

UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

Programa de doctorado: Biociencias y ciencias agroalimentarias

Título de la tesis (español e inglés):

Tratamiento de residuos orgánicos industriales y hortofrutícolas mediante biometanización

Treatment of organic industrial and horticultural waste through biomethanization

Director/Directores:

María de los Ángeles Martín Santos

José Ángel Siles López

Autor de la tesis:

Aida Gil Ruiz

Fecha de depósito tesis en el Idep: 25 de octubre de 2018

TITULO: *TRATAMIENTO DE RESIDUOS ORGÁNICOS INDUSTRIALES Y
HORTOFRUTÍCOLAS MEDIANTE BIOMETANIZACIÓN*

AUTOR: *Aida Gil Ruiz*

© Edita: UCOPress. 2018
Campus de Rabanales
Ctra. Nacional IV, Km. 396 A
14071 Córdoba

<https://www.uco.es/ucopress/index.php/es/>
ucopress@uco.es



UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA
FACULTAD DE CIENCIAS
Departamento de Química Inorgánica e Ingeniería Química

*“Tratamiento de residuos orgánicos industriales y
hortofrutícolas mediante biometanización”*

*“Treatment of organic industrial and horticultural waste
through biomethanization”*

Tesis Doctoral presentada por

Aida Gil Ruiz

Noviembre de 2018



TÍTULO DE LA TESIS: TRATAMIENTO DE RESIDUOS ORGÁNICOS INDUSTRIALES Y HORTOFRUTÍCOLAS MEDIANTE BIOMETANIZACIÓN

DOCTORANDA: AIDA GIL RUIZ

INFORME RAZONADO DE LOS DIRECTORES DE LA TESIS

(se hará mención a la evolución y desarrollo de la tesis, así como a trabajos y publicaciones derivados de la misma).

La doctoranda Aída Gil Ruiz, viene participando desde el curso 2011-2012, en calidad de Colaboradora Honoraria, con gran interés y dedicación en las tareas propias del grupo de investigación RNM-271 Ingeniería Química, de la Universidad de Córdoba. Durante este periodo ha desarrollado sus cualidades personales y laborales, tanto de forma individual como con el equipo de trabajo con el que diariamente ha compartido éxitos y sin sabores de la investigación. Ha mostrado muy buenas cualidades tanto en investigación como en tareas docentes, ya que ha colaborado activamente en la impartición de prácticas de laboratorio a alumnos de los Grados de Ciencias Ambientales y Ciencia y Tecnología de los Alimentos, así como divulgación de la ciencia entre los alumnos de Bachillerato, con gran habilidad.

Desde su comienzo, abordó las etapas de: recopilación de información bibliográfica, toma de datos de laboratorio, discusión de los resultados y redacción de los informes y publicaciones científicas correspondientes.

Todos los artículos incluidos en su Tesis Doctoral tienen un eje común, el tratamiento y valorización energética de residuos orgánicos de elevada carga contaminante (lodo de depuradora y residuos lignocelulósicos de invernadero), mediante biometanización individual o combinada. Ello permite la obtención de biogás con aplicación como combustible. La calidad de las publicaciones científicas está contrastada con los indicios de calidad – índice de impacto, posición de la revista dentro de las diferentes categorías – situándose cinco de ellos dentro del primer cuartil en las revistas del SCI y tres en el tercero. En la actualidad, cinco ellos se encuentran ya publicados, como se detalla a continuación:

- Gil, A., Toledo, M., Siles, J.A., Martín, M.A., 2018. **Multivariate analysis and biodegradability test to evaluate different organic wastes for biological processes**. Waste Management, 78, 819-828. Impact factor (2017): 4.723. Journal position on list of the corresponding fields: 25/241 (Environmental Sciences).
- Gil, A., Siles, J.A., Márquez, P., Gutiérrez, M.C., Martín, M.A., 2017. **Optimizing the selection of organic waste for biomethanization**. Environmental Technology (*In press*). Impact factor (2017): 1.666. Journal position on list of the corresponding fields: 143/241 (Environmental Sciences).

- Gil, A., Siles, J.A., Serrano, A., Chica, A.F., Martín, M.A., 2018. **Effect of variation in the C/[N+P] ratio on anaerobic digestion.** Environmental Progress & Sustainable Energy (*In press*). Impact factor (2017): 1.326. Journal position on list of the corresponding fields: 83/137 (Engineering Chemical).
- Gil, A., Siles, J.A., Toledo, M., Martín, M.A. **Effect of microwave pretreatment on centrifuged and floated sewage sludge derived from WWTP.** Renewable Energy, (Under review). Impact factor (2017): 4.900. Journal position on list of the corresponding fields: 7/33 (Green and Sustainable Science and Technology).
- Gil, A., Siles, J.A., Martín, M.A., Chica, A.F., Estévez-Pastor, F., Toro-Baptista, E., 2018. **Effect of microwave pretreatment on semi-continuous anaerobic digestion of sewage sludge.** Renewable Energy, 115, 917-925. Impact factor (2017): 4.900. Journal position on list of the corresponding fields: 7/33 (Green and Sustainable Science and Technology).
- Gil, A., Siles, J.A., Serrano, A., Martín, M.A., 2015. **Mixture optimization of anaerobic co-digestion of tomato and cucumber waste.** Environmental Technology, 36, 2628-2636. Impact factor (2015): 1.760. Journal position on list of the corresponding fields: 113/225 (Environmental Sciences).
- Gil, A., Siles, J.A., Gutiérrez, M.C., Martín, M.A. **Evaluation of physicochemical pretreatment of tomato plant for anaerobic digestion.** Waste Management (Under review). Impact factor (2017): 4.723. Journal position on list of the corresponding fields: 25/241 (Environmental Sciences).
- Hamraoui, K., Gil, A., El Bari, H., Siles, J.A., Chica, A.F., Martín, M.A. **Evaluation of hydrothermal pretreatment for biological treatment of lignocellulosic feedstock (pepper plant and eggplant).** Waste Management (Under review). Impact factor (2017): 4.723. Journal position on list of the corresponding fields: 25/241 (Environmental Sciences).

Además de los artículos anteriormente citados, la doctoranda ha realizado y participado en otros trabajos científicos, que han concluido en la publicación de otros 2 artículos adicionales, ambos recogidos en revistas del JCR especializadas en los temas expuestos y nuevamente relacionados con el tratamiento y gestión de residuos sólidos y líquidos.

- Hungría, J., Siles, J.A., Gil, A., Gutiérrez, M.C., Martín, M.A. **Revalorization of grape marc waste from liqueur wine: biomethanization.** Renewable Energy (Under review). Impact factor (2017): 4.900. Journal position on list of the corresponding fields: 7/33 (Green and Sustainable Science and Technology).
- Belhadj, S., Joute, Y., El Bari, H., Serrano, A., Gil, A., Siles, J.A., Chica, A.F., Martín, M.A., 2014. **Evaluation of the anaerobic co-digestion of sewage sludge and tomato waste at mesophilic temperature.** Applied Biochemistry and Biotechnology, 172, 3862–3874. Impact factor (2014): 1.735. Journal position on list of the corresponding fields: 97/163 (Biotechnology and Applied Microbiology).

Todos estos artículos han podido realizarse gracias a la financiación recibida del Ministerio de Educación, Cultura y Deporte (beca FPU2013), así como de los

proyectos de investigación CTM2011-26350, del Ministerio de Ciencia e Innovación CTQ2014-60050R y del Ministerio de Economía y Competitividad CTM2017-88723R.

Adicionalmente, la doctoranda ha participado en los siguientes contratos Universidad-empresa realizados a ex profeso para el estudio del tratamiento de los residuos y subproductos estudiados en su Tesis Doctoral, así como en investigaciones paralelas desarrolladas por el grupo:

- Co-digestión de fangos de EDAR mediante tecnología ATAD (CoDAAT). Abengoa Water-Abengoa Research, 01/07/2015-31/10/2016.
- Efecto del pretratamiento con microondas sobre el proceso de digestión anaerobia de lodos activos en exceso procedentes de estaciones depuradoras de aguas residuales: estudios en régimen semicontinuo a escalas de laboratorio y piloto. EMASESA, 21/01/2014-24/03/2015.
- Diseño de nuevas tecnologías para la aplicación de bio-agro-insumos en la producción agrícola sostenible en Andalucía (NNTT ABIOAGRIN). Biomasa Peninsular S.A., 30/05/2010-31/07/2013.
- Acondicionamiento y reutilización de lodos procedentes de depuradoras de aguas residuales de la provincia de Córdoba. EMPROACSA, 08/10/2010-31/12/2014.

La doctoranda ha realizado una estancia de investigación en Verona (Italia) que le ha permitido la realización de la Tesis en la modalidad de Doctorado Internacional:

- **Universidad de Verona, Departamento de Biotecnología, Verona (Italia), (septiembre-diciembre 2016):** Estancia de investigación en la sección *Biotecnología*. Investigación sobre digestión anaerobia de residuos orgánicos.

El desarrollo de los distintos estadios realizados de los que ha estado compuesta la investigación, ha estado acompañado de doce **comunicaciones a congresos** (6 orales y 6 posters), tanto en congresos nacionales como internacionales, relacionadas directamente con la temática de la Tesis Doctoral.

En conclusión, dada la trayectoria de la doctoranda, los directores informamos muy favorablemente la labor realizada.

Por todo ello, se autoriza la presentación de la Tesis Doctoral.

Córdoba, a 22 de octubre de 2018.

Firma de los directores

Fdo.: Dra. María de los Ángeles Martín Santos

Fdo.: Dr. José Ángel Siles López

*Tratamiento de residuos orgánicos industriales y hortofrutícolas
mediante biometanización*

LOS DIRECTORES,



Fdo.: Dra. María de los Ángeles Martín Santos

Catedrática de Universidad.
Departamento de Química Inorgánica e
Ingeniería Química, Área de Ingeniería
Química, de la Universidad de Córdoba



Fdo.: Dr. José Ángel Siles López

Profesor Titular de Universidad.
Departamento de Química Inorgánica e
Ingeniería Química, Área de Ingeniería
Química, de la Universidad de Córdoba

Trabajo presentado para aspirar al grado de Doctor

LA DOCTORANDA,



Fdo.: Aida Gil Ruiz

Licenciada en Ciencias Ambientales
por la Universidad de Córdoba



UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA
FACULTAD DE CIENCIAS
Departamento de Química Inorgánica e Ingeniería Química

Los Doctores: María de los Ángeles Martín Santos, Catedrática de Ingeniería Química, José Ángel Siles López, Profesor Titular de Universidad,

CERTIFICAN:

Que la Tesis Doctoral: *“Tratamiento de residuos orgánicos industriales y hortofrutícolas mediante biometanización”* se ha realizado bajo nuestra dirección en los laboratorios de este departamento por la Licenciada en Ciencias Ambientales D^a. Aida Gil Ruiz y reúne los requisitos vigentes, por lo que autorizamos su presentación y posterior defensa pública.

Córdoba, 23 de octubre de 2018

Fdo.: Dra. María de los Ángeles Martín Santos

Fdo.: Dr. José Ángel Siles López



UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA
FACULTAD DE CIENCIAS
Departamento de Química Inorgánica e Ingeniería Química

Dr. Isidoro García García, Director del Departamento de Química Inorgánica e Ingeniería Química, de la Universidad de Córdoba,

CERTIFICA:

Que la Tesis Doctoral titulada *“Tratamiento de residuos orgánicos industriales y hortofrutícolas mediante biometanización”* se ha realizado en el Departamento de Química Inorgánica e Ingeniería Química de la Universidad de Córdoba, por la Licenciada en Ciencias Ambientales D^a. Aida Gil Ruiz y reúne los requisitos vigentes, por lo que autorizamos su presentación y posterior defensa pública.

Córdoba, 23 de octubre de 2018

Isidoro García

Fdo.:Dr. Isidoro García García

Mediante la defensa de esta Memoria, se pretende optar a la **obtención del Doctorado Internacional**, habida cuenta que la Doctoranda reúne los requisitos exigidos para tal mención:

1. Se cuenta con los informes favorables de dos doctores pertenecientes a Instituciones de reconocido prestigio de países diferentes al país en el que se ha realizado la estancia.
2. En el Tribunal que ha de evaluar la Tesis Doctoral, existe un miembro de un Centro de Enseñanza Superior o de Investigación de otro país.
3. Parte de la defensa de la Tesis Doctoral se realizará en la lengua oficial de otro país.
4. La doctoranda ha realizado una estancia de investigación de tres meses de duración en el Departamento de Biotecnología (Università degli studi di Verona, Italia), gracias a la concesión de una ayuda para estancias en el extranjero asociada a una beca movilidad para la internacionalización de la Tesis por parte de la Universidad de Córdoba y a la financiación recibida mediante la beca FPU (FPU2013-003)
5. La Tesis consta de cinco artículos aceptados definitivamente en revistas con índice de impacto.

Agradecimientos/Acknowledgements

Esta Tesis Doctoral está llena de mucho más que resultados reflejados en artículos, ha sido un camino largo y difícil, los obstáculos han estado presentes de diferentes formas, pero gracias a las personas que han estado a mí alrededor de una forma u otra han hecho que esto haya llegado a ser posible, gracias a todos.

A mis directores, gracias M^a Ángeles Martín y José Ángel Siles, gracias por todo lo que me habéis enseñado, gracias por la paciencia infinita y comprensión que me habéis mostrado en muchas ocasiones, de no haber sido así no hubiese llegado hasta aquí.

Pero no solo es fundamental la dedicación de los directores para llegar hasta el final de esta etapa. No sé qué hubiese sido de mí sin mis compañer@s, gracias a todos por el conocimiento compartido, por la ayuda prestada y aceptada, por las lágrimas, los “resoplidos” y por las risas que han sido muchas y muy buenas, gracias por estar ahí. Ha sido un privilegio haber estado rodeada de personas como vosotr@s. No es posible estar siempre de acuerdo en todo, momentos de pataleta también han estado presentes, pero aun así, con perspectiva se pude llegar a comprender y aprender de todo lo sucedido. Gracias Inmaculada Bellido, compañera y amiga, no existen palabras para poder expresar mi agradecimiento hacia ti, profesional y personalmente, muchos momentos vividos, malos y buenos, todos ellos me los llevo, porque de una forma u otra nos hacen crecer como persona. A mis compañer@s, Marisa López, Manuel Toledo, Pedro Márquez, Javier Reyes, Javier Hungría, M^a Carmen Gutiérrez y Antonio Serrano, con todos vosotros he compartido distintos momentos de este camino, todos me habéis aportado algo y de todos he aprendido, muchas vivencias, muchos momentos, amistad, gracias a tod@s. Mi agradecimiento al resto de miembros del Área de Ingeniería Química.

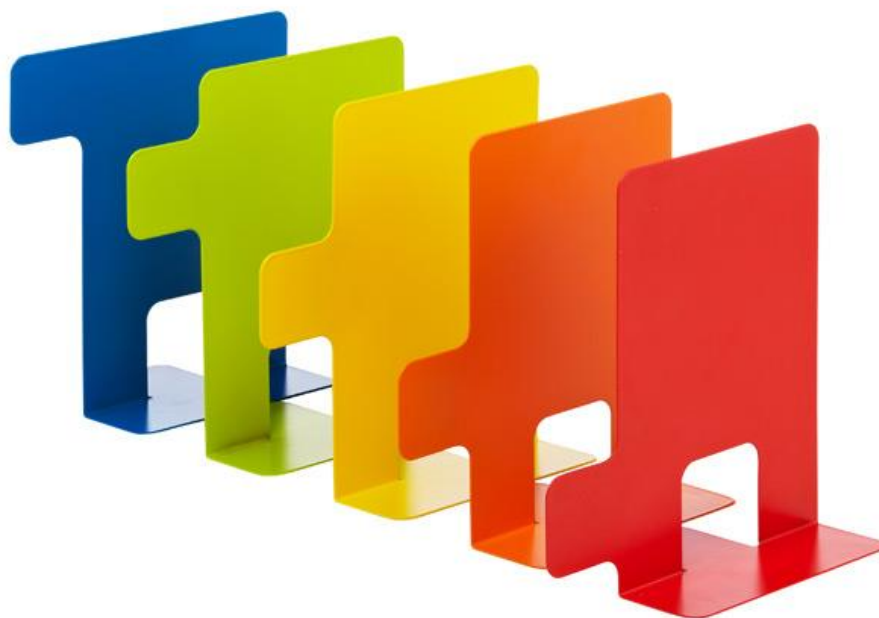
Special thanks should be given to David Bolzonella for his help during my research stay in the Laboratory of Biotechnology Department (Universitat Stigili di Verona, Italia). I am also grateful to others colleagues for their kindness, especially to Natalia.

A mi madre y a mi hija Alba

“La ignorancia afirma o niega rotundamente; la ciencia duda”

Voltaire

ÍNDICE/INDEX



	Página/Page
Resumen y objetivos/Abstract and aims	1
1. Introducción	9
1.1. Residuos de origen hortofrutícola	14
1.2. Lodos de depuradora	18
1.3. Mejora de la biodegradabilidad de sustratos orgánicos: Pretratamientos	22
1.4. La digestión anaerobia	26
1.4.1. Ventajas e inconvenientes de la digestión anaerobia	27
1.4.2. Co-digestión anaerobia	30
1.4.3. Microbiología y bioquímica de la digestión anaerobia	32
1.4.3.1. Etapa de hidrólisis-acidogénesis	34
1.4.3.2. Etapa de acetogénesis	35
1.4.3.3. Etapa de homoacetogénesis	36
1.4.3.4. Etapa de metanogénesis	36
1.4.4. Factores que afectan a la digestión anaerobia	39
1.4.4.1. Efecto del oxígeno	39
1.4.4.2. Efecto de la temperatura	39
1.4.4.3. Efecto de la agitación	40
1.4.4.4. Efecto del pH	41
1.4.4.5. Efecto de la alcalinidad	42
1.4.4.6. Efecto de la acidez volátil	43

1.4.4.7. Nutrientes	43
1.4.4.8. Factores orgánicos de crecimiento	44
1.4.4.9. Sustancias inhibitorias de la digestión anaerobia	44
1.4.4.10. Velocidad de carga orgánica (VCO)	47
1.4.4.11. Tiempo de residencia	47
1.5. Referencias	49
2. Materiales y métodos	63
2.1. Equipo de digestión anaerobia	63
2.1.1. Digestor anaerobio	63
2.1.2. Sistema de agitación	64
2.1.3. Sistema de absorción de dióxido de carbono	64
2.1.4. Sistema de medida de metano	64
2.2. Dispositivos para el pretratamiento de los residuos	67
2.2.1. Pretratamiento hidrotérmico	67
2.2.2. Pretratamiento con microondas	68
2.3. Métodos analíticos	69
2.3.1. pH	70
2.3.2. Alcalinidad (Alc)	70
2.3.3. Acidez volátil (AV)	71
2.3.4. Sólidos totales (ST)	72
2.3.5. Sólidos minerales (SM)	73

2.3.6. Sólidos volátiles (SV)	74
2.3.7. Demanda química de oxígeno total y soluble (DQO _{total} y DQO _{soluble})	74
2.3.8. Carbono total (CT), carbono inorgánico (CI) y carbono orgánico total (COT) solubles	75
2.3.9. Nitrógeno total soluble (NTS)	76
2.3.10. Nitrógeno total (N-NT)	77
2.3.11. Nitrógeno total Kjeldahl (N-NTK)	78
2.3.12. Nitrógeno amoniacal (N-NH ₄ ⁺)	78
2.3.13. Fósforo	79
2.3.14. Perfil de ácidos orgánicos volátiles (AOV)	81
2.3.15. Composición del biogás	82
2.3.16. Determinación del poder calorífico superior	83
2.3.17. Análisis elemental (CHN - S)	83
2.4. Determinación de variables respirométricas	85
2.5. Software	88
2.6. Referencias	88
Bloque I. Evaluación de diferentes residuos como materias primas para el proceso de digestión anaerobia/ Section I. Evaluation of different wastes as raw materials for the anaerobic digestion process	91
I.I. Breve descripción del artículo “Multivariate analysis and biodegradability test to evaluate different organic wastes for biological treatments: Anaerobic co-digestion and co-composting”	93

I.I.1. Multivariate analysis and biodegradability test to evaluate different organic wastes for biological treatments: Anaerobic co-digestion and co-composting	95
I.II. Breve descripción del artículo “Optimizing the selection of organic waste for biomethanization”	125
I.II.1. Optimizing the selection of organic waste for biomethanization	127
I.III. Breve descripción del artículo “Effect of variation in the C/[N+P] ratio on anaerobic digestion	153
I.III.1. Effect of variation in the C/[N+P] ratio on anaerobic digestion	155
Bloque II. Lodos de estación de depuradora de aguas residuales (EDAR)/Section II. Sewage sludge derived from wastewater treatment plant (WWTP)	181
II.IV. Breve descripción del artículo “Effect of microwave pretreatment on centrifuged and floated sewage sludge derived from WWTP”	183
II.IV.1. Effect of microwave pretreatment on centrifuged and floated sewage sludge derived from WWTP	185
II.V. Breve descripción del artículo “Effect of microwave pretreatment on semi-continuous anaerobic digestion of sewage sludge”	209
II.V.1. Effect of microwave pretreatment on semi-continuous anaerobic digestion of sewage sludge	211
Bloque III. Gestión de residuos vegetales procedentes del cultivo en invernadero/Section III. Management of vegetable waste derived from greenhouse cultivation	233
III.VI. Breve descripción del artículo “Mixture optimization of anaerobic co-digestion of tomato and cucumber waste”	235

III.VI.1. Mixture optimization of anaerobic co-digestion of tomato and cucumber waste	237
III.VII. Breve descripción del artículo “Evaluation of physicochemical pretreatment of tomato plant for anaerobic digestion”	259
III.VII.1. Evaluation of physicochemical pretreatment of tomato plant for anaerobic digestion	261
III.VIII. Breve descripción del artículo “Evaluation of hydrothermal pretreatment for biological treatment of lignocellulosic feedstock (pepper plant and eggplant)”	281
III.VIII.1. Evaluation of hydrothermal pretreatment for biological treatment of lignocellulosic feedstock (pepper plant and eggplant)	283
Conclusiones/Conclusions	309
Producción científica de la Tesis Doctoral/Scientific production of the PhD Thesis	315

RESUMEN Y OBJETIVOS/ABSTRACT AND AIMS



Resumen y objetivos

Un problema que sufre cada vez más la sociedad es la generación de residuos de diferente naturaleza. La legislación trata, a diferentes niveles, de que se alcance una gestión más adecuada y sostenible, al menos en las sociedades menos industrializadas. Pero además de las obligaciones impuestas por las normativas existentes a este respecto, la concienciación sobre este problema está generando el cambio en los sistemas de producción, invirtiendo cada vez más para alcanzar un sistema coherente con el concepto de economía circular, una apuesta por cerrar los ciclos productivos en cuanto a flujos de materia y energía se refiere. Una alternativa para conseguir dichos objetivos es la valorización energética de los residuos derivados de la actividad productiva y de este modo utilizar la energía obtenida para el autoconsumo energético de las propias instalaciones. En este contexto, la digestión anaerobia es una tecnología ampliamente implantada para el tratamiento y valorización energética de residuos orgánicos biodegradables.

