7.5) mediante la adición de bicarbonato de sodio (NaHCO_3). En las siguientes secciones, se presentan los resultados del monitoreo del reactor anaerobio.

3.1.3.1 Consumo y degradación de materia orgánica en el reactor anaerobio

Durante la Etapa I (días 1 – 24), el reactor anaerobio fue alimentado con una fracción líquida de RSO ajustada a una concentración inicial oscilante entre 30 a 20 gDQO_T L⁻¹. Sin embargo, debido a la inestabilidad observada en el sistema, se ajustó la concentración de alimentación a 5 g DQO_T L⁻¹ a partir del día 24 (Etapa 2), con el objetivo de favorecer la estabilización de la biomasa del reactor.

Una vez que se observó la estabilidad del efluente, esto respecto al valor constante de la DQO_T a la salida del sistema, se procedió con incrementos progresivos de 5 g DQO_T L⁻¹ en la alimentación hasta alcanzar una concentración final de 40 g DQO_T L⁻¹ (Etapa 3). Esta estrategia tuvo como finalidad promover un incremento en el crecimiento microbiano y permitir la adaptación del sistema a altas cargas orgánicas.

En la Figura 3.1 se muestran los resultados del monitoreo de las concentraciones de materia orgánica a la entrada y salida del reactor durante la operación. En la Etapa I se

observó una marcada inestabilidad operacional, reflejada en variaciones abruptas de la DQO y en la ausencia de producción de biogás, siendo esta la etapa de arranque del reactor en donde se usó una concentración inicial mayor para tratar de estimular la biomasa.

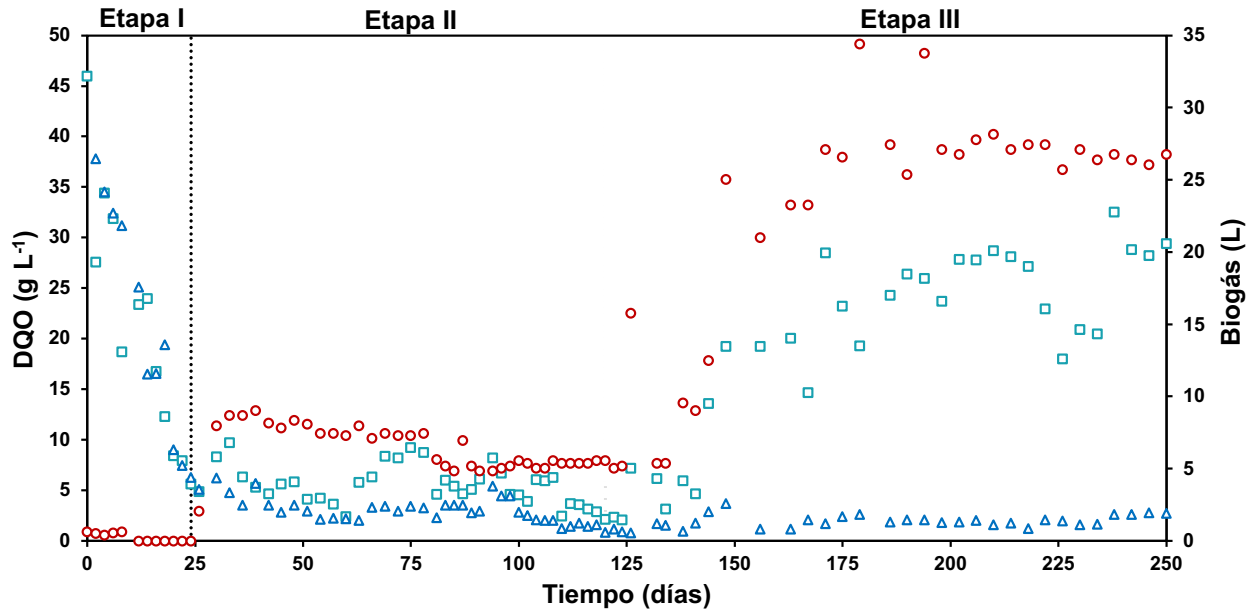


Figura 3.1 Comparación de la carga orgánica de entrada y salida del reactor anaerobio con respecto a la producción de biogás durante las tres etapas del proceso de estabilización. Entrada ($\square$), Salida ($\triangle$) y Biogás producido ($\circ$).

Los sustratos ricos en carbohidratos simples, como los empleados en el presente trabajo como parte de la alimentación del reactor, suelen presentar una alta biodegradabilidad, lo que acelera las etapas iniciales del proceso anaerobio (hidrólisis y acidogénesis, provocando la rápida conversión de azúcares en AGVs, derivando en una acumulación excesiva de estos compuestos, ocasionando caídas en el pH del sistema e inhibición de las poblaciones metanogénicas (Ding *et al.*, 2021).

Yan *et al.* (2023), destacan que durante las primeras semanas de operación es común observar una baja eficiencia de remoción de materia orgánica y ausencia de producción de biogás, especialmente cuando no se cuenta con una etapa de precondicionamiento del inóculo. Para el caso del reactor anaerobio usado en el presente trabajo, la alta carga inicial posiblemente excedió la capacidad de respuesta de la comunidad microbiana,

teniendo como consecuencia una acumulación de sustrato no degradado y a una acidificación incipiente del medio, factores que pudieron contribuir a inhibir la actividad metanogénica. Este fenómeno es consistente con lo que reportan diversos estudios, los cuales indican que una estrategia de arranque con cargas orgánicas elevadas, especialmente con sustratos de fácil degradación, conduce a lo conocido como "sobrecarga ácida", donde la velocidad de producción de AGVs por parte de las bacterias acidogénicas supera la capacidad de consumo de los microorganismos metanogénicos, resultando en una caída del pH y el colapso del proceso (Yang *et al.*, 2023). La acumulación de AGVs no solo reduce el pH, sino que también puede generar toxicidad directa para las arqueas metanogénicas, lo que explica la ausencia de producción de biogás observada en la Etapa I.

En la Etapa II (días 25 a 120), tras la reducción de la carga orgánica en la alimentación, el sistema mostro una mayor estabilidad operacional, evidenciado en la concentración de DQO_T del afluente, la cual se mantuvo en promedio por debajo de 2 g L⁻¹. Este comportamiento se reflejó también en la producción de biogás, debido a que alcanzó un valor promedio de 4.92 ± 1.36 L día⁻¹, con una producción acumulada de 614.57 L al final de la etapa. Lo anterior parece indicar que la reducción de la carga permitió evitar la acumulación de productos intermedios y favoreció al equilibrio entre las etapas acidogénica y metanogénica. De acuerdo con Jiang *et al.* (2020), el uso de cargas orgánicas moderadas mejora la eficiencia del proceso anaerobio, ya que reduce el riesgo de acidificación y permite la adaptación de las poblaciones metanogénicas, especialmente cuando se trabaja con sustratos ricos en carbohidratos fermentables.

Durante la Etapa III (días 121 a 250), se implementaron incrementos graduales en la carga orgánica con la finalidad de evaluar la capacidad de respuesta del sistema. Esta estrategia resultó en una producción aumentada sostenida de biogás, alcanzando un promedio de 27.88 ± 3.77 L día⁻¹, con una producción acumulada de 402.99 L. La mayor eficiencia del proceso en esta etapa sugiere una adaptación efectiva los consorcios microbianos, capaces de procesar mayores cargas sin desestabilizar el sistema. Este comportamiento coincide con lo reportado Ding *et al.* (2020) y Ying *et al.* (2014), quienes observaron que, tras una fase de aclimatación con cargas bajas, los sistemas anaerobios

son capaces de tolerar incrementos graduales de carga orgánica sin comprometer la producción de biogás, siempre que se mantenga el equilibrio redox y se evite la acumulación de AGVs.

La producción acumulada de biogás de todo el periodo experimental fue de 1221.55 L, lo que evidencia una mejora progresiva en la eficiencia del sistema conforme avanzó la adaptación microbiana. El patrón observado puede indicar la importancia de una fase de arranque con carga reducida, seguida de incrementos controlados, como estrategia efectiva para maximizar la conversión de materia orgánica en sistemas alimentados con residuos ricos en azúcares. Esta aproximación, conocida como estrategia de aclimatación por etapas, es fundamental para enriquecer selectivamente una comunidad microbiana robusta y diversa, capaz de manejar perturbaciones y cargas orgánicas más altas en el futuro (Yang *et al.*, 2023). La estabilidad alcanzada en la Etapa III demuestra que el consorcio microbiano se adaptó exitosamente, logrando un equilibrio funcional entre las diferentes etapas metabólicas de la digestión anaerobia.

Se evaluó la estabilidad del sistema es mediante el análisis de la eficiencia de remoción de la DQO_T, como se ilustra en la Figura 3.2. Durante la Etapa I (días 0 a 25), se observó una eficiencia de remoción inestable, con valores generalmente inferiores al 35 % y una alta dispersión de los datos. Esta baja eficiencia refleja una actividad limitada de las comunidades microbianas, posiblemente atribuible al estrés inicial por la alta carga orgánica, la falta de aclimatación del inóculo, o un desequilibrio entre las etapas acidogénica y metanogénica. Este comportamiento coincide con lo reportado por Yan *et al.* (2023) y Malinowski *et al.* (2021), quienes señalan que los sistemas anaerobios alimentados con residuos fácilmente fermentables requieren una etapa de acondicionamiento para evitar acidificación excesiva derivada de la rápida formación de AGVs. En esta fase, el sistema no alcanzo un equilibrio funcional, lo que se tradujo en una remoción parcial de la materia orgánica.

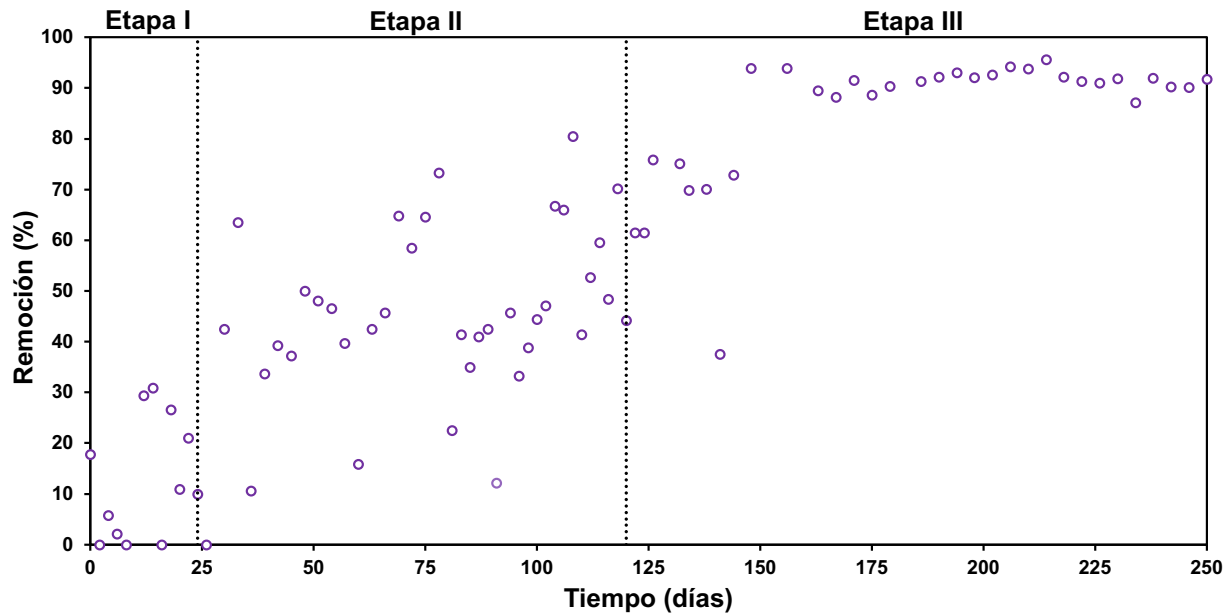


Figura 3.2 Evolución de la remoción de la carga orgánica durante las tres etapas del proceso de estabilización del reactor anaerobio.

En la Etapa II, el sistema comenzó a mostrar una mejora progresiva en la eficiencia respecto a la etapa anterior, con tasas de remoción superiores al 80 % en varios puntos de la etapa. Sin embargo, la tendencia general se mantuvo inestable, disminuyendo hasta el 20 % en algunas ocasiones, lo que sugiere que, la respuesta microbiana fue más activa pero aún se encontraba en proceso de adaptación. Este tipo de fluctuaciones es característico de sistemas donde la población metanogénica aún no alcanza su máximo desarrollo, como lo reportan Zhang *et al.* (2019) y Yu *et al.* (2021), quienes observaron comportamientos similares en digestores alimentados con residuos vegetales líquidos bajo condiciones semicontinuas.

En la Etapa III al aumentar gradualmente la carga orgánica, se favoreció la adaptación final de la biomasa. A partir del día 144, las tasas de remoción superaron de forma consistente el 90 %, manteniéndose estables hasta el final del experimento. Esta estabilidad en la eficiencia de remoción indica que el sistema alcanzó un estado de equilibrio operativo, donde las poblaciones microbianas lograron un acoplamiento funcional para la degradación de los compuestos orgánicos presentes en el sustrato. Este resultado es consistente con lo reportado por Jiang *et al.* (2020), quienes destacan que una estrategia de incremento progresivo en la carga orgánica, luego de una fase de

estabilización, puede favorecer el desarrollo de una comunidad metanogénica robusta, permitiendo mantener altas tasas de remoción de DQO incluso con cargas elevadas.

El seguimiento de la DQO_T , se complementó con el monitoreo de la DQO_S con el objetivo de evaluar de manera más precisa la actividad biológica del sistema, este parámetro representa los compuestos orgánicos disueltos que están disponibles directamente para las poblaciones hidrolíticas y fermentativas, por lo que su remoción es un indicador del desempeño metabólico del consorcio microbiano.

Como se observa en la Figura 3.3, en la Etapa I no se obtuvieron remociones significativas de la DQO_S . Las concentraciones en el efluente fueron semejantes a las de la alimentación, lo que sugiere una actividad baja actividad microbiana e incapacidad del sistema para procesar los compuestos solubles presentes en el sustrato. Este comportamiento ha sido observado y reportado en las fases de arranque, en donde las comunidades microbianas aún no se encuentran adaptadas al sustrato ni al entorno fisicoquímico del reactor (Caillet *et al.*, 2021 y Meng *et al.*, 2014).

En la Etapa II, tras la disminución de la carga orgánica, se observó un incremento en la remoción de la DQO_S , con reducciones puntuales en la concentración del efluente. Sin embargo, esta remoción fue variable, ya que en varias alimentaciones las eficiencias se mantuvieron por debajo del 30 %, lo que indica que la biomasa activa todavía no había alcanzado un estado de equilibrio. Este comportamiento refleja una transición progresiva hacia una mayor estabilización microbiana, como se ha reportado en digestores alimentados con residuos ricos en azúcares (Ding *et al.*, 2021 y Anacleto *et al.*, 2024).

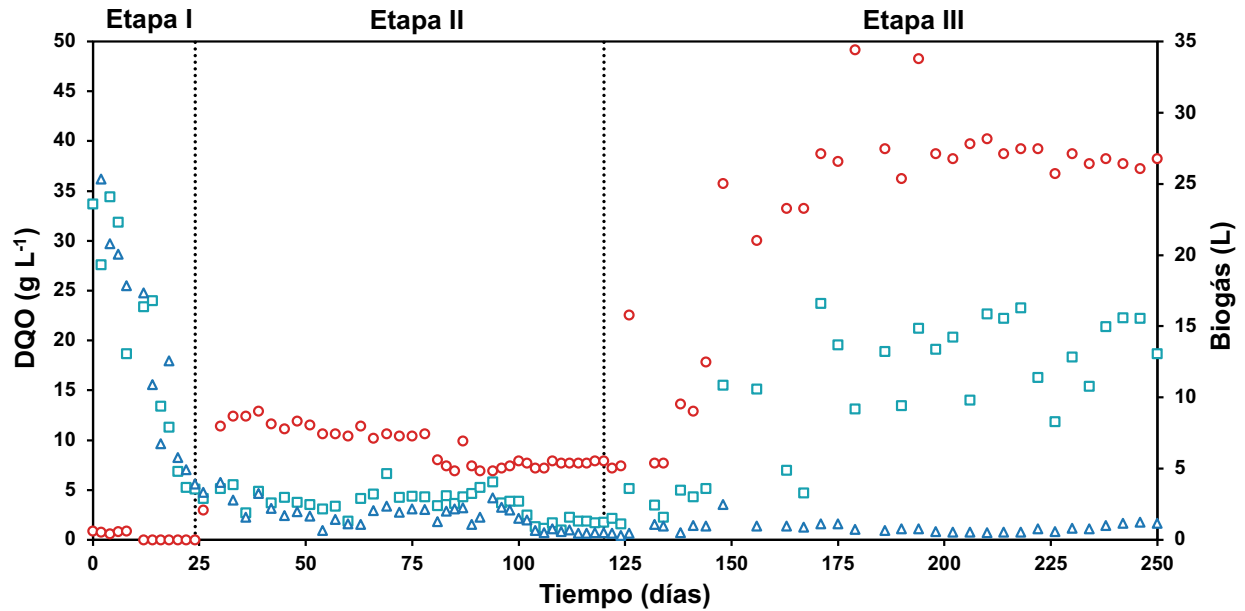


Figura 3.3 Comparación de la carga orgánica soluble de entrada y salida del reactor anaerobio con respecto a la producción de biogás durante las tres etapas del proceso de estabilización. Entrada ($\square$), Salida ($\triangle$) y Biogás producido ($\circ$).

Fue durante la Etapa III, donde se obtuvo una mejora en la eficiencia del sistema para remover la DQO_s. A partir del día 125, las concentraciones de DQO_s en el efluente disminuyeron sostenidamente, manteniéndose en promedio en niveles inferiores a 1.5 gDQO L⁻¹. Este patrón parece indicar que el sistema alcanzó una condición de estabilidad operativa, en la cual la actividad enzimática e hidrolítica de los microorganismos fue suficiente para procesar los compuestos solubles de manera eficiente. Estos resultados sugieren una mayor actividad metabólica de la biomasa con respecto a las anteriores etapas, pudiéndose atribuir este comportamiento a la adaptación progresiva de las poblaciones microbianas y a un acoplamiento más eficiente entre las fases hidrolítica, acidogénica y metanogénica. Lo anterior se traduce en una mayor capacidad del reactor para degradar y convertir la materia orgánica en biogás de forma eficiente. (Jiang *et al.*, 2020).

La evolución de la tasa de remoción de DQO_s se presenta en la Figura 3.4. Durante las primeras dos etapas de operación, el sistema mostró una elevada inestabilidad en la eficiencia de remoción de este parámetro, con valores que fluctuaron ampliamente por debajo del 80 %, e incluso con remociones inferiores al 20 % en ciertos momentos. Estos

resultados pueden indicar un bajo desempeño metabólico del consorcio microbiano en la conversión de compuestos orgánicos solubles, lo cual puede deberse tanto a una limitada actividad enzimática, como a posibles inhibiciones provocadas por acumulación de ácidos intermedios o sobrealimentación puntual del sistema (Greses *et al.*, 2021).

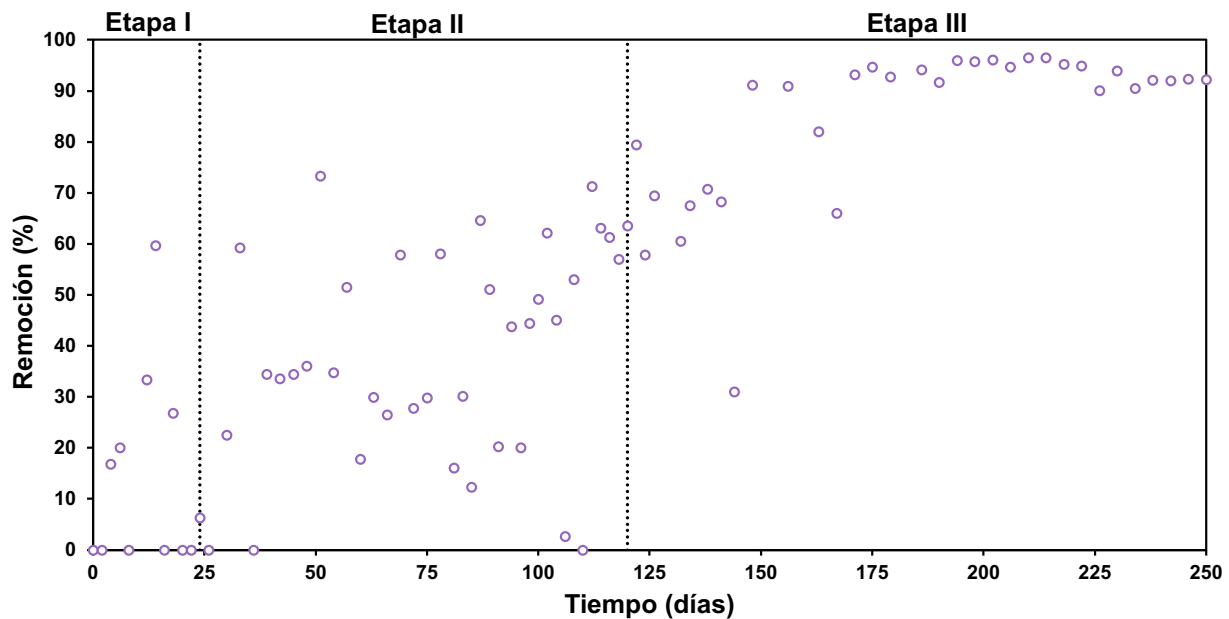


Figura 3.4 Evolución de la remoción de la carga orgánica soluble durante las tres etapas del proceso de estabilización del reactor anaerobio.

En la Etapa III, se observó una mejora sustancial en el comportamiento del sistema al aumentar de forma gradual la carga orgánica. A partir del día 144, la tasa de remoción de DQO_s superó de forma consistente el 90 %, manteniéndose estable durante el resto del experimento. Esta tendencia puede confirmar que el reactor alcanzó un estado de equilibrio funcional, en el cual la biomasa anaerobia se encontraba adaptada al tipo de sustrato y a las condiciones de operación. La elevada eficiencia en la remoción de compuestos solubles indica una adecuada sinergia entre las comunidades hidrolíticas, acidogénicas y metanogénicas, esenciales para un desempeño sostenido en sistemas de digestión anaerobia (Jiang *et al.*, 2020). Estos resultados validan la estrategia de arranque controlado y ajuste progresivo en la carga orgánica como una herramienta clave para lograr estabilidad microbiana y eficiencia en el tratamiento de residuos orgánicos con alto contenido de azúcares simples.

3.1.3.2 Evolución de la Carga Volumetrica Aplicada

El desempeño y la estabilidad del reactor anaerobio fue monitoreado mediante el análisis de la CVA durante las tres etapas de operación, como se muestra en la Figura 3.5. La CVA refleja la cantidad de materia orgánica introducida por unidad de volumen del reactor por día ($\text{gDQO L}^{-1} \text{d}^{-1}$), siendo un indicador clave en el diseño y control de procesos anaerobios.

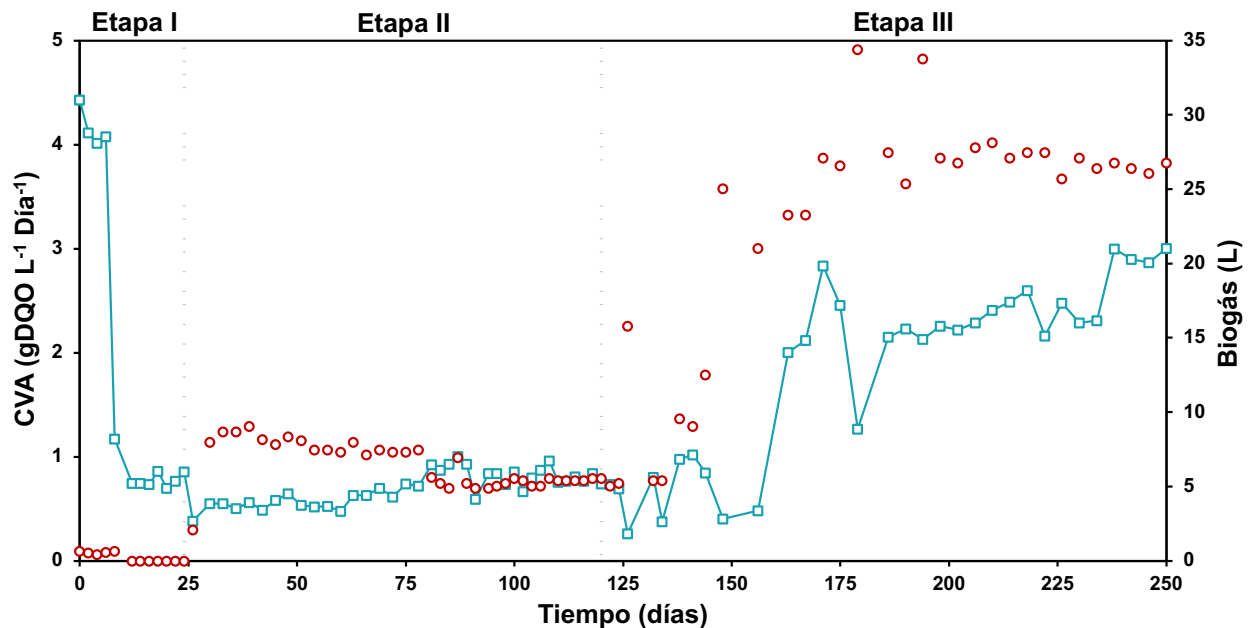


Figura 3.5 Evolución de la Carga Volumétrica Aplicada respecto a la producción de biogás durante las tres etapas del proceso de estabilización del reactor anaerobio. Carga Volumétrica Aplicada ($\square$) y Biogás producido ($\circ$).

Durante la Etapa I, se registraron valores con tendencia a disminuir de CVA debido a una alta concentración de materia orgánica en las primeras alimentaciones, en un intento por estimular la actividad microbiana (Zhang *et al.*, 2018). No obstante, esta sobrecarga inicial generó condiciones de inestabilidad operacional, derivado de una probable acumulación de compuestos orgánicos e intermediarios que pudieron haber provocado un efecto inhibitorio. Esta condición se reflejó en una nula producción de biogás durante esta etapa, lo que pudiera indicar que la biomasa no logró adaptarse a la carga aplicada, teniendo una captación retardada.

En Etapa II, se implementó un mayor control sobre la CVA, reduciendo la concentración de alimentación con el fin de promover una aclimatación gradual de la biomasa. Bajo estas condiciones, se alcanzó una CVA promedio de $0.71 \pm 0.15 \text{ gDQO L}^{-1} \text{ d}^{-1}$, lo que permitió obtener una producción de biogás promedio de $4.92 \pm 1.36 \text{ L día}^{-1}$.

Una vez alcanzada la estabilidad en el afluente y observando mejoras sostenidas en la remoción de DQO, se procedió a aumentar progresivamente la carga orgánica, elevando la CVA hasta una media de $2.51 \pm 0.45 \text{ gDQO L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ durante Etapa III. Este incremento fue tolerado por el sistema, evidenciado por el aumento en la producción de biogás, con un promedio de $27.88 \pm 3.77 \text{ L día}^{-1}$. La producción acumulada durante esta etapa fue de 402.99 L, lo que refleja un mayor rendimiento respecto a las otras dos etapas del proceso de estabilización. Estos resultados son consistentes con lo reportado por Nkuna *et al.*, (2021), quienes demostraron que la optimización progresiva de la CVA permite una mejor adaptación del consorcio microbiano, especialmente en digestores alimentados con residuos ricos en carbohidratos fermentables. Asimismo, Li *et al.* (2024), destacan que un aumento gradual de la carga permite evitar sobrecargas repentinas y la acumulación de AGVs, mejorando así la estabilidad y eficiencia del proceso. De igual forma, Zainal *et al.* (2022), quienes evaluaron la digestión anaerobia de residuos alimentarios a diferentes cargas orgánicas. Dichos autores reportaron un comportamiento óptimo en torno a $6 \text{ gCOD L}^{-1} \text{ d}^{-1}$, donde se obtuvo un máximo contenido de metano de 85% y una producción de 40 L de biogás, asociado a un posible equilibrio funcional entre las fases acidogénica y metanogénica. No obstante, al superar este umbral ($\geq 7 \text{ gCOD L}^{-1} \text{ d}^{-1}$) se presentó una acumulación excesiva de ácidos grasos volátiles y una disminución de la remoción de DQO hasta un 35 – 41%, manifestando un claro fenómeno de sobrecarga y pérdida de estabilidad del proceso.

Los resultados mostraron que la estrategia de arranque e incremento progresivo en la carga orgánica, expresada en términos de CVA, puede favorecer la estabilidad microbiana y la eficiencia en el tratamiento de residuos orgánicos, mejorando la remoción de la carga orgánica (apartado 3.3.1). Aunque una sobrecarga inicial generó acumulación de DQO y escasa producción de biogás, el ajuste gradual permitió estabilizar el proceso, evitar el lavado de biomasa y alcanzar remociones superiores al 90 % en la tercera etapa.

Este enfoque está respaldado por Li *et al.* (2024), quienes señalan que el aumento progresivo de la carga orgánica favorece la adaptación microbiana y reduce la probabilidad de inhibiciones o pérdidas de lodo activo. Asimismo, Nkuna *et al.*, (2021) destacan que una mayor carga, aplicada bajo condiciones controladas, permite sostener tasas elevadas de conversión de DQO sin comprometer la estabilidad del sistema. Aunque la CVA máxima aplicada en el presente trabajo ($2.51 \pm 0.45 \text{ gDQO L}^{-1} \text{ d}^{-1}$) fue menor a la reportada como límite crítico por otros autores como Zainal *et al.* (2022), se evidenció que un incremento acelerado en las etapas iniciales puede conducir a acumulación de ácidos grasos volátiles y acidificación parcial del medio, generando condiciones similares a las descritas en sobrecarga. Esto puede indicar la importancia de un incremento gradual de la carga como estrategia de arranque para asegurar la estabilidad microbiana y prevenir la inhibición metanogénica. En conjunto, estos resultados sugieren que el uso estratégico de cargas altas puede ser beneficioso si se aplica tras una fase de aclimatación, optimizando la eficiencia de remoción de DQO y la producción de biogás.

3.1.3.3 Evolución y consumo de Sólidos Totales y Volátiles en el reactor anaerobio

Para evaluar el comportamiento de los sólidos en el sistema, se monitoreó la concentración de ST tanto en la alimentación como en el efluente del reactor, como se muestra en la Figura 3.6. Durante la Etapa I, no se observó una reducción consistente de ST en la salida; por el contrario, se registró un incremento en su concentración, lo que sugiere un posible arrastre o lavado de biomasa desde el interior del reactor resultado de la inestabilidad inicial del proceso.

En la Etapa II, se obtuvo una tendencia a la acumulación de sólidos en el sistema, evidenciada por fluctuaciones en la concentración de ST en el efluente. Esta acumulación, junto con la presencia de biomasa en la salida, puede asociarse con la agitación interna por recirculación o con fenómenos de desestabilización hidráulica, los cuales contribuyeron a la pérdida parcial de material activo.

Durante la Etapa III, se mantuvo una dinámica similar, con persistencia en la acumulación de sólidos. No obstante, a partir del día 156 se observó una reducción progresiva en la

concentración de ST en el efluente y una mayor concordancia entre las concentraciones de entrada y salida, lo cual sugiere una posible estabilización del sistema.

Este comportamiento podría estar asociado al grado de tamizado aplicado durante la preparación del sustrato, ya que un tamizado deficiente habría permitido el ingreso de partículas con bajo grado de biodegradabilidad. Al no ser transformadas por la biomasa activa, estas fracciones insolubles habrían contribuido tanto a la acumulación de sólidos dentro del reactor como a la inestabilidad hidráulica observada durante las primeras fases de operación.

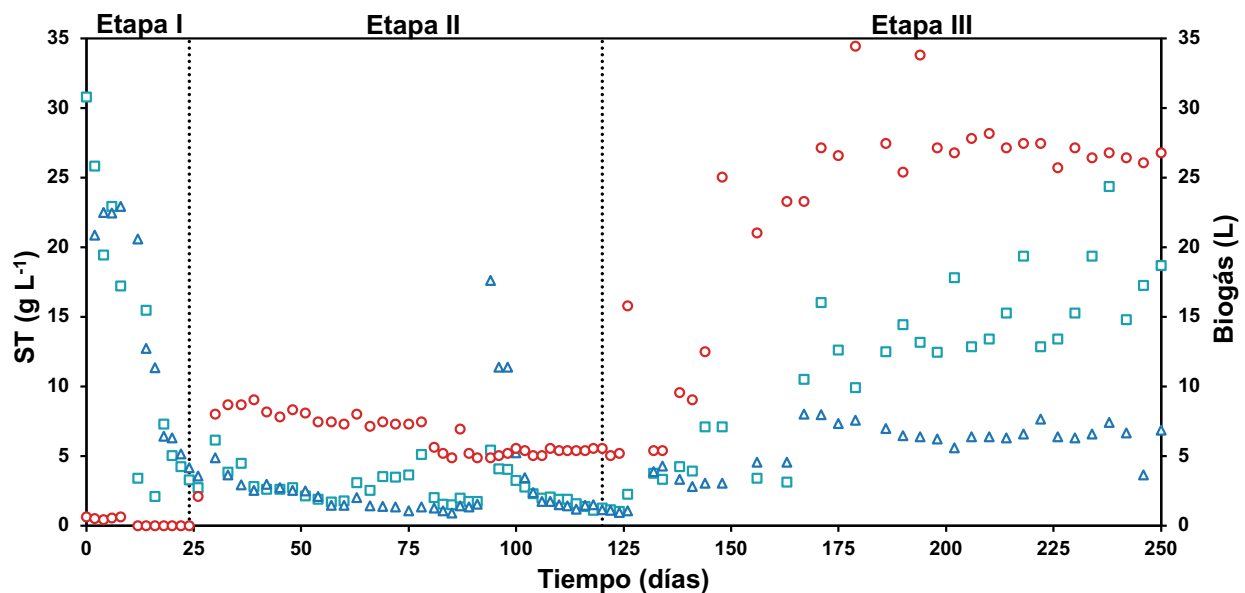


Figura 3.6 Comparación de la concentración de Sólidos Totales de entrada y salida del reactor anaerobio respecto a la producción de biogás durante las tres etapas del proceso de estabilización. Entrada ($\square$), Salida ($\triangle$) y Biogás producido ($\circ$).

De igual forma se evaluó la tasa de remoción de ST como indicador complementario de la estabilidad operativa del reactor anaerobio. Tal como se observa en la Figura 3.7, a lo largo de las tres etapas de operación no se logró alcanzar una estabilidad sostenida en este parámetro. En múltiples momentos del monitoreo, las eficiencias de remoción fueron cercanas inferiores al 20 %, y aun en las etapas más favorables, no superaron el 85 %, evidenciando una remoción inconsistente. Estos resultados respaldan la hipótesis del probable lavado parcial de biomasa desde el interior del reactor, lo que afectó la capacidad del sistema para retener y procesar eficientemente los sólidos. Este fenómeno

de lavado de sólidos es una perturbación común en reactores operados en modo semicontinuo, especialmente durante fases de alta carga orgánica. La intensa producción de biogás puede generar turbulencia y patrones de flujo que resuspenden la biomasa sedimentada, facilitando su arrastre con el efluente (Theuerl *et al.*, 2019 y Wu *et al.*, 2019). La pérdida de biomasa activa no solo compromete la degradación de la materia particulada, sino que también repercute en la eficiencia global del proceso, tal como se discutió en el apartado 3.3.1. La inestabilidad en la retención de sólidos constituye, por tanto, un factor limitante en el desempeño del reactor, asociado tanto a las características físicas del sustrato como al régimen hidráulico aplicado.

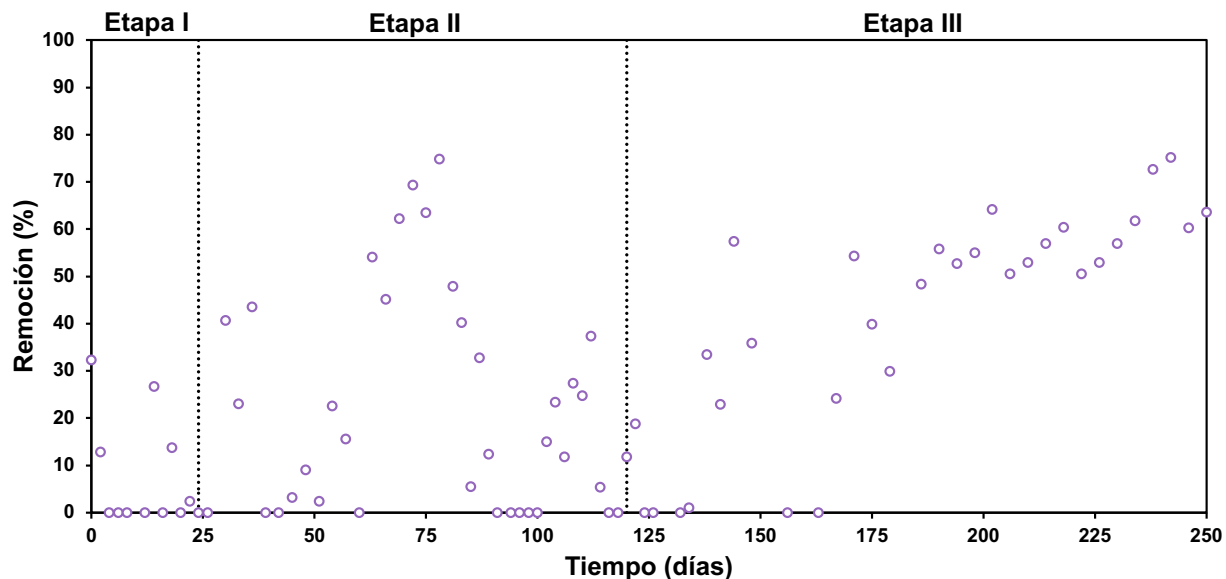


Figura 3.7 Evolución de la remoción de Sólidos Totales durante las tres etapas del proceso de estabilización del reactor anaerobio.

Una tendencia similar de inestabilidad fue obtenida en el monitoreo de los SV (Figura 3.8). Durante las Etapa I y II se registró una acumulación de SV en el sistema, evidenciada por la elevada concentración de materia orgánica en el efluente respecto a la alimentación. Este comportamiento puede ser indicativo de una limitada actividad metabólica de la biomasa y de un posible lavado de biomasa, fenómeno previamente discutido como un factor crítico en la inestabilidad del reactor.

La acumulación de SV puede estar asociada tanto a la entrada de partículas con baja biodegradabilidad como a una insuficiente retención de lodos, lo cual impide un contacto efectivo entre el sustrato y los microorganismos. De acuerdo con Parajuli *et al.* (2022), este tipo de condiciones puede reducir la eficiencia de conversión de sólidos orgánicos en biogás, especialmente en fases tempranas de operación o en sistemas alimentados con sustratos con fracción particulada significativa.

Esta situación persistió en la fase inicial de la Etapa II. No obstante, a partir del día 126, se observó una constante disminución en la concentración de los SV del efluente, lo cual indica una mejora en la actividad microbiana y en la degradación de la materia orgánica particulada. Esta tendencia se acentuó después del día 166, donde el reactor mostró un mayor consumo de SV, evidenciado en una menor concentración de SV en el afluente.

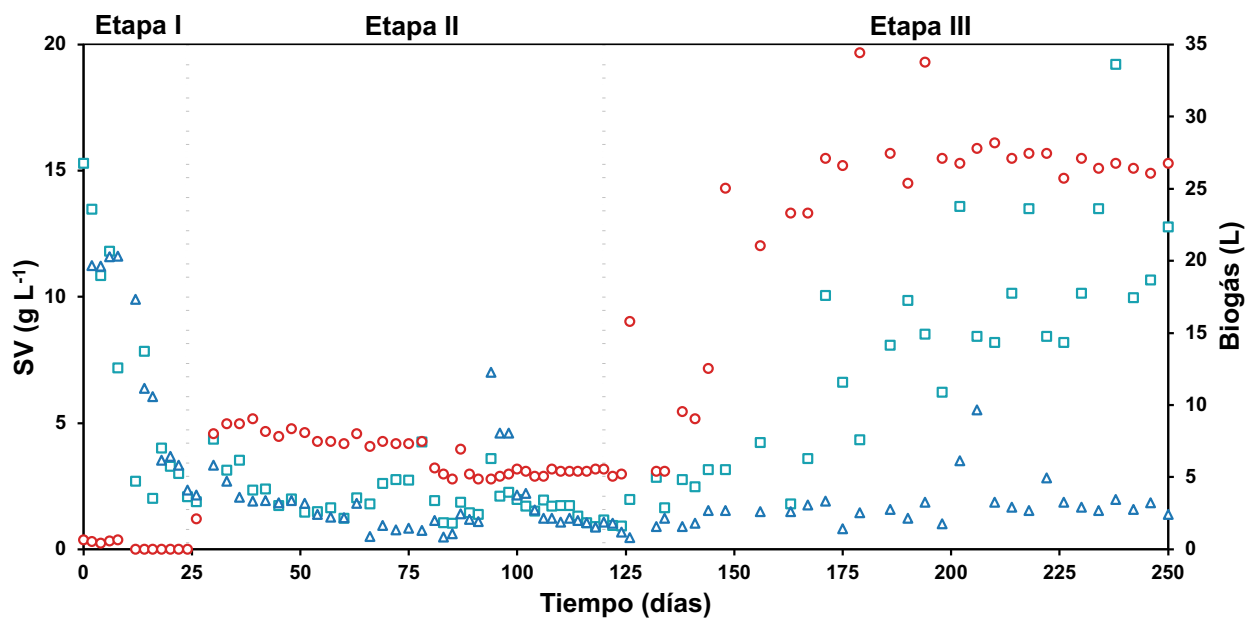


Figura 3.8 Comparación de la concentración de Sólidos Volátiles de entrada y salida del reactor anaerobio respecto a la producción de biogás durante las tres etapas del proceso de estabilización. Entrada ($\square$), Salida ($\triangle$) y Biogás producido ($\circ$).

Este comportamiento es coherente con lo reportado por Greses *et al.* (2021), quienes destacan que, tras una fase de adaptación, los sistemas anaerobios pueden alcanzar una eficiencia superior en la remoción de sólidos volátiles si se mantienen condiciones operativas estables y se evita el sobrecargado hidráulico. Asimismo, Chaurasia *et al.*

(2023), subrayan la importancia de una adecuada selección y pretratamiento del sustrato para favorecer la biodegradación de la fracción sólida.

Al igual que lo observado con los ST, la tasa de remoción de SV, representada en la Figura 3.9, mostró una marcada inestabilidad durante las Etapas I y II de operación. En varios puntos de estas etapas, se registraron valores de remoción cercanos inferiores al 20 %, lo cual parece confirmar una limitada actividad metabólica de la biomasa y la ocurrencia del lavado de biomasa.

Sin embargo, durante la Etapa III, conforme se incrementó progresivamente la carga orgánica en la alimentación, se obtuvo una mejora sostenida en la remoción de SV. A partir del día 126, la tasa de remoción comenzó a superar el 60 %, alcanzando incluso valores cercanos al 90 %, lo que sugiere una mayor retención de biomasa activa y un desempeño microbiano más eficiente. Esta tendencia en la remoción de SV puede indicar que el aumento gradual de la carga orgánica favoreció la estabilización del sistema, permitiendo una mejor adaptación del consorcio microbiano y una mayor eficiencia en la degradación de materia orgánica particulada.

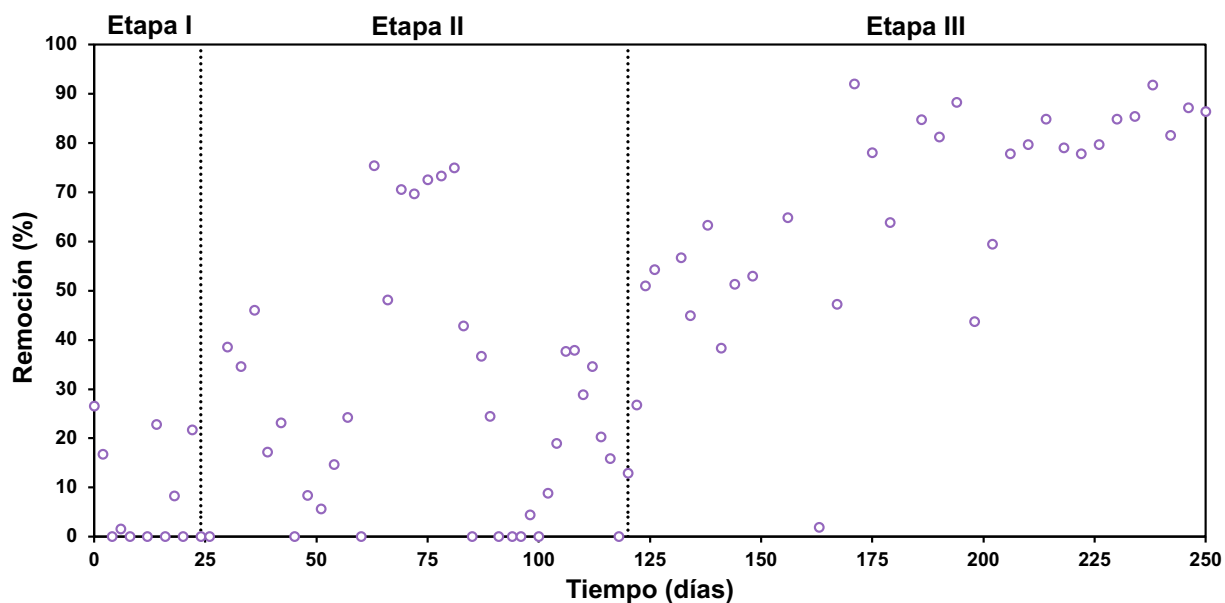


Figura 3.9 Evolución de la remoción de Sólidos Volátiles durante las tres etapas del proceso de estabilización del reactor anaerobio.

3.1.3.4 Control y evolución del pH del biorreactor

El monitoreo del pH permitió evaluar la estabilidad y el desempeño del reactor anaerobio durante su operación. Tal como se muestra en la Figura 3.10, durante la Etapa I se observó una marcada inestabilidad, con valores en el efluente frecuentemente por debajo de 6.0. Esta tendencia sugiere un proceso de acidificación temprana, probablemente ocasionado por la acumulación de compuestos parcialmente degradados.

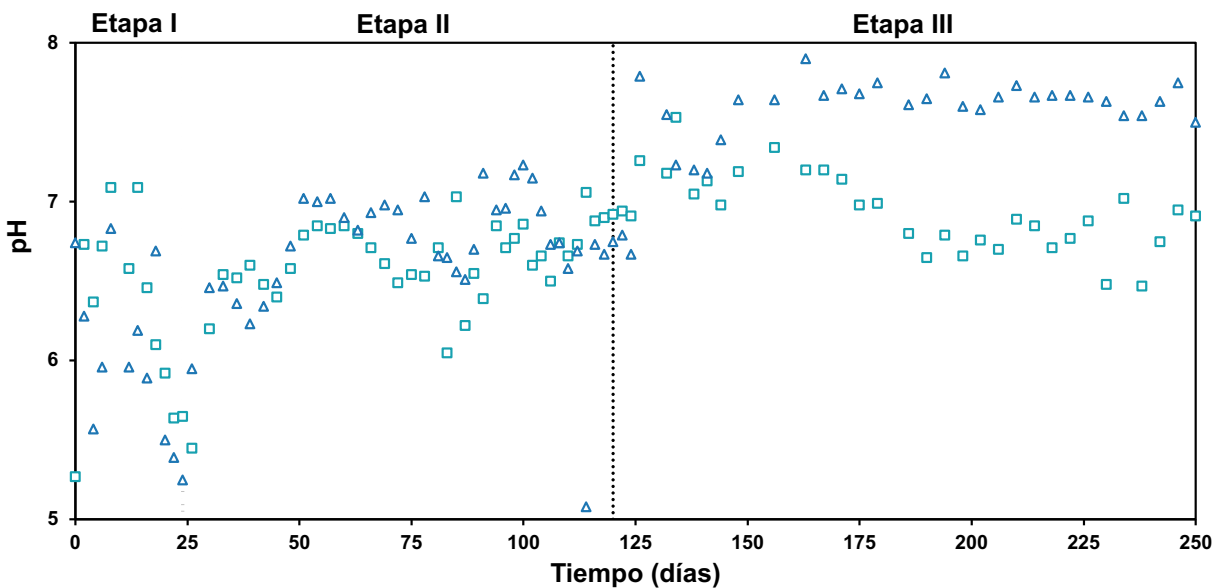


Figura 3.10 Evolución del pH en la entrada y la salida del reactor anaerobio durante las tres etapas del proceso de estabilización. Entrada (□) y Salida (△).

Durante la Etapa II, tras el ajuste en la carga orgánica, el sistema mostró una mejor regulación ácido-base, evidenciada por un pH del efluente que se mantuvo promedio por encima de 7.0. Este comportamiento refleja un entorno más favorable para la actividad metanogénica, aumentando el consumo los AGVs generados en etapas anteriores y favoreciendo al equilibrio del sistema.

En la Etapa III, el pH presentó la mayor estabilidad operativa respecto a las otras etapas. A partir del día 144, Se obtuvieron valores de pH por encima de 7.5, lo cual puede indicar condiciones óptimas para la metanogénesis y un entorno menos propenso a inhibiciones por acidificación. Este comportamiento es congruente con lo reportado por Atasoy y Cetecioglu (2022), quienes señalan que el mantenimiento de un pH entre 7.2 y 8.0

favorece la eficiencia del metabolismo metanogénico, particularmente en sistemas alimentados con sustratos ricos en azúcares fermentables.

Adicionalmente, Chew *et al.* (2021), subrayan que el pH es uno de los indicadores más sensibles de desbalances en la digestión anaerobia, ya que incluso pequeñas caídas pueden desencadenar inhibiciones en las comunidades metanogénicas. Por tanto, la estabilidad observada en esta última fase corrobora que el reactor alcanzó un estado operativo óptimo, resultado de la adaptación progresiva de la biomasa y del control adecuado en las condiciones de carga.

Para inferir indirectamente la acumulación de AGVs y evaluar la capacidad amortiguadora del sistema, se realizó el monitoreo del factor de alcalinidad (α), parámetro que representa la proporción entre la alcalinidad intermedia y la total, y que es fundamental para mantener la estabilidad del proceso anaerobio. El seguimiento de este indicador permite anticipar desbalances en el sistema, ya que está directamente relacionado con la actividad de las comunidades microbianas responsables de la degradación de materia orgánica y la producción de biogás (Apartado 3.3.1 y 3.3.2).

Como se observa en la Figura 3.11, durante la primera etapa y parte de la segunda, el valor del factor α se mantuvo elevado, con registros entre 0.9 y 0.6, indicando una alta acumulación de AGVs y una limitada capacidad de amortiguación. Estas condiciones comprometieron la estabilidad del reactor y afectaron la eficiencia en la remoción de materia orgánica, como fue evidenciado previamente en la Figura 3.1.