Este tipo de residuos presenta diferentes características fisicoquímicas, puntos de generación y periodos de producción. En muchas ocasiones, el coste de implantación de un sistema de tratamiento de una única fuente de generación de residuos es inviable, excepto en el caso de los residuos municipales. Por ello, y partiendo de la premisa de que este estudio todos se ha centrado en posibles mejoras del proceso de digestión anaerobia, ofreciendo información sobre las mismas y así, posibilitar su implantación, en la memoria se recogen distintas vertientes o frentes de actuación: Caracterización y optimización de la concentración de nutrientes en el sustrato orgánico a biometanizar, pretratamientos que aceleren el proceso, incrementando el rendimiento energético en forma de metano, así como la optimización de posibles combinaciones o mezclas de sustancias residuales.

La evaluación teórica de la viabilidad de la biometanización de residuos orgánicos es un paso fundamental para su posterior estudio experimental. Así, la creación de herramientas que combinen la caracterización físico-química con la estadística, permitirían un análisis multivariante poco

aplicado a un proceso biológico con alto componente de inercia en el sistema, facilidad en cuanto a su desestabilización y requerimiento de personal más o menos cualificado para su mantenimiento y alto coste inicial en su implantación.

Los balances de materia aplicados a nutrientes fundamentales (DQO, N y P) y los análisis multivariantes, Análisis de Componentes Principales (ACP) y el Análisis de Clústers (AC), basados en una primera caracterización físico-química de las materias residuales a biodegradar anaerobiamente, han permitido realizar una primera evaluación sobre las posibilidades de codigestión de diferentes residuos, ya sea por compensación del balance de dichos nutrientes, por agrupamiento entre residuos o por predominancia de alguno de ellos. La búsqueda de una mezcla más adecuada en sus proporciones para el arranque de un digestor o para su posterior mantenimiento se hace posible gracias a las herramientas presentadas en las publicaciones científicas incluidas en este documento (**Gil et al.**, 2018. Multivariate analysis and biodegradability test to evaluate different organic wastes for biological processes. *Waste Management*, 78, 819-828).

Tener en cuenta diferentes residuos que se produzcan en una misma área geográfica y que puedan ser susceptibles de ser tratados mediante codigestión podría resultar interesante tanto para su gestión, como su valorización. Esta alternativa aportaría sostenibilidad económica en sus tres vertientes a la zona de implantación, objetivo perseguido por todos los planes nacionales y europeos de mejora económica y ambiental (**Gil et al.**, 2017. Optimizing the selection of organic waste for biomethanization. *Environmental Technology (In press)*; **Gil et al.**, 2015. Mixture optimization of anaerobic co-digestion of tomato and cucumber waste. *Environmental Technology*, 36, 2628-2636).

Siendo el correcto balance de nutrientes una cuestión fundamental para el metabolismo microbiano y generación de productos (CO₂ y CH₄ preferiblemente), es conocido el efecto tóxico del nitrógeno, a elevadas concentraciones, sobre el metabolismo de los distintos grupos tróficos que intervienen en la cadena de reacciones de transformación de las macromoléculas contenidas en los sustratos residuales por la microbiota anaerobia. Sin embargo, el efecto que el aporte de P puede

provocar en el proceso no es tan conocido, solo que es necesario en menor concentración que los demás nutrientes. Dado que las sustancias orgánicas residuales no suelen estar compuestas a expreso con las concentraciones óptimas para su valorización mediante la biometanización, se ha considerado como una cuestión de interés la evaluación del efecto que sobre el proceso (generación de metano, estabilidad y cinética) provocan diferentes opciones en el aporte de N y P simultáneamente, respecto del contenido en materia carbonosa del residuo a tratar (**Gil et al.**, 2018. Effect of variation in the C/[N+P] ratio on anaerobic digestion. *Environmental Progress & Sustainable Energy (In press)*).

Por otra parte, la existencia de residuos cuya biodegradabilidad es baja, pero cuyo tratamiento mediante digestión anaerobia es conveniente, pone de manifiesto la necesidad de ampliar los estudios de aplicación de pretratamiento/s que mejoren esta situación. Así, la evaluación de pretratamientos que permitan mejorar la solubilización del C y N contenidos en los residuos, puede resultar de gran interés para mejorar su posterior tratamiento mediante digestión anaerobia. La biodisponibilidad de los nutrientes conlleva la reducción del tiempo que la etapa de solubilización e hidrólisis de la materia orgánica a tratar requiere. Por ello, se ha evaluado el pretratamiento con microondas del lodo de las estaciones depuradoras de aguas residuales, ya sea el lodo flotado o lodo centrifugado, evaluando la conveniencia de su aplicación y posterior influencia sobre el test de biodegradación anaerobia. Con ello se estudia adicionalmente la posibilidad de transportar el lodo a otro punto geográfico distinto del lugar de generación, donde se encuentre implantado un sistema de tratamiento anaerobio (**Gil et al.** Effect of microwave pretreatment on centrifuged and floated sewage sludge derived from WWTP. *Renewable Energy (Under review)*; **Gil et al.**, 2018. Effect of microwave pretreatment on semi-continuous anaerobic digestion of sewage sludge. *Renewable Energy*, 115, 917-925).

Finalmente, dado que los pretratamientos energéticos parecen ser siendo los más adecuados cuando en una etapa posterior se aplican tratamientos biológicos, se han realizado estudios

adicionales sobre la combinación de un pretratamiento hidrotérmico con la digestión anaerobia de residuos vegetales con elevado contenido lignocelulósico (**Gil et al.** Evaluation of physicochemical pretreatment of tomato plant for anaerobic digestion. Waste Management (*Under review*); **Hamraoui et al.** Evaluation of hydrothermal pretreatment for biological treatment of lignocellulosic feedstock (pepper plant and eggplant). Waste Management (*Under review*)).

Los resultados presentados en esta Tesis Doctoral han supuesto un avance significativo en el contexto de la gestión de los residuos biodegradables, ya que han permitido aportar soluciones a un problema de gran relevancia en la sociedad actual, con los consecuentes beneficios ambientales y sociales que una mejora en el tratamiento de los mismos puede conllevar.

Abstract and aims

A problem that increasingly affects society is the generation of different types of waste. The legislation deals with the achievement of more adequate and sustainable management at different levels. But, in addition to the obligations imposed by existing regulations in this regard, awareness of this problem has led to changes in the production systems, investing more resources to achieve a system consistent with the concept of circular economy. This concept is a commitment to close the productive cycles in terms of matter and energy flows. An alternative to achieve these objectives is the energy recovery from waste generated in industrial productive activities and, thus to, use the energy obtained for self-consumption in the facilities themselves. In this context, anaerobic digestion is a widely implemented technology for energy recovery and treatment of biodegradable organic waste.

Such type of waste may have different physico-chemical characteristics, generation points and production periods. In many cases, the cost of implementing a treatment system from a single source of waste generation is unviable, except in the case of municipal waste. Starting from the premise that all the objectives of this PhD Thesis focus on possible improvements in the anaerobic digestion, offering relevant information about them and, thus, making possible their implementation, different fronts for action have been considered: Characterization and optimization of the concentration of nutrients in organic substrates to be biomethanized, application of pretreatments to accelerate the biodegradation process and to increase its energy efficiency in the form of methane, and the optimization of possible combinations or mixtures .

The theoretical evaluation of the viability of organic waste biomethanization is a fundamental step for further experimental studies. Thus, using of tools that combine physico-chemical characterization with statistics would allow carrying out a multivariate analysis, which has been scarcely applied to a biological process with high inertia component, can be easily destabilized, and requires qualified personnel for maintenance and high initial implementation cost.

The application of mass balances to several fundamental nutrients (COD, N and P) and multivariate analysis such as Principal Component Analysis (PCA) and Cluster Analysis (CA),

based on a first physical-chemical characterization of waste materials to be biodegraded anaerobically, have allowed performing a first evaluation of co-digesting different residual substrates, either by compensating the balance of such nutrients, by grouping residues or by predominance of some of them. The search for a suitable mixture in terms of waste proportions for starting a digester or for its subsequent maintenance has been possible thanks to the tools presented in the scientific publications included in this PhD Thesis (**Gil et al.**, 2018. Multivariate analysis and biodegradability test to evaluate different organic wastes for biological processes. *Waste Management*, 78, 819-828).

Anaerobic co-digestion of different wastes generated in the same geographical might be interesting both for waste management and valorization. Co-digestion would provide economic sustainability, in its three aspects, to the area of implementation, which is an objective pursued by all national and European plans for economic and environmental improvement (**Gil et al.**, 2017. Optimizing the selection of organic waste for biomethanization. *Environmental Technology (In press)*); **Gil et al.**, 2015. Mixture optimization of anaerobic co-digestion of tomato and cucumber waste. *Environmental Technology*, 36, 2628-2636).

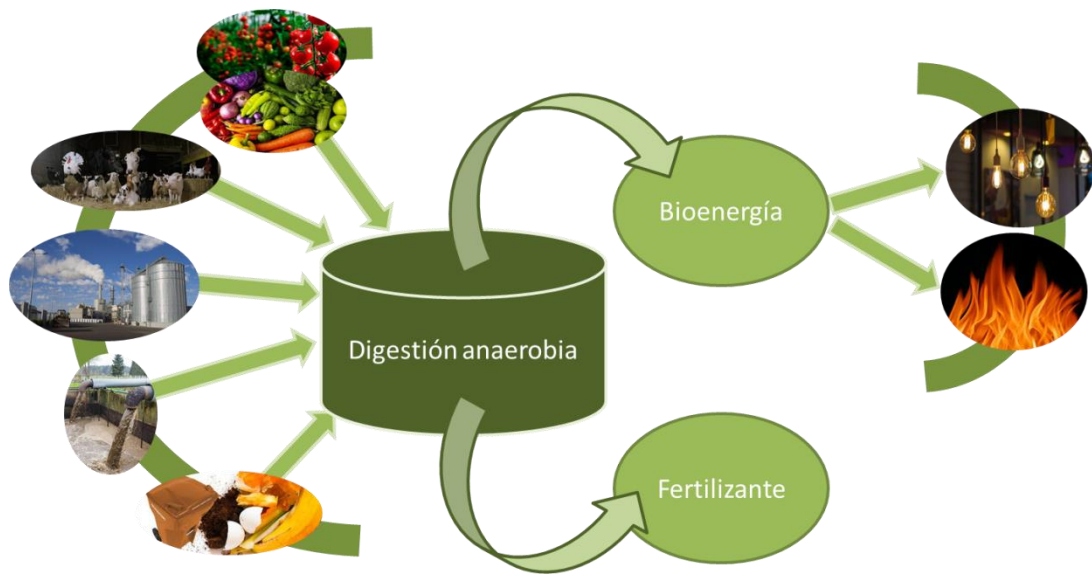
Being the correct balance of nutrients a fundamental issue for microbial metabolism and generation of products (CO_2 and CH_4 , preferably), the toxic effect of nitrogen at high concentration on the metabolism of the different trophic groups involved in the transformation reactions chain of the macromolecules contained in residual substrates by the anaerobic microbiota is well-known. However, the effect that the contribution of P might cause in the anaerobic process is not so established. The only information available is that this nutrient is required at lower concentration than other ones. Given that residual organic substances are not usually composed by nutrients at optimal concentration for their valorization through biomethanization, the evaluation of the effect caused on the process (generation of methane, stability and kinetics) by different combinations of N and P simultaneously, with respect to the content of carbonaceous matter contained in the waste to be treated, has been considered of special interest (**Gil et al.**, 2018. Effect of variation in the C/[N+P] ratio on anaerobic digestion. *Environmental Progress & Sustainable Energy (In press)*).

On the other hand, the existence of low-biodegradability waste whose anaerobic treatment is required leads to the need of carrying out further pretreatment studies. Thus, the evaluation of pretreatments that allow improving the solubilization of C and N contained in waste can be of marked interest to favor the subsequent treatment through anaerobic digestion. Nutrients bioavailability entails the reduction of time required to solubilize and hydrolyse the organic substrate to be treated. In this context, the microwave pretreatment of sewage sludge derived from wastewater treatment plants (floated or centrifuged sludge) has been evaluated in terms of suitability and effect on the subsequent the anaerobic biodegradation test. Furthermore, the possibility of transporting sewage sludge to a different geographical point from the generation site where an anaerobic system is implanted has been also evaluated (**Gil et al.** Effect of microwave pretreatment on centrifuged and floated sewage sludge derived from WWTP. *Renewable Energy*, (*Under review*); **Gil et al.**, 2018. Effect of microwave pretreatment on semi-continuous anaerobic digestion of sewage sludge. *Renewable Energy*, 115, 917-925).

Finally, given that energy pretreatments seem to be the most appropriate ones when biological treatments are further applied to manage waste, additional studies on the combination of hydrothermal pretreatment with biomethanization of high-cellulose vegetable waste have been carried out lignocelulósico (**Gil et al.** Evaluation of physicochemical pretreatment of tomato plant for anaerobic digestion. *Waste Management* (*Under review*); **Hamraoui et al.** Evaluation of hydrothermal pretreatment for biological treatment of lignocellulosic feedstock (pepper plant and eggplant). *Waste Management* (*Under review*)).

The results obtained represent a significant advance in the context of the management of biodegradable waste. This PhD Thesis provides a solution to a markedly relevant problem in current society, with the consequent environmental and social benefits that an improvement in organic waste treatment might lead.

INTRODUCCIÓN/INTRODUCTION



1. Introducción

Una de las claves, para hacer frente a un problema global como el agotamiento de los recursos naturales y la generación de residuos en la actualidad, es tratar de alcanzar una **economía circular**. De este modo se lograría convertir los residuos y subproductos de bajo valor en recursos. La legislación desarrollada en el marco europeo tiende a la optimización de la gestión de los residuos. Entre los objetivos y metas propuestas, se apuesta por el reciclaje y la limitación del depósito en vertedero (Directiva Marco de residuos 2008/98/CE). Si se reutiliza y se recicla, además de interrelacionar la actividad de distintos sectores, la industria, la agricultura, el sector energético, etc., pueden alcanzar el paradigma de una economía circular en la que se eliminen los residuos generados por las actividades humanas y se utilicen los recursos de modo eficiente y sostenible.

En este contexto, la mejora de la gestión de los residuos supone mejoras para la salud y el medioambiente, reducción de las emisiones de gases de efecto invernadero y además evita a nivel local el deterioro que sufre el paisaje por el vertido de residuos, así como la contaminación local del agua y del aire (Comisión Europea, 2001).

La Unión Europea para la gestión de los residuos se basa en la jerarquía que establece el orden de prioridades al diseñar las políticas relacionadas con estos, como queda recogido en la Figura 1.1.

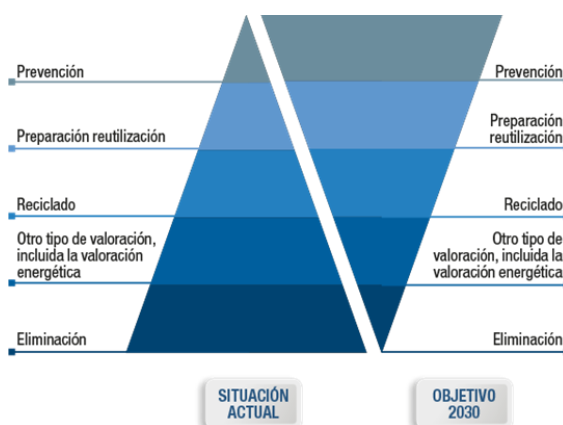


Figura 1.1. Jerarquía europea en la gestión de residuos (Aenor, 2018).

El objetivo es darle la mayor importancia a las medidas de prevención, considerando como la opción menos preferible la eliminación (incluyendo el vertido y la incineración sin recuperación energética) (Comisión Europea, 2018).

En 2012, la Comisión Europea llevó a cabo un estudio estimativo sobre el beneficio derivado de una correcta aplicación de la legislación en materia de residuos. Como resultado se concluyó que si se aplicara la legislación correctamente, supondría un ahorro de 72.000 millones €/año, un aumento de 42.000 millones € en la facturación anual en el sector de gestión y reciclaje de residuos, así como la creación de más de 400.000 nuevos empleos hasta 2020 (Decisión N° 1386/2013/UE) Por tanto, la concienciación sobre una buena gestión de los residuos puede suponer un importante impulso económico y un claro beneficio para el medio ambiente.

Es destacable que las características de los residuos van a determinar las medidas de tratamiento y/o gestión a aplicar, según se trate de residuos inorgánicos u orgánicos. Con respecto a los residuos orgánicos, en muchas ocasiones como consecuencia de su origen diverso, difieren en términos de composición, estacionalidad y volumen generado. Los volúmenes de generación dependen en gran medida de la economía del país, la climatología y/o sus principales actividades económicas. En la Figura 1.2 se muestra el porcentaje de cada tipo de residuo que generan los países según su grado de desarrollo económico, siendo, en general, el mayor porcentaje el correspondiente a los residuos orgánicos. Por regiones, el Este Asiático y Pacífico presentan la mayor proporción de desechos orgánicos (62%), mientras que los países que forman parte de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE) tienen la menor proporción (27%).

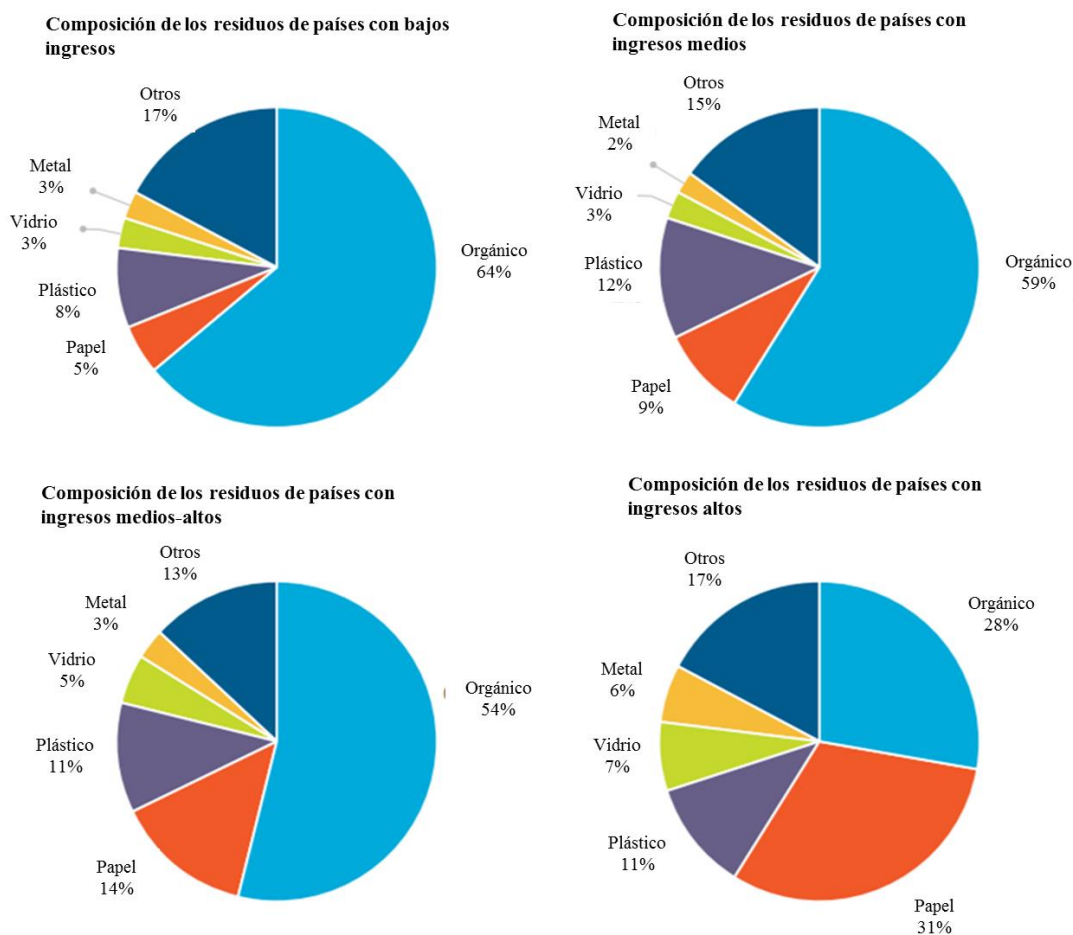


Figura 1.2. Composición de los residuos según el desarrollo económico (Fuente: Hoornweg y Bhada, 2012).

La agricultura es un claro ejemplo de actividad generadora de diferentes desechos orgánicos a lo largo de su ciclo productivo, además de los generados posteriormente en la industria de procesado y comercialización. La producción de estos desechos varía según la temporada: pueden producirse solo en ciertas épocas del año o durante todo el año, en el caso de cultivos de invernadero (Tabla 1.1).

Tabla 1.1. Estimación de la producción de residuos vegetales en fresco (hojas, tallos y frutos de destrío) para los ocho principales cultivos hortícolas de la provincia de Almería (CAPDR, 2016).

Cultivo	Residuos medios en fresco (t/ha)	Superficie (ha)	Residuo en fresco (t)
Tomate	73,3	10.345	758.288
Berenjena	44,6	2.446	109.091
Calabacín	44,5	7.369	327.920
Pepino	38,8	4.979	193.185
Pimiento	37,0	9.326	345.062
Melón	33,2	2.946	97.807
Judías verdes	27,4	1.439	39.428
Sandía	17,0	8.378	142.426

Por otro lado, las áreas urbanas también generan grandes cantidades de residuos orgánicos. Además de los residuos sólidos urbanos (RSU), segregados en su fracción orgánica (FORSU) y fracción inorgánica (de la cual se recupera plástico, vidrio, papel, metal, etc.), y asimilables, las poblaciones cuentan con plantas de tratamiento de aguas residuales (EDAR) (Real Decreto Legislativo 1/2001), que también son generadoras de residuos orgánicos, en concreto de lodos con un elevado contenido orgánico. En la Figura 1.3 se muestra la producción de estos lodos en diferentes países de la Unión Europea, siendo destacable que no siempre se dispone de registros reales de producción, como puede verse en dicha figura, ya que algunos países no indican su generación. Con respecto a los RSU y asimilables, su adecuada gestión no solo depende de las políticas llevadas a cabo por cada municipio, sino del grado de implicación por parte de la población, ya que la correcta segregación de estos residuos en origen es primordial.

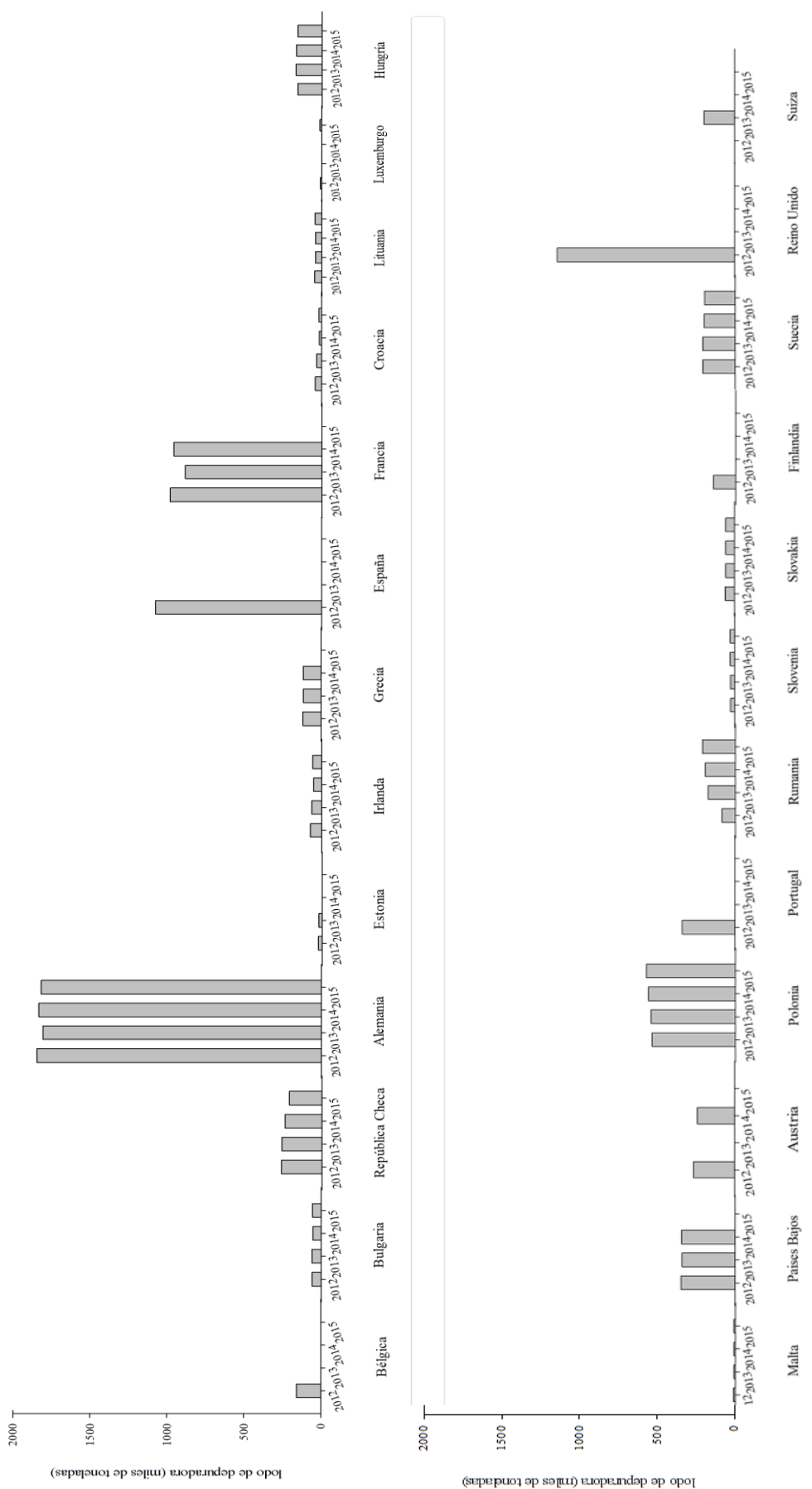


Figura 1.3. Generación de lodos de depuradora en distintos países de Europa (2012-2015).
(Elaboración propia, adaptación de Eurostat).

De forma generalizada, durante décadas, los residuos se han depositado en vertedero sin tener en cuenta su carácter orgánico o inorgánico. Pero tras la publicación de la Directiva 1999/31/EC relativa al vertido de residuos, esta práctica ha sido cada vez más restrictiva, especialmente en el caso de residuos biodegradables. Por ello, es importante la mejora y optimización de técnicas que permitan la valorización de este tipo de residuos.

1.1. Residuos de origen hortofrutícola

El crecimiento de la población mundial requiere un incremento en la producción de alimentos. El modelo de sociedad de consumo y vida acelerada de los países más industrializados conlleva una mayor exigencia con respecto al consumo de alimentos. Se produce más, se investiga más sobre la optimización de la producción, pero también se desecha más. Es necesario, por tanto, aunar esfuerzos por parte de todos los actores implicados para continuar trabajando en la mejora de la eficiencia de la cadena alimentaria, de forma que se contribuya a corto, medio y largo plazo a la disminución del desperdicio alimentario a través de medidas como la de sostenibilidad social “*más alimento, menos desperdicio*” (MAPAMA, 2013).

Es destacable que la disponibilidad de determinados productos agrícolas ya no depende de la estacionalidad. El sector productivo se ha encargado de que se disponga de determinados productos durante todas las épocas del año, a través del cultivo en invernadero. Esta intensificación de la agricultura conlleva un incremento en la producción de residuos, no solo los restos vegetales, tras la recogida de las cosechas, sino también los productos que no alcanzan o superan los parámetros de calidad establecidos para los mismos, generándose un mayor volumen de residuos biodegradables que requieren ser gestionados de forma adecuada. A modo de ejemplo, en Europa se generaron en 2014, 54 millones de toneladas de residuos vegetales (EUROSTAT, 2018). Tradicionalmente, los restos vegetales se han quemado en las áreas de producción, práctica cada vez más restringida. Pero la acumulación de estos restos vegetales no está permitida, ya que suelen generar malos olores, lixiviados que causan la contaminación de acuíferos y además pueden comportarse como vectores

de plagas y enfermedades (Moreno et al., 2015). Una inadecuada gestión de estos residuos vegetales conlleva a la generación de efectos negativos, como los indicados en la Tabla 1.1.1 (REC, 2015).

Tabla 1.1.1. Consecuencias de una mala gestión de residuos vegetales (Parra et al., 2008).

Actuación	Efectos negativos
Incineración incontrolada	Contaminación atmosférica Pérdida de recursos
Abandono indiscriminado	Focos de propagación de enfermedades y plagas Riesgo de obturación de ramblas durante lluvias torrenciales Impacto visual negativo Alteración de comunidades vegetales Proliferación de roedores e insectos Contaminación de suelo y acuíferos por lixiviado de compuestos tóxicos (pesticidas, metales) Contaminación atmosférica (malos olores, gases con efecto invernadero) Alimento incontrolado para el ganado

España presenta una de las áreas de mayor intensidad de cultivo del mundo: la zona denominada como “Campo de Dalías” en Almería. Esta región ha incrementado en los últimos 30 años la superficie de cultivo hasta 16.000 hectáreas, con una producción anual de 2,5 millones de toneladas (tomate, pimiento, pepino, berenjena, pimiento, etc.) y una generación anual de residuos vegetales de en torno a 380.000 toneladas (Parra et al., 2008). No obstante, hay que tener en cuenta que todos los cultivos no generan la misma cantidad de residuos; así, entre otros, el tomate genera aproximadamente 35 t/ha, mientras que el pimiento da lugar a 25 t/ha, la berenjena 25 t/ha, el pepino 22,5 t/ha y el calabacín 22,5 t/ha (Tolón y Lastra, 2010).

En este contexto, los residuos vegetales se consideran aquellos restos que quedan tras la recogida de los frutos, constituidos principalmente por hojas y tallos, así como los descartes tras el procesado primario. Estos residuos o restos vegetales están constituidos principalmente por

lignocelulosa (Figura 1.1.1), que es un polímero compuesto por celulosa, hemicelulosa y lignina. La proporción en la que se encuentran dichos constituyentes depende de la especie de la planta, edad y condiciones de crecimiento (Rincón y Silva, 2015).

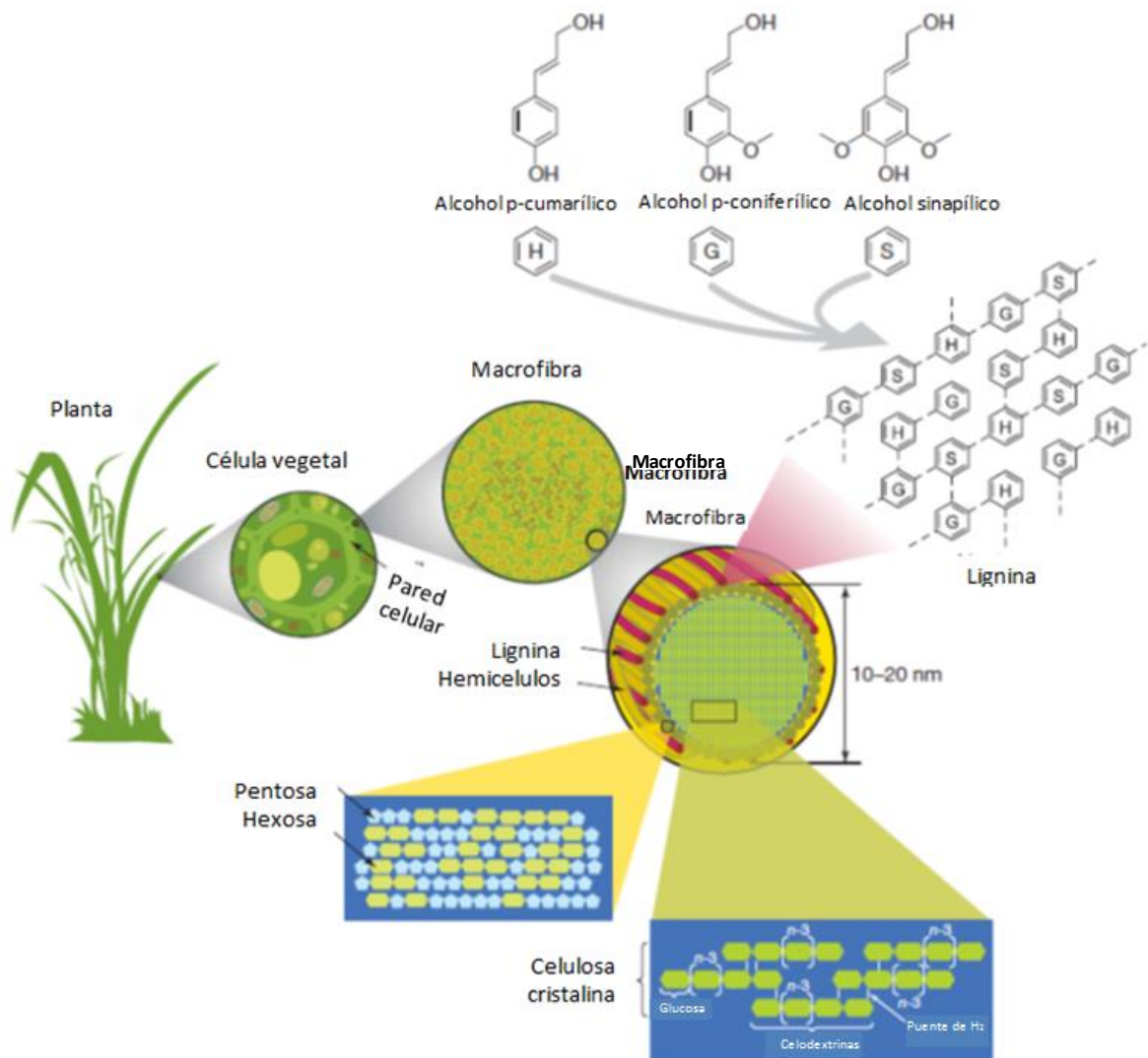


Figura 1.1.1. Estructura de la lignocelulosa (Rubin, 2008).

La **celulosa** es el constituyente principal de las paredes celulares de las plantas, compuesto exclusivamente por moléculas de β -glucosa. Estas moléculas se unen mediante enlaces β -1,-O-glucosídico, formando cadenas lineales y constituyendo una estructura cristalina resistente a la hidrólisis y regiones amorfas susceptibles a la degradación enzimática (Figura 1.1.2) (Rincón y Silva, 2015; Beyer y Walter, 1987).

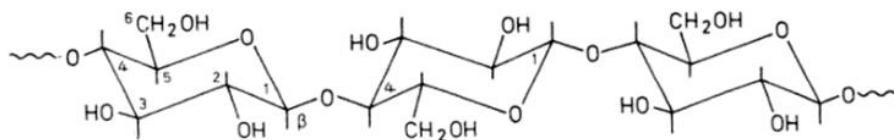


Figura 1.1.2. Fragmento de una cadena de celulosa (Beyer y Walter, 1987).

La **hemicelulosa** es un polímero complejo constituido por pentosas (D-xilosa y L-arabinosa), hexosas (D-glucosa, D-manosa y D-galactosa), ácidos urónicos (ácido D-glucurónico, ácido D-4-O-metilgalacturónico y D-galacturónico) y desoxi-hexosas (L-ramnosa y L-fucosa) que forman cadenas ramificadas (Figura 1.1.3). La estructura de la hemicelulosa difiere entre especies. Ésta presenta un menor grado de polimerización por lo que resulta más soluble y fácil de degradar.

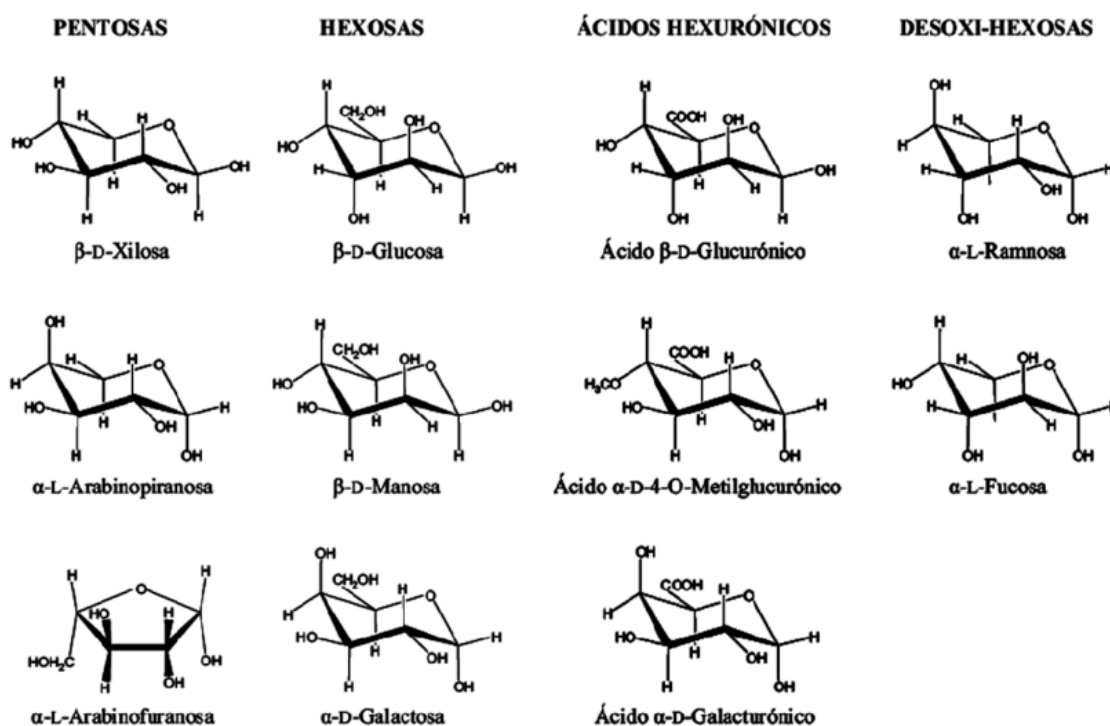


Figura 1.1.3. Monosacáridos componentes de las hemicelulosas (Rincón y Silva, 2015).

La **lignina**, después de la celulosa, es la sustancia orgánica más abundante en las plantas. Proporciona rigidez y actúa como barrera ante la degradación enzimática de la pared celular. Su estructura consiste en un polímero aromático tridimensional, en el que se repiten unidades de

fenilpropano con diferentes tipos de uniones entre los monómeros (éter o C-C) (Vian, 1998). Los tres monómeros básicos que la conforman son el monómero p-hidroxifenilo (tipo H), derivado del alcohol cumarílico, el monómero guayacilo (tipo G), derivado del alcohol coniferílico, y el monómero siringilo (tipo S), derivado del alcohol sinapílico (Vila, 2005). Pero no es del todo conocida, debido a la dificultad de su extracción, ya que se encuentra unida a la celulosa covalentemente y otros polisacáridos de la pared celular (Taiz y Zeiger, 2006).

Teniendo en cuenta la compleja estructura que conforma el tejido de la pared vegetal, poder gestionar de forma eficiente los residuos vegetales a través de tratamientos biológicos requiere de la aplicación de un tratamiento previo que permita alterar la estructura de esta biomasa, consiguiendo que la celulosa sea más accesible (Figura 1.1.4) y se liberen los azúcares secuestrados en dicha estructura, para poder ser fermentados (Mosier et al., 2005).

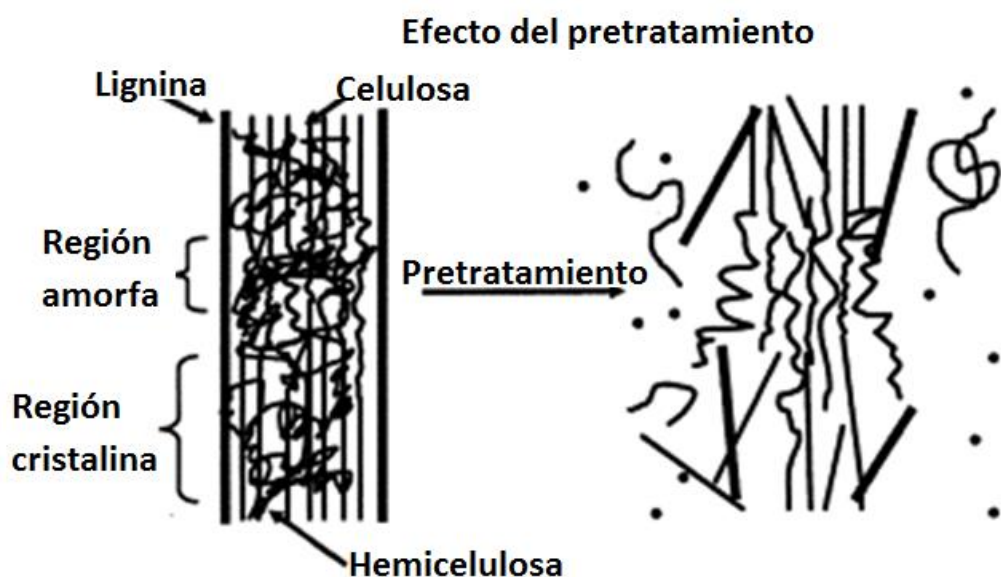


Figura 1.1.4. Esquema del objetivo del pretratamiento sobre material lignocelulósico (Mosier et al., 2005, adaptado de Hsu et al., 1980).

1.2. Lodos de depuradora

La protección del medio ambiente y de la salud pública ha conllevado en los últimos años el desarrollo legislativo a nivel internacional sobre tratamiento de aguas residuales, con el objetivo de controlar la contaminación producida por la utilización de un recurso, como es el agua. Ejemplo de

ello es la Directiva marco del agua 2000/60/CE. Así, la utilización del agua en las actividades humanas e industriales supone un deterioro de este recurso, siendo imprescindible su tratamiento para poder devolverla al entorno natural e incluso reutilizarla.

El incremento en el número de plantas para el tratamiento de las aguas residuales urbanas e industriales hace que se hayan alcanzado las 50.000 instalaciones en Europa (Comisión Europea, 2018). Este tratamiento conlleva la obtención de un efluente depurado (RDL 11/1995) que puede ser vertido a cauce público sin que suponga un riesgo para la salud y la integridad del ecosistema acuático receptor. Sin embargo, se generan grandes cantidades de lodos procedentes del proceso, estimándose que para 2020 se superarán en Europa los 13 millones de toneladas/año. En la Figura 1.2.1 puede observarse cómo se ha incrementado el porcentaje de la población que dispone de conexión a plantas de tratamiento de aguas residuales en distintos países.