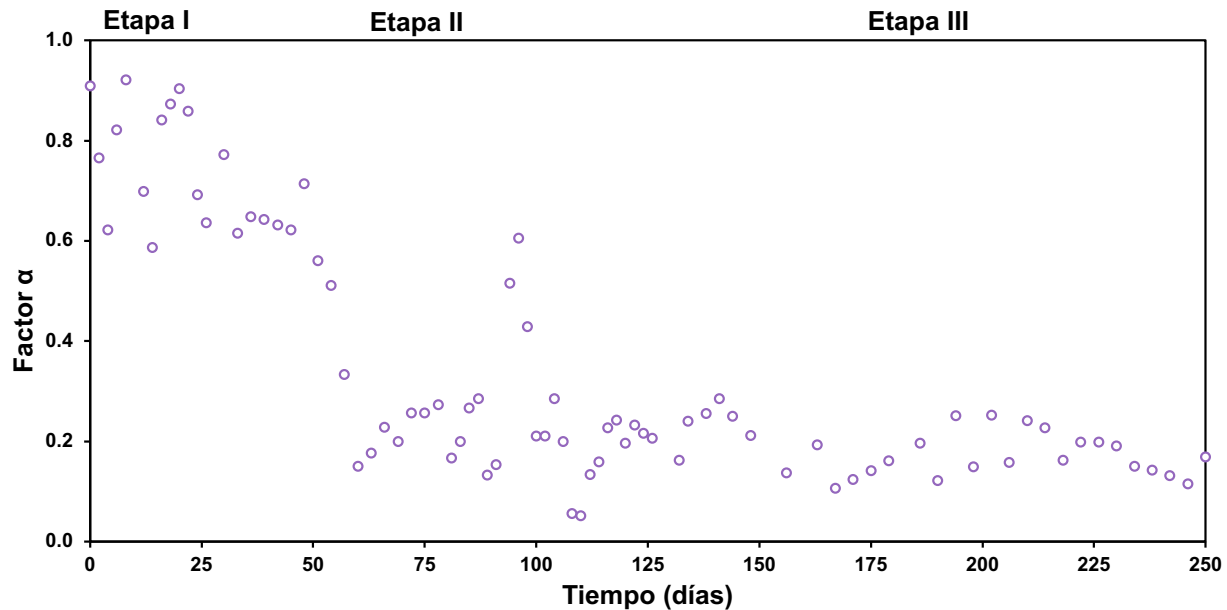


Figura 3.11. Evolución del factor de alcalinidad (α) durante las tres etapas del proceso de estabilización del reactor anaerobio.

A partir de la segunda mitad de la Etapa II, el valor de α mostró una tendencia descendente, estabilizándose en un rango de 0.3 a 0.1, lo cual refleja una mejora progresiva en el equilibrio ácido-base del sistema. Esta estabilización coincidió con la mejora en la actividad microbiana y una mayor eficiencia en el consumo de compuestos solubles y particulados (Apartado 3.3.1 y 3.3.2).

Durante la Etapa III, el pH alcanzó su mayor estabilidad, manteniéndose dentro del rango óptimo establecido, lo que corrobora que el sistema logró un equilibrio operativo adecuado. Este comportamiento está en concordancia con los resultados obtenidos para el pH, la producción de biogás y la remoción de sólidos volátiles, lo que indica una sinergia positiva entre los distintos indicadores del proceso y una adaptación exitosa del consorcio microbiano a las condiciones del reactor.

De acuerdo con Wang *et al.* (2017), un valor óptimo de α se encuentra en el rango de 0.3 a 0.5, lo que indica un equilibrio adecuado entre la generación de AGVs y la capacidad del sistema para neutralizarlos. Valores superiores a este rango suelen asociarse con acumulación excesiva de AGVs y riesgo de acidificación, mientras que valores inferiores pueden reflejar una actividad metanogénica efectiva y condiciones operativas estables

3.2 Etapa II – Establecimiento de las pruebas de biodegradabilidad

3.2.1 Montaje de las pruebas cinéticas de potencial bioquímico de metano de aguas residuales compuestas por diferentes sustratos en microcosmos

Con el objetivo de evaluar la biodegradabilidad de los residuos grasos de origen animal en aguas residuales compuestas, se llevaron a cabo ensayos cinéticos de consumo de sustrato y producción de biogás en condiciones controladas. Las pruebas se realizaron en botellas serológicas de 120 mL, utilizando un volumen de trabajo equivalente al 70 % de su capacidad (84 mL). Los ensayos se llevaron a cabo a una temperatura constante de 36 ± 2 °C, con agitación manual cada 24 horas para mantener la homogeneidad del sistema.

Como parámetros de control, se monitorearon la DQO_s, ST, SV, el pH y la producción de biogás. Las mediciones se realizaron en intervalos de 24, 48, 96, 144 y 240 horas, con el propósito de identificar la evolución de los procesos de degradación y la actividad microbiana a lo largo del tiempo.

3.2.1.1 Obtención y preparación de la fracción líquida de los Residuos Sólidos Orgánicos para la preparación de aguas residuales compuestas

Para la realización de las pruebas cinéticas, se preparó la fracción líquida a partir de un único RSO, seleccionándose el jitomate (*Solanum lycopersicum*) debido a su elevado contenido de humedad y nutrientes, así como por su capacidad para mantener un sustrato homogéneo, lo cual es fundamental para evitar perturbaciones durante el desarrollo experimental y asegurar la reproducibilidad de los resultados. Los residuos de jitomate fueron recolectados en la estación de transferencia del Mercado Emiliano Zapata, ubicado en el municipio de Orizaba, Veracruz.

El residuo seleccionado fue triturado y homogeneizado utilizando una licuadora doméstica (marca Osterizer, modelo 6878-013, 16V), sin adición de agua. Esta decisión fue estratégica para preservar la concentración natural de materia orgánica disuelta, evitando diluciones que podrían afectar la cinética de degradación y la interpretación de la DQO. Posteriormente, la mezcla fue tamizada en una malla de acero inoxidable de 1

mm (malla 18 ASTM E11) y malla de 0.75 mm (malla 24 ASTM E11), lo que permitió una mayor depuración de sólidos suspendidos finos, favoreciendo la obtención de una fracción líquida homogénea y adecuada para la evaluación cinética.

Este doble tamizado permitió obtener una fracción líquida con una DQO_T de 54.08 ± 0.18 g L⁻¹ y una DQO_S de 48.38 ± 0.39 g L⁻¹ (Tabla 3.3), indicando que aproximadamente el 90 % de la materia orgánica total está en forma soluble y, por tanto, fácilmente accesible para la biomasa microbiana. Esta alta proporción de materia orgánica soluble es fundamental para favorecer una digestión anaerobia eficiente, dado que la fracción soluble es la más biodisponible y permite una mejor cuantificación del consumo de materia orgánica durante el proceso (Agrawal *et al.*, 2023).

Tabla 3.3 Caracterización de la Fracción Líquida de jitomate.

Determinación	Unidades	FL jitomate
pH	-	4.63
DQO_T	g L ⁻¹	54.08 ± 0.18
DQO_S	g L ⁻¹	48.38 ± 0.39
ST	g L ⁻¹	30.00 ± 0.94
SV	g L ⁻¹	23.53 ± 0.14

En cuanto a la concentración de sólidos, se obtuvieron ST de 30.00 ± 0.94 g L⁻¹ y SV de 23.53 ± 0.14 g L⁻¹, lo que indica que cerca del 78 % de los sólidos totales son orgánicos y, por ende, potencialmente biodegradables. Esta composición favorece la generación de biogás al proporcionar una fuente adecuada de sustrato para la microbiota anaerobia (Zia *et al.*, 2022).

El pH de la fracción líquida fue 4.63, un valor ácido que debe ser controlado durante la digestión anaerobia, dado que valores por debajo de 6.0 pueden afectar negativamente la actividad de los microorganismos metanogénicos, reduciendo la producción de metano (Khanal *et al.*, 2021). Sin embargo, esta acidez también puede favorecer las etapas

iniciales de acidogénesis, promoviendo la formación de AGVs, intermediarios esenciales para el proceso (Nkuna *et al.*, 2022).

Estos resultados indican que la fracción líquida de jitomate puede ser usada como sustrato para una digestión anaerobia por su alto contenido de materia orgánica eficiente. (Anaya-Reza *et al.*, 2022).

3.3 Eatapa III

3.3.1 Obtención y caracterización de los residuos grasos de origen animal (LAGs)

Los residuos grasos de origen animal (lípidos, aceites y grasas, LAGs) empleados en este estudio fueron recolectados en un domicilio particular ubicado en la región de Orizaba, Veracruz. La caracterización fisicoquímica se presenta en la Tabla 3.4.

Tabla 3.4 Caracterización de los Residuos Grasos de Origen Animal (LAGs).

Determinación	Unidades	LAGs
pH	-	5.49
DQO _T	g L ⁻¹	6176 ± 170
ST	g L ⁻¹	992.03 ± 0.67
SV	g L ⁻¹	986 ± 7.00

Como característica principal, los LAGs mostraron una elevada carga orgánica, con una DOQ_T de 6176 ± 170 g L⁻¹, lo cual refleja una alta concentración de compuestos altamente energéticos. Asimismo, los ST alcanzaron 992.03 ± 0.67 g L⁻¹, y los SV representaron prácticamente la totalidad de esta fracción, con un valor de 986 ± 7.00 g L⁻¹, lo que indica que más del 99 % del contenido sólido es de naturaleza orgánica y, por ende, potencialmente biodegradable (Holahan *et al.*, 2022). Esta composición es típica de matrices lipídicas, las cuales contienen altos niveles de triglicéridos, AGCLs y compuestos hidrofóbicos con alto poder calórico (Selormey *et al.*, 2021). El potencial de los LAGs como sustrato para digestión anaerobia ha sido ampliamente documentado, ya

que su valor energético (aproximadamente 9 kcal/g) es significativamente mayor al de carbohidratos o proteínas, lo que permite una elevada producción teórica de metano por unidad de masa degradada (Ma *et al.*, 2015; Menon y Lyng, 2021). Sin embargo, esta característica representa un desafío para la operación de sistemas anaerobios, especialmente en condiciones de alta carga orgánica. La acumulación de AGCLs puede inducir efectos inhibitorios sobre la biomasa microbiana, particularmente sobre los microorganismos metanogénicos, al alterar la permeabilidad de sus membranas celulares y generar estrés fisiológico (Selormey *et al.*, 2021). El mecanismo de inhibición se debe principalmente a la adsorción de los AGCLs en las paredes celulares microbianas, lo que interfiere con el transporte de nutrientes y la síntesis de componentes celulares, además de alterar los gradientes de protones necesarios para la producción de energía. Sin embargo, la co-digestión de lípidos con sustratos ricos en carbohidratos, como la fracción de jitomate utilizada en este estudio, es una estrategia efectiva para mitigar esta inhibición, ya que proporciona una fuente de carbono de degradación más rápida que mantiene activa a la población microbiana y diluye la concentración local de AGCLs (González *et al.*, 2022).

El valor de pH medido fue de 5.49, lo cual podría indicar la presencia de ácidos grasos intermedios. Aunque este valor no representa por sí mismo un riesgo severo, el control del pH es esencial para prevenir inhibiciones durante la digestión, ya que la actividad metanogénica óptima ocurre en un rango neutro (6.8 – 7.4) (Vasiliadou *et al.*, 2023). Un pH ácido persistente, junto con una sobrecarga de lípidos, podría comprometer la estabilidad del sistema.

Por tanto, aunque los resultados de caracterización muestran el posible potencial energético de los LAGs en la digestión anaerobia, sin embargo, se intuye que su incorporación debe realizarse con precaución debido a su alta concentración de materia orgánica compleja. Es indispensable implementar estrategias de dosificación progresiva, co-digestión con sustratos más fácilmente degradables, o la aplicación de pretratamientos fisicoquímicos o biológicos para mejorar la biodisponibilidad de las grasas y reducir los efectos de inhibición (Ren *et al.*, 2022).

3.3.2 Pruebas para la determinación del Potencial Bioquímico de metano de las aguas residuales compuestas por diferentes mezclas de sustratos en microcosmos

Previo a la realización de los experimentos para la determinación del Potencial Bioquímico de Metano (BMP) de las aguas residuales compuestas de diferentes mezclas de sustratos, se llevaron a cabo pruebas de digestión anaerobia en microcosmos utilizando fracción líquida de jitomate, residuos grasos de origen animal (LAGs) y un surfactante químico (Tween 20). El objetivo principal fue evaluar el efecto de estos sustratos sobre el desempeño del proceso de digestión anaerobia, así como estimar el comportamiento cinético inicial y definir un marco temporal adecuado para el diseño de las pruebas principales.

Para ello, se emplearon las condiciones iniciales mostrado en la Tabla 3.5. En todos los sistemas se utilizó una base común de fracción líquida de jitomate (ajustada a 3 gDQO_T), a la cual se adicionaron los sustratos experimentales en una proporción del 1 % v/v respecto al volumen total de operación de cada unidad experimental. Esta estrategia permitió observar la respuesta inicial del sistema ante la incorporación de compuestos con diferente grado de biodegradabilidad, perfil lipídico o tensioactivo.

Tabla 3.5 Condiciones iniciales de las pruebas en microcosmos para la determinación de del potencial bioquímico de metano de las aguas residuales compuestas de diferentes mezclas de sustratos.

Sistema microcosmo	Mezcla de sustratos	Surfactante (%)	LAGs (%)
SG	Fracción Líquida de jitomate	0.0	0.0
1G	Fracción Líquida de jitomate + LAGs	0.0	1.0
1SQ	Fracción Líquida de jitomate + Tween 20	1.0	0.0
1G+SQ	Fracción Líquida de jitomate + LAGs + Tween 20	1.0	1.0

Las pruebas experimentales se desarrollaron durante un tiempo de 216 horas (9 días), este periodo que fue representativo del comportamiento temprano de los sistemas, lo cual aportó información para establecer la duración de las pruebas BMP posteriores.

Los resultados se muestran en la Figura 3.12, inician que durante las primeras 48 horas la producción acumulada de biogás fue similar en los cuatro sistemas evaluados. No obstante, a partir de ese punto, el sistema de microcosmos alimentado con la fracción líquida de jitomate con LAGs presentó una producción superior, alcanzando un 36.79 % más biogás que el sistema con fracción líquida sin aditivos. Este comportamiento sugiere que la adición de lípidos puede proporcionar una fuente energética más concentrada y favorecer la producción de biogás, siempre que la carga se mantenga dentro de los límites de tolerancia de la biomasa.

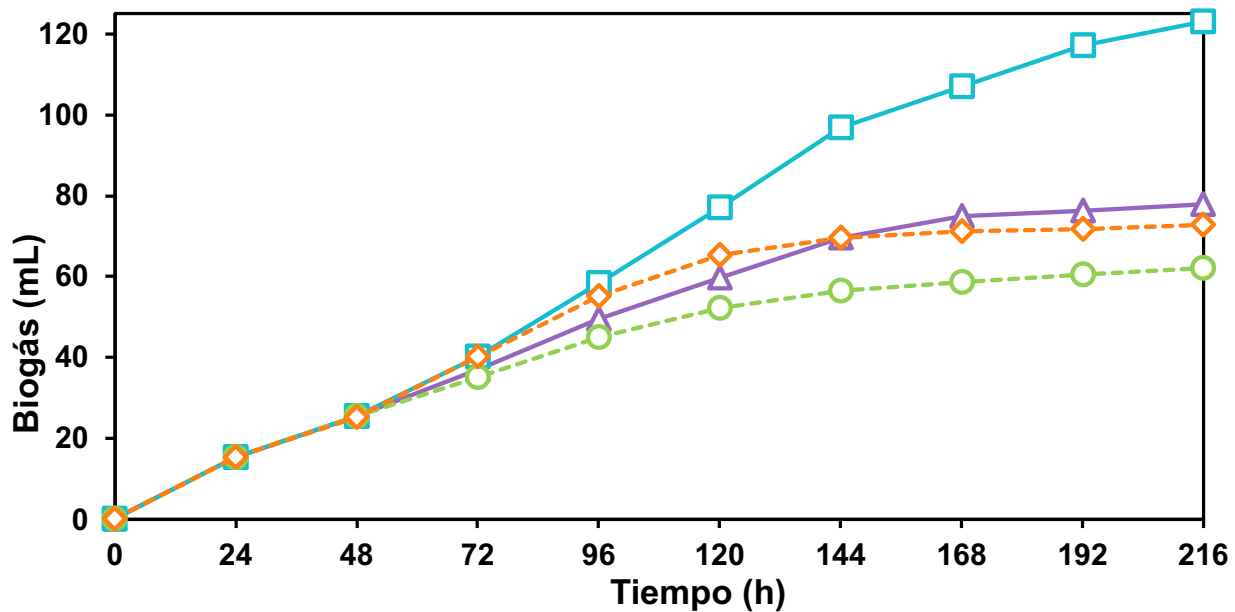


Figura 3.12 Comparación de la producción de biogás acumulado durante las pruebas de biodegradabilidad de las aguas residuales compuestas diferentes mezclas de sustratos. Evaluación de la producción de biogás acumulado empleando aguas residuales compuestas de Fracción Líquida de jitomate (Δ), Líquida de jitomate + LAGs ($\square$), Fracción Líquida de jitomate + Tween 20 ($\circ$) y Fracción Líquida de jitomate + Tween 20 + LAGs ($\diamond$).

Por otro lado, en el sistema que incluyó el surfactante químico Tween 20, se observó una disminución del 20.30 % en la producción de biogás respecto al control, lo cual podría

deberse a efectos inhibitorios sobre las poblaciones microbianas o a alteraciones en la disponibilidad del sustrato derivadas de interacciones físicoquímicas no favorables.

Estos resultados pueden evidenciar la viabilidad del uso de LAGs como co-sustrato en procesos de digestión anaerobia al mejorar la producción de biogás, al tiempo que alertan sobre la necesidad de evaluar cuidadosamente el uso de aditivos como surfactantes, que podrían limitar la eficiencia del proceso. Además, la duración ajustada de la prueba cinética resultó útil para definir las condiciones y tiempos de operación adecuados en los ensayos posteriores de BMP.

3.3.3 Determinación del efecto de la adición de biosurfactantes en la digestión anaerobia de aguas residuales con presencia de lípidos (LAGs) en microcosmos

En la Figura 3.13 se presentan las curvas de cinética de degradación de DQOs respecto a la producción acumulada de biogás durante las pruebas de potencial bioquímico de metano (BMP) en microcosmos de las aguas residuales compuestos de la siguiente forma: SG (control sin aditivos), 2.5G (adición de 2.5% v/v de residuos grasos de origen animal - LAGs), 2.5G + SQ (adición de 2.5% de LAGs y 0.5% de surfactante químico - Tween 20) y 2.5G + BS (adición de 2.5% de LAGs y biosurfactante tipo lipopéptido).

Los resultados muestran una respuesta diferenciada según la composición de la mezcla de sustratos: el tratamiento 2.5G alcanzó 205.69 ± 0.88 mL de biogás acumulado frente a 64.44 ± 1.87 mL del control, mientras que 2.5G+BS alcanzó 168.29 ± 0.10 mL y 2.5G+SQ redujo la producción respecto a 2.5G. Esta mejora relativa observada con la adición de la fracción lipídica concuerda con estudios recientes que reportan incrementos significativos de biogás al aumentar la fracción lipídica, siempre que la tasa de liberación de sustrato se mantenga dentro de la capacidad de degradación del inóculo (Li *et al.*, 2024; Song *et al.*, 2024). Sin embargo, la mera presencia de lípidos no garantiza aumento neto de metano: la velocidad de solubilización de LCFAs y la adaptación del inóculo son determinantes para evitar inhibición (Szabó-Corbacho *et al.*, 2024; Zhao *et al.*, 2024). Para el caso del presente trabajo, la diferencia entre 2.5G y 2.5G+BS puede indicar que el biosurfactante favoreció una liberación más gradual o una mejor accesibilidad

microbiana que la observada con el surfactante químico, resultando en mayor producción inicial sin el colapso observado cuando la solubilización fue muy rápida.

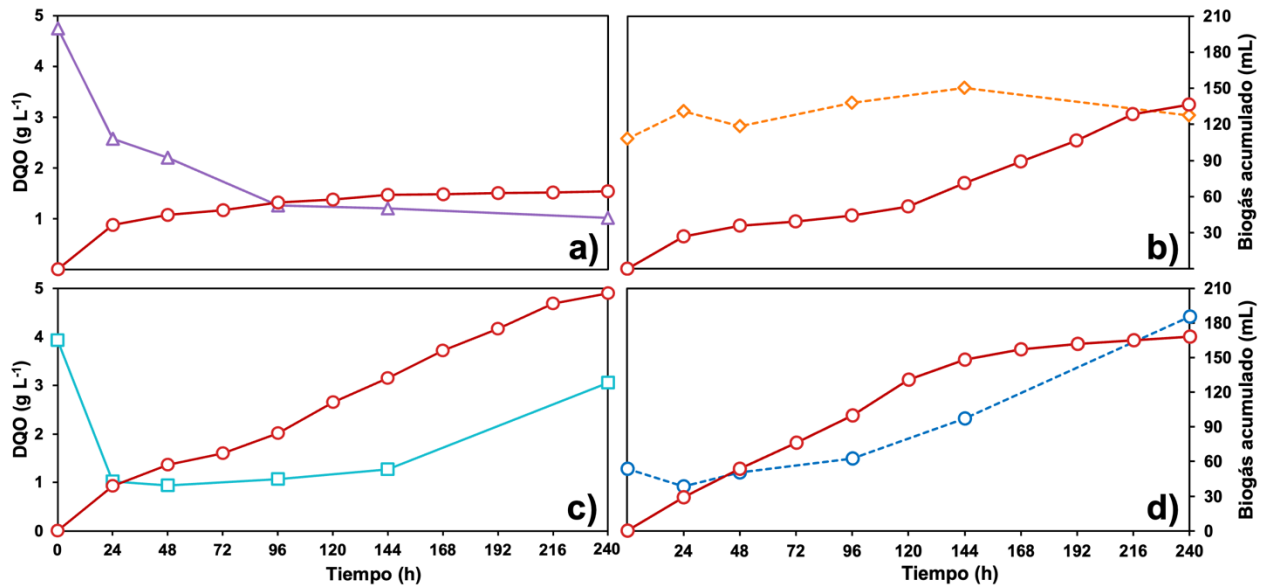


Figura 3.13 Comparación de producción de biogás acumulado respecto al consumo de materia orgánica de las aguas residuales compuestas diferentes mezclas de sustratos. Evaluación de la producción de biogás acumulado (○) empleando aguas residuales compuestas de a) Fracción Líquida de jitomate (△), b) Fracción Líquida de jitomate + Tween 20 + LAGs (◇), c) Fracción Líquida de jitomate + LAGs (□) y d) Fracción Líquida de jitomate + BS + LAGs (○)

En todos los sistemas se emplearon condiciones controladas de temperatura (35 ± 1 °C), presión atmosférica (1.001 atm, obtenida del Servicio Meteorológico Nacional) y agitación manual cada 24 h, utilizando 0.5 gSV de inóculo y 3 gDQO_T como concentración inicial. El tiempo de duración de las pruebas se estableció en 10 días (240 h), considerando tanto los resultados del ensayo anterior (3.4.3), como con el TRH promedio reportado en plantas de tratamiento de aguas residuales, el cual puede variar entre 8 y 15 días. Este periodo es fundamental para garantizar un tiempo suficiente que permita la completa degradación de la materia orgánica y la estabilización del proceso anaerobio, favoreciendo una evaluación adecuada de la eficiencia del sistema bajo condiciones operativas reales (Angelidaki *et al.*, 2022; Lórant *et al.*, 2022; Appels *et al.*, 2008).

La producción de biogás se determinó diariamente mediante desplazamiento volumétrico, y la composición del biogás se estimó mediante desplazamiento volumétrico con NaOH 4 N. La cuantificación de la degradación del sustrato en las aguas residuales compuestas

se empleó la DQO_s como parámetro sensible, observándose una diferencia poco significativa entre la DQO total y la fracción soluble en el caso de la fracción líquida de jitomate.

La Figura 3.13a muestra que el sistema control (SG) presentó una rápida degradación de DQOS durante las primeras 48 h, seguida por una fase estable con valores finales de DQOS cercanos a 1 g L⁻¹. La producción acumulada de biogás alcanzó 64.44 mL, con un contenido de metano del 55-60% en promedio. La relación inversa entre la producción acumulada de biogás y el consumo de DQO_s valida la alta biodegradabilidad de la fracción líquida de jitomate empleada como sustrato, caracterizada por un contenido elevado de carbohidratos solubles y un bajo contenido de sólidos de difícil degradación.

En la Figura 3.13b, la mezcla 2.5G mostró una mejora significativa en la producción acumulada de biogás (205.69 mL), con un metano acumulado de 104.98 mL, lo que representa más del doble que en el sistema control. La DQO_s inicialmente disminuyó hasta 0.94 g L⁻¹ en las primeras 24 h, mostrando un seguido aumento progresivo, alcanzando 3.05 g L⁻¹ al final de la prueba. Este comportamiento sugiere una liberación retardada de compuestos orgánicos solubles como resultado de la hidrólisis de grasas, proceso favorecido por la acción de enzimas lipolíticas. La acumulación de AGCLs producto de la hidrólisis de los LAGs puede explicar la posible aparición de un efecto inhibitorio en la fase final, como se ha reportado previamente en diversos estudios de co-digestiones con residuos grasos (Gonzales *et al.*, 2022; Sun *et al.*, 2022).

En la Figura 3.13c se presentan los resultados de la mezcla 2.5G+SQ, donde se observa un incremento abrupto de la DQO_s desde el inicio (15.41 g L⁻¹) hasta 18.24 g L⁻¹, producto de la emulsificación de los LAGs facilitada por el Tween 20. Esta emulsificación provocó fluctuaciones significativas en las concentraciones de DQO_s, dificultando el muestreo y medición de la degradación del sustrato. La producción de biogás fue inferior en un 20% respecto al microcosmos con LAGs sin aditivos, mostrando un comportamiento similar al control durante las primeras 96 h, seguido por una reducción sostenida. El incremento en la DQO_s y la disminución del pH hasta valores cercanos a 6.4 sugieren una inhibición temprana por acumulación de AGCLs o alteraciones en la membrana celular de los

microorganismos, como se ha descrito para surfactantes sintéticos en digestores anaerobios (Li *et al.*, 2024 y Sun *et al.*, 2019).

La mezcla 2.5G+BS (Figura 3.13d) mostro un efecto similar respecto a la mezcla 2.5G+SQ, con un incremento inicial (7.65 g L^{-1}) y gradual de DQO_s, alcanzando 26.51 g L^{-1} al final del ensayo, aunque con una tendencia menos abrupta. La elevación de la DQO_s en 2.5G+SQ y, en menor medida, en 2.5G+BS es coherente con la acción de surfactantes no iónicos que aumentan la fracción soluble de componentes hidrofóbicos (por ejemplo, Tween 20), lo cual incrementa DQO_s y por lo tanto liberar LCFAs y otros intermediarios a una velocidad que supera la capacidad de β -oxidación y metanogénesis (Ai *et al.*, 2024; Li *et al.*, 2024). Revisiones sobre biosurfactantes indican que los lipopeptídicos tienden a modular la emulsificación de manera menos disruptiva, pudiendo mejorar la biodisponibilidad sin provocar liberaciones súbitas tan fuertes como las de algunos surfactantes químicos, lo que puede explicar por qué 2.5G+BS presentó una mejor evolución temprana del metano a pesar de aumentar la DQO_s. Por tanto, la fase soluble debe interpretarse conjuntamente con indicadores de inestabilidad (AGVs, pH) para valorar si la solubilización es beneficiosa o peligrosa para el rendimiento global (Eras-Muñoz *et al.*, 2022).

La producción de biogás fue superior durante las primeras 120 h en comparación con las demás mezclas (Figura 3.14), alcanzando un acumulado de 168.29 mL, con un contenido de metano superior al 60% en las primeras 96 h. Sin embargo, a partir de las 144 h se observó una disminución progresiva en la producción diaria de biogás, posiblemente por acumulación de AGCLs. Estos resultados concuerdan con lo reportado por Wang *et al.*, 2021, quienes destacan que los biosurfactantes pueden mejorar la disponibilidad del sustrato lipídico, pero requieren un equilibrio adecuado para evitar inhibición por sustrato.

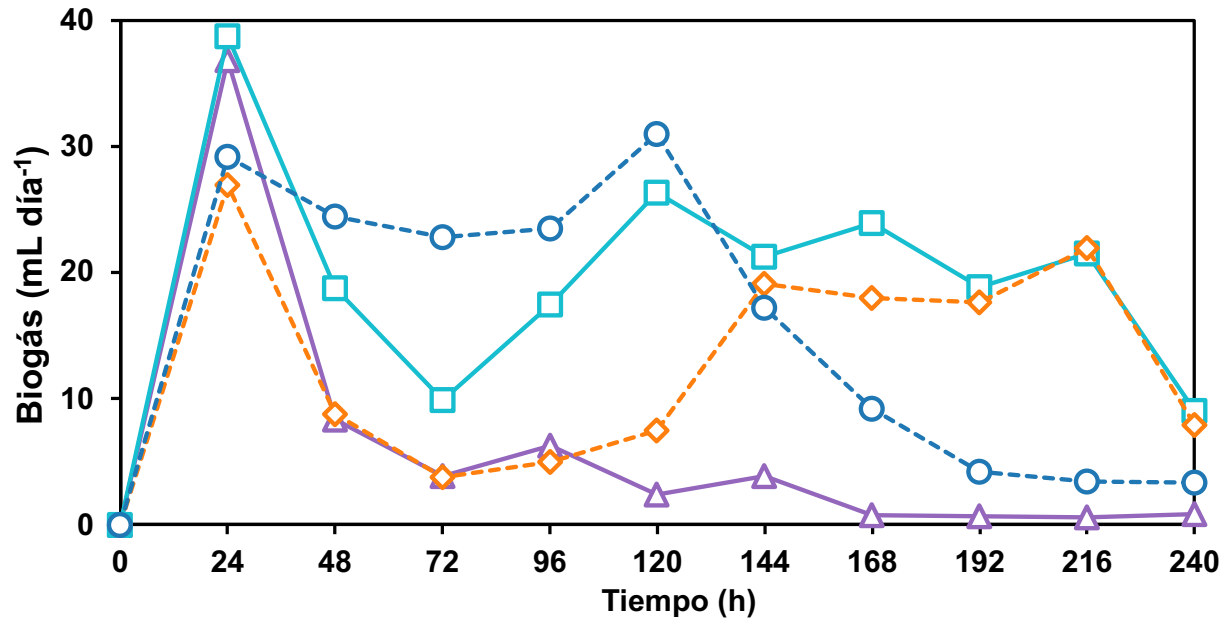


Figura 3.14 Comparación de la tasa de producción de biogás empleando aguas residuales compuestas diferentes mezclas de sustratos. Fracción Líquida de jitomate (Δ), Fracción Líquida de jitomate + LAGs (□), Fracción Líquida de jitomate + Tween 20 + LAGs (◇) y Fracción Líquida de jitomate + BS + LAGs (○)

La Figura 3.15 presenta la evolución del biogás acumulado para todas las aguas residuales compuestas. Se observó que el sistema 2.5G presentó la mayor producción de biogás, seguida por la condición 2.5G+BS. Ambas condiciones mostraron una generación de biogás significativamente superior respecto al microcosmos control, lo cual puede relacionarse con el alto potencial energético de los lípidos pudiendo aportar hasta 1.5 veces más energía que los carbohidratos o proteínas, por lo cual su inclusión favorece una mayor producción de biogás (Holahan *et al.*, 2022 y Diamantis *et al.*, 2021). La menor producción observada en el control puede relacionarse a la ausencia de lípidos, debido a una menor densidad energética del sustrato base

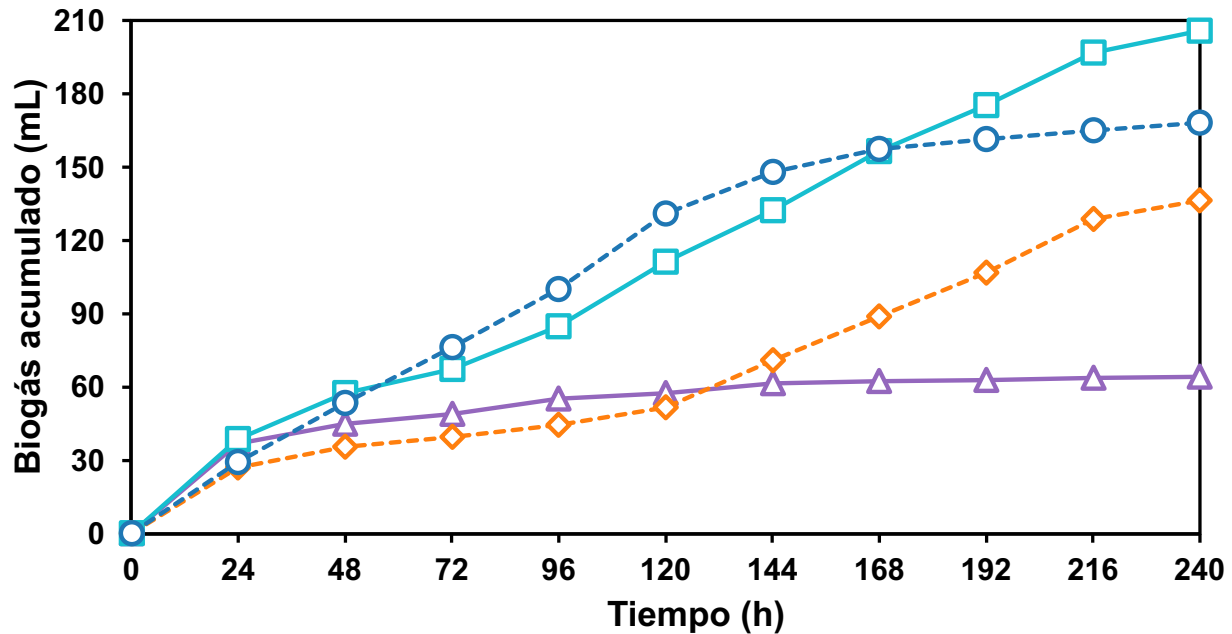


Figura 3.15 Comparación de la producción acumulada de biogás empleando aguas residuales compuestas diferentes mezclas de sustratos. Fracción Líquida de jitomate (Δ), Fracción Líquida de jitomate + LAGs (□), Fracción Líquida de jitomate + Tween 20 + LAGs (◇) y Fracción Líquida de jitomate + BS + LAGs (○)

Sin embargo, a pesar de que la condición 2.5G presentó el mayor volumen acumulado, la composición de metano en el biogás fue superior en la condición 2.5G+BS, especialmente durante la etapa inicial del proceso (Figura 3.16). Esta observación sugiere que la adición del biosurfactante favoreció una conversión más eficiente de los productos intermedios hacia metano, posiblemente debido a una mejor disponibilidad de los AGCLs para los microorganismos metanogénicos.

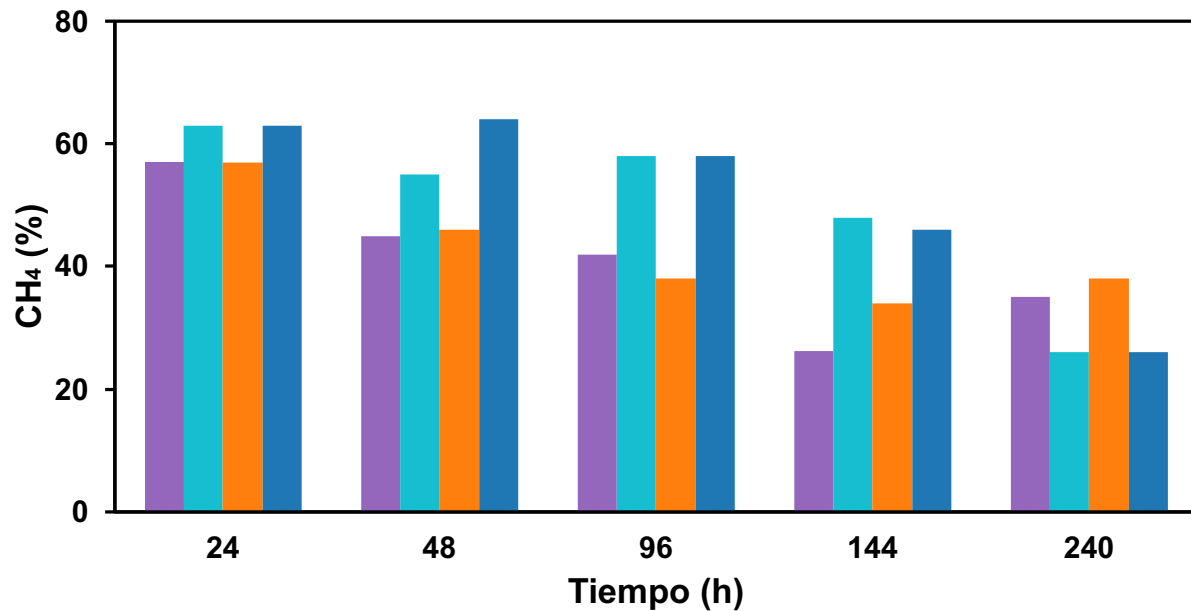


Figura 3.16 Comparación de la composición de metano en el biogás producido empleando aguas residuales compuestas de diferentes mezclas de sustratos. Fracción Líquida de jitomate (Δ), Fracción Líquida de jitomate + LAGs (□), Fracción Líquida de jitomate + Tween 20 + LAGs (◇) y Fracción Líquida de jitomate + BS + LAGs (○)

Diversos estudios han demostrado que la incorporación de biosurfactantes puede mejorar la calidad del biogás al facilitar la desestabilización de agregados lipídicos y aumentar la accesibilidad de los microorganismos a los compuestos hidrofóbicos. (Wang *et al.*, 2021) reportaron un incremento en la fracción de metano del biogás en sistemas con adición de biosurfactantes, debido a la mejora en la biodisponibilidad de ácidos grasos y a una intensificación de la actividad de metanógenos acetoclásticos. De forma similar, Oiza *et al.*, (2023) observaron que la mejora en la relación CH_4/CO_2 al inicio del proceso puede estar relacionada con un efecto estimulante del biosurfactante sobre la actividad microbiana, siempre que no se excedan concentraciones que provoquen inhibición.

No obstante, si bien la condición 2.5G+BS presentó una mejor calidad de biogás en las primeras etapas, también se evidenció un efecto inhibitorio en fases posteriores, asociado probablemente a la acumulación de AGCLs y/o a una caída en el pH, como se discutió anteriormente. La acumulación de estos compuestos en sistemas anaerobios puede generar toxicidad hacia los metanógenos, principalmente por la disrupción de membranas celulares y la interferencia en los procesos de transferencia de electrones (Usman *et al.*,

2020; Sousa *et al.*, 2009). Por tanto, aunque el uso de biosurfactantes puede mejorar la eficiencia del proceso, su concentración y momento de adición deben ser controlados para evitar efectos inhibitorios por el aumento en la biodisponibilidad del sustrato.

La evolución del pH durante el experimento se muestra en la figura 3.17. Las pruebas con surfactantes presentaron un descenso más pronunciado, alcanzando valores mínimos de 6.34 en 2.5G+BS, lo que sugiere acumulación de AGVs y posible inhibición metanogénica. En algunos estudios se han reportado que la acumulación de AGVs, especialmente en presencia de lípidos y surfactantes, puede causar desequilibrios en el sistema anaerobio. Oiza *et al.*, (2023) documentaron que el uso de biosurfactantes puede intensificar la solubilización de la materia orgánica, acelerando la producción de AGVs, pero también provocando una caída temporal del pH, especialmente en condiciones de carga orgánica elevada.

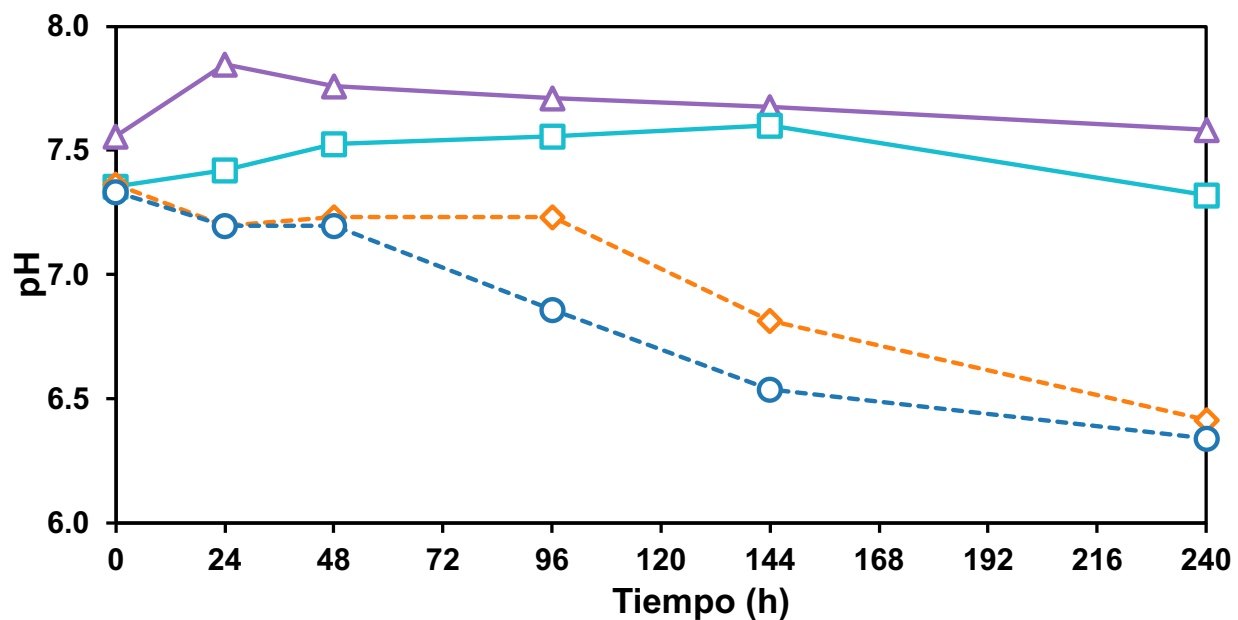


Figura 3.17 Evolución del pH durante la digestión anaerobia empleando aguas residuales compuestas de diferentes mezclas de sustrato. Fracción Líquida de jitomate (Δ), Fracción Líquida de jitomate + LAGs (◻), Fracción Líquida de jitomate + Tween 20 + LAGs (◊) y Fracción Líquida de jitomate + BS + LAGs (○)

La evolución de los SV durante el experimento se muestra en la Figura 3.18. En todas las condiciones experimentales se observó un comportamiento bifásico caracterizado por un descenso inicial durante las primeras 144 horas, seguido por un incremento

progresivo, más evidente en las condiciones 2.5G+BS y 2.5G+SQ. Esta tendencia sugiere que durante la fase inicial predominó la hidrólisis y acidogénesis de la materia orgánica, con una consecuente disminución de los SV asociados al sustrato particulado. Posteriormente, el aumento observado podría atribuirse a la proliferación microbiana inducida por el aprovechamiento de compuestos solubilizados, particularmente lípidos, como fuente de carbono y energía.

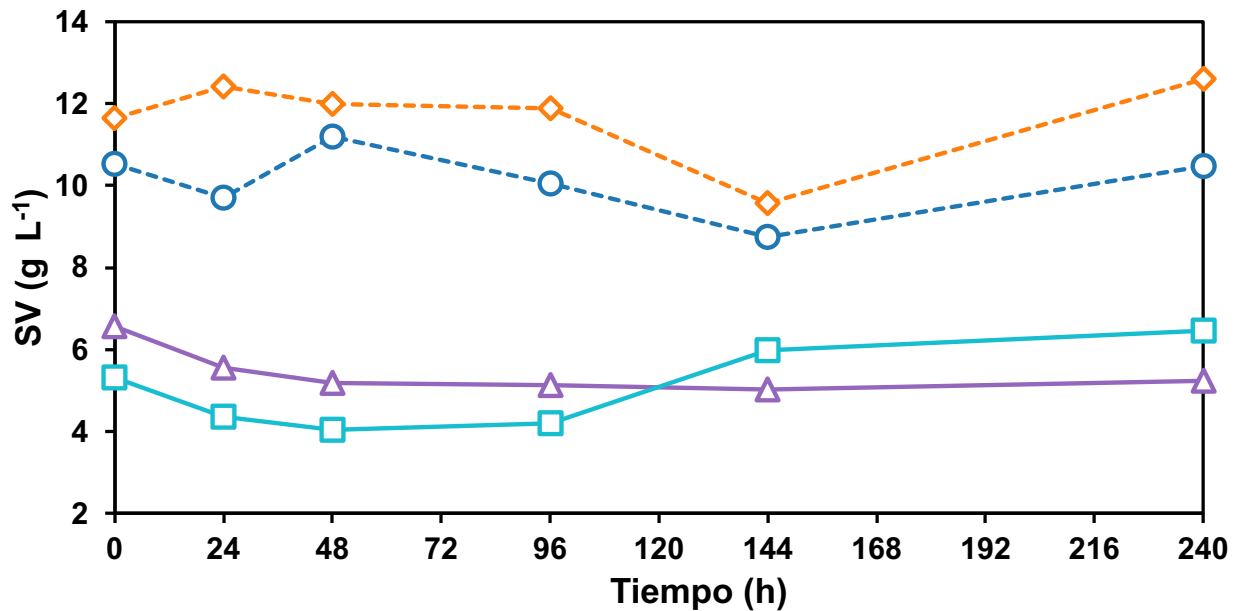


Figura 3.18 Evolución de la concentración de Sólidos Volátiles durante la digestión anaerobia de las aguas residuales compuestas de diferentes mezclas de sustratos. Fracción Líquida de jitomate (Δ), Fracción Líquida de jitomate + LAGs (□), Fracción Líquida de jitomate + Tween 20 + LAGs (◇) y Fracción Líquida de jitomate + BS + LAGs (○)

El aumento de la concentración de los SV en las condiciones con biosurfactante y surfactante sintético puede interpretarse como un indicador indirecto del crecimiento microbiano, posiblemente estimulado por una mayor disponibilidad de AGCLs emulsionados y accesibles a la microbiota. Oiza *et al.* (2023), reportaron que el uso de biosurfactantes no solo facilita la solubilización de lípidos, sino que también promueve una mayor tasa de colonización microbiana al generar microambientes más favorables para el desarrollo de comunidades hidrolíticas y acidogénicas. Así mismo, estudios como el de Wang *et al.* (2021), indican que un aumento en los SV posterior a una fase de degradación puede estar vinculado con la acumulación de biomasa activa, especialmente

en condiciones donde los microorganismos tienen acceso a sustratos de alta densidad energética, como los lípidos. En este sentido, el aumento de SV observado en 2.5G+BS y 2.5G+SQ podría ser indicativo de una eficiente asimilación de compuestos lipídicos y posterior síntesis de biomasa microbiana, reflejando una transición efectiva entre la acidogénesis y la metanogénesis temprana.

Sin embargo, es importante considerar que no todo el incremento de SV puede ser atribuido exclusivamente a biomasa activa. Algunos autores han señalado que la acumulación de AGCLs no completamente degradados, así como la formación de compuestos intermedios de difícil digestión, también pueden contribuir a una aparente elevación de los sólidos volátiles totales (Szabo-Corbacho *et al.*, 2024; Dasa *et al.*, 2016). No obstante, al correlacionar este comportamiento con la evolución del pH previamente discutida y los perfiles de producción de biogás, se refuerza la hipótesis de que el incremento en SV está más estrechamente asociado al crecimiento microbiano que a la acumulación de compuestos inertes.

La comparación de la producción específica de biogás y metano (Tabla 3.6) muestra que la condición 2.5G presentó los valores más altos (2031.67 y 1036.92 mL gSV⁻¹ para biogás y metano, respectivamente), seguida por 2.5G+BS. Estas cifras reflejan el potencial energético de los residuos grasos, pero también subrayan la necesidad de controlar la dosis de surfactantes para evitar efectos adversos.

Tabla 3.6 Comparación del biogás y metano acumulados específicos durante digestión anaerobia de las aguas residuales compuestas de diferentes tipos de sustratos.

Sistema	Biogás acumulado específico (mL gSV ⁻¹)	Metano acumulado específico (mL gSV ⁻¹)
S/G	636.49 ± 18.45	316.77 ± 14.52
2.5G	2031.67 ± 8.74	1036.92 ± 71.12
2.5G+SQ	1098.81 ± 7.52	578.44 ± 18.24
2.5G+BS	1355.53 ± 0.79	869.93 ± 10.45

En conjunto, los resultados validan el uso de LAGs como co-sustrato en la digestión anaerobia para incrementar la producción de biogás. Sin embargo, la incorporación de surfactantes, especialmente sintéticos, requiere de evaluaciones cuidadosas para evitar efectos inhibitorios. El uso de biosurfactantes representa una alternativa prometedora, aunque su aplicación debe ser optimizada para maximizar beneficios sin inducir toxicidad o sobrecarga orgánica.

En la Figura 3.19 se muestra una secuencia de imágenes de la evolución de los microcosmos con las aguas residuales compuestas mediante fotografías tomadas bajo las mismas condiciones y en un igual tiempo de reposo. Destacan las mezclas 2.5G+SQ y 2.5G+BS, donde se observa el proceso de emulsificación (flecha roja) de los LAGs al mezclarse con el lodo anaerobio. Este fenómeno es más pronunciado en la prueba 2.5G+BS, donde se aprecia una mayor homogeneización de la mezcla, lo que visualmente confirma el proceso de inhibición asociado a la mayor disponibilidad de sustrato. En la prueba 2.5G, la emulsificación se presenta en menor medida y únicamente hacia el final de la cinética, coincidiendo con el efecto inhibitorio reflejado en la reducción de la producción de biogás.

Sistema microcosmo	Tiempo (h)		
	0	144	240
SG			
2.5G			
2.5G+SQ			
2.5G+BS			

Figura 3.19 Galería fotográfica de los diferentes sistemas de digestión anaerobia durante el tratamiento de aguas residuales compuestas con diferentes mezclas a lo largo del tiempo.

3.3.3.1 Evolución de la producción y consumo de Ácidos Grasos Volátiles en los microcosmos

De acuerdo con lo descrito en el apartado anterior, la Figura 3.20 muestra la evolución temporal de los principales AGVs en las cuatro condiciones experimentales. Se monitorearon ácido acético (AcOH), ácido butírico (BuOH) y ácido propiónico (ProOH), los cuales son metabolitos clave generados/producidos durante el proceso de la digestión anaerobia y reflejan la actividad de las comunidades acidogénicas y acetogénicas.

En la Figura 3.20a, se observa que las mezclas 2.5G+SQ y 2.5G+BS presentaron acumulaciones sostenidas y significativamente superiores de acetato, alcanzando concentraciones finales de 1091.62 mg L⁻¹ y 1155.81 mg L⁻¹, respectivamente. En contraste, el control (SG) y el sistema 2.5G mantuvieron niveles considerablemente menores (35.00 mg L⁻¹ y 26.00 mg L⁻¹, respectivamente). Este fenómeno sugiere una mayor hidrólisis y acidogénesis en presencia de surfactantes, promoviendo la liberación y transformación de compuestos grasos. Sin embargo, la elevada concentración de acetato (>800 mg L⁻¹), junto con los descensos de pH observados (hasta 6.34 en 2.5G+BS), es indicativa de una posible inhibición parcial de la metanogénesis, coincidiendo con lo reportado por Harirchi et al. (2022), Zhao et al. (2022), y Zhao et al. (2021), quienes señalaron que concentraciones elevadas de AcOH (>800 mg L⁻¹) pueden alterar el equilibrio microbiológico y disminuir la producción de metano. La rápida solubilización de lípidos inducida por los surfactantes puede saturar las vías metabólicas posteriores. Aunque la hidrólisis se ve favorecida, si la tasa de metanogénesis no es suficientemente alta para consumir el acetato producido, su acumulación es inevitable, llevando a la inhibición del proceso (Tian *et al.*, 2024).

En la Figura 3.20b se observa un patrón similar para el butirato. En 2.5G+SQ y 2.5G+BS se alcanzaron máximos de 1053.71 mg L⁻¹ y 617.74 mg L⁻¹, respectivamente, mientras que en 2.5G y SG se mantuvo por debajo de 54 mg L⁻¹ en todo el experimento. Esta acumulación tardía (a partir de las 144 h) sugiere una transición incompleta entre las etapas acidogénica y acetogénica, especialmente en presencia de surfactantes, donde la mayor biodisponibilidad de lípidos puede saturar la capacidad metabólica de las

bacterias metanogénicas, como se ha documentado en estudios de co-digestión grasalodo (Oiza *et al.*, 2024).