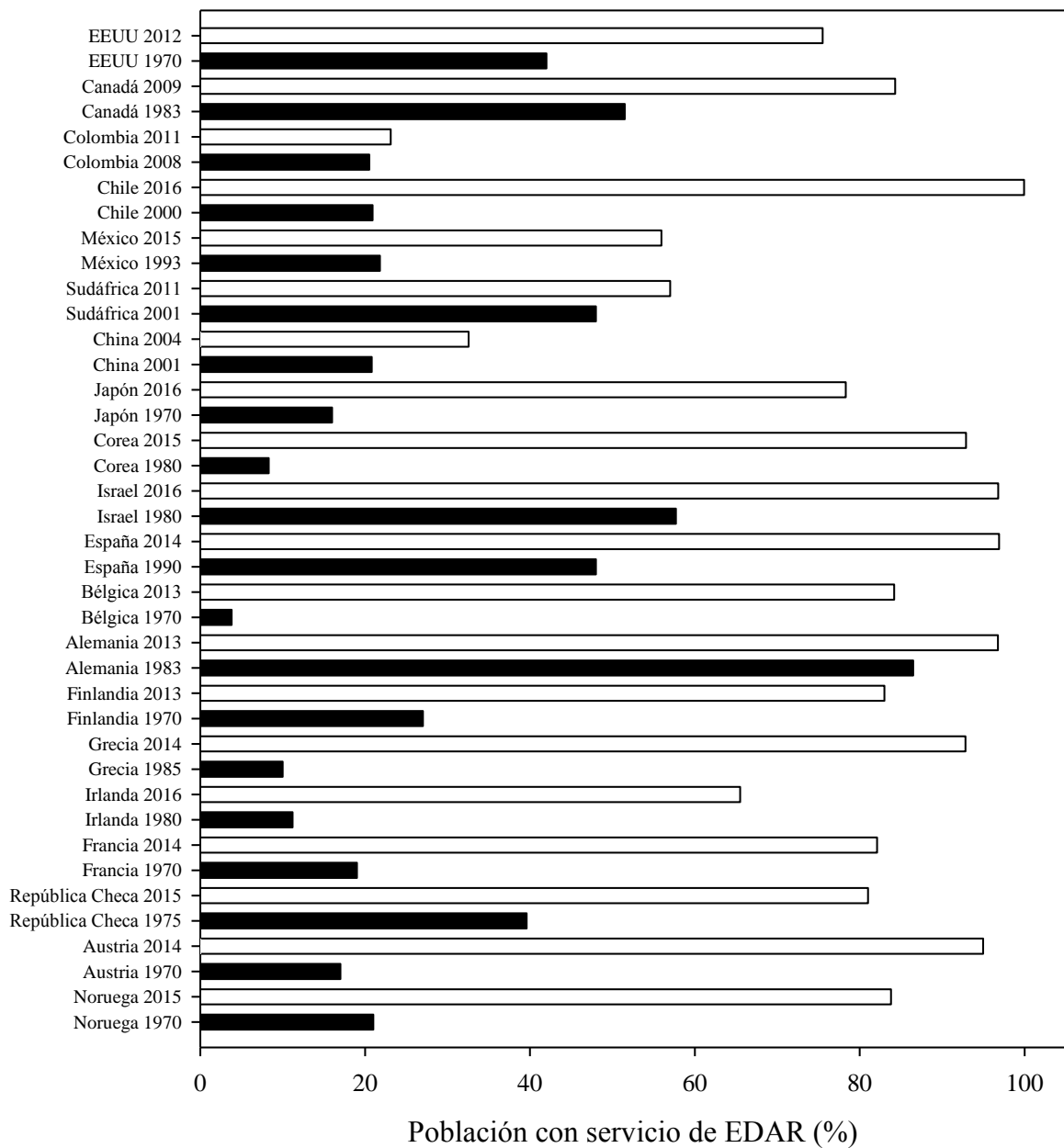


Figura 1.2.1. Evolución de la población con servicio de estación depuradora de aguas residuales. (Elaboración propia, Fuente: OECD, 2018).

Los lodos se generan en dos puntos principales del tratamiento de las aguas residuales, decantador primario y secundario. Los lodos del decantador primario proceden de la separación sólido-líquido, por decantación y flotación, y están principalmente constituidos por partículas sólidas de naturaleza orgánica, aunque aún los acompañan partículas minerales de pequeño tamaño no separadas previamente en el desarenador. Por otra parte, los lodos del decantador secundario, se

consideran biomasa excedente generada en el tratamiento biológico (Ramalho, 1990). Los puntos de generación de estos lodos en una Estación Depuradora de Aguas Residuales pueden observarse en la Figura 1.2.2. Existe un tercer tipo de lodo, lodo terciario, generado en aquellas EDAR que poseen tratamiento terciario o de eliminación de nutrientes.

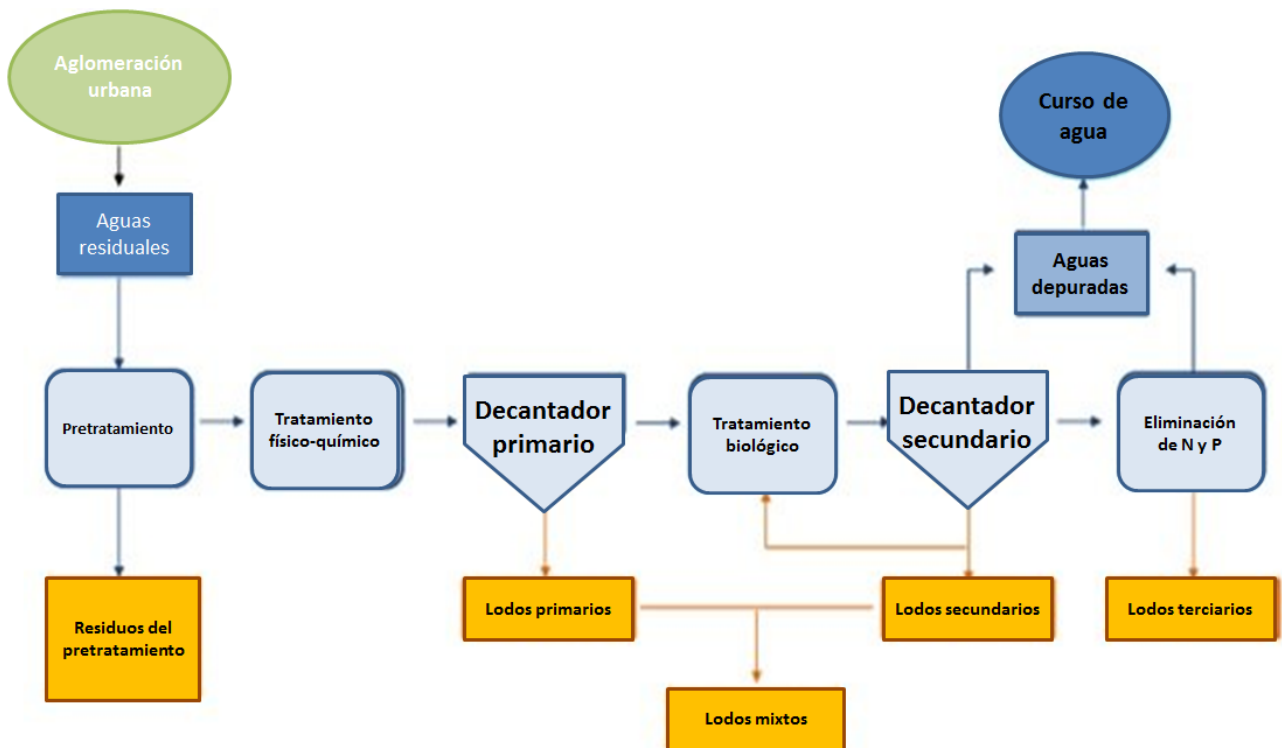


Figura 1.2.2. Esquema EDAR (MITEC, 2007).

Estos lodos se caracterizan por contener una elevada carga orgánica, así como metales pesados y otros compuestos contaminantes de carácter químico y microbiológico. Estos contaminantes, provenientes de las aguas residuales, se concentran en los lodos, por lo que este tipo de residuos se considera un problema ambiental grave y es necesaria su adecuada gestión. Ésta ha consistido tradicionalmente en el depósito en vertedero y su aplicación agronómica. En la actualidad, la legislación exige la reducción cada vez mayor del depósito en vertedero, apostando por el proceso de reciclaje y valorización, lo que conduce a la aplicación de la digestión anaerobia como una tecnología de interés para su gestión. Aun así, conviene tener en cuenta que este tipo de residuo presenta una baja biodegradabilidad, requiere altos tiempos de retención en los digestores y

produce bajo rendimiento en metano contenido en el biogás, siendo necesario el estudio de mejoras que puedan aumentar la viabilidad del proceso (Appels et al., 2008; Bolzonella et al., 2005).

1.3. Mejora de la biodegradabilidad de sustratos orgánicos: Pretratamientos

Los sustratos idóneos para el proceso de digestión anaerobia son aquéllos, residuales o no, que son biodegradables. Pero su mayor o menor biodegradabilidad está condicionada por las características físico-químicas de cada tipo de sustrato, siendo una cuestión importante a tener en cuenta para su valorización. No obstante, si se pretende utilizar sustratos para la digestión anaerobia que presentan mayor dificultad para su biodegradación, como son los lodos de depuradora y los residuos lignocelulósicos, existe la posibilidad de aplicar pretratamientos para favorecer el proceso, como son los de carácter térmico.

Dependiendo del pretratamiento, se pueden conseguir diferentes efectos: reducción del tamaño de partícula, solubilización de compuestos de naturaleza diversa, mejora de la biodegradabilidad, etc., aunque también pueden conllevar la solubilización o formación de compuestos refractarios y pérdida de materia orgánica (Carlsson et al., 2012).

Además, es necesario no perder el horizonte en cuanto al balance global de recursos necesarios para la aplicación de la tecnología de digestión anaerobia. Los balances de materia son claros y es posible convertir parcialmente un residuo en una mezcla de compuestos gaseosos, de los cuales el metano es combustible. También se genera un digestado estabilizado aplicable como enmienda orgánica en terrenos agrícolas. Ahora bien, si se requiere la aplicación de un pretratamiento, la energía, reactivos y costes asociados deberían ser lo suficientemente bajos como para que el balance neto global sea positivo o al menos nulo. Es la diferencia entre aplicar la tecnología de biometanización para conseguir el tratamiento de residuos orientado a su eliminación o reducción, o para su valorización energética.

Son abundantes los estudios que describen la digestión anaerobia de cultivos energéticos, donde claramente la composición de la biomasa a digerir permite la producción de suficiente

metano como para valorizarlos como fuente de energía. El gran reto en la actualidad consiste en la aplicación a otros residuos de menor facilidad para su biodegradación y que el balance energético global sea positivo. Claro ejemplo de ello son los lodos de depuradora y los residuos lignocelulósicos, objetivos principales de estudio en esta Tesis Doctoral.

Por una parte, los residuos de origen lignocelulósico son una fuente importante de materia orgánica que puede ser susceptible de producir bioenergía y biocombustible, como el biogás generado a través de la digestión anaerobia (Zheng et al., 2014). Pero la complejidad de la estructura de la pared celular de dichos residuos dificulta el acceso de los microorganismos, por lo que para la degradación de esta biomasa se considera esencial una etapa previa de hidrólisis (Cirne et al., 2007). Así, el pretratamiento hidrotérmico permite mejorar la producción de biogás al actuar sobre las fracciones recalcitrantes de la biomasa lignocelulósica. De los tres polímeros que constituyen la biomasa lignocelulósica, la hemicelulosa es altamente susceptible a la hidrólisis biológica, térmica y química de sus compuestos poliméricos, dadas sus propiedades amorfas y ramificadas (Ademark et al., 1998; Morohoshi, 1991).

Con respecto a los diferentes tipos de pretratamientos, hay mucho estudiado sobre ello, pero hay que tener en cuenta que, a pesar de encontrar una amplia bibliografía al respecto, las diferencias entre los sustratos utilizados, así como las condiciones operacionales empleadas para el tratamiento, hacen que los resultados difieran significativamente, por lo que se requiere investigación adicional para mejorar su aplicabilidad a escala industrial (Kumari y Singh, 2018; Pellerá y Gidaracos, 2017; Pecorini et al., 2016).

Son muy variados los pretratamientos evaluados en bibliografía para los sustratos lignocelulósicos. Dentro de los tratamientos físicos (aquellos métodos que no emplean productos químicos o microorganismos) se encuentran, entre otros: el triturado (Bruni et al., 2010; Kaporaju et al., 2002), steam-explosion (Kobayashi et al., 2004; Teghammar et al., 2010), tratamiento hidrotérmico (Chandra et al., 2012; O-Thong et al., 2012) o la irradiación (Jackowiak et al., 2011;

Sapci, 2013). Por otra parte, los tratamientos químicos son aquellos que requieren la utilización de reactivos químicos, como ácidos o bases, que alteran física y químicamente las características de la biomasa lignocelulósica (Zheng et al., 2014). Entre ellos se encuentran el pretratamiento alcalino (Liew et al., 2011; Mirahmadi et al., 2010), ácido (Xiao y Clarkson, 1997; Monlau et al., 2012), la oxidación húmeda (Uellendahl et al., 2008; Petersson et al., 2007) o la oxidación con agua oxigenada (Song et al., 2012). Por último, los pretratamientos biológicos enfocados a la mejora en la producción de biogás, incluyen principalmente el tratamiento fúngico (Amirta et al., 2006; Mackulak et al., 2012), con consorcio de microorganismos (Bai et al., 2010) y el enzimático (Zieminski et al., 2012; Gerhardt et al., 2007).

De entre los distintos pretratamientos, el hidrotérmico podría considerarse una alternativa interesante para la combinación de procesos físicos con el proceso biológico de biometanización. Su aplicación ayuda a solubilizar la materia orgánica, mejorando la fase de hidrólisis, la cual suele ser una etapa limitante en el proceso de digestión anaerobia, ya que afecta a las etapas iniciales del metabolismo microbiano, que se ve ralentizado al existir un alto contenido de sustancias complejas (Serrano et al., 2015; Ortega et al., 2008).

Otro tipo de residuos susceptible de ser sometidos a un pretratamiento previo a su biodegradación anaerobia es el **lodo de depuradora**. Como se ha mencionado anteriormente, procede del tratamiento de las aguas residuales urbanas e industriales y presenta, de forma general, una baja biodegradabilidad (Carlsson et al., 2012; Parkin et al., 1986). Esto es debido en parte a que estos lodos están constituidos por una mezcla de diferentes células microbianas, así como de compuestos orgánicos e inorgánicos que se adhieren junto a sustancias poliméricas extracelulares y se disponen formando flóculos resistentes a la digestión anaerobia (Koupaie et al., 2016; Park et al., 2011). Todo ello hace que los tiempos de retención en el digestor anaerobio tengan que ser elevados y, por tanto, su dimensionamiento supone mayores costes de implantación. El pretratamiento, si acelera la fase de solubilización y fragmentación de macromoléculas, puede resultar de gran interés

por la reducción de volumen del reactor y el aumento de la producción de metano (Carlsson et al., 2012). Así, los diferentes pretratamientos descritos para lodos se basan en la ruptura de los flóculos, de tal forma que se permita la liberación de la materia orgánica para que, de este modo, esté accesible para los microorganismos y pueden llevar a cabo su biodegradación.

Entre los principales pretratamientos aplicados a los lodos de depuradora destacan: el térmico (Eskicioglu et al., 2009; Fernández-Polanco et al., 2008; Kepp et al., 2000; Haug et al., 1978), ultrasonidos (Xie et al., 2007; Onyeche et al., 2002; Tiehm et al., 1997) y tratamiento químico (Bougrier et al., 2007; Yeom et al., 2002). Hay que tener en cuenta que los resultados obtenidos por diferentes estudios pueden diferir, ya que dependen del tipo de lodo, del grado de estabilización del mismo y de sus características físico-químicas, las condiciones de operación del pretratamiento aplicado, además de las condiciones de operación en el proceso de biometanización (continuo-discontinuo, temperatura, tiempo de retención hidráulico). Todas las variables anteriores afectan a los beneficios del pretratamiento en la digestión anaerobia (Carrère et al., 2010).

En este contexto, uno de los pretratamientos térmicos descritos en bibliografía es el tratamiento con microondas. En un estudio publicado por Eskicioglu et al. (2007) se compararon los beneficios de someter lodo de EDAR a un tratamiento de calentamiento convencional frente a los derivados de la aplicación de microondas. Los resultados de solubilización de compuestos, en las condiciones estudiadas (96°C), no fueron significativos, aunque el potencial metanogénico fue mayor en el caso del lodo microondado. Otros autores han evaluado tratamientos conjuntos, como el tratamiento químico en condiciones alcalinas combinado con microondas, lo que ha permitido incrementar en un 10% la producción de metano respecto al obtenido sin aplicar el pretratamiento químico (Dogan y Sanin, 2009). Es importante mencionar que la adición, en este caso de una base, puede incrementar el contenido en alcalinidad del reactor anaerobio, por lo que puede ser desaconsejable para el posterior tratamiento biológico (Valo et al., 2004). Otras investigaciones más recientes sobre la comparación del calentamiento convencional y con microondas han concluido

que si las condiciones aplicadas (temperatura y la tasa de calentamiento/enfriamiento) son similares, la solubilización del lodo y el rendimiento obtenido en el proceso de digestión anaerobia también lo son. En este contexto, las condiciones que han ofrecido una biodegradabilidad máxima han coincidido con temperaturas en torno a 120°C (Hosseini y Eskicioglu, 2016).

1.4. La digestión anaerobia

La digestión anaerobia es un proceso biológico a través del cual se genera biogás (CH₄ y CO₂) mediante la degradación de la materia orgánica llevada a cabo a través de las diferentes poblaciones microbianas en ausencia de oxígeno. Este biogás puede ser utilizado para generar tanto energía calorífica como energía eléctrica. Además, tras finalizar el proceso, se obtiene un digestado, compuesto por una fracción líquida y otra sólida, que presenta propiedades agronómicas. Mientras que China y la India han liderado esta tecnología en los países del sudeste de Asia, el impulso en el resto del mundo proviene de Europa Occidental. Fue en la India, donde se registró en 1897, la construcción del primer digestor anaerobio con desechos humanos para generar biogás (Abbasi et al., 2012; Khanal, 2008). Esta técnica se utilizó por primera vez para el tratamiento de aguas residuales de forma rudimentaria en Europa en 1881. Después, en 1895, se mejoró la eficiencia del tratamiento. Tal fue el éxito de esta mejora que el gobierno local donde se llevó a cabo (Exeter, Inglaterra) aprobó la utilización de estos “tanques asépticos” para el tratamiento de las aguas residuales de la ciudad. Además, el gas metano generado fue utilizado para calefacción e iluminación. Después de estos primeros avances en el desarrollo de la digestión anaerobia se prosiguió en el desarrollo de esta técnica para la estabilización de los sólidos (lodos) de las aguas residuales (Abbasi et al., 2012).

El número de plantas de biogás se ha ido incrementado en Europa, de 6.227 en 2009 a 17.662 en 2016. El mayor crecimiento se produjo entre 2010 y 2012. La mayor parte del crecimiento en el número de plantas se debe a la utilización de sustratos procedentes de la agricultura (67%). Situándose este tipo de sustrato a la cabeza, seguido por los lodos de depuradora,

residuos de vertedero y otros tipos de residuos. Además, la capacidad eléctrica total instalada es de 9.958 MW en 2016 utilizando el biogás como combustible (EBA, 2018). Este biogás puede ser utilizado para el autoconsumo energético de la propia instalación, además de poder volcar a la red el exceso de energía eléctrica producida.

Con visos de futuro, se está investigando la producción de productos de alto valor añadido obtenidos a partir de bacterias metanotróficas. Este tipo de microorganismos utilizan el metano como única fuente de carbono (Hanson y Hanson, 1996). Algunos de estos productos, de alto valor añadido, incluyen la Ectoina, biopolímeros (polihidroxialcanoatos, PHAs), proteínas “singlecell” (SCP) y exopolisacáridos (EPSs) (Cantera et al., 2018; Strong et al., 2016).

1.4.1. Ventajas e inconvenientes de la digestión anaerobia

La digestión anaerobia presenta una serie de ventajas e inconvenientes, respecto a los demás procesos biológicos de tratamiento, que otorgan, en principio, una mayor ventaja al proceso anaerobio para el tratamiento de residuos de elevada carga orgánica. Entre otras, se pueden destacar:

1.- Baja producción de lodos biológicos y una mayor estabilización de estos (Kleerebezem et al., 2015), respecto a los procesos aerobios, lo que supone un ahorro importante en las etapas de manejo y evacuación del exceso de lodo (purga). Ello se debe a que aproximadamente solo el 5% de la materia orgánica consumida, medida a través de la Demanda Química de Oxígeno (DQO) se transforma en biomasa.

2.- Bajo requerimiento de nutrientes (Kleerebezem et al., 2015) para el adecuado desarrollo del proceso de biometanización, necesitándose una proporción entre los nutrientes esenciales C:N:P para un proceso aerobio de 100:5:1 y para uno anaerobio 120:3:1 (Al Seadi et al., 2008; Ying, 1988).

3.- Los microorganismos anaerobios no requieren la presencia de oxígeno disuelto en el medio para realizar sus funciones vitales, por tanto, no es necesaria la aireación, lo que supone

ahorro de coste de inmovilizado y de consumo energético (Poh y Chong, 2009).

4.- Velocidad de carga orgánica muy elevada. En el tratamiento anaerobio la velocidad de carga orgánica alcanza valores de 5-10 kg DQO/m³·d, si bien en el tratamiento aerobio es de 1 kg/m³·d por limitación en la transferencia de oxígeno (Flotats y Fernández, 2008).

5.- Conjugación de una alta eficacia como sistema de tratamiento, con un atractivo enfoque económico puesto que se produce metano como producto principal. Dicho compuesto presenta un elevado poder calorífico que oscila en torno a 8.010 kcal/m³ en condiciones normales de presión y temperatura, lo que permite su uso como combustible o para la generación de electricidad. Este hecho abarata los costes de depuración de un vertido o tratamiento de un residuo de un modo considerable.

Pero la digestión anaerobia también presenta una serie de inconvenientes que han de tenerse en cuenta para el correcto desarrollo de este tratamiento. Entre ellos destacan los siguientes:

1.- Desprendimiento de olores desagradables como consecuencia de la formación de compuestos tales como ácido sulfhídrico, tioles o aminas.

2.- Alta sensibilidad a la presencia de oxígeno de modo que a bajas concentraciones se inhibe totalmente el proceso.

3.- Necesidad de operar a temperatura elevada (normalmente 35°C en condiciones mesófilas), lo que implica un incremento del coste energético y por tanto económico.

4.- Crecimiento muy lento de algunas poblaciones bacterianas, lo que implica que la puesta en marcha del proceso sea muy lenta y, por las características morfológicas y reológicas del lodo anaerobio, presente difícil sedimentabilidad.

5.- Cinética lenta en la eliminación de residuos sólidos, requiriéndose elevados tiempos de residencia.

6.- Resulta necesaria la eliminación del H₂S contenido en el biogás antes de alimentar los

motores de combustión.