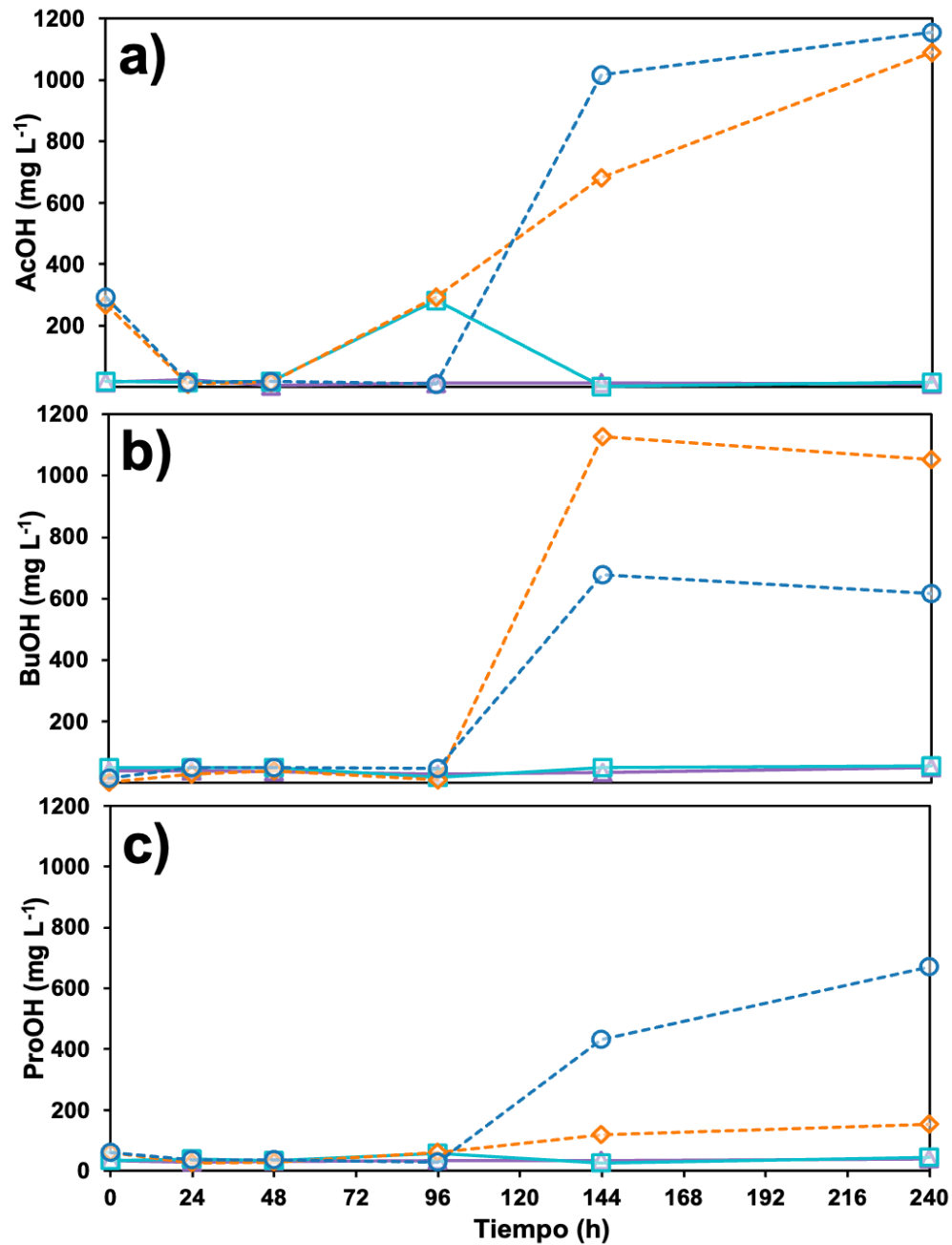


Figura 3.20 Evolución la concentración de Ácidos Grasos Volátiles durante la digestión anaerobia de las aguas residuales compuestas de diferentes tipos de sustratos. a) Perfiles de ácido acético, b) Perfiles de ácido butírico y c) Perfiles de ácido propiónico. Las aguas residuales están compuestas por Fracción Líquida de jitomate (Δ), Fracción Líquida de jitomate + LAGs ($\square$), Fracción Líquida de jitomate + Tween 20 + LAGs ($\diamond$) y Fracción Líquida de jitomate + BS + LAGs ($\circ$)

El perfil de propionato (Figura 3.20c) también confirma este comportamiento: las mezclas 2.5G+SQ y 2.5G+BS presentaron acumulaciones progresivas de ProOH, con valores máximos de 151.88 mg L⁻¹ y 669.12 mg L⁻¹, respectivamente. Cabe destacar que el propionato es considerado uno de los intermediarios más inhibitorios en digestión anaerobia, ya que su acumulación puede desacoplar la transferencia de electrones y disminuir la actividad metanogénica acetoclástica (Mu *et al.*, 2023; Giduthuri y Ahring, 2022). La degradación del propionato a acetato es un paso termodinámicamente sensible y a menudo limitante en la digestión anaerobia. Su acumulación es un fuerte indicador de que el sistema está bajo estrés metabólico, ya sea por sobrecarga orgánica o por la presencia de compuestos tóxicos, y a menudo precede a la falla del reactor (Lukitawesa *et al.*, 2020). En este sentido, la condición 2.5G+BS, pese a alcanzar una alta calidad inicial de biogás, mostró signos de inhibición relacionados con la acumulación excesiva de AGVs. Los picos de AcOH y BuOH detectados en los tratamientos con surfactantes concuerdan con la hipótesis de liberación rápida de sustratos lipídicos seguido por una saturación temporal de rutas metabólicas (Zhao *et al.*, 2024; Li *et al.*, 2024). Szabó-Corbacho *et al.* (2024) y Zhao *et al.* (2024) mencionan la existencia de umbrales en la concentración de AGVs a partir de los cuales se puede observar la inhibición de la metanogénesis, acumulaciones de acetato superiores a 800 mg L⁻¹ han sido asociadas con caída de pH y caída de producción de biogás en inóculos no está adaptados.

La mezcla sin surfactante (2.5G) mostró un comportamiento más equilibrado, con menor acumulación de AGVs y un pH más estable. Esto podría deberse a una liberación más controlada de sustrato graso y a una menor presión sobre la comunidad microbiana, lo que favorece un mejor acoplamiento entre las etapas acidogénica, acetogénica y metanogénica (Khar y Khoiroh, 2024).

Los resultados sugieren que la adición de surfactantes como Tween 20 y biosurfactantes puede potenciar la solubilización de lípidos y por lo tanto aumentar la disponibilidad de sustrato, sin embargo, esta misma condición también puede incrementar el riesgo de acumulación de intermedios ácidos. Este comportamiento coincide con lo reportado por Eftaxias *et al.* (2021) y Sikora *et al.* (2020), quienes señalaron que la emulsificación

excesiva en sistemas anaerobios puede acelerar la acidificación y desencadenar desequilibrios funcionales si no se acompaña de una adecuada capacidad metanogénica.

3.3.4 Efecto de la concentración de LAGs y uso de biosurfactantes en el proceso de digestión anaerobia en microcosmos

Con la finalidad de evaluar si una menor carga lipídica podría mitigar los efectos inhibitorios observados en los sistemas con mayor concentración de grasa, se desarrollaron ensayos con adición del 1 % v/v de grasa, manteniendo la proporción grasa/surfactante 5:1 en los sistemas con estas sustancias. Se compararon con un nuevo control sin grasa (SG). En la Figura 3.21 se presentan las tasas de producción de biogás y en la Figura 3.22 las curvas de producción acumulada, mientras que en la Figura 3.23 se muestra la composición estimada de metano. Los resultados de producción final, así como los valores de cambio en la DQO_S, SV y pH al inicio y fin del experimento, se resumen en la Tabla 3.7.

El sistema 1G alcanzó una producción acumulada de 174.55 ± 3.44 mL de biogás con una tasa de producción mayor, además una concentración de metano acumulado de 100.23 ± 1.65 mL, siendo sustancialmente superior al control (SG), que produjo 75.01 ± 1.08 mL y 34.88 ± 2.29 mL, respectivamente. Además, el sistema 1G presentó una reducción de DQO_S del 32.65%, siendo menor a la del sistema SG (82.44 %), aunque esta diferencia puede deberse a que la liberación prolongada de los AGCLs pudo haber aumentado la DQO_S, como se observó en el experimento anterior al final del periodo de cinética. El pH final en 1G fue 6.91, dentro del rango aceptable para la metanogénesis.

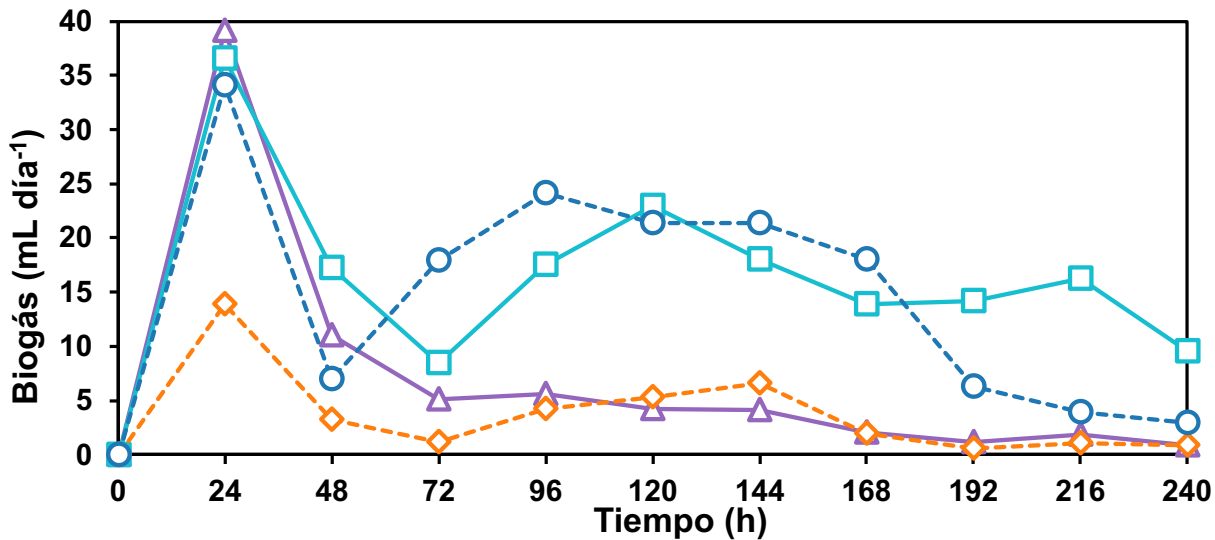


Figura 3.21 Comparación de la tasa de producción de biogás empleando aguas residuales compuestas diferentes mezclas de sustratos y 1% LAGs. Fracción Líquida de jitomate (Δ), Fracción Líquida de jitomate + LAGs (□), Fracción Líquida de jitomate + Tween 20 + LAGs (◇) y Fracción Líquida de jitomate + BS + LAGs (○)

El sistema 1G+BS generó 158.91 ± 1.57 mL de biogás y 90.79 ± 2.71 mL de metano. El aumento en la DQO_S aumentó de 5.49 a 8.50 g L⁻¹ indica la misma tendencia que en el ensayo anterior, presentando una mayor solubilización de compuestos orgánicos por efecto del biosurfactante, esta acumulación no limitó la producción de biogás aumentando la tasa de producción de biogás posterior a las 48 h, lo cual podría indicar un periodo de adaptación por la mayor disponibilidad de sustrato. El pH final fue de 6.69, sin cambios que comprometieran la estabilidad del proceso. Esto sugiere que el biosurfactante permitió una mayor disponibilidad de sustrato biodegradable, lo que coincide con otros estudios que reportan una mejora en la accesibilidad de lípidos sin afectar negativamente la actividad metanogénica, aunque conserva el efecto inhibitorio provocado posiblemente por la abundancia sustrato (Sun *et al.*, 2022; Sun *et al.*, 2019).

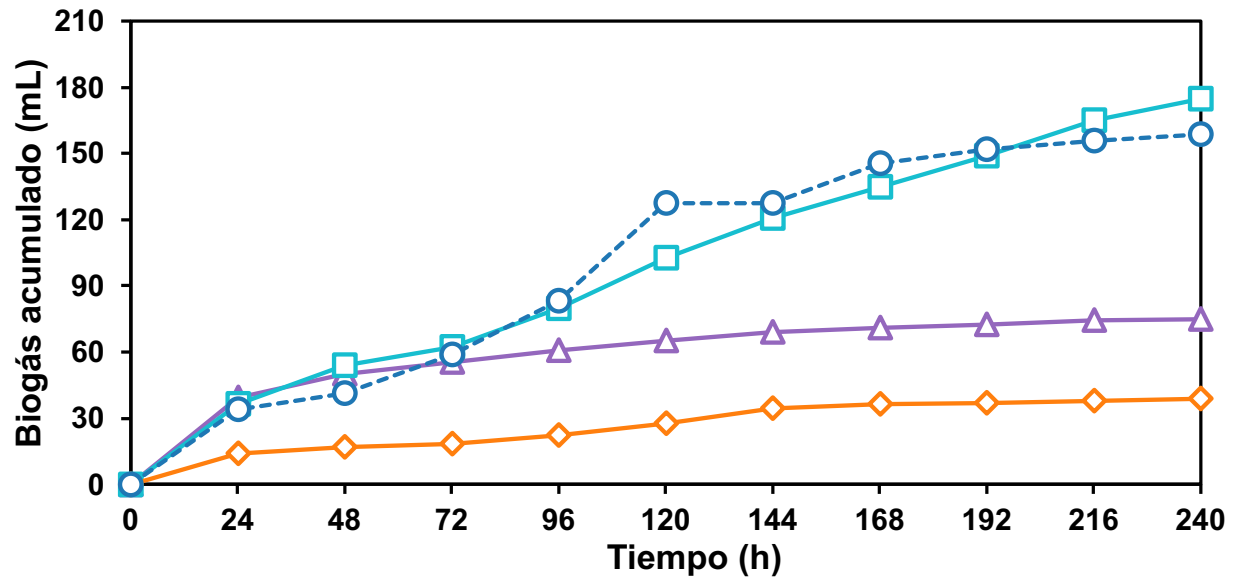


Figura 3.22 Comparación de la producción acumulada de biogás empleando aguas residuales compuestas diferentes mezclas de sustratos y 1% LAGs. Fracción Líquida de jitomate (Δ), Fracción Líquida de jitomate + LAGs (□), Fracción Líquida de jitomate + Tween 20 + LAGs (◇) y Fracción Líquida de jitomate + BS + LAGs (○)

En contraste, el sistema con 1G+SQ presentó el menor rendimiento, con 38.79 ± 0.79 mL de biogás y 21.28 ± 0.18 mL de metano. Además, mostró un incremento de DQOs del 47.04 %, acompañado de un descenso del pH a 6.54, lo que evidencia un ambiente acidificado y una acumulación significativa de materia orgánica no transformada. Estos resultados indican que el uso de surfactantes puede inducir toxicidad sobre las comunidades microbianas al aumentar de inmediata la disponibilidad de sustrato lipídico, afectando la etapa metanogénica, como se ha documentado en trabajos previos (Wang *et al.*, 2021)

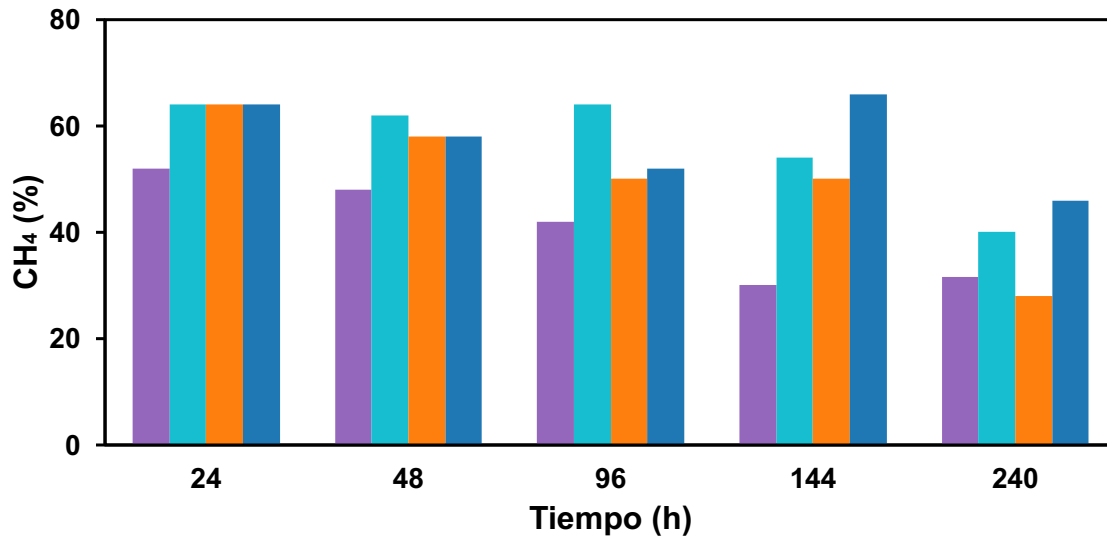


Figura 3.23 Comparación de la composición de metano en el biogás producido empleando aguas residuales compuestas de diferentes mezclas de sustratos y 1% LAGs. Fracción Líquida de jitomate (Δ), Fracción Líquida de jitomate + LAGs (◻), Fracción Líquida de jitomate + Tween 20 + LAGs (◊) y Fracción Líquida de jitomate + BS + LAGs (○)

El sistema control sin grasa (SG) mostró la mayor remoción de DQO_s (82.44 %) y un incremento de SV del 12.54 %, reflejando un proceso eficiente de degradación orgánica. No obstante, su bajo rendimiento en producción de metano pone en evidencia que, aunque se elimina materia orgánica, no se convierte necesariamente en energía útil (biogás), debido a la baja densidad energética del sustrato.

Tabla 3.7 Comparación de los parámetros fisicoquímicos y producción de biogás y metano acumulados en la digestión anaerobia de aguas residuales compuestas por diferentes tipos de sustratos y 1 % LAGs.

Sistema	Cambio DQO (%)	Cambio SV (%)	pH		Biogás Acc. (mL)	CH4 Acc. (mL)
			TI	TF		
S/G	82.44	-12.54*	7.22 ± 0.05	7.19 ± 0.07	75.01 ± 1.08	34.88 ± 2.29
2.5G	32.65	-7.06*	7.25 ± 0.07	6.91 ± 0.11	174.55 ± 3.44	100.23 ± 1.65
2.5G+SQ	-47.04*	-3.91*	7.12 ± 0.13	6.54 ± 0.05	38.79 ± 0.79	21.28 ± 0.18
2.5G+BS	-54.90	-10.48*	7.11 ± 0.10	6.69 ± 0.11	158.91 ± 1.57	90.79 ± 2.71

*Los valores negativos se detectaron como acumulación de materia orgánica.

Finalmente, al analizar los rendimientos específicos (Tabla 3.8), el sistema 2.5G mostró el mayor valor de biogás acumulado específico con $1405.92 \text{ mL gSV}^{-1}$, y un rendimiento de metano específico del mismo valor ($1405.92 \text{ mL gSV}^{-1}$), confirmando que la inclusión de un 2.5 % de grasa mejoró significativamente la eficiencia energética del proceso respecto al control (SG, con $604.14 \text{ mL gSV}^{-1}$ para biogás y $316.75 \text{ mL gSV}^{-1}$ para metano). En el caso del sistema 2.5G+BS, se obtuvieron $1279.94 \text{ mL gSV}^{-1}$ de biogás y $896.71 \text{ mL gSV}^{-1}$ de metano, lo que representa una alternativa altamente eficiente, ligeramente inferior a 2.5G en cuanto a volumen de biogás, pero con un mejor perfil de estabilidad del proceso.

Tabla 3.8 Comparación del biogás y metano acumulados específicos durante digestión anaerobia de las aguas residuales compuestas de diferentes tipos de sustratos y 1% LAGs.

Sistema	Biogás acumulado específico (mL gSV^{-1})	Metano acumulado específico (mL gSV^{-1})
0	604.14 ± 8.71	316.75 ± 14.50
SG	1405.92 ± 27.71	990.01 ± 16.27
1G	312.43 ± 6.33	210.16 ± 1.74
1G+SQ	1279.94 ± 12.67	896.71 ± 26.72

Por otro lado, el sistema 1G+SQ resultó considerablemente menos eficiente, con valores de $312.43 \text{ mL gSV}^{-1}$ de biogás y apenas $210.16 \text{ mL gSV}^{-1}$ de metano, reafirmando su efecto adverso sobre la eficiencia de conversión energética. Estos resultados refuerzan que una adecuada proporción grasa/surfactante y la elección del tipo de surfactante son factores clave para evitar la inhibición y maximizar el rendimiento en procesos de digestión anaerobia de residuos grasos.

En la Figura 3.24 muestra la evolución de las cuatro condiciones experimentales con 1 % lípidos, destacando los sistemas 1G, 1G+SQ y 1G+BS se por su mayor emulsificación entre el sustrato y el lodo, siendo esta una de las posibles causas de la inhibición de los sistemas al final de la cinética. Este fenómeno es más pronunciado en la prueba 1G+BS, donde se aprecia una mayor homogeneización de la mezcla, lo que visualmente confirma el proceso de inhibición asociado a la mayor disponibilidad de sustrato. En la prueba 1G,

la emulsificación se presenta en menor medida y únicamente hacia el final de la cinética, coincidiendo con el efecto inhibitorio reflejado en la reducción de la producción de biogás al final de la cinética.

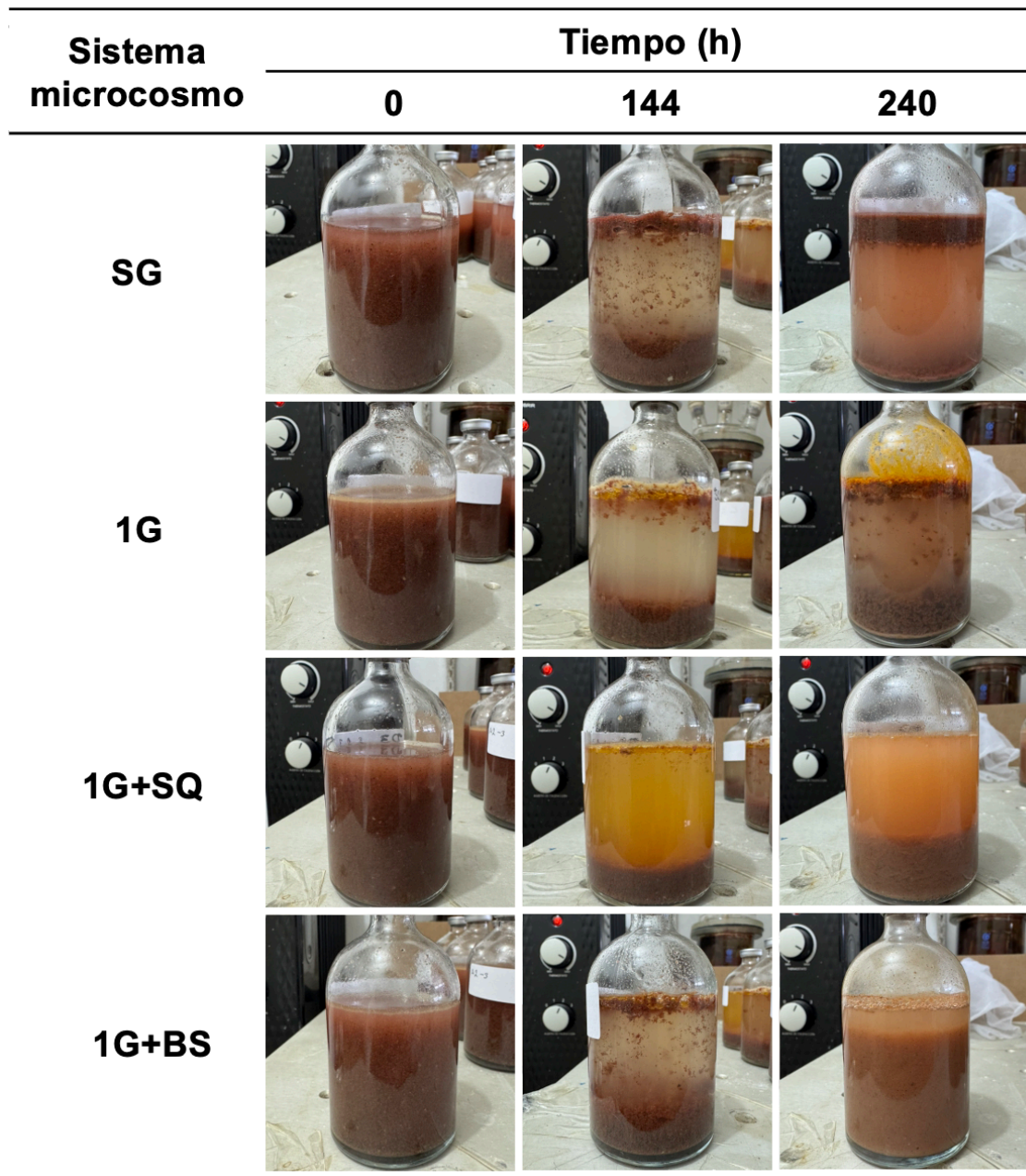


Figura 3.24 Galería fotográfica de los diferentes sistemas de digestión anaerobia durante el tratamiento de aguas residuales compuestas con diferentes mezclas y 1 % LAGs a lo largo del tiempo.

3.4 Etapa IV – Evaluación de parámetros cinéticos

3.4.1 Evaluación de los parámetros cinéticos mediante el Modelo de Gompertz modificado y Cone clásico de las aguas residuales compuestas con 2.5 % v/v de LAGs

Para analizar los parámetros cinéticos de los sistemas de digestión anaerobia en microcosmos, se empleó el modelo Gompertz modificado para ajustar la producción acumulada de biogás de los cuatro tratamientos experimentales, mientras que el modelo de Cone clásico se utilizó para obtener otros parámetros cinéticos en la búsqueda de un modelo con mejor ajuste a los datos. Los parámetros obtenidos se resumen en la Tabla 3.9, y las curvas de ajuste se ilustran en la Figura 3.25.

En el sistema control (SG), ambos modelos mostraron un ajuste superior al 92%. Gompertz modificado estimó una $B_{\max}$ de 60.25 mL y $R_{\max}$ de 28.82 mL día⁻¹, con $\lambda = 0$ días, lo que indica ausencia de fase de adaptación. Cone clásico corroboró este comportamiento con un $P_{\max}$ de 64.44 mL y una constante cinética k elevada (1.11 día⁻¹), reflejando una producción rápida y estable en un sustrato de baja complejidad ($n = 1.30$).

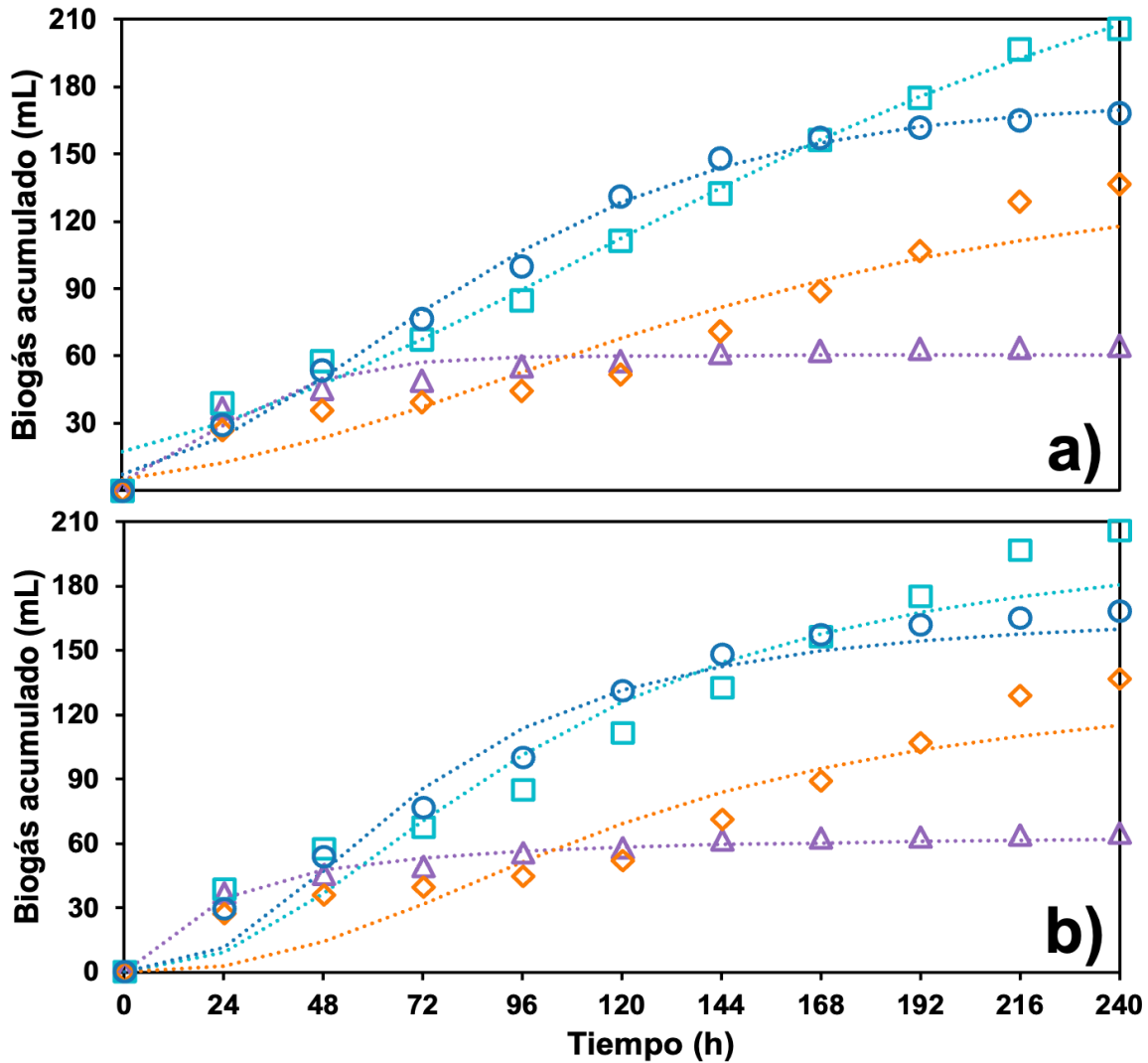


Figura 3.25 Análisis de la producción acumulada de biogás durante la digestión anaerobia de las aguas residuales compuestas por diferentes tipos de sustratos empleando el modelo cinético de a) Gompertz modificado y b) Cone clásico. Donde los datos experimentales de Fracción Líquida de jitomate (Δ), Fracción Líquida de jitomate + LAGs ($\square$), Fracción Líquida de jitomate + Tween 20 + LAGs ($\diamond$) Fracción Líquida de jitomate + BS + LAGs ($\circ$), y la modelación cinética de Fracción Líquida de jitomate ($\cdots$), Fracción Líquida de jitomate + LAGs ($\cdots$), Fracción Líquida de jitomate + Tween 20 ($\cdots$) y Fracción Líquida de jitomate + BS + LAGs ($\cdots$).

Para la mezcla 2.5G, Gompertz registró la mayor $B_{\max}$ (280 mL) y una $R_{\max}$ intermedia ($22.97 \text{ mL día}^{-1}$), con $\lambda = 0.11$ días; Cone confirmó este predominio en producción con $P_{\max}$ de 205.69 mL. No obstante, la velocidad de hidrólisis ($k = 0.25 \text{ día}^{-1}$) y un coeficiente de forma $n = 2.17$ sugieren una liberación y conversión de lípidos más gradual, coherente con la necesidad de β -oxidar AGCLs antes de la metanogénesis (Holahan *et al.*, 2022).

El sistema 2.5G+SQ evidenció el mayor efecto inhibitorio. Gompertz modificado estimó la $B_{\max}$ más baja entre los sistemas con lípidos (136.42 mL) y mostró la latencia más prolongada ($\lambda = 0.62$ días), mientras que Cone clásico reflejó un $P_{\max}$ idéntico (136.42 mL) pero la k más baja de todos los sistemas (0.20 día^{-1}) y $n = 2.38$, indicando una cinética lenta y extendida. Estos resultados concuerdan con la acumulación de AGVs y la caída de pH observadas previamente.

En contraste con el resto de mezclas, la mezcla 2.5G+BS presentó el mejor ajuste, superando el 98% en ambos modelos. Gompertz estimó $B_{\max}$ de 174.96 mL, $R_{\max}$ de $29.91 \text{ mL día}^{-1}$ y $\lambda = 0.33$ días. El modelo Cone clásico corroboró el desempeño del sistema con una $P_{\max}$ de 168.29 mL, una k de 0.34 día^{-1} y $n = 2.41$, lo que revela una producción rápida y sostenida, atribuida a la emulsificación moderada de los lípidos por el biosurfactante y la menor acumulación inmediata de inhibidores como los AGVs.

Tabla 3.9 Parámetros cinéticos obtenidos para el modelo de Gompertz modificado y Cone clásico para las aguas residuales compuestas por diferentes tipos de sustratos en los sistemas de digestión anaerobia.

Sistema	Gompertz modificado				Cone clásico			
	$B_{\max}$ (mL)	$R_{\max}$ (mL día ⁻¹)	λ (días)	R^2	$P_{\max}$ (mL)	k (día ⁻¹)	n	R^2
SG	60.25	28.82	0.00	0.938	64.44	1.11	1.30	0.985
2.5G	280.00	22.97	0.11	0.989	205.69	0.25	2.17	0.955
2.5G+SQ	136.42	15.56	0.62	0.925	136.42	0.20	2.38	0.996
2.5G+BS	174.96	29.91	0.33	0.995	168.29	0.34	2.41	0.988

En síntesis, ambos modelos coinciden en que la adición de biosurfactante (2.5G+BS) mejora la degradación de los lípidos y la estabilidad inicial frente al tratamiento solo con grasa, mientras que el surfactante químico (2.5G+SQ) ralentiza y limita la producción por probables efectos inhibitorios al aumentar de forma rápida la disponibilidad del sustrato, siendo el modelo de Cone clásico el que puede describir con más precisión este comportamiento al presentar el mayor ajuste general, superando el 95 % en todas las

mezclas. La aplicación de modelos cinéticos como Gompertz y Cone es una herramienta estándar y robusta para interpretar la dinámica de la digestión anaerobia, permitiendo cuantificar parámetros clave como la tasa máxima de producción y las fases de latencia, que son cruciales para entender el impacto de diferentes sustratos y aditivos (Weber, 2024 y Lutze, 2021). El uso combinado de los dos enfoques cinéticos refuerza que la proporción y el uso de surfactantes en una proporción adecuada puede favorecer la adaptación microbiana, minimizan la inhibición y maximizan la producción sostenida de biogás, tal como señalan Holahan *et al.* (2022) y Diamantis *et al.* (2021).

3.4.2 Modelamiento cinético mediante Gompertz modificado y Cone clásico de los sistemas con 1.0 % v/v de LAGs

El modelo de Gompertz modificado fue empleado para ajustar los datos de producción acumulada de biogás en los sistemas con 1 % v/v de LAGs, complementándose con el modelo Cone clásico para una comparación cinética más detallada. Los parámetros obtenidos se presentan en la Tabla 3.10 y las curvas de ajuste se ilustran en la Figura 3.26.

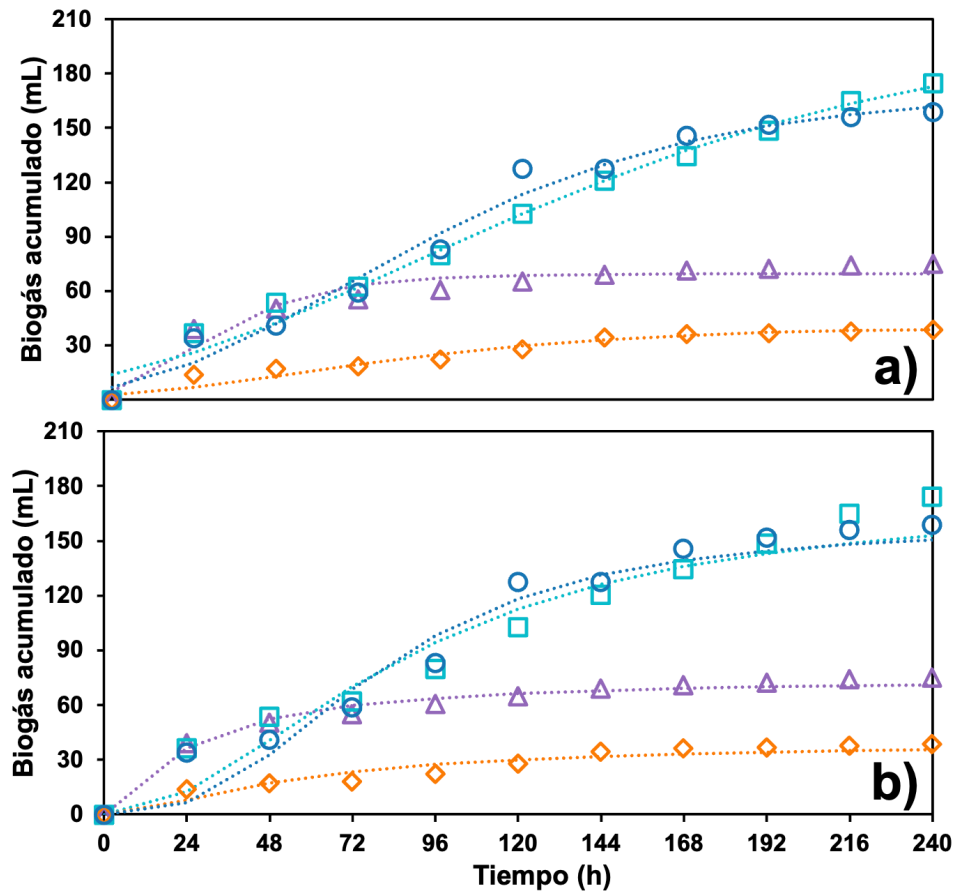


Figura 3.26 Análisis de la producción acumulada de biogás durante la digestión anaerobia de las aguas residuales compuestas por diferentes tipos de sustratos y 1 % LAGs empleando el modelo cinético de a) Gompertz modificado y b) Cone clásico. Donde los datos experimentales de Fracción Líquida de jitomate (Δ), Fracción Líquida de jitomate + LAGs ($\square$), Fracción Líquida de jitomate + Tween 20 + LAGs ($\diamond$) Fracción Líquida de jitomate + BS + LAGs ($\circ$), y la modelación cinética de Fracción Líquida de jitomate ($\cdots$), Fracción Líquida de jitomate + LAGs ($\cdots$), Fracción Líquida de jitomate + Tween 20 ($\cdots$) y Fracción Líquida de jitomate + BS + LAGs ($\cdots$).

En el sistema control (SG), Gompertz modificado arrojó una $B_{\max}$ de 69.47 mL y una $R_{\max}$ de 28.70 mL día⁻¹, sin latencia ($\lambda = 0$ días), lo que indica una respuesta inmediata de las comunidades microbianas al sustrato fácilmente degradable. El modelo Cone clásico, por su parte, mostró una $P_{\max}$ de 75.01 mL y una constante de velocidad $k = 0.94$ día⁻¹, con un exponente $n = 1.29$, indicando una dinámica de conversión rápida y eficiente.

Para el sistema 1G, se observó mediante Gompertz modificado, una producción máxima acumulada de biogás ($B_{\max}$) de 208.00 mL y una $R_{\max}$ de 20.59 mL día⁻¹ ($R^2 = 0.986$). La latencia fue nuevamente nula, reflejando una rápida adaptación microbiana. En este

caso, aunque la cantidad de grasa fue inferior a la empleada en los sistemas con 2.5 %, la producción fue significativa. Cone clásico también mostró buen ajuste ($R^2 = 0.945$) con $P_{\max}$ de 174.55 mL y una constante $k = 0.27 \text{ día}^{-1}$, y un valor de $n = 1.95$, lo que refleja una liberación más controlada del sustrato lipídico. Esta condición confirmó que 1 % de grasa es suficiente para activar la actividad metanogénica, aunque con una tasa de conversión más moderada.

En contraste, el sistema 1G+SQ, con surfactante químico, presentó el rendimiento más bajo de todos los tratamientos. Gompertz modificado arrojó una $B_{\max}$ de apenas 40.04 mL y una $R_{\max}$ de 6.52 mL día^{-1} ($R^2 = 0.950$), sin latencia aparente. Cone clásico confirmó este bajo rendimiento con un $P_{\max}$ de 38.79 mL, $k = 0.43 \text{ día}^{-1}$ y $n = 1.59$. Aunque estos valores muestran una cierta velocidad de conversión, la baja producción acumulada sugiere un efecto limitante de los compuestos intermediarios, posiblemente AGVs, generados por la emulsificación de lípidos en condiciones de baja carga orgánica. Este comportamiento refleja un fenómeno de enseñamiento, donde la disponibilidad excesiva de lípidos emulsionados en una baja concentración total puede saturar o inhibir parcialmente la actividad metanogénica.

El sistema 1G+BS, con biosurfactante, mostró una mejora respecto al tratamiento con surfactante químico. Gompertz modificado estimó una $B_{\max}$ de 170.34 mL y una $R_{\max}$ de $25.82 \text{ mL día}^{-1}$, con una ligera latencia de 0.40 días ($R^2 = 0.981$), mientras que Cone clásico mostro una $P_{\max}$ de 158.91 mL, $k = 0.30 \text{ día}^{-1}$ y un exponente $n = 2.65$, el más alto entre los tratamientos, lo que indica un perfil de liberación más prolongado y probablemente más controlado de los lípidos. A pesar de esta latencia inicial, los resultados indican que el biosurfactante favoreció una emulsificación moderada de los lípidos, facilitando su biodisponibilidad sin inducir una inhibición significativa. La comparación global de los tratamientos con 1 % de LAGs respecto a los de 2.5 % (Figura 3.27) mostró que la menor carga grasa redujo tanto la $B_{\max}$ como la $R_{\max}$ en la mayoría de los sistemas. Sin embargo, los tratamientos con biosurfactante mantuvieron un rendimiento destacado, especialmente en la tasa de producción. Esto puede sugerir que la efectividad de los surfactantes depende fuertemente de la concentración de lípidos disponibles, siendo menos eficientes cuando la carga orgánica es reducida.

Coincidentemente, estudios previos como los de Skripsts *et al.* (2022) y Mekwichai *et al.* (2024) han demostrado que la eficiencia de emulsificación y conversión metanogénica inducida por biosurfactantes está correlacionada con la carga lipídica disponible.

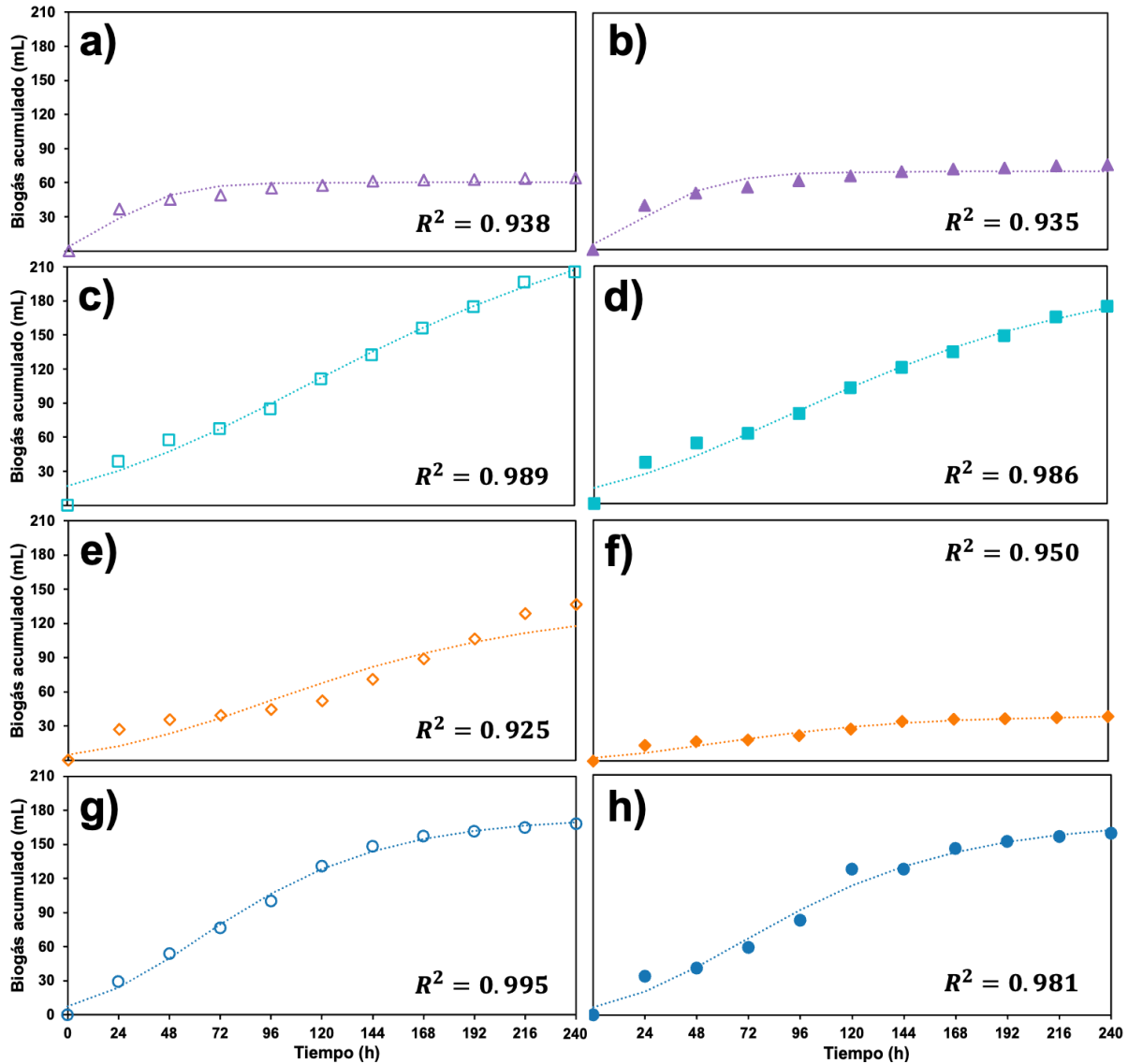


Figura 3.27 Comparación de la producción acumulada de biogás durante la digestión anaerobia de las aguas residuales compuestas por diferentes tipos de sustratos. Las aguas residuales están compuestas de la siguiente forma a) y b) Fracción Líquida de jitomate (Δ), c) Fracción Líquida de jitomate + 2.5 % LAGs ($\square$), d) Fracción Líquida de jitomate + 1 % LAGs ($\blacksquare$), e) Fracción Líquida de jitomate + Tween 20 + LAGs 2.5 % ($\diamond$), f) Fracción Líquida de jitomate + Tween 20 + LAGs 1 % ($\blacklozenge$), g) Fracción Líquida de jitomate + BS + LAGs 2.5 % ($\circ$) y h) Fracción Líquida de jitomate + BS + LAGs 1 % ($\bullet$). La modelación cinética por Gompertz modificado de Fracción Líquida de jitomate ($\cdots$), Fracción Líquida de jitomate + LAGs ($\cdots$), Fracción Líquida de jitomate + Tween 20 ($\cdots$) y Fracción Líquida de jitomate + Tween 20 + LAGs ($\cdots$).

La comparación entre 1 % y 2.5 % v/v evidencia que la carga lipídica condiciona la eficacia del biosurfactante: concentraciones moderadas no generan el mismo incremento en $B_{\max}$ ni en $R_{\max}$ que cargas mayores, dependiendo si el inóculo se encuentra adaptado para procesar cargas orgánicas elevadas. Li *et al.* (2024) y Song *et al.* (2024) mencionan que el comportamiento microbiano depende de la relación oferta-capacidad; cargas más altas pueden aumentar el rendimiento potencial de metano, pero también elevan el riesgo de inhibición por AGVs si no hay adaptación o estrategias de pretratamiento.

En conjunto, el ajuste a los modelos cinéticos y la interpretación de sus parámetros (Tabla 3.10) refuerzan que, en condiciones de baja carga, la producción de biogás sigue siendo viable sin aditivos, mientras que los biosurfactantes pueden mejorar ligeramente la biodisponibilidad sin alcanzar el rendimiento observado en concentraciones mayores. Por su parte, los surfactantes químicos no aportan beneficios en este contexto y pueden incluso inducir efectos contraproducentes al alterar el equilibrio microbiano del sistema.

Tabla 3.10 Parámetros cinéticos obtenidos para el modelo de Gompertz modificado y Cone clásico para las aguas residuales compuestas por diferentes tipos de sustratos y 1 % LAGs en los sistemas de digestión anaerobia. El menor ajuste para la proporción 1% v/v puede estar relacionado a la presencia de inhibidores o a los cambios en la composición de las aguas residuales.

Sistema	Gompertz modificado				Cone clásico			
	$B_{\max}$ (mL)	$R_{\max}$ (mL día ⁻¹)	λ (dís)	R^2	$P_{\max}$ (mL)	k (día ⁻¹)	n	R^2
SG	69.47	28.70	0.00	0.935	75.01	0.94	1.29	0.985
2.5G	208.00	20.59	0.00	0.986	174.55	0.27	1.95	0.945
2.5G+SQ	40.04	6.52	0.00	0.950	38.79	0.43	1.59	0.919
2.5G+BS	170.34	25.82	0.40	0.981	158.91	0.30	2.65	0.962

Finalmente, la estabilización del inóculo en el reactor anaerobio (Etapa I) culminó la obtención de un inóculo estabilizado. Durante la tercera fase de operación del reactor, este consorcio microbiano demostró una notable capacidad para tratar cargas orgánicas elevadas, alcanzando una CVA promedio de 2.51 gDQO L⁻¹ d⁻¹ y manteniendo eficiencias de remoción de DQO consistentemente superiores al 90 %. La estabilidad del proceso se

reflejó en una producción sostenida de biogás (promedio de 27.88 L día⁻¹) y en el mantenimiento de un pH y un factor de alcalinidad (α) en rangos óptimos, indicando un equilibrio robusto entre las etapas acidogénica y metanogénica. Este inóculo, por tanto, puede ser considerado como un biocatalizador ideal para evaluar la biodegradabilidad de sustratos más complejos (Batstone *et al.*, 2002). Lo anterior se relaciona a lo reportado Angelidaki y Ellegaard (2003) y Xu *et al.*, (2018), quienes mencionan que la aclimatación progresiva del inóculo puede favorecer la sucesión microbiana y por lo tanto, alcanzar altas eficiencias de remoción de DQO ($\geq 90\%$), así como mantener condiciones estables de pH y alcalinidad que reflejan un adecuado equilibrio entre las etapas acidogénica y metanogénica.

Sin embargo, al trasladar este inóculo a las pruebas de potencial bioquímico de metano en microcosmos, su desempeño cambió, revelando que su alta eficiencia estaba condicionada al tipo de sustrato y a las condiciones de operación a las que fue aclimatado. Inicialmente, el inóculo mantuvo su comportamiento, en los sistemas control de los microcosmos (SG), alimentados con fracción líquida de jitomate similar a la del reactor, la producción de biogás comenzó casi de inmediato, sin fase de latencia aparente ($\lambda = 0$ días). Esto confirmó que el inóculo se encontraba en un estado metabólicamente activo y era altamente competente para degradar el sustrato al que ya estaba adaptado (Strömberg *et al.*, 2015). Incluso ante la adición de residuos grasos (sistemas 1G y 2.5G), la biomasa respondió positivamente, generando volúmenes de biogás hasta tres veces superiores al control, lo que demostró su capacidad inherente para metabolizar lípidos (Cirne *et al.*, 2007).