A pesar de ser un mecanismo de tratamiento que presenta inconvenientes como los descritos anteriormente, muchos residuos orgánicos pueden ser tratados exitosamente de forma anaerobia (Figura 1.4.4.1), ya que su adaptabilidad a condiciones de operación intermitentes (o de temporada) y a sobrecargas orgánicas, la posibilidad de operar a diferentes temperaturas, su bajo rendimiento en la generación de lodos y su capacidad para producir gas combustible, hacen atractiva la aplicación de este tipo de procesos incluso en el caso de industrias o explotaciones de tamaño relativamente pequeño.

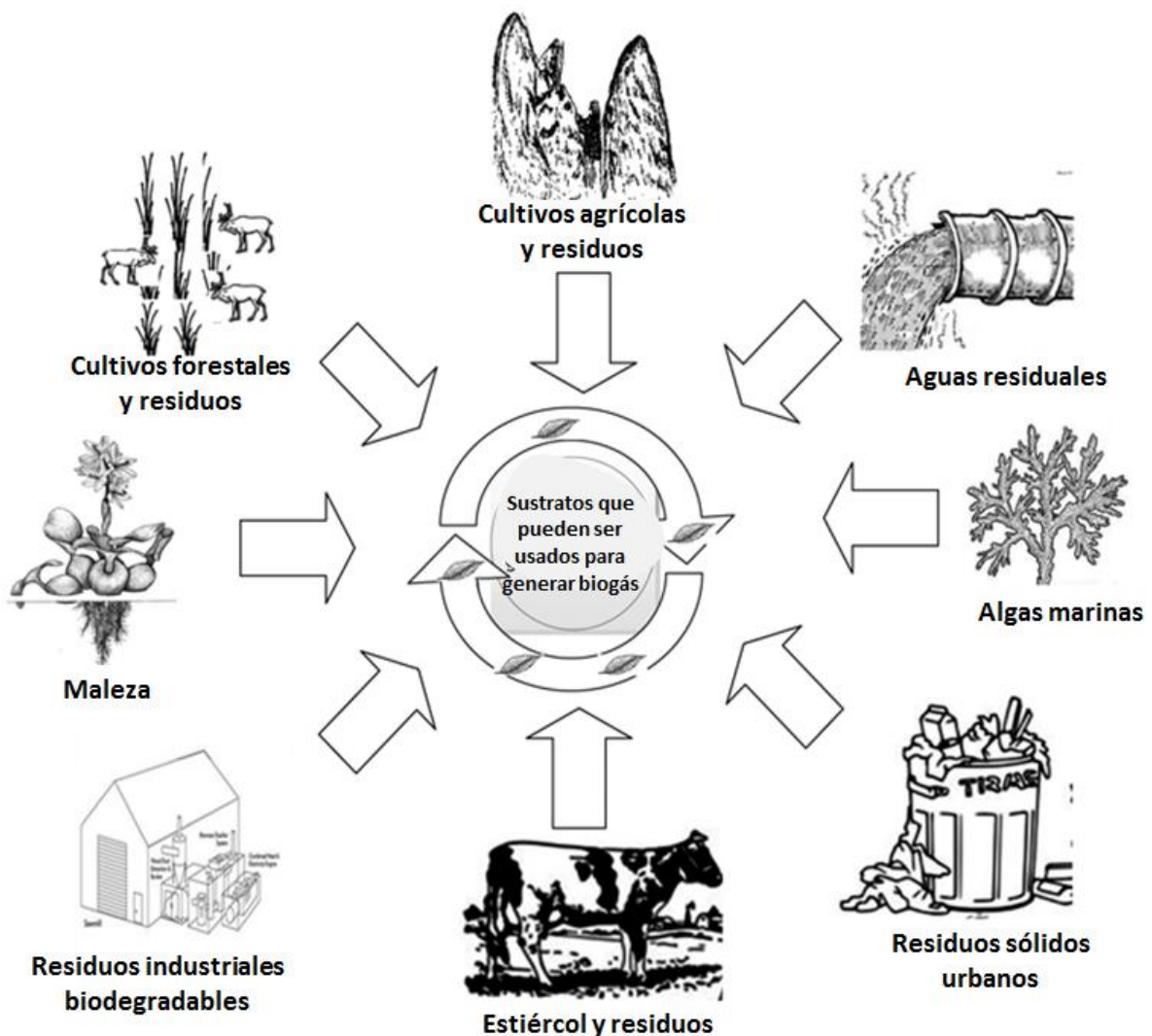


Figura. 1.4.4.1. Ejemplo de sustratos que pueden ser tratados a través de digestión anaerobia (Abbasi et al., 2012).

1.4.2. Co-digestión anaerobia

La co-digestión anaerobia se define como la digestión de dos o más sustratos simultáneamente; por tanto, puede utilizarse para la gestión conjunta de varios residuos que son producidos estacionalmente y/o en un área geográfica determinada (Siddique et al., 2018), ya que a la hora de seleccionar posibles cosustratos hay que tener en cuenta el coste del transporte de estos (Mata-Álvarez et al., 2010). Además, la co-digestión puede mejorar la estabilidad del proceso, el equilibrio entre la concentración de nutrientes y los efectos sinérgicos entre los microorganismos, así como reducir las emisiones de gases de efecto invernadero y los costes de procesamiento (Henard et al., 2017). También hay que tener en cuenta que, al objeto de favorecer la sinergia y optimizar la producción de metano, se hace imprescindible la selección de los cosustratos y una proporción de mezcla apropiados (Siddique y Whaid, 2018). Un esquema simplificado del proceso se muestra en la Figura 1.4.2.1, donde puede observarse que los flujos de entrada en una planta de biogás pueden ser una combinación de diferentes fuentes biomásicas, con diferente composición, dependiendo de la disponibilidad de las mismas, actividades industriales que se desarrollen en el área, aspectos económicos, etc. (Fountoulakis y Manios, 2009; Akinbami et al., 2001).

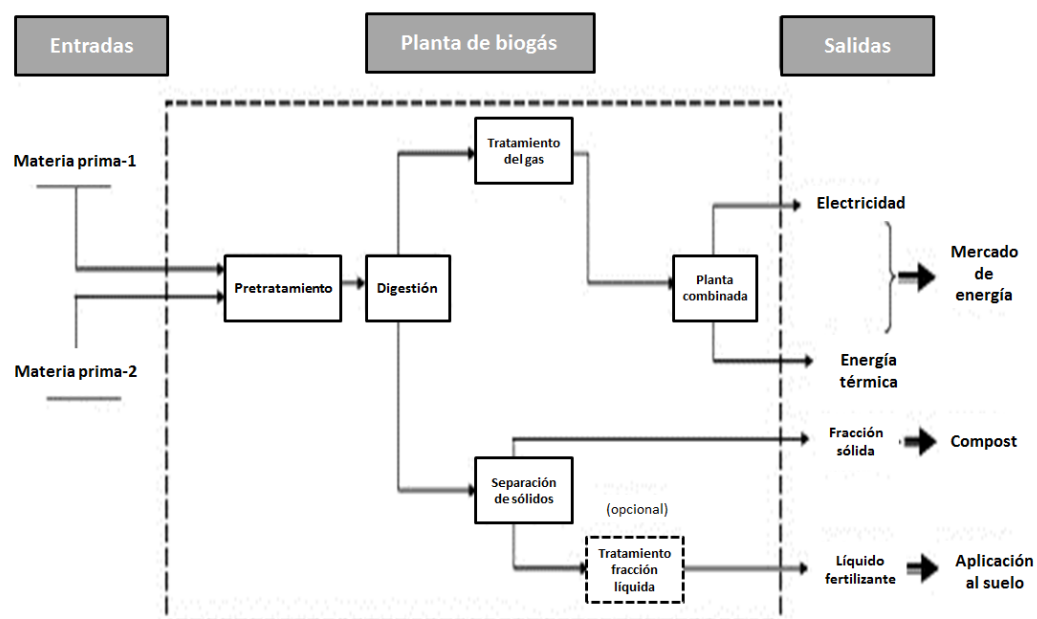


Figure 1.4.2.1. Diagrama simplificado de una planta de digestión anaerobia (Karekkas et al., 2010).

Pese a que la biometanización es una tecnología ampliamente conocida, en las dos últimas décadas son muchos los trabajos publicados sobre co-digestión anaerobia y el número de publicaciones sigue creciendo de forma exponencial (Figura 1.4.2.2).

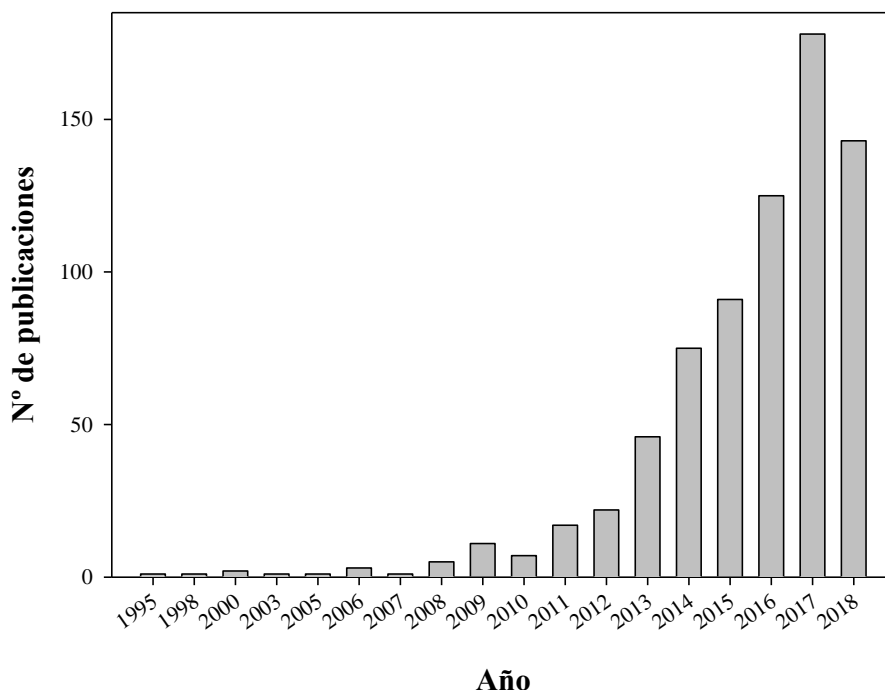


Figura 1.4.2.2. N° de publicaciones desde 1995 a 2018 con título de co-digestión anaerobia (MCIU, 2018.)

Los beneficios de la co-digestión para diferentes proporciones y combinaciones de sustratos, también incluyen la dilución de compuestos tóxicos, así como una mayor capacidad para tratar la materia orgánica biodegradable, mejorando la viabilidad u optimizando el proceso de biometanización (Boullagui et al., 2009). Diversos autores han descrito la importancia de alcanzar balances adecuados entre los nutrientes a través de la realización de diferentes mezclas de sustratos (Aiyuk et al., 2006). Entre otras, destacan la relación DQO:N:P, que debe ser al menos de 300:5:1 para un inicio rápido y eficiente del proceso de digestión anaerobia (Amatya, 1996; Aiyuk et al., 2004); la relación C:N:P, con unos valores mínimos de 400:5:1 o 100:28:6 (Alphenaar et al., 1993; Thaveesri, 1995); o la ratio entre DQO:N con un mínimo de 70 y DQO:P que debe alcanzar 350 (Brunetti et al., 1983).

Así, la combinación de algunos grupos de residuos puede presentar problemas para la digestión, por presentar deficiencia de algunos de los nutrientes esenciales para los microorganismos anaerobios, baja alcalinidad o excesivo contenido en sólidos. En la Figura 1.4.2.3 se puede observar cómo las flechas indican el posible interés en la mezcla, al compensarse entre los residuos las posibles carencias que puedan presentar (MITC, 2007).

	Residuos ganaderos	Lodos depuración	FORM	Residuos industria alimentaria
Micro y macronutrientes	↑	↑	↓	↓
Relación C/N	↓	↑ ↓	↑	↑
Capacidad tampón (alcalinidad)	↑		↓	↓
Materia orgánica biodegradable	↓	↑ ↓	↑	↑

Figura 1.4.2.3. Caracterización relativa para la co-digestión de diferentes residuos orgánicos (MITC, 2007).

1.4.3. Microbiología y bioquímica de la digestión anaerobia

La digestión anaerobia se caracteriza por un conjunto de reacciones asociadas al metabolismo de numerosos microorganismos agregados, que son intermediarios necesarios para transformar la materia orgánica compleja en sustratos simples fermentables por las bacterias metanogénicas.

Desde el punto de vista bioquímico, se han establecido Zeikus (1980) cuatro etapas metabólicas bien diferenciadas (Al Seadi et al., 2008; Zeikus, 1980):

- Etapa de hidrólisis-acidogénesis.
- Etapa de acetogénesis.

- Etapa de homoacetogénesis.
- Etapa de metanogénesis.

El establecimiento de estas etapas corresponde a la actividad específica de los grupos fundamentales de microorganismos que intervienen en el proceso (Tabla 1.4.3.1):

- Bacterias hidrolíticas y acidogénicas.
- Bacterias acetogénicas y homoacetogénicas.
- Arqueas metanogénicas.

Tabla 1.4.3.1. *Microorganismos involucrados en la digestión anaerobia (Morales, 2005).*

Etapa	Género/Especie
Hidrolíticas acidogénicas	<i>Butyvirio sp, Clostridium sp, Ruminococcus sp, Acetobivrio sp, Eubacterium sp, Peptococcus sp, Lacobacillus sp, Streptococcus sp, etc.</i>
Acetogénicas	<i>Acetobacterium sp, Acetogenium sp</i>
Homoacetogénicas	<i>Eubacterium sp, Pelobacter sp, Clostridium sp, etc.</i>
Reductoras de protones estrictos	<i>Metanobacillus omelionskii, Syntrophobacter wolinii, Syntrophobacter wolfei, Syntrophus busweli, etc.</i>
Metanogénicas	<i>Methanobacterium sp, Methanobrevibacter sp, Methanococcus sp, Methanomicrobium sp, Methanogenium sp, Methanospirillum hungatei, etc</i>

En la Figura 1.4.3.2 se esquematizan las etapas metabólicas, anteriormente citadas, para la formación de metano.

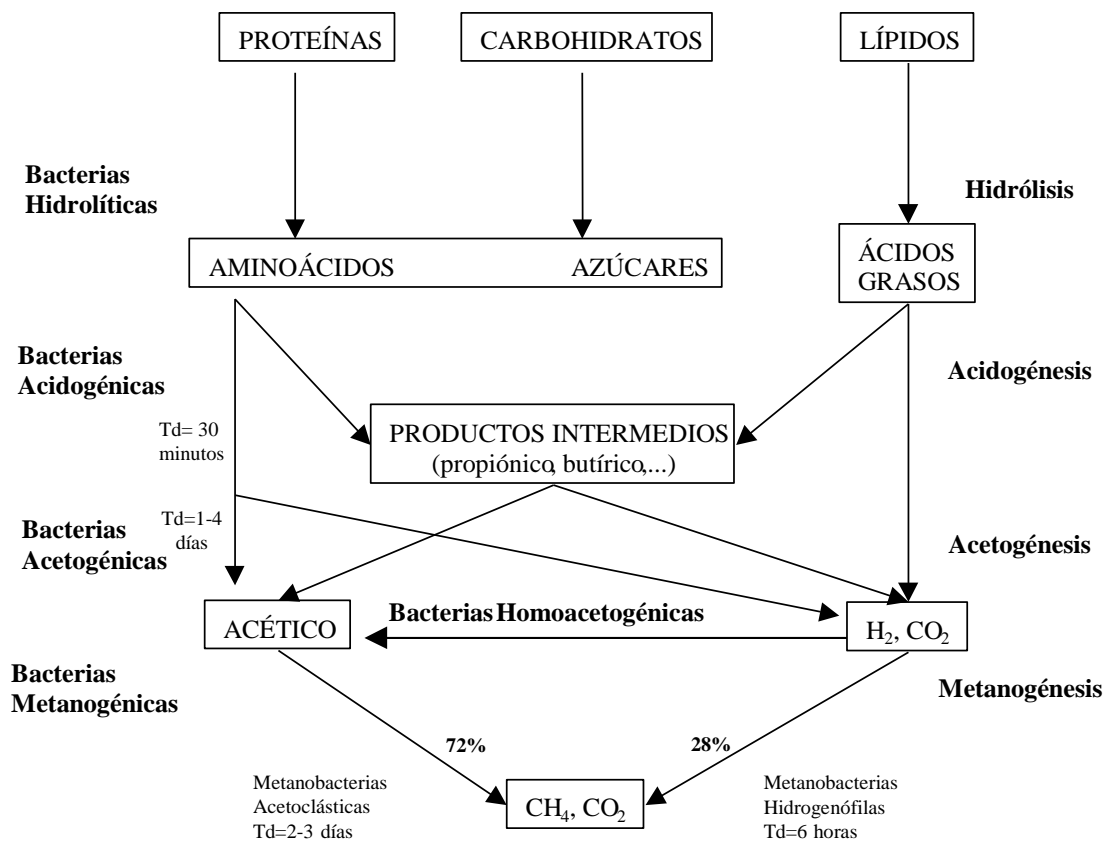


Figura 1.4.3.2. Etapas metabólicas para la formación de metano (*Td* = tiempo de duplicación de los diversos tipos de bacterias) (Gujer y Zehnder, 1983).

1.4.3.1. Etapa de hidrólisis-acidogénesis

En una primera fase de la digestión anaerobia los grandes polímeros orgánicos (glúcidos, lípidos y proteínas) son despolimerizados por la acción de enzimas extracelulares hidrolíticas (celulasas, hemicelulasas, amilasas, lipasas y/o proteasas). A continuación, los hidrolizados son fermentados, por acción de las bacterias acidogénicas, a ácidos orgánicos y ácidos grasos volátiles de bajo peso molecular (acético, propiónico, butírico, láctico), compuestos neutros (etanol, metanol), amoníaco, hidrógeno y dióxido de carbono.

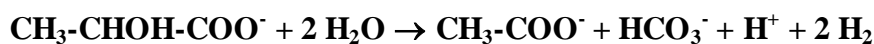
Las bacterias presentes en esta fase dependen del tipo de sustrato y, a modo de ejemplo, se pueden citar bacterias de los géneros *Bacillus sp*, *Pseudomonas sp* y *Micrococcus sp* (Nähle, 1987).

Es muy difícil establecer una separación entre bacterias hidrolíticas y acidogénicas, ya que muchos microorganismos son capaces de realizar ambos procesos, pero se sabe que el número de microorganismos hidrolíticos es muy pequeño en relación con el número de microorganismos acidogénicos existentes en los lodos anaerobios.

1.4.3.2. Etapa de acetogénesis

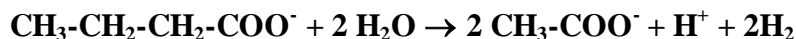
Esta etapa la lleva a cabo un grupo bacteriano, no diferenciado taxonómicamente, caracterizado por su fisiología como bacterias quimioheterótrofas no fermentativas, reductoras obligadas de protones, que transforman por oxidación sustratos no fermentables, algunos compuestos aromáticos, alcoholes y ácidos obtenidos en la etapa anterior, dando lugar a los compuestos intermedios más importantes en la digestión anaerobia: ácido acético, hidrógeno y dióxido de carbono.

Las reacciones más importantes que tienen lugar en esta etapa son las siguientes (Thauer, 1979, Nähle, 1987):



(Lactato)

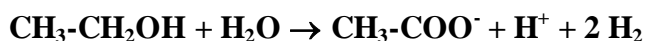
(Acetato)

 $\Delta G^\circ = -4.2 \text{ kJ}$ 

(Butirato)

 $\Delta G^\circ = +48 \text{ kJ}$ 

(Propionato)

 $\Delta G^\circ = +76.1 \text{ kJ}$ 

(Alcohol etílico)

 $\Delta G^\circ = +9.6 \text{ kJ}$

Estas reacciones son imposibles desde un punto de vista termodinámico, ya que las variaciones de la energía libre de estos compuestos son endergónicas en el sentido de formación de acetato, salvo que se elimine continuamente hidrógeno u otro de los productos de reacción. Por tanto, el metabolismo acetogénico se caracteriza por una absoluta dependencia de la eliminación de hidrógeno por otros microorganismos (metanogénicos y sulfatorreductores), de modo que una reacción que requiere energía se transforma en un proceso con liberación de energía por acoplamiento a la metanogénesis (Zehnder, 1983).

Este ejemplo, que podría extenderse a otras etapas del metabolismo anaerobio, pone de manifiesto la importancia decisiva que tiene la formación de agregados bacterianos para la transferencia de los distintos sustratos y por tanto para el adecuado transcurso de la digestión anaerobia.

Entre las bacterias que intervienen en esta etapa se pueden citar los siguientes géneros: *Syntrophobacter sp*, *Syntrophomonas sp* y *Desulfovibrio sp* (Daniels, 1984).

1.4.3.3. Etapa de homoacetogénesis

Los microorganismos que intervienen en la fase de homoacetogénesis se caracterizan por la formación de acetato como único metabolito a partir de la fermentación de azúcares y a partir de compuestos monocarbonados como el formiato (HCOO^-) o la mezcla gaseosa $\text{H}_2\text{-CO}_2$ (Zeikus, 1981).

Los microorganismos homoacetogénicos más comunes que intervienen en esta fase son *Acetobacterium wodii*, *Clostridium aceticum* y *Butybacterium methylotrophium* (Nähle, 1987).

1.4.3.4. Etapa de metanogénesis

La generación de metano como producto final de la digestión anaerobia se lleva a cabo por un grupo único y altamente especializado de procariotas anaerobios pertenecientes al dominio Archaea, arqueas metanogénicas, que son anaerobias estrictas (Ferrer y Pérez, 2010). Son los

organismos clave en la digestión anaerobia ya que se desarrollan más lentamente y son más sensibles a las variaciones del medio que el resto de los microorganismos que intervienen en el proceso.

Las arqueas metanogénicas llevan a cabo la formación biológica de metano a partir de sustratos monocarbonados o con dos átomos de carbono unidos por enlace covalente: acetato, hidrógeno-dióxido de carbono, formiato, metanol y algunas metilaminas.

Existen dos grupos fundamentales de arqueas metanogénicas: las metanogénicas acetoclásticas y las hidrogenófilas o utilizadoras de hidrógeno.