El cambio fundamental en el comportamiento del inóculo se evidenció como una transición de un estado de equilibrio a uno de posible inhibición en los sistemas con adición de surfactantes. Mientras que en el reactor el consorcio microbiano manejó cargas orgánicas crecientes de un sustrato consistente, en los microcosmos fue sometido a una carga de choque con un sustrato no solo nuevo (lípidos en alta concentración), sino también de mayor biodisponibilidad por efecto de los surfactantes. Esto pudo haber provocado un desacoplamiento metabólico: la hidrólisis y la acidogénesis, aceleradas por la emulsificación de las grasas, superaron la capacidad de la etapa metanogénica para

consumir los AGVs generados (Jiang *et al.*, 2018; Mu *et al.*, 2023). El resultado fue una acumulación de acetato, butirato y, críticamente, propionato, alcanzando concentraciones inhibitorias ($>600 \text{ mg L}^{-1}$ para el propionato). La acumulación de propionato es reconocida como uno de los principales factores de inestabilidad en digestores anaerobios, debido a que su degradación es termodinámicamente desfavorable y depende estrictamente de la actividad sintrófica (Norouzi y Dutta, 2022). Esta acumulación condujo a la caída del pH y al final de la producción de biogás, fenómeno ampliamente reportado como “acidificación” o “souring” del proceso (Kainthola *et al.*, 2019).

Por lo tanto, el resultado sugiere que la especificidad de la adaptación microbiana fue determinante. El inóculo del reactor estaba aclimatado la fracción líquida de residuos orgánicos, la cual está compuesta básicamente de carbohidratos simples, pero no fue sometido a una adaptación gradual a altas concentraciones de lípidos ni a los efectos de los surfactantes. A diferencia de un reactor semicontinuo, donde los intermediarios inhibitorios pueden ser parcialmente lavados, en los microcosmos batch los metabolitos tóxicos permanecen acumulados, incrementando su efecto inhibitorio (Khafipour *et al.*, 2020). Esto indica que la eficiencia observada en condiciones controladas no es universal, sino dependiente del tipo de sustrato y del entorno operacional.

En consecuencia, el paso del reactor a los microcosmos actuó como una prueba de estrés que reveló los límites de resiliencia del consorcio microbiano. Aunque el inóculo no perdió su capacidad fundamental para producir metano, fue llevado más allá de su umbral metabólico, lo cual puede confirmar que la adaptación a la carga orgánica debe ir acompañada de una adaptación progresiva a la complejidad del residuo para asegurar la estabilidad del proceso a largo plazo (Batstone y Virdis, 2014; Norouzi y Dutta, 2022).

3.4.3 Análisis estadístico

Para evaluar la influencia de los distintos sistemas sobre la producción acumulada de biogás y metano, se realizó un análisis estadístico considerando los sistemas con 2.5 % y 1.0 % de LAGs. Este análisis se llevó a cabo mediante un Análisis de Varianza (ANOVA) de una sola variable, complementado con la prueba de comparación de medias de Tukey,

utilizando el software Minitab versión 20. Se empleó un nivel de confianza del 95 % con el objetivo de determinar diferencias estadísticamente significativas entre los sistemas evaluados.

El análisis de varianza para el biogás acumulado (Tabla 3.11) mostró diferencias estadísticamente significativas entre los sistemas (valor $p = 0.000$). Este resultado fue confirmado por la prueba de Tukey (Tabla 3.12), donde se observa que el sistema 2.5G presentó el mayor promedio de producción de biogás (205.69 mL), conformando el grupo estadístico A, seguido por 2.5G+BS (168.29 mL, grupo B), 2.5G+SQ (136.42 mL, grupo C) y SG (64.44 mL, grupo D). Estas diferencias sugieren que el tipo de surfactante y su interacción con la carga grasa influye significativamente en el rendimiento del sistema.

Tabla 3.11 Análisis de Varianza para biogás acumulado (2.5 % LAGs)

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Sistema	3	21566.0	7188.66	5582.56	0.000
Error	4	5.2	1.29		
Total	7	21571.1			

Tabla 3.12 Prueba de comparación de medias por el método de Tukey para biogás acumulado (2.5 % LAGs)

Sistema	N	Media	Agrupación
2.5G	2	205.692	A
2.5G+BS	2	168.293	B
2.5G+SQ	2	136.421	C
SG	2	64.44	D

Para el metano acumulado (Tabla 3.13), también se identificaron diferencias significativas (valor $p = 0.000$). La prueba de Tukey (Tabla 3.14) muestra el mismo orden de agrupación que el de biogás, confirmando que el sistema con solo grasa (2.5G) obtuvo el mayor rendimiento de metano (104.98 mL), mientras que el sistema con Tween 20 (2.5G+SQ) y el control SG mostraron valores considerablemente inferiores (58.56 mL y 32.07 mL,

respectivamente). Este patrón sugiere que el biosurfactante puede potenciar la producción de metano, mientras que el surfactante químico puede ejercer un efecto inhibitorio.

Tabla 3.13 Análisis de Varianza para CH₄ acumulado (2.5 % LAGs)

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Sistema	3	6232.75	2077.58	142.00	0.000
Error	4	58.52	14.63		
Total	7	6291.27			

Tabla 3.14 Prueba de comparación de medias por el método de Tukey para CH₄ acumulado (2.5 % LAGs)

Sistema	N	Media	Agrupación
2.5G	2	104.98	A
2.5G+BS	2	88.074	B
2.5G+SQ	2	58.56	C
SG	2	32.07	D

De forma similar, el ANOVA realizado para los sistemas con 1.0 % de grasa mostro diferencias estadísticamente significativas para el biogás acumulado (valor p = 0.000) como se muestra en la Tabla 3.15. De acuerdo con la prueba de Tukey (Tabla 3.16), el sistema 1G presentó el mayor promedio de biogás (100.23 mL, grupo A), seguido de 1G+BS (90.78 mL, grupo B). En contraste, los sistemas 1G+SQ y SG fueron agrupados en el mismo subconjunto estadístico (grupo C), con promedios mucho más bajos (38.79 y 32.7 mL, respectivamente), indicando que la inclusión de Tween 20 no fue efectiva para mejorar la digestión a este nivel de grasa.

Tabla 3.15 Análisis de Varianza para biogás acumulado (1.0 % LAGs)

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Sistema	3	7353.22	2451.07	765.31	0.000
Error	4	12.81	3.20		
Total	7	7366.04			

Tabla 3.16 Prueba de comparación de medias por el método de Tukey para biogás acumulado (1.0 % LAGs)

Sistema	N	Media	Agrupación
1G	2	100.23	A
1G+BS	2	90.78	B
1G+SQ	2	38.789	C
SG	2	32.7	C

En el caso del metano acumulado (Tabla 3.17), el análisis de varianza también reflejó diferencias significativas (valor $p = 0.000$). Los resultados de Tukey (Tabla 3.18) revelan que 1G mantuvo el mayor rendimiento de metano (174.55 mL, grupo A), seguido por 1G+BS (158.91 mL, grupo B). Nuevamente, 1G+SQ (38.79 mL) y SG (64.44 mL) mostraron rendimientos significativamente menores, agrupándose en los subconjuntos C y D, respectivamente.

Tabla 3.17 Análisis de Varianza para CH₄ acumulado (1.0 % LAGs)

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Sistema	3	27405.4	9135.12	1983.98	0.000
Error	4	18.4	4.60		
Total	7	27423.8			

Tabla 3.18 Prueba de comparación de medias por el método de Tukey para CH₄ acumulado (1.0 % LAGs)

Sistema	N	Media	Agrupación
1G	2	174.55	A
1G+BS	2	158.91	B
SG	2	64.44	C
1G+SQ	2	38.789	D

En ambos niveles de concentración grasa (2.5 % y 1.0 %), se confirmó mediante ANOVA y la prueba de comparación de medias de Tukey que existen diferencias estadísticas marcadas entre sistemas. En todos los casos, el uso del biosurfactante permitió obtener rendimientos similares o cercanos al sistema solo con grasa, mientras que la adición Tween 20 mostró un efecto adverso. Estos sugieren que no solo la cantidad de grasa influye en la eficiencia del proceso, sino también el tipo de aditivo empleado para aumentar su emulsificación o biodisponibilidad.

CONCLUSIONES

Y

RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

Se obtuvo y caracterizó un inóculo capaz de tratar aguas residuales, empleando un reactor anaerobio de 6.5 L (volumen de trabajo) operado durante 250 días con una Carga Volumétrica Aplicada mayor a $1.5 \text{ gDQO L}^{-1} \text{ d}^{-1}$. Dicho inóculo demostró una capacidad de remoción de materia orgánica superior al 80% y capacidad de producir biogás con un contenido de metano mayor al 40%.

Se caracterizaron aguas residuales sintéticas compuestas por mezclas de sustratos de origen vegetal, animal y surfactantes. Las formulaciones con lípidos y biosurfactantes presentaron una biodegradabilidad superior al 70 %, evidenciando que la presencia de biosurfactantes favorece la biodegradabilidad de la materia orgánica compleja en biogás rico en metano.

La adición de biosurfactantes en las pruebas de potencial en microcosmos incrementó la biodisponibilidad de los lípidos para la producción de biogás rico en metano, lo que se reflejó en un aumento de hasta un 20 % en la fracción de metano respecto a las mezclas sin adición de estos compuestos.

La concentración de lípidos en las aguas residuales influyó directamente en la estabilidad del proceso. Se detectó que a altas concentraciones de lípidos generaron una disminución en la tasa de producción de biogás y en la fracción de metano, como consecuencia de posibles efectos inhibitorios sobre la biomasa en periodos prolongados de operación.

El análisis de parámetros cinéticos permitió establecer la relación entre la concentración de lípidos y la adición de surfactantes con la producción de biogás.

El modelo de cinético de Cone clásico presentó un ajuste superior al 95 % frente a los datos experimentales, siendo útil para comparar las tasas de hidrólisis entre las diferentes aguas residuales. Asimismo, el modelo de Gompertz modificado evidenció que las mezclas con surfactantes y lípidos generaron hasta el doble de biogás en comparación

con aquellas sin surfactantes, confirmando la relevancia del efecto combinado de estos compuestos.

Se demostró que la adición de biosurfactantes en la digestión anaerobia de aguas residuales con residuos grasos de origen animal tiene un efecto positivo que puede asociarse a la emulsificación y al aumento en la solubilidad de los lípidos. Sin embargo, a largo plazo es posible inducir inhibición microbiana y reducir la estabilidad del proceso.

Finalmente, se demostró que es posible producir biogás a partir de aguas residuales con residuos grasos de origen animal, y que la adición de biosurfactantes incrementa la fracción de metano en el biogás producido. Por lo tanto, los resultados confirman que la adición de biosurfactantes constituye una estrategia efectiva para mejorar la producción de biogás en sistemas de digestión anaerobia con aguas residuales ricas en residuos grasos.

RECOMENDACIONES

Con base en los resultados, se sugiere considerar las siguientes líneas de trabajo para estudios futuros:

- Evaluar nuevas estrategias de mezclado (intensidad y frecuencia) que favorezcan una mejor distribución del sustrato graso sin provocar acumulaciones locales que puedan generar inhibición.
- Probar distintas proporciones entre surfactantes y sustrato lipídico, con el objetivo de identificar combinaciones más eficientes que permitan mejorar la emulsificación y biodisponibilidad de los lípidos sin afectar negativamente la actividad microbiana.
- Diseñar mecanismos o tratamientos que permitan una liberación controlada y moderada de los compuestos grasos en el reactor, reduciendo así el riesgo de choques de carga orgánica y mejorando la estabilidad del proceso a lo largo del tiempo.

Estas recomendaciones pueden contribuir al desarrollo de sistemas más robustos y eficientes para el tratamiento anaerobio de residuos con alto contenido de lípidos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Afolalu, S. A., Ikumapayi, O. M., Ogedengbe, T. S., Kazeem, R. A., y Ogundipe, A. T. 2022. Waste pollution, wastewater and effluent treatment methods – An overview. *Materials Today: Proceedings*, 62, 3282–3288. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2022.04.231>
- Agrawal, A., Chaudhari, P. K. y Ghosh, P. (2023). Anaerobic digestion of fruit and vegetable waste: a critical review of associated challenges. *Environmental Science and Pollution Research*, 30(10), 24987-25012.
- Ahmad, T., Belwal, T., Li, L., Ramola, S., Aadil, R. M., Khan, M. A., Xu, Y., y Luo, Z. 2020. Utilization of wastewater from edible oil industry, turning waste into valuable products: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 99, 21–33. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.02.017>
- Ali, I., Naz, I., Peng, C., Abd–Elsalam, K. A., Khan, Z. M., Islam, T., Pervez, R., Amjed, M. A., Tehrim, A., Perveen, I., y Sehar, S. 2021. Sources, classifications, constituents, and available treatment technologies for various types of wastewater: An overview. Elsevier eBooks (pp. 11–46). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-821141-0.00019-7>
- Alvarado-Vallejo, A., Marín-Peña, O., Rosas-Mendoza, E. S., Méndez-Contreras, J. M., & Alvarado-Lassman, A. (2024). The Valorization of Fruit and Vegetable Wastes Using an Anaerobic Fixed Biofilm Reactor: A Case of Discarded Tomatoes from a Traditional Market. *Processes*, 12(9), 1923.
- Anacleto, T. M., Kozlowsky-Suzuki, B., Björn, A., Yekta, S. S., Masuda, L. S. M., de Oliveira, V. P. y Enrich-Prast, A. (2024). Methane yield response to pretreatment is dependent on substrate chemical composition: a meta-analysis on anaerobic digestion systems. *Scientific Reports*, 14(1), 1240.
- Anaya-Reza, O., Altamirano-Corona, M. F., Castelán-Rodríguez, G., García-González, S. A. y Durán-Moreno, A. (2022). Techno-economic and environmental assessment for biomethane production and cogeneration scenarios from OFMSW in Mexico. *Waste and Biomass Valorization*, 13(2), 1059-1075.
- Angelidaki, I. y Ellegaard, L. (2003). Codigestion of manure and organic wastes in centralized biogas plants: status and future trends. *Applied biochemistry and biotechnology*, 109(1), 95-105.
- Angelidaki, I., Treu, L., Tsapekos, P., Luo, G., Campanaro, S., Wenzel, H. y Kougias, P. G. (2018). Biogas upgrading and utilization: Current status and perspectives. *Biotechnology advances*, 36(2), 452-466.

- Appels, L., Baeyens, J., Degreè, J. y Dewil, R. (2008). Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge. *Progress in energy and combustion science*, 34(6), 755-781.
- Atasoy, M. y Cetecioglu, Z. (2022). The effects of pH on the production of volatile fatty acids and microbial dynamics in long-term reactor operation. *Journal of Environmental Management*, 319, 115700.
- Aworanti, O. A., Agbede, O. O., Agarry, S. E., Ajani, A. O., Ogunkunle, O., Laseinde, O. T., y Fattah, I. M. R. (2023). Decoding anaerobic digestion: a holistic analysis of biomass waste technology, process kinetics, and operational variables. *Energies*, 16(8), 3378.
- Badmus, S. O., Amusa, H. K., Oyehan, T. A., y Saleh, T. A. 2021. Environmental risks and toxicity of surfactants: overview of analysis, assessment, and remediation techniques. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(44), 62085–62104. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-16483-w>
- Batstone, D. J. y Virdis, B. (2014). The role of anaerobic digestion in the emerging energy economy. *Current opinion in biotechnology*, 27, 142-149.
- Batstone, D. J., Keller, J., Angelidaki, I., Kalyuzhnyi, S. V., Pavlostathis, S. G., Rozzi, A., y Vavilin, V. A. (2002). The IWA anaerobic digestion model no 1 (ADM1). *Water Science and technology*, 45(10), 65-73.
- Bertacchi, S., Ruusunen, M., Sorsa, A., Sirviö, A., & Branduardi, P. (2021). Mathematical analysis and update of ADM1 model for biomethane production by anaerobic digestion. *Fermentation*, 7(4), 237.
- Bhatt, A., y Tao, L. 2020. Economic perspectives of biogas production via anaerobic digestion. *Bioengineering*, 7(3), 74. <https://doi.org/10.3390/bioengineering7030074>
- Caillet, H., & Adelard, L. (2021). Start-up strategy and process performance of semi-continuous anaerobic digestion of raw sugarcane vinasse. *Waste and Biomass Valorization*, 12(1), 185-198.
- Chaurasia, A. K., Siwach, P., Shankar, R. y Mondal, P. (2023). Effect of pre-treatment on mesophilic anaerobic co-digestion of fruit, food and vegetable waste. *Clean Technologies and Environmental Policy*, 25(2), 603-616.
- Chew, K. R., Leong, H. Y., Khoo, K. S., Vo, D. N., Anjum, H., Chang, C., y Show, P. L. 2021. Effects of anaerobic digestion of food waste on biogas production and environmental impacts: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 19(4), 2921–2939. <https://doi.org/10.1007/s10311-021-01220-z>

Cirne, D. G., Paloumet, X., Björnsson, L., Alves, M. M. y Mattiasson, B. (2007). Anaerobic digestion of lipid-rich waste—Effects of lipid concentration. *Renewable energy*, 32(6), 965-975.

Collin, T. D., Cunningham, R., Asghar, M. Q., Villa, R., MacAdam, J., & Jefferson, B. (2020). Assessing the potential of enhanced primary clarification to manage fats, oils and grease (FOG) at wastewater treatment works. *The Science of the Total Environment*, 728, 138415. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138415>

Comisión Nacional del Agua [CONAGUA]. 2001. NMX-AA-036-SCFI-2001: Análisis de Agua – Determinación de acidez y alcalinidad en aguas naturales, residuales y residuales tratadas – método de prueba: CONAGUA

Comisión Nacional del Agua [CONAGUA]. 2011. NMX-AA-030/2-SCFI-2011: Análisis de Agua – Determinación de la demanda química de oxígeno en aguas naturales, residuales y residuales tratadas – método de prueba – parte 2 – Determinación del índice de la demanda química de oxígeno: CONAGUA

Comisión Nacional del Agua [CONAGUA]. 2013. NMX-AA-005-SCFI-2013: Análisis de Agua – Medición de grasas y aceites recuperables en aguas naturales, residuales y residuales tratadas – método de prueba: CONAGUA

Comisión Nacional del Agua [CONAGUA]. 2015. NMX-AA-034-SCFI-2015: Análisis de Agua – Medición de sólidos y sales disueltas en aguas naturales, residenciales y residuales tratadas – método de prueba: CONAGUA

Comisión Nacional del Agua [CONAGUA]. 2016. NMX-AA-008-SCFI-2016: Análisis de Agua – Medición del pH en aguas naturales, residuales y residuales tratadas – método de prueba: CONAGUA

Dasa, K. T., Westman, S. Y., Millati, R., Cahyanto, M. N., Taherzadeh, M. J. y Niklasson, C. (2016). Inhibitory Effect of Long-Chain Fatty Acids on Biogas Production and the Protective Effect of Membrane Bioreactor. *BioMed research international*, 2016(1), 7263974.

De Jesus Villalobos-Delgado, F., Reynel-Ávila, H. E., Mendoza-Castillo, D. I., y Bonilla-Petriciolet, A. 2023. Lipid extraction in the primary sludge generated from urban wastewater treatment: characteristics and seasonal composition analysis. *Water Science and Technology*, 87(11), 2930–2943. <https://doi.org/10.2166/wst.2023.165>

Diamantis, V., Eftaxias, A., Stamatelatou, K., Noutsopoulos, C., Vlachokostas, C., y Aivasidis, A. (2021). Bioenergy in the era of circular economy: Anaerobic digestion technological solutions to produce biogas from lipid-rich wastes. *Renewable Energy*, 168, 438–447. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2020.12.034>

Ding, L., Chen, Y., Xu, Y. y Hu, B. (2021). Improving treatment capacity and process stability via a two-stage anaerobic digestion of food waste combining solid-state acidogenesis and leachate methanogenesis/recirculation. *Journal of Cleaner Production*, 279, 123644.

Dominguez-Rivera, Á., Urbina, M. Á. M., y López, V. E. L. Y. 2019. Advances on research in the use of agro-industrial waste in biosurfactant production. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 35(10). <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2729-3>

Edokpayi, J. N., Odiyo, J. O., y Durowoju, O. S. 2017. Impact of wastewater on surface water quality in developing countries: a case study of South Africa. *InTech eBooks*. <https://doi.org/10.5772/66561>

Eftaxias, A., Diamantis, V., Michailidis, C., Stamatelatou, K. y Aivasidis, A. (2021). The role of emulsification as pre-treatment on the anaerobic digestion of oleic acid: Process performance, modeling, and sludge metabolic properties. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 11(2), 251-260.

Eftaxias, A., Gkalimanis, P., Koskinari, M. D., Koumara, A., Diamantis, V., y Aivasidis, A. 2019. Use of diluted poultry manure as a low-cost emulsifier for anaerobic digestion of used cooking oil. *Water Practice & Technology*, 14(4), 937–945. <https://doi.org/10.2166/wpt.2019.074>

El-Sheshtawy, H., Mahdy, H. M., Sofy, A. R., y Sofy, M. R. 2022. Production of biosurfactant by *Bacillus megaterium* and its correlation with lipid peroxidation of *Lactuca sativa*. *Egyptian Journal of Petroleum*, 31(2), 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.ejpe.2022.03.001>

Emebu, S., Pecha, J., y Janáčová, D. (2022). Review on anaerobic digestion models: Model classification & elaboration of process phenomena. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 160, 112288.

Eras-Muñoz, E., Farré, A., Sánchez, A., Font, X. y Gea, T. (2022). Microbial biosurfactants: a review of recent environmental applications. *Bioengineered*, 13(5), 12365-12391.

Faisal, Z. G., Mahdi, M. S., y Alobaidi, K. H. 2023. Optimization and Chemical Characterization of Biosurfactant Produced from a Novel *Pseudomonas guguanensis* Strain Iraqi ZG.K.M. *International Journal of Microbiology*, 2023, 1–16. <https://doi.org/10.1155/2023/1571991>

Filer, J., Ding, H., y Chang, S. 2019. Biochemical Methane Potential (BMP) assay Method for Anaerobic digestion research. *Water*, 11(5), 921. <https://doi.org/10.3390/w11050921>

- García-Peña, E. I., Parameswaran, P., Kang, D. W., Canul-Chan, M., y Krajmalnik-Brown, R. (2011). Anaerobic digestion and co-digestion processes of vegetable and fruit residues: process and microbial ecology. *Bioresource Technology*, 102(20), 9447-9455.
- Gaspari, M., Treu, L., Centurion, V. B., Kotsopoulos, T. A., Campanaro, S. y Kougias, P. G. (2023). Impacts of long chain fatty acids injection on biogas reactors performance stability and microbial community structure and function. *Journal of Cleaner Production*, 418, 138048.
- Ghazi Faisal, Z., Sallal Mahdi, M., & Alobaidi, K. H. (2023). Optimization and chemical characterization of biosurfactant produced from a novel *Pseudomonas guguanensis* strain Iraqi ZG. KM. *International Journal of Microbiology*, 2023(1), 1571991.
- Giduthuri, A. T. y Ahring, B. K. (2022). Current status and prospects of valorizing organic waste via arrested anaerobic digestion: production and separation of volatile fatty acids. *Fermentation*, 9(1), 13.
- González, R., Peña, D. C. y Gómez, X. (2022). Anaerobic co-digestion of wastes: reviewing current status and approaches for enhancing biogas production. *Applied Sciences*, 12(17), 8884.
- González, R., Peña, D. C. y Gómez, X. (2022). Anaerobic co-digestion of wastes: reviewing current status and approaches for enhancing biogas production. *Applied Sciences*, 12(17), 8884.
- Greses, S., Tomás-Pejó, E. y González-Fernández, C. (2021). Short-chain fatty acids and hydrogen production in one single anaerobic fermentation stage using carbohydrate-rich food waste. *Journal of Cleaner Production*, 284, 124727.
- Guerra, V., Beule, L., Lehtsaar, E., Liao, H., y Karlovsky, P. 2020. Improved Protocol for DNA Extraction from Subsoils Using Phosphate Lysis Buffer. *Microorganisms*, 8(4), 532. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8040532>
- Gurd, C., Jefferson, B., Villa, R., y De Castro Rodriguez, C. 2020. Determination of fats, oils and greases in food service establishment wastewater using a modification of the Gerber method. *Water and Environment Journal*, 34(1), 5–13. <https://doi.org/10.1111/wej.12431>
- Hafner, S. D., De Laclos, H. F., Koch, K., y Holliger, C. 2020. Improving Inter-Laboratory Reproducibility in measurement of Biochemical methane Potential (BMP). *Water*, 12(6), 1752. <https://doi.org/10.3390/w12061752>
- Hakimi, M., Manogaran, M. D., Shamsuddin, R., Johari, S. A. M., Hassan, M. A. M. y Soehartanto, T. (2023). Co-anaerobic digestion of sawdust and chicken manure with plant herbs: Biogas generation and kinetic study. *Heliyon*, 9(6).