En el caso de las bacterias metanogénicas acetoclásticas, la formación de metano implica la rotura de la molécula de acetato y la transformación del grupo metilo (CH_3) en metano (CH_4) y del grupo carboxilo en dióxido de carbono (CO_2). De las especies conocidas de metanogénicas tan sólo un bacilo y una cepa termofílica del género *Methanosarcina sp* utilizan estrictamente acético como sustrato.

En el caso de las metanogénicas hidrogenófilas, el proceso puede considerarse como una respiración anaerobia en la que el CO_2 actúa como aceptor final de electrones, convirtiéndolo en CH_4 , siendo el donador de electrones en este proceso el hidrógeno. La formación de metano a partir de CO_2 e H_2 tiene un doble sentido en el proceso de digestión anaerobia, por un lado, producir metano y por otro eliminar el H_2 gaseoso, favoreciendo así la etapa de acetogénesis.

La clasificación de bacterias metanogénicas hidrogenófilas realizada por Stafford et al. (1980) se compone de seis géneros principales: *Methanobacterium sp*, *Methanosarcina sp*, *Methanococcus sp*, *Methanobacillus sp*, *Methanotrix sp* y *Methanospirillum sp*.

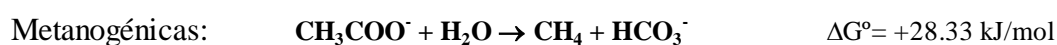
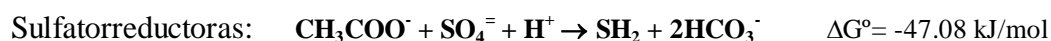
El acetato es el precursor más abundante en la metanogénesis, de modo que aproximadamente el 70% del metano producido en digestores anaerobios proviene del acetato, mientras que la mayor parte del 30% restante proviene del dióxido de carbono e hidrógeno. Esta

proporción (70:30) varía con la naturaleza del influente que se esté tratando, pero siempre son necesarias las dos reacciones en un proceso de digestión estable. Un metro cúbico de metano en condiciones normales de presión y temperatura (0°C y 1 atm) tiene un poder calorífico neto de 35.800 kJ/m³; dependiendo de la proporción en la que se encuentre en el biogás éste presentará aproximadamente un poder calorífico de 22.400 kJ/Nm³ (Morales, 2005). En la Tabla 1.4.3.4.1 se muestra la posible composición del biogás según el sustrato empleado en el proceso de digestión anaerobia.

Tabla 1.4.3.4.1. Composición del biogás en función de la materia prima utilizada (Rincón y Silva, 2015; García et al., 2012).

Componente	Desechos agrícolas	Lodos de depuradora	Desechos industriales
Metano	50-80%	50-80%	50-70%
Dióxido de Carbono	20-50%	20-50%	30-50%
Agua	Saturado	Saturado	Saturado
Hidrógeno	0-2%	0-5 %	0-2%
Sulfuro de hidrógeno	100-700 ppm	0-1 %	0-8%

Cuando en los digestores anaerobios hay sulfatos es frecuente la presencia de bacterias sulfatorreductoras que pueden utilizar el acético para su desarrollo. Se produce entonces una competencia con las bacterias metanogénicas, ya que de las dos reacciones la más favorecida termodinámicamente es la llevada a cabo por las bacterias sulfatorreductoras, como se observa en las siguientes reacciones químicas:



Las sulfatorreductoras pueden reducir los sulfatos a sulfuros, utilizando como donador de

electrones el hidrógeno producido por las bacterias acetogénicas, por lo que éste no puede ser utilizado por las bacterias metanogénicas. Por tanto, la transferencia de hidrógeno interespecies es un punto clave para mejorar y controlar las fermentaciones industriales desde el punto de vista práctico.

1.4.4. Factores que afectan a la digestión anaerobia

Con objeto de conseguir simultáneamente elevadas velocidades de crecimiento celular y elevadas actividades, se deben mantener unas condiciones óptimas de las distintas variables físico-químicas que intervienen en el proceso de digestión anaerobia.

1.4.4.1. Efecto del oxígeno

La ausencia de oxígeno es una condición indispensable para la existencia y crecimiento de las bacterias anaerobias, especialmente de las bacterias metanogénicas. Son los microorganismos anaerobios más estrictos, ya que 0,01 mg/L de oxígeno disuelto inhibe totalmente su crecimiento en cultivo puro (Wolfe, 1971). Sin embargo, cuando crecen en cultivos mixtos presentan una mayor tolerancia al oxígeno, atribuible principalmente al consumo de éste por las bacterias facultativas, las cuales crean un microambiente anaerobio (Kato et al., 1993).

1.4.4.2. Efecto de la temperatura

La temperatura ejerce gran influencia sobre la eficacia de la digestión anaerobia. Afecta a la actividad de los microorganismos, en especial a los metanogénicos, a la solubilidad del carbónico y en consecuencia al pH. Además, la temperatura determina la cantidad de energía requerida por el sistema y por tanto influye en los costes de tratamiento.

Nähle (1987) estudió la cantidad de biogás formado en el proceso de digestión anaerobia de fangos respecto a la temperatura de operación y observó dos máximos, uno en la zona mesófila (33 - 37 °C) y otro en la zona termófila (aproximadamente 55 °C). Estas dos zonas de temperatura son óptimas para el desarrollo de la digestión anaerobia, existiendo una relación directa entre la

temperatura y el tiempo de retención hidráulico (Tabla 1.4.4.2.1) (Al Seadi et al., 2008).

Tabla 1.4.4.2.1. Temperatura y tiempos de retención (Al Seadi et al., 2008).

Temperatura	Tiempo mínimo de retención
Psicrófila (<20°C)	70-80 días
Mesófila (30-42°C)	30-40 días
Termófila (43-55°C)	15-20 días

La estabilidad de la temperatura es decisiva para el correcto funcionamiento del proceso de digestión anaerobia. En la práctica, la temperatura de operación se elige teniendo en cuenta el sustrato a tratar(Al Seadi et al., 2008; Monet, 2003). En la práctica, la temperatura de 35 °C suele tomarse como valor de referencia para el diseño y operación de reactores, sin que esto suponga, que los reactores no puedan trabajar a temperaturas más bajas o altas en determinadas circunstancias.

1.4.4.3. Efecto de la agitación

Existen opiniones contradictorias, desde el comienzo de la utilización del tratamiento anaerobio, sobre la necesidad de agitar o no el contenido del digestor. Es cierto que una homogeneización completa del licor de mezcla es importante; de hecho, estudios recientes indican que un exceso de mezcla puede tener un efecto perjudicial a nivel económico y del propio proceso microbiológico (Sánchez, 2016). Como las bacterias productoras y consumidoras de hidrógeno dependen estequiométricamente unas de otras, hay autores que opinan que una “rotura” de esta comunidad por una agitación demasiado fuerte puede ocasionar una perturbación del proceso (Seyfried y Sixt, 1981). Hay otros autores (Stafford, 1982) que hacen constar que la producción de gas es independiente de la intensidad de agitación del digestor. Nähle (1987) señala que es necesaria como mínimo una turbulencia que garantice la interacción entre los microorganismos con el

sustrato a degradar, viéndose afectado el crecimiento y la actividad de los microorganismos anaerobios por la intensidad de la agitación (Al Seadi et al., 2008). Otros autores como Sedaka y Engler (2000) obtuvieron una mejora de 33,3% en el rendimiento en la producción de biogás en un reactor con agitación comparado con otro sin agitación con el mismo sustrato (mezcla de estiércol).

En la práctica se suele emplear una agitación suave con el fin de conseguir homogeneizar el medio para alcanzar valores uniformes de concentración y temperatura, facilitando los procesos de transferencia de materia entre sustrato y microorganismos.

1.4.4.4. Efecto del pH

El pH depende de las reacciones ácido-base. En el proceso de digestión anaerobia tienen lugar multitud de estas reacciones, por lo tanto, el pH es un índice global de lo que ocurre en el digestor (Hernández, 1992).

Los diferentes grupos bacterianos que intervienen en el proceso presentan unos niveles de actividad óptimos a pH próximo a la neutralidad. Así, los microorganismos hidrolíticos operan adecuadamente entre 7,2-7,4, los acidogénicos en torno a 6,0 y los acetogénicos entre 7,0-7,2. En general, la máxima actividad metabólica de las bacterias metanogénicas se da para valores de pH comprendidos entre 6,5 y 7,5 (Al Seadi et al., 2008; Wheatley, 1990) mientras que se inhiben a valores inferiores a 6,0 o superiores a 8,0.

En la práctica, los digestores anaerobios que presentan un buen funcionamiento suelen trabajar a pH neutro, siendo el intervalo de pH óptimo 6,8-7,4 (Ramalho, 1991).

No obstante, algunos autores sostienen que el pH del digestor es un factor que no puede considerarse aisladamente, afirmando que el fallo o la buena marcha de la digestión se define según la relación entre el pH, alcalinidad y presión parcial de dióxido de carbono en el mismo, tal como se muestra en la Figura 1.4.4.4.1.

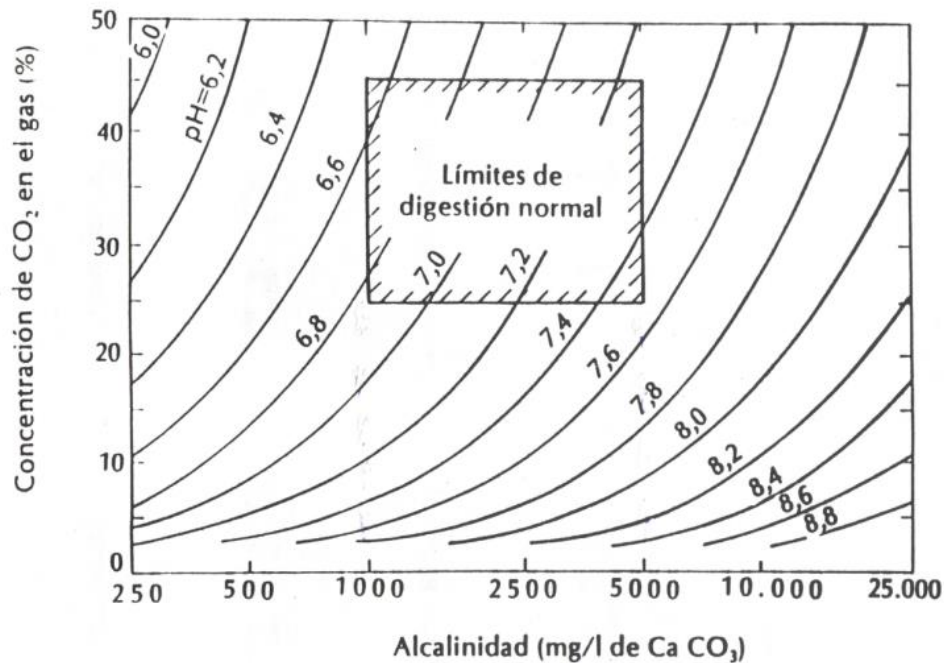


Figura 1.4.4.1. Influencia del pH, alcalinidad y concentración de CO₂ en la digestión anaerobia (Parkin y Owen, 1986).

1.4.4.5. Efecto de la alcalinidad

La alcalinidad es una medida de la capacidad amortiguadora de un digestor ante los posibles cambios de pH que tengan lugar en el proceso (Lorenzo y Obaya, 2005; Hashimoto *et al.*, 1980). Esta capacidad reguladora la constituyen el bicarbonato, carbonato, amoníaco y los hidróxidos de algunos metales que se encuentran en el medio, así como los ácidos orgánicos y las sales ácidas. Su formación se produce al reaccionar el CO₂, procedente de la degradación de la materia orgánica, con los cationes presentes en el licor de mezcla y con el amoníaco originado durante el proceso de desaminación de los compuestos nitrogenados, dando lugar a carbonatos y bicarbonatos, principalmente amoniacales.

La concentración de bicarbonatos debe ser superior al 60% de la alcalinidad total para controlar las variaciones de concentración de ácidos orgánicos volátiles, es decir para regular el equilibrio metabólico entre la producción y el consumo de dichos ácidos durante el transcurso de la

digestión anaerobia.

En la práctica se considera que cuando los valores de alcalinidad se encuentran entre 1,0 y 5,0 g/L de CaCO_3 (Figura 1.4.4.4.1), el sistema proporciona una capacidad amortiguadora adecuada para el transcurso de la digestión anaerobia.

1.4.4.6. Efecto de la acidez volátil

La concentración de ácidos volátiles, producto de la fermentación, tiene una gran importancia en el proceso de la digestión pues puede llegar a acidificar al reactor provocando el fallo del proceso. Los valores óptimos de acidez volátil están comprendidos entre 50 y 500 mg/L expresados como ácido acético, siendo un valor extremo 2000 mg/L.

Un factor indicativo de la marcha de la digestión es la relación entre las concentraciones de acidez volátil/alcalinidad total, entendiéndose por alcalinidad total la suma de la concentración de alcalinidad del bicarbonato y la de ácidos orgánicos volátiles. Cuando esta relación es inferior a 0,1 la marcha del digester es adecuada, mientras que cuando se sobrepasa el valor de 0,3-0,4, según el Manual Práctico de la WPCF (1967) (Palacios-Ruiz et al., 2008), se espera una acidificación de la digestión. El aumento de la concentración de ácidos volátiles puede deberse a una sobrecarga de alimentación o por una inhibición de las bacterias metanogénicas.

1.4.4.7. Nutrientes

Una de las ventajas inherentes al proceso de digestión anaerobia es su baja necesidad de nutrientes, derivada de la pequeña velocidad de crecimiento de los microorganismos que intervienen en el proceso (el coeficiente de producción celular por unidad de sustrato utilizado es de 0,04-0,08 g células/g DQO eliminada). Los principales nutrientes necesarios para el crecimiento de los microorganismos son carbono, nitrógeno y fósforo, además de elementos minerales a nivel de trazas como S, K, Na, Ca, Mg y Fe. Así, según Ying (1988), la relación C:N:P debe ser 100:5:1, mientras que Amatya (1996) y Aiyuk et al. (2004) citan que la relación DQO:N:P adecuada es

300:5:1.

1.4.4.8. Factores orgánicos de crecimiento

Los micronutrientes orgánicos que se requieren en la digestión anaerobia no están bien definidos, pero el buen funcionamiento de un digestor anaerobio conlleva el requerimiento de estos.

Entre otros se consideran micronutrientes orgánicos fundamentales los siguientes: tiamina, vitamina B₁₂, riboflavina, hemoglobina, benzimidazol, prolina, y extracto de levadura como fuente orgánica completa, tripticasa, coenzima M, Factor 420, acetato y ácido 2-metil butírico.

Pero el coste relativamente elevado de la mayoría de ellos limita la suplementación en la práctica para digestores industriales, como ocurre con las formas puras de riboflavina y vitamina B₁₂. No obstante, deberían definirse las curvas de respuesta a la estimulación para las trazas orgánicas mencionadas.

1.4.4.9. Sustancias inhibitorias de la digestión anaerobia

La inhibición de los procesos de digestión anaerobia puede ser producida por diferentes sustancias tóxicas presentes en la alimentación o generadas durante la actividad metabólica de las propias bacterias presentes en el digestor. Estos inhibidores suelen incluir el amonio, compuestos de azufre, iones metálicos ligeros, metales pesados y compuestos orgánicos (Chen et al., 2008)

Entre estas sustancias se encuentran los metales alcalinos y alcalinotérreos (la tolerancia es relativamente importante como se observa en la Tabla 1.4.4.9.1), sulfuros, cianuro, amoníaco y amonio, metales pesados, moléculas orgánicas del tipo de los polifenoles, derivados de α -hemicelulosas, etc.

Tabla 1.4.4.9.1. Concentraciones de estimulación e inhibición de cationes metálicos ligeros^a.

<i>Catión</i>	<i>Estimulación</i> (mg/L)	<i>Inhibición moderada</i> (mg/L)	<i>Inhibición fuerte</i> (mg/L)
Sodio	100-350**	3500-5500	8000
Potasio	200-400	>400*	
Calcio*	100-200	2500-4500	8000
Magnesio	75-150	400*	
Aluminio		1000*	

^a Adaptación de McCarty (1964), Chen* et al. (2008), Patel y Roth** (1977).

El ión cianuro es tóxico a concentraciones de 1 mg/L, aunque las bacterias pueden llegar a aclimatarse a niveles mayores. En cuanto al amoníaco y al amonio, el pH juega un papel clave en el equilibrio de disociación, de modo que a pH 8 es posible alcanzar niveles de amonio de 4 g/L. Los **metales pesados** pueden comportarse como estimuladores, inhibidores o incluso tóxicos en reacciones bioquímicas, dependiendo de la concentración a la que se encuentren. Muchos iones metálicos pueden tener un comportamiento tóxico en los sistemas biológicos a través de diferentes rutas metabólicas de forma simultánea (Atlas, 2008). A continuación se describen los efectos que presentan el Zn²⁺, Ni²⁺, Cd²⁺ y Cr⁴⁺ en el crecimiento de los microorganismos metanogénicos (Atlas, 2008):

- La producción de metano es dependiente del tipo y concentración de metal pesado. En general, el rendimiento en metano decrece a concentraciones de metales pesados superiores a 32 mg/L.
- La capacidad de inhibición de los metales pesados varía en orden Zn²⁺ > Cr⁴⁺ > Ni²⁺ ≈ Cd²⁺. Los valores de concentración para la inhibición del 50 % de una población para cada metal de modo individual se estima en 8 mg Zn²⁺/L, 27 mg Cr⁴⁺/L, 35 mg Ni²⁺/L y 36 mg

Cd^{2+}/L .

- Aunque, en general, los microorganismos metanogénicos muestran baja resistencia a la toxicidad por metales, presentan la capacidad de aumentar la resistencia al inhibidor tras un cierto periodo de adaptación.

Por otro lado, los **compuestos orgánicos** que pueden producir inhibición del proceso de digestión anaerobia son alquil bencenos nitrobencenos, bencenos halogenados, fenoles y alquil fenoles, fenoles halogenados, nitrofenoles, alcanos, compuestos alifáticos halogenados alcoholes, alcoholes halogenados, aldehídos, cetonas, acrilatos, amidas y piridinas y sus derivados.

Con respecto a los clorofenoles, estos resultan ser tóxicos para muchos organismos ya que interrumpen el gradiente de protones a través de las membranas. Una concentración de entre 0,5-10 mg/L de penta-clorofenol causa inhibición en microorganismos acidogénicos y metanogénicos (Sikkema et al., 1995).

Los compuestos alifáticos halogenados son fuertes inhibidores de la metanogénesis. En general, los compuestos que contienen bromo son más inhibidores de los microorganismos metanogénicos que los compuestos clorados análogos. La concentración inhibitoria para el 50% de la población se estima a partir de 3,3 mg/L, mientras que a concentraciones de 100 mg/L producen una inhibición irreversible (Chen et al., 2008). Con respecto al cloroformo, la concentración inhibitoria para el 50% en poblaciones no adaptadas es de 0,15 mg/L, pudiendo producir efectos adversos en la digestión anaerobia a partir de una concentración de 0,01 mg/L. Ello se debe a que durante la degradación anaerobia del cloroformo se forman productos y compuestos intermedios que contribuyen a aumentar la inhibición en el reactor (van Beelen y Vlaardingen, 1994).

Por otro lado, entre los compuestos aromáticos nitrogenados, se incluyen nitro-bencenos, nitrofenoles, amino-fenoles, aminas aromáticas, etc. El carácter tóxico de estos compuestos deriva de interacciones químicas específicas entre enzimas o interferencias con rutas metabólicas

involucradas en el proceso de biometanización (Balderston y Payne, 1976). La concentración inhibitoria para el 50% de la población se encuentra en el rango de 0,014 a 0,12 mM. Las aminas aromáticas, presentan menor carácter inhibitor, con una concentración inhibitoria para el 50% de la población entre 3,2 y 67 mM, debido principalmente a que son poco hidrófobas (Razo-Flores et al., 1997).

Con respecto a la lignina y compuestos derivados de ésta, aquellos que contienen grupos aldehído o sustitutos apolares son altamente tóxicos para los microorganismos metanogénicos. Sin embargo, los ácidos aromáticos carboxílicos son sólo medianamente tóxicos. Op den Camp et al. (1988) evaluaron la toxicidad de varios compuestos fenólicos sobre la degradación de celulosa y observaron que la inhibición sobre la producción de metano sólo se produce a altas concentraciones.

1.4.4.10. Velocidad de carga orgánica (VCO)

La velocidad de carga orgánica (VCO) indica la cantidad de materia orgánica por unidad de volumen que se introduce diariamente en el digestor. Éste es uno de los parámetros que ha de controlarse en un proceso anaerobio ya que cuando aumenta considerablemente, se produce una acumulación de ácidos volátiles en el medio que inhibe la actividad de las bacterias metanogénicas y paraliza el proceso de depuración. Autores como Jiménez et al. (2015) obtuvieron, para una mezcla de lodo de depuradora-FORSU, un incremento en la producción de biogás de 200% operando a una velocidad de carga orgánica de 3,1 kg DQO/m³·d y de 59% para 1,9 kg DQO/m³ d.

1.4.4.11. Tiempo de residencia

En todo proceso biológico se controlan dos tiempos de residencia: el tiempo de retención de sólidos o edad del lodo (TRS) y el tiempo de retención hidráulico (TRH).

El TRS indica la permanencia de biomasa en el digestor y se define como:

$$TRS = \frac{\text{Sólidos en suspensión en el digestor}}{\text{Sólidos en el efluente / día}}$$

El TRH indica el tiempo de permanencia de un agua residual en un digestor para que toda la materia orgánica biodegradable se transforme en biogás. Depende del tipo y características del residuo que se trate y de las condiciones de operación, estando definido por la siguiente ecuación (Couplet & Albagnac, 1978):

$$TRH = \frac{\text{Volumen del digestor}}{\text{Volumen de efluente/día}}$$

El tiempo de retención hidráulico (TRH) es una variable muy importante en el proceso anaerobio, que depende fundamentalmente de la temperatura y del procedimiento de digestión empleado. En términos globales puede afirmarse que al aumentar el tiempo de retención se consigue una mejor digestión de la materia orgánica, pero se precisa un mayor volumen de digestor y por tanto el coste es mayor.

De conformidad con todo lo anteriormente descrito, en esta Tesis Doctoral se abordarán distintas estrategias, individuales o conjuntas, para la mejora del proceso de digestión anaerobia de distintas sustancias residuales industriales y hortofrutícolas. Todo ello, se organizará de forma que se consiga alcanzar los objetivos recogidos al inicio del manuscrito.

1.5. Referencias

- Abbasi, T., Tauseef, S.M., Abbasi, S.A., 2012. Biogas Energy. Springer New York Dordrecht Heidelberg London. Chapter 2, pp 12.
- Ademark, P., Varga, A., Medve, J., Harjunpää, V., Drakenberg, T., Tjerneld, F., Stålbrand, H., 1998. Softwood hemicellulose-degrading enzymes from *Aspergillus niger*: Purification and properties of a β -mannanase. *Journal of Biotechnology*. 63 (3): 199-210.
- Aenor residuos. <https://www.aenor.es/revista/311/residuos311-2.html> (2018)
- Aiyuk, S., Forrez, I., Lieven, K., van Haandel, A., Verstraete, W., 2006. Anaerobic and complementary treatment of domestic sewage in regions with hot climates—A review, *Bioresource Technology*. 97 (17): 2225-2241.
- Aiyuk, S.E., Amoako, J., Raskin, L., Van Haandel, A., Verstraete, W., 2004. Removal of carbon and nutrients from domestic sewage using a low-cost, integrated treatment concept. *Water Research*. 38: 3031–3042.
- Akinbami, J.F.K., Ilori, M.O., Oyebisi, T.O., Akinwumi, I.O., Adeoti, O., 2001. Biogas energy use in Nigeria: current status, future prospects and policy implications. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 5 (1): 97-112.
- Al Seadi, T., Ruiz, D., Prassl, H., Kottner, M., Finsterwaldes, T., Volke, S. and Janssens, R., 2008. *Handbook of Biogas*.
- Alphenaar, P.A., Sleyster, R., de Reuver, P., 1993. Phosphorus requirement in high-rate anaerobic wastewater treatment. *Water Research*. 27: 749–756
- Altaş, L., 2008. Inhibitory effect of heavy metals on methane producing anaerobic granular sludge. *Journal of Hazardous Materials*. 162: 1551–1556.

- Amatya, P.L., 1996. Anaerobic treatment of tapioca starch industry wastewater by bench scale upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor. M.Eng. Thesis. Asian Institute of Technology, Bangkok, Thailand.
- Amirta, R., Tanabe, T., Watanabe, T., Honda, Y., Kuwahara, M., Watanabe, T., 2006. Methane fermentation of Japanese cedar wood pretreated with a white rot fungus, *Ceriporiopsis subvermispora*. *Journal of Biotechnology*. 123: 71-77.
- Appels, L., Baeyens, J., Degrève, J., Dewil, R., 2008. Principal and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge. *Progress in Energy and Combustion Science*. 34: 755-781.
- Bai, Y., Li, W., Chen, C., Liao, P., 2010. Biological pretreatment of cotton stalks and domestication of inocula in biogas fermentation. *Microbiology China*. 37: 513-519.
- Balderston, W.L., Payne, W.J., 1976. Inhibition of methanogenesis in salt marsh sediments and whole-cell suspensions of methanogenic bacteria by nitrogen oxides. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 32: 264-269.
- Beyer, H., Walter, W., 1987. *Manual de química orgánica*. Editorial Reverté. (<https://books.google.es/books?id=Pm71NZzKlaoC&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false>)
- Bolzonella, D., Pavan, P., Battistoni, P., Cecchi, F., 2005. Mesophilic anaerobic digestion of waste activated sludge: influence of the solid retention time in the wastewater treatment process, *Process Biochemistry*. 40 (3-4): 1453-1460.
- Bougrier, C., Battimelli, A., Delgenes, J.P., Carrere, H., 2007. Combined ozone pretreatment and anaerobic digestion for the reduction of biological sludge production in wastewater treatment, *Ozone: Science & Engineering*. 29 (3): 201-206.

- Brunetti, A., Boari, G., Passino, R., Rozzi, A., 1983. Physico-chemical factors affecting start-up in UASB digestors. In: Proc. of European Symposium on Anaerobic Wastewater Treatment, Noordwijkerhout, The Netherlands, p. 317.
- Bruni, E., Jensen, A.P., Angelidaki, I., 2010. Comparative study of mechanical, hydrothermal, chemical and enzymatic treatments of digested biofibers to improve biogas production. *Bioresource Technology*. 101 (22): 8713-8717.
- CAPDR, Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural, 2016. Estrategia de gestión de restos vegetales en la horticultura de Andalucía Hacia una economía circular.
- Carlsson, M., Lagerkvist, A., Morgan-Sagastume, F., 2012. The effects of substrate pretreatment on anaerobic digestion systems: a review. *Waste Management*. 32: 1634-1650.
- Carlsson, M., Lagerkvist, A., Morgan-Sagastume, F., 2012. The effects of substrate pretreatment on anaerobic digestion systems: a review. *Waste Management*. 32: 1634-1650.
- Carrère, H., Dumas, C., Battimelli, A., Batstone, D.J., Delgenès, J.P., Steyer, J.P., Ferrer, I., 2010. Pretreatment methods to improve sludge anaerobic degradability: A review. *Journal of Hazardous Materials*. 183 (1-3): 1-15.
- Chandra, R., Takeuchi, H., Hasegawa, T., 2012. Hydrothermal pretreatment of rice straw biomass: a potential and promising method for enhanced methane production. *Applied Energy*. 94: 129-140.
- Chandra, R., Takeuchi, H., Hasegawa, T., Kumar, R., 2012. Improving biodegradability and biogas production of wheat straw substrates using sodium hydroxide and hydrothermal pretreatments. *Energy*. 43: 273-282.
- Chen, Y., Chen, J.J., & Creamer, K.S., 2008. Inhibition of anaerobic digestion process: A review. *Bioresource Technology*, 99: 4044-4064.

Cirne, D., Lehtomäki, A., Björnsson, L., Blackall, L., 2007. Hydrolysis and microbial community analyses in two-stage anaerobic digestion of energy crops. *Journal of Applied Microbiology*. 103: 516-527.

Comisión Europea, 2001. Sexto Programa de Acción de la Comunidad Europea en materia de Medio Ambiente 'Medio ambiente 2010: el futuro está en nuestras manos'. (<https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=COM:2001:0031:FIN:ES:PDF>)

Comisión Europea, 2018. <http://ec.europa.eu/environment/waste/index.htm> última actualización 10/04/2018.

Decisión N° 1386/2013/UE del Parlamento Europeo y del Consejo de 20 de noviembre de 2013 relativa al Programa General de Acción de la Unión en materia de Medio Ambiente hasta 2020 «Vivir bien, respetando los límites de nuestro planeta». <http://data.europa.eu/eli/dec/2013/1386/oj>

Directiva Marco de residuos 2008/98/CE. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/PDF/?uri=CELEX:32008L0098&from=EN>

Dogan, I., Sanin, F.D., 2009. Alkaline solubilization and microwave irradiation as a combined sludge disintegration and minimization method. *Water Research*. 43 (8): 2139–2148.

EBA, <http://european-biogas.eu/2017/12/14/eba-statistical-report-2017-published-soon/> (fecha consulta 21/03/2018)

Eskicioglu, C., Kennedy, K.J., Droste, R.L., 2009. Enhanced disinfection and methane production from sewage sludge by microwave irradiation. *Desalination*. 248 (1–3) 279–285.

Eskicioglu, C., Terzian, N., Kennedy, K.J., Droste, R.L., Hamoda, M., 2007. Athermal microwave effects for enhancing digestibility of waste activated sludge. *Water Research*. 41 (11): 2457–2466.

- Eurostat. https://ec.europa.eu/eurostat/web/products-datasets/product?code=env_ww_spd (última actualización de la fuente 09/04/18, fecha acceso 02/10/2018)
- Fernandez-Polanco, F., Velazquez, R., Perez-Elvira, S.I., Casas, C., Del Barrio, D., Cantero, F.J., Fdz-Polanco, M., Rodriguez, P., Panizo, L., Serrat, L., Rouge, P., 2008. Continuous thermal hydrolysis and energy integration in sludge anaerobic digestion plants, *Water Science. Technology*. 57 (8): 1221–1226.
- Ferrer, Y., Pérez, H., 2010. Los microorganismos en la digestión anaerobia y la producción de biogás. Consideraciones en la elección del inóculo para el mejoramiento de la calidad y el rendimiento. *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*. 43 (1):.9-20.
- Flotats, X., Fernández, B., 2008. Tratamiento anaerobio de residuos de la industria alimentaria. II Congreso Iberoamericano sobre Seguridad Alimentaria, V Congreso Español de Ingeniería de Alimentos.
- Fountoulakis, M.S., Manios, T., 2009. Enhanced methane and hydrogen production from municipal solid waste and agro-industrial by-products co-digested with crude glycerol. *Bioresource Technology*. 100 (12): 3043-3047.
- García, J.G.G., Fernández, I.M., Montenegro, M.M.M., Fuentes, A.F., Cortés, J.G.G., 2012. Biogás: una alternativa ecológica para la producción de energía. *Ide@s CONCYTEG*, 7 (85), 881-894
- Gerhardt, M., Pelenc, V., Bäuml, M., 2007. Application of hydrolytic enzymes in the agricultural biogas production: results from practical applications in Germany. *Biotechnology Journal*. 2: 1481-1484.
- Hanson, R.S., Hanson, T.E., 1996. Methanotrophic bacteria. *Microbiological Reviews*. 60: 439–471.

- Haug, R.T., Stuckey, D.C., Gossett, J.M., MacCarty, P.L., 1978. Effect of thermal pretreatment on digestibility and dewaterability of organic sludges. *Journal of the Water Pollution Control Federation*. 73–85.
- Henard, C.A., Smith, H.K., Guarnieri, M.T., 2017. Phosphoketolase overexpression increases biomass and lipid yield from methane in an obligate methanotrophic biocatalyst. *Metabolic Engineering*. 41: 152-158.
- Hoornweg, D., Bhada-Tata, P., 2012. *What a Waste: A Global Review of Solid Waste Management* World Bank. World Bank. pp 19.
- Hosseini, E., Eskicioglu, C., 2016. Conventional heating vs. microwave sludge pretreatment comparison under identical heating/cooling profiles for thermophilic advanced anaerobic digestion. *Waste Management*. 53: 182-195.
- Hsu, T.A., Ladisch, M.R., Tsao, G.T., 1980. Alcohol from cellulose. *Chemical Technology*. 10 (5): 315-319.
- Jackowiak, D., Bassard, D., Paus, A., Ribeiro, T., 2011. Optimisation of a microwave pretreatment of wheat straw for methane production. *Bioresource Technology*. 102: 6750-6756.
- Kaparaju, P., Luostarinen, S., Kalmari, E., Kalmari, J., Rintala, J., 2002. Co-digestion of energy crops and industrial confectionery by-products with cow manure: atch scale and farm-scale evaluation. *Water Science and Technology*. 45:275-280.
- Kepp, U., Machenbach, I., Weisz, N., Solheim, O.E., 2000. Enhanced stabilisation of sewage sludge through thermal hydrolysis – three years of experience with full scale plant. *Water Science and Technology*. 42 (9): 89–96.
- Khanal, S.K., 2008. *Anaerobic biotechnology for bioenergy production: principles and applications*. Wiley-Blackwell, Ames.

- Kleerebezem, R., Joosse, B., Rozendal, Mark, R., C. M. Van Loosdrecht, C.M., 2015. Anaerobic digestion without biogas?. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*. 14: 787–801.
- Kobayashi, F., Take, H., Asada, C., Nakamura, Y., 2004. Methane production from steamexploded bamboo. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 97: 426-428.
- Koupaie, E.H., Eskicioglu, S., 2016. Conventional heating TVS. microwave sludge pretreatment comparison under identical heating/cooling profiles for thermophilic advanced anaerobic digestion. *Waste Management*. 53: 182-195.
- Kumari, D., Singh, R., 2018. Pretreatment of lignocellulosic wastes for biofuel production: a critical review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 90: 877-891.
- Liew, L.N., Shi, J., Li, Y., 2011. Enhancing the solid-state anaerobic digestion of fallen leaves through simultaneous alkaline treatment. *Bioresource Technology*. 102: 8828-8834.
- Lorenzo, Y., Obaya, M.C., 2005. La digestión anaerobia. Aspectos teóricos. Parte I. ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar, 39 (1): 35-48.
- MAAMA, Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, 2012. Producción y consumo sostenible y residuos agrarios. MADRID. http://www.mapama.gob.es/es/calidad-y-evaluacionambiental/publicaciones/Residuos_agrarios_tcm7-232332.pdf
- Mackulak, T., Prousek, J., Svorc, L., Drtil, M., 2012. Increase of biogas production from pretreated hay and leaves using wood-rotting fungi. *Chemical Papers*. 66: 649-653.
- MAPAMA, 2013. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Estrategias, “Mas alimento, menos desperdicio” https://www.mapama.gob.es/es/alimentacion/temas/estrategia-mas-alimento-menos-desperdicio/Libro%20estrategia%20desperdicio_baja_tcm30-78789.pdf

- Mata-Álvarez, J., Dosta, J., Romero-Güiza, M., Fonoll, X., Peces, M., Astals, S., 2014. A critical review on anaerobic co-digestion achievements between 2010 and 2013. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 36: 412- 427.
- MCIU, Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades. Web of Science. http://apps.webofknowledge.com/WOS_GeneralSearch_input.do?product=WOS&search_mode=GeneralSearch&SID=C5qHFoT8yfDngKbnZrK&preferencesSaved= (acceso 2018).
- Mirahmadi, K., Kabir, M.M., Jeihanipour, A., Karimi, K., Taherzadehm, M.J., 2010. Alkaline pretreatment of spruce and birch to improve bioethanol and biogas production. *BioResources*. 5: 928-938.
- MITC, Ministerio de industria, turismo y comercio. 2007. Biomasa: Digestores anaerobios. http://www.idae.es/uploads/documentos/documentos_10737_Biomasa_Digestores_Anaerobios_A2007_0d62926d.pdf
- MITECO, Ministerio para la Transición Ecológica. <https://www.miteco.gob.es/en/calidad-y-evaluacion-ambiental/temas/prevencion-y-gestion-residuos/flujos/lodos-depuradora/> (acceso 2018).
- Monlau, F., Barakat, A., Steyer, J.P., Carrere, H., 2012. Comparison of seven types of thermochemical pretreatments on the structural features and anaerobic digestion of sunflower stalks. *Bioresource Technology*. 102: 241-247.
- Morales, P.M., 2005. Digestión Anaerobia de Lodos de Plantas de Tratamiento de Aguas y su aprovechamiento. Tesis doctoral. Universidad de las Américas Puebla, México, pp 40.
- Moreno, J., Moral, R., García-Morales, J.L., Pascual, J.A., Bernal, M.P., 2015. Residuos orgánicos y agricultura intensiva. *Red española de compostaje*. Mundi Prensa. Capítulo 2, pp 42.
- Morohoshi, N., 1991. Chemical characterization of wood and its components. In: Hon DNS, Shiraishi N, editors. *Wood and cellulosic chemistry*. New York: Marcel Dekker. pp. 331-92

- Mosier, .N., Wyman, C., Dale, B., Elander. R., Lee, Y.Y., Holtzapple, M., Ladisch, M., 2005. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*. 96 (6): 673-686.
- OECD, 2018. <https://data.oecd.org/water/waste-water-treatment.htm#indicator-chart> (acceso 10/09/2018)
- Onyeche, T.I., Schlafer, O., Bormann, H., Schroder, C., Sievers, M., 2002. Ultrasonic cell disruption of stabilised sludge with subsequent anaerobic digestion. *Ultrasonics*. 40: 31–35.
- Op den Camp, H.J.M., Verhagen, F.J.M., Kivaisi, A.K., de Windt, F.E., Lubberding, H.J., Gijzen, H., Vogel, G.D., 1988. Effects of lignin on the anaerobic degradation of lingo-cellulosic wastes by rumen microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 29: 408–412.
- Ortega, L., Husser, C., Barrington, S., Guiot, S.R., 2008. Evaluating limiting steps of anaerobic degradation of food waste based on methane production test. *Water Science Technology*. 57: 419-422.
- O-Thong, S., Boe, K., Angelidaki, I., 2012. Thermophilic anaerobic co-digestion of oil palm empty fruit bunches with palm oil mill effluent for efficient biogas production. *Applied Energy*. 93: 648-654.
- Palacios-Ruiz, B., Méndez-Acosta, H.O., Alcaraz-González, V., González-Álvarez, V., Pelayo-Ortiz, C., 2008. Regulation of Volatile Fatty Acids and Total Alkalinity in Anaerobic Digesters. *Proceedings of the 17th World Congress*.
- Park, W.J., Ahn, J.H., 2011. Effects of microwave pretreatment on mesophilic anaerobic digestion for mixture of primary and secondary sludges compared with thermal pretreatment, *Environmental Engineering Research*. 16 (2): 103-109.
- Parkin, G.F., Owen, W.F., 1986. Fundamentals of anaerobic digestion of wastewater sludges. *Journal of Environmental Engineering Division-ASCE*. 112: 867-920.

- Parra, S., Aguilar, F.J., Calatrava, J., 2008. Decision modelling for environmental protection: The contingent valuation method applied to greenhouse waste management. *Biosystems Engineering*. 99: 469 – 477.
- Pecorini, I., Baldi, F., Carnevale, E.A., Corti, A., 2016. Biochemical methane potential tests of different autoclaved and microwaved lignocellulosic organic fractions of municipal solid waste. *Waste Management*. 56: 143-150.
- Pellera, F-M, Gidarakos, E., 2017. Microwave pretreatment of lignocellulosic agroindustrial waste for methane production. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 5: 352–365.
- Petersson, A., Thomsen, M.H., Hauggaard-Nielsen, H., Thomsen, A.B., 2007. Potential bioethanol and biogas production using lignocellulosic biomass from winter rye, oilseed rape and faba bean. *Biomass Bioenergy*. 31: 812-819.
- Poh, P.E., Chong, M.F., 2009. Development of anaerobic digestion methods for palm oil mill effluent (POME) treatment. *Bioresource Technology*. 100: 1–9.
- Ramalho, R.S., 1990. Tratamiento de aguas residuales. Editorial Reverte. ISBN: 9788429179750
- Razo-Flores, E., Donlon, B., Lettinga, G., Field, J.A., 1997. Biotransformation and biodegradation of N-substituted aromatics in methanogenic granular sludge. *FEMS Microbiology Reviews*. 20: 525–538.
- RDL 11/1995. Real Decreto-ley 11/1995, de 28 de diciembre, por el que se establecen las normas aplicables al tratamiento de las aguas residuales urbanas.
- Real Decreto Legislativo 1/2001, de 20 de julio, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de Aguas. «BOE» núm. 176, de 24/07/2001.
- Rincón, J.M., Silva, E.E., 2015. Bioenergía: Fuentes, conversión y sustentabilidad, pp 141. Red Iberoamericana de Aprovechamiento de Residuos Orgánicos en producción de energía

(https://books.google.es/books?id=YpnxCAAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=es&source=gs_bse_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false)

Rubin, E., 2008. Genomic of cellulosic biofuels. *Nature*. 454: 841-845.

Sánchez, J., 2016. Optimización de la agitación de un digestor anaerobio mediante mecánica de fluidos computacional. Tesis doctoral. Universidad Complutense de Madrid, pp 25.

Sapci, Z., 2013. The effect of microwave pretreatment on biogas production from agricultural straws. *Bioresource Technology*. 128: 487-494.

Serrano, A., Siles, J.A., Gutiérrez, M.C., Martín, M.A., 2015. Improvement of the biometahnization of sewage sludge by termal pre-treatment and co-digestion with strawberry extrudate. *Journal of Cleaner Production*. 90: 25-23.

Siddique, M., Zularisam, A., 2018. Achievements and perspectives of anaerobic co-digestion: A review. *Journal of Cleaner Production*. 194: 359-371.

Sikkema, J., De Bont, J.A.M., Poolman, B., 1995. Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons. *Microbiological Reviews*. 59: 201-222.

Song, Z.L., Yang, G.H., Guo, Y., Zhang, T., 2012. Comparison of two chemical pretreatments of rice straw for biogas production by anaerobic digestion. *Bioresources*. 7: 3223-3236.

Taiz, L., Zeiger, E., 2007. *Fisiología vegetal*. Publicaciones Universitat Jaume I. pp 549.

Teghammar, A., Yngvesson, J., Lundin, M., Taherzadeh, M.J., Horvath, I.S., 2010. Pretreatment of paper tube residuals for improved biogas production. *Bioresource Technology*. 101: 1206-1212.

Thaveesri, J., 1995. Granulation and stability in upflow anaerobic sludge bed reactors in relation to substrates and liquid surface tension. Ph.D. Thesis. Ghent University, Belgium.

- Tiehm, A., Nickel, K., Neis, U., 1997. The use of ultrasound to accelerate the anaerobic digestion of sewage sludge. *Water Science and Technology*. 36 (11): 121–128.
- Uellendahl, H., Wang, G., Moller, H.B., Jorgensen, U., Skiadas, I.V., Gavala, H.N., et al., 2008. Energy balance and cost-benefit analysis of biogas production from perennial energy crops pretreated by wet oxidation. *Water Science and Technology*. 58(9): 1841-1847.
- Valo, A., Carrère, H., Delgenès, J.P., 2004. Thermal, chemical and thermo-chemical pretreatment of waste activated sludge for anaerobic digestion. *Journal Chemical Technology. Biotechnology*. 79 (11): 1197–1203.
- van Beelen, P., van Vlaardingen, P.V., 1994. Toxic effects of pollutants on the mineralization of 4-chlorophenol and benzoate in methanogenic river sediment. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 13 (7): 1051–1060.
- Vian, A., 1998. *Introducción a la química industrial*. Editorial Reverté. Barcelona, España
- Vila, C., 2005. *Evaluación experimental y simulación de tecnologías de procesamiento para la obtención de pastas de celulosa*. Tesis Doctoral.
- Wheatley A., 1990. *Anaerobic digestion: a waste treatment technology*. London: Elsevier.
- Xiao, W.P., Clarkson, W.W., 1997. Acid solubilization of lignin and bioconversion of treated newsprint to methane. *Biodegradation*. 8: 61-66.
- Xie, R., Xing, Y., Ghani, Y.A., Ooi, K.E., Ng, D.W., 2007. Full-scale demonstration of an ultrasonic disintegration technology in enhancing anaerobic digestion of mixed primary and thickened secondary sewage sludge, *Journal of Environmental Engineering and Science*. 6 (5): 533–541.