- Harirchi, S., Wainaina, S., Sar, T., Nojoumi, S. A., Parchami, M., Parchami, M., y Taherzadeh, M. J. (2022). Microbiological insights into anaerobic digestion for biogas, hydrogen or volatile fatty acids (VFAs): a review. *Bioengineered*, 13(3), 6521-6557.
- Herrera-Navarrete, R., Colín-Cruz, A., Wences, H. J. A., Rosas, M. L. S., Rosas-Acevedo, J. L., y Herrera, A. L. R. 2021. Municipal wastewater Treatment Plants: gap, challenges, and opportunities in environmental management. *Environmental Management*, 69(1), 75–88. <https://doi.org/10.1007/s00267-021-01562-y>
- Holliger, C., Astals, S., De Lacroix, H. F., Hafner, S. D., Koch, K., y Weinrich, S. 2021. Towards a standardization of biomethane potential tests: a commentary. *Water Science y Technology*, 83(1), 247–250. <https://doi.org/10.2166/wst.2020.569>
- Holohan, B. C., Duarte, M. S., Szabo-Corbacho, M. A., Cavaleiro, A. J., Salvador, A. F., Pereira, M. A., Ziels, R., Frijters, C., Pacheco-Ruiz, S., Carballa, M., Sousa, D. Z., Stams, A. J. M., O’Flaherty, V., Van Lier, J. B., y Alves, M. M. 2022. Principles, advances, and perspectives of anaerobic digestion of lipids. *Environmental Science & Technology*, 56(8), 4749–4775. <https://doi.org/10.1021/acs.est.1c08722>
- IMTA - Instituto Mexicano de Tecnología del Agua. 2021. En la regulación de descargas de aguas residuales ¿quo vadis? [gob.mx. https://www.gob.mx/imta/articulos/en-la-regulacion-de-descargas-de-aguas-residuales-quo-vadis?idiom=es](https://www.gob.mx/imta/articulos/en-la-regulacion-de-descargas-de-aguas-residuales-quo-vadis?idiom=es) (consultada en abril, 2024)
- Jiang, J., He, S., Kang, X., Sun, Y., Yuan, Z., Xing, T. y Li, L. (2020). Effect of organic loading rate and temperature on the anaerobic digestion of municipal solid waste: process performance and energy recovery. *Frontiers in Energy Research*, 8, 89.
- Jiang, Y., Dennehy, C., Lawlor, P. G., Hu, Z., McCabe, M., Cormican, P. y Gardiner, G. E. (2018). Inhibition of volatile fatty acids on methane production kinetics during dry co-digestion of food waste and pig manure. *Waste Management*, 79, 302-311.
- Johnson, P., Trybala, A., Starov, V., y Pinfield, V. J. 2021. Effect of synthetic surfactants on the environment and the potential for substitution by biosurfactants. *Advances in Colloid and Interface Science*, 288, 102340. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2020.102340>
- Kahar, A. y Khoiroh, I. (2024). Effect of long chain fatty acids on biogas production and biochemical kinetics in anaerobic bioreactors: a review. *Konversi*, 13(1).
- Kainthola, J., Kalamdhad, A. S. y Goud, V. V. (2019). A review on enhanced biogas production from anaerobic digestion of lignocellulosic biomass by different enhancement techniques. *Process Biochemistry*, 84, 81-90.
- Katsuki, K., Miyagawa, Y., Nakagawa, K., & Adachi, S. (2017). Dispersion stability of O/W emulsions with different oil contents under various freezing and thawing conditions. *Journal of food science*, 82(7), 1569-1573.

- Kehrein, P., Van Loosdrecht, M. C., Osseweijer, P., Garfí, M., Dewulf, J., y Posada, J. A. 2020. A critical review of resource recovery from municipal wastewater treatment plants – market supply potentials, technologies and bottlenecks. *Environmental Science*, 6(4), 877–910. <https://doi.org/10.1039/c9ew00905a>
- Khafipour, A., Jordaan, E. M., Flores-Orozco, D., Khafipour, E., Levin, D. B., Sparling, R. y Cicek, N. (2020). Response of microbial community to induced failure of anaerobic digesters through overloading with propionic acid followed by process recovery. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 8, 604838.
- Khanal, S. K., Lü, F., Wong, J. W., Wu, D. y Oechsner, H. (2021). Anaerobic digestion beyond biogas. *Bioresource technology*, 337, 125378.
- Kumar, P. S., & Ngueagni, P. T. (2021). A review on new aspects of lipopeptide biosurfactant: types, production, properties and its application in the bioremediation process. *Journal of Hazardous Materials*, 407, 124827.
- Larsen, T. A., Udert, K. M., y Lienert, J. 2013. Source separation and decentralization for wastewater management. IWA Publishing eBooks. <https://doi.org/10.2166/9781780401072>
- Li, W., Zhang, Z., Mi, S. y Zhao, S. (2024). Enhancing the High-Solid Anaerobic Digestion of Horticultural Waste by Adding Surfactants. *Molecules*, 29(17), 4061.
- Li, X., Wang, Z., He, Y., Wang, Y., Wang, S., Zheng, Z. y Ying, H. (2024). A comprehensive review of the strategies to improve anaerobic digestion: their mechanism and digestion performance. *Methane*, 3(2), 227-256.
- Li, Y., Chen, Y., y Wu, J. 2019. Enhancement of methane production in anaerobic digestion process: A review. *Applied Energy*, 240, 120–137. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2019.01.243>
- Lim, J. W., Park, T., Tong, Y. W., & Yu, Z. (2020). The microbiome driving anaerobic digestion and microbial analysis. In *Advances in bioenergy* (Vol. 5, pp. 1-61). Elsevier.
- Llanos-Lizcano, R., Senila, L., & Modoi, O. C. (2024). Evaluation of biochemical methane potential and kinetics of organic waste streams for enhanced biogas production. *Agronomy*, 14(11), 2546.
- López-Aguilar, H. A., Huerta-Reynoso, E. A., Gómez, J. A. y Pérez-Hernández, A. (2025). Mathematical models for the kinetics of methane production via the anaerobic co-digestion of biomass waste. *Revista del Centro de Investigación de la Universidad la Salle*, 16(64), 3650-3650.
- Lóránt, B. y Tardy, G. M. (2022). Current status of biological biogas upgrading technologies. *Periodica Polytechnica Chemical Engineering*, 66(3), 465-481.

Lukitawesa, Patinvoh, R. J., Millati, R., Sarvari-Horvath, I., y Taherzadeh, M. J. (2020). Factors influencing volatile fatty acids production from food wastes via anaerobic digestion. *Bioengineered*, 11(1), 39-52.

Lutze, R. (2021). Application of an Anaerobic Membrane Bioreactor for the Treatment of Lipid-rich Sludges (Vol. 268). Technische Universität Darmstadt.

Ma, J., Zhao, Q., Laurens, L., Jarvis, E., Nagle, N., Chen, S., y Frear, C. 2015. Mechanism, kinetics and microbiology of inhibition caused by long-chain fatty acids in anaerobic digestion of algal biomass. *Biotechnology for Biofuels*, 8(1). <https://doi.org/10.1186/s13068-015-0322-z>

Malinowsky, C., Nadaleti, W., Debiassi, L. R., Moreira, A. J. G., Bayard, R. y de Castilhos Junior, A. B. (2021). Start-up phase optimization of two-phase anaerobic digestion of food waste: Effects of organic loading rate and hydraulic retention time. *Journal of Environmental Management*, 296, 113064.

Marcelino, P. R. F., De Oliveira Gonçalves, F., Jimenez, I. M., Carneiro, B. C., Santos, B. B., y Da Silva, S. S. 2020. Sustainable Production of Biosurfactants and Their Applications. *Lignocellulosic Biorefining Technologies*, 159–183. <https://doi.org/10.1002/9781119568858.ch8>

Martínez-Bolaños, P. 2021. Efecto de biosurfactantes en el proceso de digestión anaerobia de grasas. Tesis de maestria. Universitas Miguel Hernández.

Mekwichai, P., Chutivisut, P. y Tuntitiwattanapun, N. (2024). Enhancing biogas production from palm oil mill effluent through the synergistic application of surfactants and iron supplements. *Heliyon*, 10(8).

Meng, Y., Shen, F., Yuan, H., Zou, D., Liu, Y., Zhu, B. y Li, X. (2014). Start-up and operation strategies on the liquefied food waste anaerobic digestion and a full-scale case application. *Bioprocess and biosystems engineering*, 37(11), 2333-2341.

Menon, A. y Lyng, J. G. (2021). Circular bioeconomy solutions: driving anaerobic digestion of waste streams towards production of high value medium chain fatty acids. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 20(1), 189-208.

Menzel, T., Neubauer, P., y Junne, S. (2020). Role of microbial hydrolysis in anaerobic digestion. *Energies*, 13(21), 5555.

Mohammadpour, H., Cheng, K. Y., Pivrikas, A., & Ho, G. (2025). A review of biogas upgrading technologies: key emphasis on electrochemical systems. *Water Science & Technology*, 91(2), 93-116.

Mohanty, S. S., Koul, Y., Varjani, S., Pandey, A., Ngo, H. H., Chang, J. S., ... & Bui, X. T. (2021). A critical review on various feedstocks as sustainable substrates for biosurfactants production: a way towards cleaner production. *Microbial cell factories*, 20(1), 120.

Mu, L., Wang, Y., Xu, F., Li, J., Tao, J., Sun, Y. y Chen, G. (2023). Emerging strategies for enhancing propionate conversion in anaerobic digestion: a review. *Molecules*, 28(9), 3883.

Nakasaki, K., Nguyen, K. K., Ballesteros, F., Maekawa, T., y Nakasaki, K. 2020. Characterizing the microbial community involved in anaerobic digestion of lipid-rich wastewater to produce methane gas. *Anaerobe* (Print), 61, 102082. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2019.102082>

Nava-Valente, N., Hernández-Aguilar, E., Alvarado-Lassman, A., y Méndez-Contreras, J. M. 2022. Effect of acid pretreatment on the anaerobic codigestion of sewage sludge, chicken litter, and sugarcane waste (SCW) for biogas production. *BioEnergy Research/BioEnergy Research*, 16(3), 1889–1901. <https://doi.org/10.1007/s12155-022-10533-y>

Nie, E., He, P., Zhang, H., Hao, L., y Shao, L. 2021. How does temperature regulate anaerobic digestion? *Renewable & Sustainable Energy Reviews*, 150, 111453. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2021.111453>

Nkuna, R., Roopnarain, A., Rashama, C. y Adeleke, R. (2022). Insights into organic loading rates of anaerobic digestion for biogas production: a review. *Critical Reviews in Biotechnology*, 42(4), 487-507.

Norouzi, O. y Dutta, A. (2022). The current status and future potential of biogas production from Canada's organic fraction municipal solid waste. *Energies*, 15(2), 475.

Oiza, N., Moral-Vico, J., Sanchez, A. y Gea, T. (2024). Enhanced anaerobic digestion of food waste using purified lactonic sophorolipids produced by solid-state fermentation of molasses and oil waste: A circular approach. *Journal of Cleaner Production*, 468, 143062.

Orangun, A., Kaur, H., & Kommalapati, R. R. (2021). Batch anaerobic co-digestion and biochemical methane potential analysis of goat manure and food waste. *Energies*, 14(7), 1952.

Orduña-Gaytán, F., Vallejo-Cantú, N. A., Alvarado-Vallejo, A., Rosas-Mendoza, E. S., Sandoval-Herazo, L. C., y Alvarado-Lassman, A. 2022. Evaluation of the removal of organic matter and nutrients in the Co-Treatment of Fruit and Vegetable waste using a Bioreactor-Constructed Wetlands system. *Processes*, 10(2), 278. <https://doi.org/10.3390/pr10020278>

Parajuli, A., Khadka, A., Sapkota, L. y Ghimire, A. (2022). Effect of hydraulic retention time and organic-loading rate on two-staged, semi-continuous mesophilic anaerobic digestion of food waste during start-up. *Fermentation*, 8(11), 620.

Parra-Orobio, B. A., Torrez-Lozada, P., Marmolejo-Rebellón, L. A., Cárdenas-Cleves, L. M., Vásquez-Franco, C., Torres-López, W. A., Ordoñez-Andrade, J. A., 2015. Efecto de la relación sustrato-inóculo sobre el potencial bioquímico de metano de biorresiduos de origen municipal. *Ingeniería, investigación y tecnología*, 16(4), 515-526.

Pasalari, H., Gholami, M., Rezaee, A., Esrafil, A., & Farzadkia, M. (2021). Perspectives on microbial community in anaerobic digestion with emphasis on environmental parameters: a systematic review. *Chemosphere*, 270, 128618.

Pilarska, A. A., Kulupa, T., Kubiak, A., Wolna-Maruwka, A., Pilarski, K., y Niewiadomska, A. 2023. Anaerobic Digestion of Food Waste—A Short review. *Energies*, 16(15), 5742. <https://doi.org/10.3390/en16155742>

Prajapati, K. K., Pareek, N. y Vivekanand, V. (2018). Pretreatment and multi-feed anaerobic co-digestion of agro-industrial residual biomass for improved biomethanation and kinetic analysis. *Frontiers in Energy Research*, 6, 111.

Preisner, M. 2020. Surface water pollution by untreated municipal wastewater discharge due to a sewer failure. *Environmental Processes*, 7(3), 767–780. <https://doi.org/10.1007/s40710-020-00452-5>

Ren, Y., Wang, C., He, Z., Qin, Y., y Li, Y. 2022. Enhanced biomethanation of lipids by high-solid co-digestion with food waste: Biogas production and lipids degradation demonstrated by long-term continuous operation. *Bioresource Technology*, 348, 126750. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.126750>

Riffat, R., y Husnain, T. (2022). *Fundamentals of wastewater treatment and engineering* (2nd ed.). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781003134374>

Ryue, J., Lin, L., Kakar, F. L., Elbeshbishy, E., Al-Mamun, A., y Dhar, B. R. 2020. A critical review of conventional and emerging methods for improving process stability in thermophilic anaerobic digestion. *Energy for Sustainable Development*, 54, 72–84. <https://doi.org/10.1016/j.esd.2019.11.001>

Salama, E., Saha, S., Kurade, M. B., Dev, S., Chang, S. W., y Jeon, B. 2019. Recent trends in anaerobic co-digestion: Fat, oil, and grease (FOG) for enhanced biomethanation. *Progress in Energy and Combustion Science*, 70, 22–42. <https://doi.org/10.1016/j.pecs.2018.08.002>

Sanghamitra, P., Mazumder, D., y Mukherjee, S. 2021. Treatment of wastewater containing oil and grease by biological method- a review. *Journal of Environmental*

Science and Health, Part A, 56(4), 394–412. <https://doi.org/10.1080/10934529.2021.1884468>

Saravanan, A., Kumar, P. S., Jeevanantham, S., Karishma, S., Tajsabreen, B., Yaashikaa, P., y Reshma, B. 2021. Effective water/wastewater treatment methodologies for toxic pollutants removal: Processes and applications towards sustainable development. *Chemosphere*, 280, 130595. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130595>

Sarubbo, L. A., Maria da Gloria, C. S., Durval, I. J. B., Bezerra, K. G. O., Ribeiro, B. G., Silva, I. A., ... & Banat, I. M. (2022). Biosurfactants: Production, properties, applications, trends, and general perspectives. *Biochemical Engineering Journal*, 181, 108377.

Schenk, J. J., Becklund, L. E., Carey, S. J., y Fabre, P. P. 2023. What is the “modified” CTAB protocol? Characterizing modifications to the CTAB DNA extraction protocol. *Applications in Plant Sciences*, 11(3). <https://doi.org/10.1002/aps3.11517>

Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales [SEMARNAT]. 2020. Manual de Agua Potable, Alcantarillado y Saneamiento Introducción al tratamiento de aguas residuales municipales: SEMARNAT

Secretaria del Medio Ambiente y Recursos Naturales [SEMARNAT]. 2021. NOM-001-SEMARNAT-2021: Que establece los límites permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en cuerpos receptores propiedad de la nación: SEMARNAT

Selormey, G. K., Barnes, B., Kemausuor, F. y Darkwah, L. (2021). A review of anaerobic digestion of slaughterhouse waste: effect of selected operational and environmental parameters on anaerobic biodegradability. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 20(4), 1073-1086.

Shah, M. U. H., Sivapragasam, M., Moniruzzaman, M., & Yusup, S. B. (2016). A comparison of recovery methods of rhamnolipids produced by *Pseudomonas aeruginosa*. *Procedia engineering*, 148, 494-500.

Sihlangu, E., Luseba, D., Regnier, T., Magama, P., Chiyanzu, I., & Nephawe, K. A. (2024). Investigating methane, carbon dioxide, ammonia, and hydrogen sulphide content in agricultural waste during biogas production. *Sustainability*, 16(12), 5145.

Sikora, J., Niemiec, M., Szeląg-Sikora, A., Gródek-Szostak, Z., Kuboń, M. y Komorowska, M. (2020). The Effect of the Addition of a Fat Emulsifier on the Amount and Quality of the Obtained Biogas. *Energies*, 13(7), 1825.

Sikosana, M. L., Sikhwivhilu, K., Moutloali, R. M., y Madyira, D. M. 2019. Municipal wastewater treatment technologies: A review. *Procedia Manufacturing*, 35, 1018–1024. <https://doi.org/10.1016/j.promfg.2019.06.051>

Skipsts, E., Mezule, L. y Klaucans, E. (2022). Primary sludge from dairy and meat processing wastewater and waste from biomass enzymatic hydrolysis as resources in anaerobic digestion and co-digestion supplemented with biodegradable surfactants as process enhancers. *Energies*, 15(12), 4333.

Society of Cosmetic Chemists, & Society of Cosmetic Chemists (US). (1947). *Journal of the Society of Cosmetic Chemists* (Vol. 1). The Society.

Song, L., Ye, M., Wang, C., Ren, Y., Li, D., Ha, J. y Li, Y. Y. (2024). Methanogenic degradation of long-chain fatty acids associated with syntrophic microbial dynamics during thermophilic AnMBR treatment of lipid-rich dairy wastes. *Chemical Engineering Journal*, 498, 155702.

Sousa, D. Z., Smidt, H., Alves, M. M. y Stams, A. J. (2009). Ecophysiology of syntrophic communities that degrade saturated and unsaturated long-chain fatty acids. *FEMS microbiology ecology*, 68(3), 257-272.

Sperling, M. 2007. *Biological Wastewater Treatment Series: Wastewater Characteristics, Treatment and Disposal* (Vol. 1). IWA.

Strömberg, S., Nistor, M. y Liu, J. (2015). Early prediction of Biochemical Methane Potential through statistical and kinetic modelling of initial gas production. *Bioresource Technology*, 176, 233-241.

Sun, J., Zhang, Y., Pan, X. y Zhu, G. (2019). The effects of anionic and non-ionic surfactant on anaerobic co-digestion of sludge, food wastes and green wastes. *Environmental Technology*, 40(19), 2538-2547.

Sun, M., Shi, Z., Zhang, C., Zhang, Y., Zhang, S. y Luo, G. (2022). Novel long-chain fatty acid (LCFA)-degrading bacteria and pathways in anaerobic digestion promoted by hydrochar as revealed by genome-centric metatranscriptomics analysis. *Applied and Environmental Microbiology*, 88(16), e01042-22.

Sundaram, T., Govindarajan, R. K., Vinayagam, S., Krishnan, V., Nagarajan, S., Gnanasekaran, G. R., ... & Rajamani Sekar, S. K. (2024). Advancements in biosurfactant production using agro-industrial waste for industrial and environmental applications. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1357302.

Szabo-Corbacho, M. A., Sharma, P., Míguez, D., de la Sovera, V., Brdjanovic, D., Etchebehere, C., y van Lier, J. B. (2024). Inhibitory effects of long chain fatty acids on anaerobic sludge treatment: Biomass adaptation and microbial community assessment. *Environmental Technology & Innovation*, 33, 103529.

Szabo-Corbacho, M. A., Sharma, P., Míguez, D., de la Sovera, V., Brdjanovic, D., Etchebehere, C. y van Lier, J. B. (2024). Inhibitory effects of long chain fatty acids on

anaerobic sludge treatment: Biomass adaptation and microbial community assessment. *Environmental Technology & Innovation*, 33, 103529.

Tacias-Pascacio, V. G., Rosales-Quintero, A., y Torrestiana-Sánchez, B. (2016). Evaluación y caracterización de grasas y aceites residuales de cocina para la producción de biodiésel: un caso de estudio. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 32(3), 303-313.

Tanguay-Rioux, F., Spreutels, L., Roy, C. y Frigon, J. C. (2023). Assessment of the feasibility of converting the liquid fraction separated from fruit and vegetable waste in a UASB digester. *Bioengineering*, 11(1), 6.

Thanasukarn, P., Pongsawatmanit, R., & McClements, D. J. (2004). Influence of emulsifier type on freeze-thaw stability of hydrogenated palm oil-in-water emulsions. *Food Hydrocolloids*, 18(6), 1033-1043.

Theuerl, S., Klang, J., y Prochnow, A. (2019). Process disturbances in agricultural biogas production—Causes, mechanisms and effects on the biogas microbiome: A review. *Energies*, 12(3), 365.

Tian, L., Liu, Y., Qiu, W., Fan, G., Pan, C. y Cheng, Q. (2024). Effects of surfactants on the anaerobic digestion of food waste. *Environmental Engineering Science*, 41(9), 367-376.

Uddin, M. M., & Wright, M. M. (2023). Anaerobic digestion fundamentals, challenges, and technological advances. *Physical Sciences Reviews*, 8(9), 2819-2837.

Usman, M., Zha, L., Abomohra, A. E. F., Li, X., Zhang, C. y Salama, E. S. (2020). Evaluation of animal-and plant-based lipidic waste in anaerobic digestion: kinetics of long-chain fatty acids degradation. *Critical Reviews in Biotechnology*, 40(6), 733-749.

Usman, M., Zhao, S., Jeon, B. H., Salama, E. S., y Li, X. (2022). Microbial β -oxidation of synthetic long-chain fatty acids to improve lipid biomethanation. *Water Research*, 213, 118164.

Vasiliadou, I. A., Gioulounta, K. y Stamatelatou, K. (2023). Production of biogas via anaerobic digestion. In *Handbook of Biofuels Production* (pp. 253-311). Woodhead Publishing.

Wade, M. J. (2020). Not just numbers: Mathematical modelling and its contribution to anaerobic digestion processes. *Processes*, 8(8), 888.

Walid, F., El Fkihi, S., Benbrahim, H. y Tagemouati, H. (2021). Modeling and optimization of anaerobic digestion: a review. In *E3S Web of Conferences* (Vol. 229, p. 01022). EDP Sciences.

- Wallace, T., Gibbons, D., O'Dwyer, M., y Curran, T. P. 2017. International evolution of fat, oil and grease (FOG) waste management – A review. *Journal of Environmental Management*, 187, 424–435. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.11.003>
- Wang, D., Ai, J., Shen, F., Yang, G., Zhang, Y., Deng, S. y Song, C. (2017). Improving anaerobic digestion of easy-acidification substrates by promoting buffering capacity using biochar derived from vermicompost. *Bioresource technology*, 227, 286-296.
- Wang, Y., Zhou, X., Dai, B. y Zhu, X. (2021). Surfactant rhamnolipid promotes anaerobic codigestion of excess sludge and plant waste. *Water Science and Technology*, 84(9), 2519-2529.
- Weber, S. (2024). Modeling key intermediates during anaerobic digestion of lipid rich kitchen waste with an extended ADM1. *Biodegradation*, 35(5), 701-717.
- Wu, D., Li, L., Zhao, X., Peng, Y., Yang, P., y Peng, X. (2019). Anaerobic digestion: A review on process monitoring. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 103, 1-12.
- Xu, F., Li, Y., Ge, X., Yang, L. y Li, Y. (2018). Anaerobic digestion of food waste– Challenges and opportunities. *Bioresource technology*, 247, 1047-1058.
- Yamamoto, Y., & Misawa, R. (2018). Effect of emulsifier concentration on the oxidation of an O/W emulsion prepared from canola oil. *Food and Nutrition Sciences*, 9(6), 683-692.
- Yan, Y. J., Li, X., Lu, C. S., Kobayashi, T., Zhen, G. Y. y Hu, Y. (2023). A review on start-up phase optimization of kitchen waste anaerobic digestion. *Fermentation*, 9(7), 603.
- Yu, M., Liu, S., Li, G., Zhang, H., Xi, B., Tian, Z., Yuan, Z., y He, X. 2020. Municipal wastewater effluent influences dissolved organic matter quality and microbial community composition in an urbanized stream. *Science of the Total Environment*, 705, 135952. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135952>
- Yu, Q., Feng, L. y Zhen, X. (2021). Effects of organic loading rate and temperature fluctuation on the microbial community and performance of anaerobic digestion of food waste. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(11), 13176-13187.
- Zainal, A., Harun, R. y Idrus, S. (2022). Performance monitoring of anaerobic digestion at various organic loading rates of commercial Malaysian food waste. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 10, 775676.
- Zhang, W., Li, L., Xing, W., Chen, B., Zhang, L., Li, A. y Yang, T. (2019). Dynamic behaviors of batch anaerobic systems of food waste for methane production under different organic loads, substrate to inoculum ratios and initial pH. *Journal of bioscience and bioengineering*, 128(6), 733-743.

Zhao, J., Li, Y. y Euverink, G. J. W. (2022). Effect of bioaugmentation combined with activated charcoal on the mitigation of volatile fatty acids inhibition during anaerobic digestion. *Chemical Engineering Journal*, 428, 131015.

Zhao, P., Liu, Y., Dou, C., Zhu, N., Wan, P. y Wang, X. (2021). Study on the characteristics of dissolution and acid production in waste activated sludge: Focusing on the pretreatment of thermal-alkali with rhamnolipid. *Bioresource technology*, 327, 124796.

Zhao, S., Li, H., Wang, Q., Liu, R., Lai, X., Sumpradit, T. y Qu, J. (2024). Eliminated high lipid inhibition in the anaerobic digestion of food waste for biomethane production by engineered *E. coli* with cell surface display lipase. *Journal of Environmental Management*, 370, 123037.

Zhou, X., Lu, Y., Huang, L., Zhang, Q., Wang, X. y Zhu, J. (2021). Effect of pH on volatile fatty acid production and the microbial community during anaerobic digestion of Chinese cabbage waste. *Bioresource Technology*, 336, 125338.

Zhu, L. y Cheng, K. (2024). Enhanced biogas production efficiency of kitchen waste by anaerobic co-digestion and pretreatment. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 14(20), 24949-24962.

Zia, M., Ahmed, S. y Kumar, A. (2022). Anaerobic digestion (AD) of fruit and vegetable market waste (FVMW): potential of FVMW, bioreactor performance, co-substrates, and pre-treatment techniques. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 12(8), 3573-3592.