- Yeom, I.T., Lee, K.R., Lee, Y.H., Ahn, K.H., Lee, S.H., 2002. Effects of ozone treatment on the biodegradability of sludge from municipal wastewater treatment plants. *Water Science and Technology*. 46 (4–5): 421–425.
- Zeikus, J.G. 1981. Microbial intermediary metabolism in anaerobic digestion. Ed. by Hughes, D.E., Stafford, P.A., Wheathley, B.J., Baader, W., Lettinga, G., Nyns, E.J., Verstraete, W. & Wentworth, R.L. Elsevier Biomedical Press. Amsterdam, 25-35.
- Zheng, Y., Zhao, J., Xu, F., Li, Y., 2014. Pretreatment of lignocellulosic biomass for enhanced biogas production. *Progress in Energy and Combustion Science*. 42: 35-53.
- Zieminski, K., Romanowska, I., Kowalska, M., 2012. Enzymatic pretreatment of lignocellulosic wastes to improve biogas production. *Waste Management*. 32: 1131-1137.

MATERIALES Y MÉTODOS/MATERIAL AND METHODS



2. Materiales y métodos

2.1. Equipo de digestión anaerobia

El sistema utilizado para los ensayos de biodegradación anaerobia se compone de los siguientes elementos:

- Digestor anaerobio.
- Sistema de agitación.
- Sistema de absorción de dióxido de carbono.
- Sistema de medida del metano.

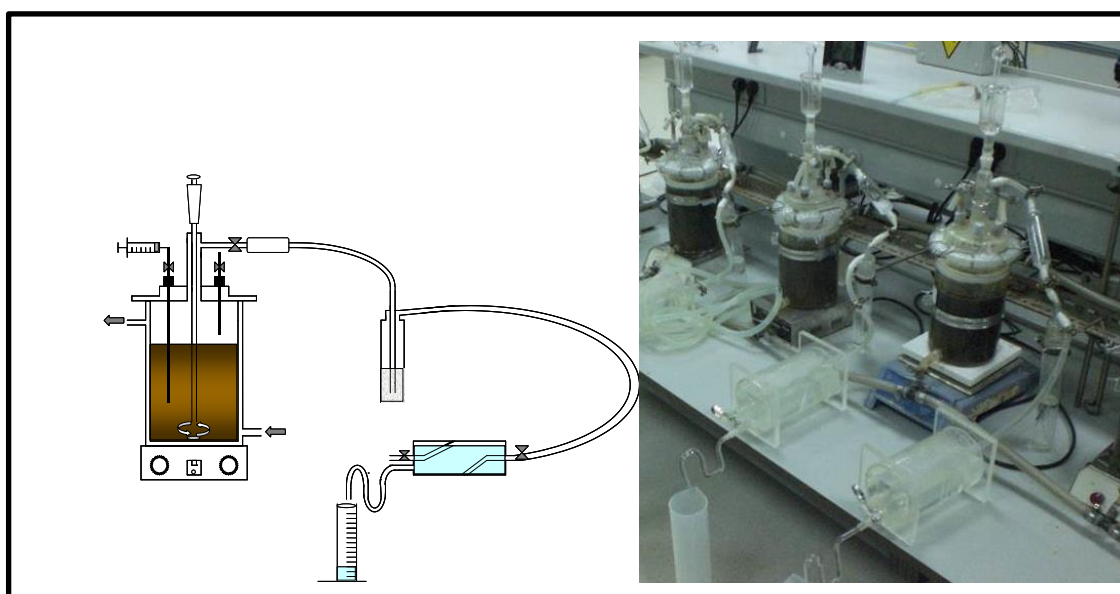


Figura 2.1.1. Equipo de digestión anaerobia.

2.1.1. Digestor anaerobio

Los reactores utilizados son de vidrio, cilíndricos, de 1 L de volumen útil y provisto de una tapa con un sistema de cierre hermético. La tapa tiene tres orificios: el primero y central de mayor diámetro y otros dos laterales. Por el mayor de ellos se acopla el sistema de alimentación del reactor. Consta de un tubo que se introduce hasta el centro del volumen de reacción y de un frasco de alimentación con un tapón para poder llevar a cabo la alimentación de forma

discontinua evitando la entrada de aire. Los dos orificios laterales están pensados para poder tomar muestras sin necesidad de abrir el reactor. Por uno de ellos se introduce un tubo hasta una altura que permita sacar líquido de los reactores sin arrastrar consigo lodos en el caso de estar sedimentados. Si los reactores se encuentran en agitación, la muestra obtenida debe ser homogénea y representativa de la mezcla de reacción. El otro orificio en la tapa sirve para inyectar nitrógeno al tomar las muestras y evitar realizar el vacío en los reactores. Además se utilizan las correspondientes pinzas de presión. Con ello se consigue no modificar las condiciones anaerobias, ya que para la toma de muestras los reactores deben ser estancos.

Para mantener las condiciones de temperatura necesarias, los reactores tienen una camisa por la que circula agua a 37°C. Para ello se dispone de un baño termostático modelo LAUDA RTM 20.

2.1.2. Sistema de agitación

El agitador empleado es MAGNA AN-2. Está provisto de un selector de velocidad y de calefacción, aunque este último no se ha utilizado. En el interior de los reactores se introduce un imán revestido de teflón para homogeneizar el medio de reacción.

2.1.3. Sistema de absorción de dióxido de carbono

Se utiliza un recipiente tubular (borboteador) con un volumen de 200 mL, lleno parcialmente de NaOH 6N, cuya misión es retener el CO₂ del biogás.

2.1.4. Sistema de medida de metano

El metano se mide por desplazamiento de agua; para ello se utiliza un gasómetro cilíndrico de 1L de capacidad y una probeta del mismo volumen. El metano desplaza un volumen de agua que es recogido y medido en la probeta. Pero hay que tener en cuenta que hasta que podemos contabilizar el metano producido, este ha tenido que vencer la presión de la columna de NaOH de la trampa, así como la columna de agua del gasómetro. Es por ello, que

habrá que corregir el volumen inicial contabilizado, ya que habrá que adicionar el volumen generado inicialmente necesario para vencer la presión de la trampa y el gasómetro. La presión a vencer va a estar condicionada por el espacio de cabeza del reactor, el nivel de NaOH de la trampa y de la altura del gasómetro (Figura 2.1.1).

Los resultados obtenidos de volumen de metano acumulado se normalizan teniendo en cuenta el efecto de la presión atmosférica, la temperatura y la presión de vapor del agua a la temperatura ambiente en el momento de la medida, expresándolos finalmente en condiciones normales (0°C y 760 mm Hg). La temperatura y la presión son determinadas mediante un termómetro y un barómetro electrónico, respectivamente. Partiendo de la *ley de los gases ideales*, tanto para el volumen en las condiciones experimentales como del volumen a condiciones normales se tiene:

$$P_{\text{real}} \cdot V = n \cdot R \cdot T \quad [\text{Ec. 1}]$$

Donde:

P_{real} = Presión absoluta del gas, dependiente de la presión atmosférica medida y la presión de vapor (atm).

V = Volumen ocupado por el gas (L).

n = Número de moles del gas (mol).

R = Constante de los gases (0,08205 atm L/K mol).

T = Temperatura absoluta del gas (K).

A partir de la ecuación anterior, se incluyen la presión y temperatura para condiciones normales:

$$NP \cdot NV = n \cdot R \cdot NT \quad [\text{Ec. 2}]$$

Donde

NP = Presión en condiciones normales (1 atm).

NV = Volumen de gas expresado en condiciones normales (0°C, 1 atm) (NL).

n = Número de moles del gas (mol).

R = Constante de los gases (0,08205 atm·L/K mol).

NT = Temperatura en condiciones normales (0°C).

Combinando ambas expresiones y sustituyendo los parámetros constantes, se llega a la expresión deseada:

$$NV = V \cdot \left(\frac{P_{real}}{NP}\right) \cdot \left(\frac{NT}{T}\right) \quad [\text{Ec. 3}]$$

$$NV = V \cdot \left(\frac{P_{real}}{760 \text{ mm Hg}}\right) \cdot \left(\frac{273 \text{ K}}{T}\right) \quad [\text{Ec. 4}]$$

Adicionalmente, P_{real} es dependiente de dos factores, la presión atmosférica medida y la presión de vapor, debido al sistema experimental utilizado para la medida del volumen de metano generado (gasómetro de agua). Para aplicar la *Ecuación de Antonie* se ha ajustado una ecuación a los valores de presión de vapor del agua de 0° a 37°C (Ec. 5) (Lide, 2004).

$$P_v = 5,9908 + 9,3406 \cdot e^{(0,0469 \cdot T(^{\circ}C))} \quad [\text{Ec. 5}]$$

Finalmente se obtiene la expresión a aplicar para la corrección de volumen de metano medido:

$$NV = V \cdot \left(\frac{P_{atm} - P_v}{760 \text{ mm Hg}}\right) \cdot \left(\frac{273 \text{ K}}{T}\right) \quad [\text{Ec. 6}]$$

Donde:

NV = Volumen de gas generado expresado en condiciones normales (0°C, 1 atm) (NmL).

V = Gas generado en las condiciones experimentales (mL).

P_{atm} = Presión atmosférica (mm Hg).

P_v = Presión de vapor a la temperatura ambiente (mm Hg).

T = Temperatura ambiente (K).

2.2. Dispositivos para el pretratamiento de los residuos

2.2.1. Pretratamiento hidrotérmico

El pre-tratamiento hidrotérmico se ha utilizado para solubilizar la fracción orgánica de los restos vegetales procedentes de la planta del tomate. El pretratamiento se ha llevado a cabo empleando un autoclave P Selecta AUTESTER MOD 437-G (Figura 2.2.1.1), equipado con control de temperatura, presión y tiempo. Durante los ensayos, la temperatura y la presión se han fijado en 120°C y 2 atm, respectivamente, variando únicamente el tiempo de pre-tratamiento.



Figura 2.2.1.1. Equipo experimental utilizado para el pre-tratamiento térmico (P Selecta AUTESTER MOD 437-G)

Los residuos estudiados han sido introducidos en el autoclave, contenidos en frascos NORMAX de 0,25 L de volumen (Figura 2.2.1.2). Durante el proceso, los frascos se han mantenido cerrados para evitar la pérdida de los compuestos volátiles liberados durante el pre-

tratamiento, además de evitar la dilución de la muestra debido al vapor de agua generado por el autoclave. Así mismo, la apertura de los frascos de ensayo y la caracterización de su contenido se ha llevado a cabo una vez que ha igualado su temperatura a la temperatura ambiental.



Figura 2.2.1.2. Frascos NORMAX, pre-tratamiento térmico.

2.2.2. Pretratamiento con microondas

El microondas utilizado para el pretratamiento de muestras de lodo de depuradora ha consistido en un equipo a escala piloto (Figura 2.2.2.1) diseñado específicamente para este propósito.

Puede operar a diferentes potencias en un rango de 100-900 W y en modo discontinuo. El sistema está controlado por un ordenador equipado con su propio software para regular las variables de operación (tiempo y potencia) y realizar el seguimiento de la temperatura del sistema. Se han tratado alícuotas de 0,100 kg de lodo, depositadas en contenedores abiertos de un material resistente a la temperatura de operación, ácidos y demás agentes que los podrían deteriorar. La temperatura del sistema se ha mantenido a 80°C. Al ser los tiempos de tratamiento cortos, no se han observado pérdidas significativas de volumen en las muestras bajo las condiciones ensayadas.

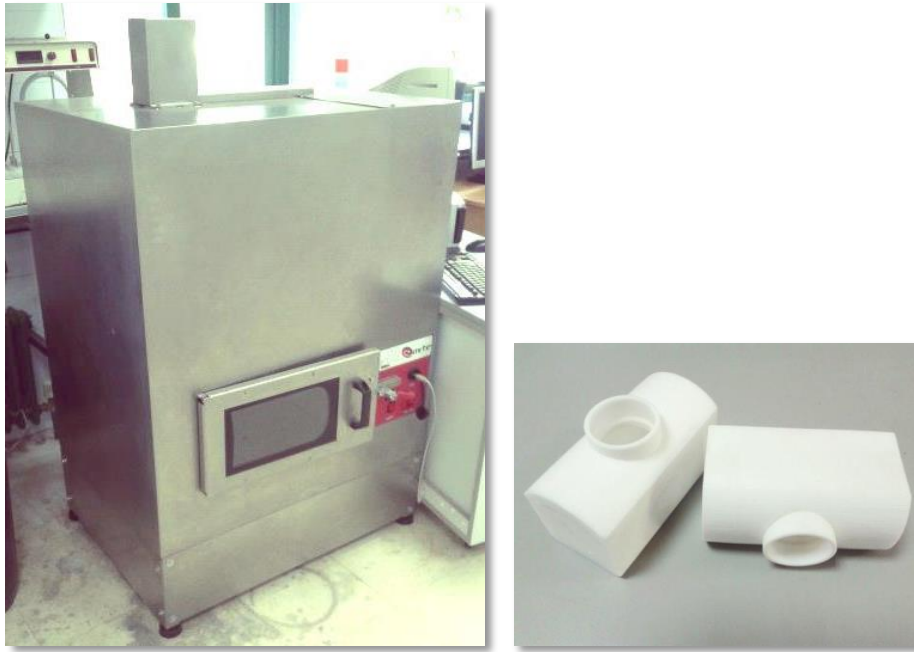


Figura 2.2.2.1. Equipo piloto de microondas.

2.3. Métodos analíticos

Las determinaciones analíticas realizadas para el seguimiento del proceso de digestión anaerobia han sido:

- pH
- Alcalinidad (Alc, mg CaCO_3/L)
- Acidez volátil (AV, mg $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{L}$)
- Sólidos totales (ST, mg/kg)
- Sólidos minerales (SM, mg/kg)
- Sólidos volátiles (SV, mg/kg)
- Demanda química de oxígeno total y soluble ($\text{DQO}_{\text{total}}$, mg O_2/kg ; $\text{DQO}_{\text{soluble}}$, mg O_2/L)
- Carbono total (CT, mg/L), carbono inorgánico (CI, mg/L) y carbono orgánico total (COT, mg/L)

- Nitrógeno (N, mg/g)
- Fósforo (P, mg/g)
- Ácidos orgánicos volátiles (AOV, mg C/L; mg CH₃COOH/L)

Todos ellos se han determinado según los protocolos de “Standard methods for the examination of water and wastewater”, APHA, AWWA & WPCF (1989).

Para conocer la riqueza en metano del biogás producido por los reactores anaerobios, se llevó a cabo la determinación de la composición de CH₄ y CO₂.

Y tras el proceso de digestión anaerobia, se han llevado a cabo las siguientes determinaciones analíticas en el digestado:

- Determinación del poder calorífico superior (kcal/kg).
- Análisis elemental (CHN-S).

2.3.1. pH

Se ha utilizado un pHmetro “Crison” modelo pH-Meter GLP 21+, provisto de un electrodo de vidrio que se sumerge en un volumen adecuado de muestra: la lectura digital da el valor de pH con dos decimales. Periódicamente se ha procedido a la calibración del mismo con disoluciones tampón de pH 4, 7 y 9.

2.3.2. Alcalinidad (Alc)

La alcalinidad de una muestra líquida es una medida de su capacidad para neutralizar ácidos y representa la capacidad tampón y la estabilidad de la misma frente a variaciones bruscas del pH. El valor medio puede variar significativamente con el pH de punto final utilizado. La alcalinidad también es la medida de una propiedad agregada del agua, y solamente puede expresarse en términos de sustancias específicas cuando se conoce la composición química de la muestra. Además es importante en muchos usos y tratamientos de aguas naturales y residuales

porque es función fundamentalmente del contenido en carbonatos, bicarbonatos e hidróxidos, si bien los valores medios de alcalinidad incluyen también la contribución de boratos, fosfatos, silicatos y otras bases presentes.

La determinación se realiza tomando un volumen conocido de muestra, normalmente 5 mL en un vaso de precipitado y se le añade, lentamente, una solución de ácido sulfúrico, desde la bureta, hasta alcanzar un pH 4,5. Se mide el volumen gastado de ácido.

La alcalinidad de la muestra viene dada por la expresión:

$$Alc = \frac{V \cdot N \cdot 50 \cdot 1000}{V_m} \quad [\text{Ec. 7}]$$

Donde:

Alc = Alcalinidad (mg de CaCO_3/L).

V = Volumen gastado de ácido sulfúrico (mL).

N = Normalidad del ácido sulfúrico.

50 = Peso equivalente del CaCO_3 .

V_m = Volumen tomado de muestra (mL).

2.3.3. Acidez volátil (AV)

Para su determinación se sigue un método indirecto, tomando un volumen conocido de muestra, normalmente 5 mL en un vaso de precipitado y se le añade, lentamente, una solución de ácido sulfúrico, desde la bureta, hasta alcanzar un pH 5,75, obteniendo un primer volumen de ácido consumido (V_1) y a continuación se sigue añadiendo hasta alcanzar un pH de 4,30 (V_2). El primer valor obtenido con el pH de 5,75 corresponde a la alcalinidad parcial (AP), aportada por el bicarbonato principalmente, y hasta un pH de 4,30 determinaría la alcalinidad total (AT). La diferencia entre AT y AP es la alcalinidad intermedia (AI) correspondiente a las sales de los

ácidos orgánicos volátiles (Soto et al., 1993). Para el cálculo se procedería como en el apartado anterior, llevándose a cabo el cálculo de al AT y AP, a través de la expresión:

$$AP = \frac{V_1 \cdot N \cdot 50 \cdot 1000}{V_m} \quad [\text{Ec. 8}]$$

$$AT = \frac{V_2 \cdot N \cdot 50 \cdot 1000}{V_m} \quad [\text{Ec. 9}]$$

Donde:

Alc (AT o AP) = Alcalinidad (mg de CaCO₃/L).

V (V₁, V₂) = Volumen gastado de ácido sulfúrico (mL).

N = Normalidad del ácido sulfúrico.

50 = Peso equivalente del CaCO₃.

V_m = Volumen tomado de muestra (mL).

$$AI = AT - AP \quad [\text{Ec. 10}]$$

Los resultados de AI se transforman a través de factores de conversión en mg C/L o mg CH₃COOH/L para dar los resultados de Acidez volátil:

$$AI * \frac{mg \text{ CaCO}_3}{L} * \frac{12 \text{ mg C}}{100 \text{ mg CaCO}_3} * \frac{60 \text{ mg CH}_3\text{COOH}}{24 \text{ mg C}} \quad [\text{Ec. 11}]$$

2.3.4. Sólidos totales (ST)

La determinación de los sólidos totales incluye tanto los sólidos orgánicos como los inorgánicos presentes en la muestra.

Una cantidad de muestra, bien homogeneizada, se pesa en una balanza de precisión, conteniéndose la misma en un crisol de porcelana, cuyo peso vacío se conoce previamente. La

muestra se seca en estufa a 103-105°C hasta peso constante. El incremento de peso experimentado por el crisol, representa el contenido en sólidos totales de la muestra. La siguiente fórmula permite expresar los resultados en mg/kg.

Donde:

$$ST \left(\frac{\text{mg}}{\text{kg}} \right) = \frac{(A-B) \cdot 10^6}{m} \quad [\text{Ec. 12}]$$

ST= Sólidos totales presentes en la muestra (mg/kg).

A= Peso de la muestra después de salir de la estufa más el peso del crisol (g).

B= Peso del crisol de porcelana (g).

m= Masa inicial de muestra (g).

2.3.5. Sólidos minerales (SM)

El crisol con el residuo seco, procedente de la determinación de sólidos totales de peso conocido, se lleva a un horno a 550°C donde se calcina hasta peso constante. Las cenizas que quedan en el crisol, indican el contenido en sólidos minerales. La siguiente fórmula permite expresar los resultados en mg/kg,

$$SM \left(\frac{\text{mg}}{\text{kg}} \right) = \frac{(A-B) \cdot 10^6}{m} \quad [\text{Ec. 13}]$$

Donde:

SM= Sólidos minerales presentes en la muestra (mg/kg).

A= Peso de la muestra calcinada más el peso del crisol (g).

B= Peso del crisol de porcelana (g).

m= Masa inicial de muestra, (g).

2.3.6. Sólidos volátiles (SV)

Los sólidos volátiles se calculan mediante la diferencia entre los sólidos totales y los sólidos minerales. La siguiente fórmula permite expresar los resultados en mg/kg,

$$SV = ST - SM \quad [\text{Ec. 14}]$$

Donde:

SV = Sólidos volátiles (mg/kg).

ST = Sólidos totales (mg/kg).

SM = Sólidos minerales (mg/kg).

2.3.7. Demanda química de oxígeno total y soluble (DQO_{total} y DQO_{soluble})

La demanda química de oxígeno es una medida del oxígeno consumido fundamentalmente en la oxidación de la materia orgánica contenida en una muestra dada por un oxidante fuerte.

El método utilizado para su determinación es el del dicromato. La muestra se oxida químicamente en caliente (150°C) por adición de un exceso de oxidante ($K_2Cr_2O_7$) de concentración conocida, en medio H_2SO_4 . Tras un periodo de digestión de 2 horas, el exceso de dicromato que no ha reaccionado se valora frente a sal de Mohr ($Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 7H_2O$) o FAS (sulfato ferroso amónico). Por diferencia, se determina la cantidad de dicromato consumido en la oxidación de la muestra. Para cuantificar la cantidad de dicromato añadida se incluye, junto a la muestra, un ensayo en blanco. Éste está compuesto por un volumen de agua destilada idéntico al de la muestra y los mismos reactivos químicos como si se tratase de una muestra.

Las especies inorgánicas en estado reducido que puedan estar presentes en la muestra son también oxidadas en el transcurso de la digestión, por lo que, si la concentración de las mismas es alto, debe estimarse ésta para efectuar las correcciones necesarias. No obstante, con el

objetivo de disminuir dichas interferencias se añade HgSO_4 junto con H_2SO_4 adicionado a la muestra, de manera que las especies inorgánicas precipitan al reaccionar con el mercurio y formar compuesto de baja solubilidad. La siguiente fórmula permite expresar los resultados en $\text{mg O}_2/\text{kg}$, si bien adicionalmente se ha expresado como $\text{mg O}_2/\text{L}$,

$$DQO \left(\frac{\text{mg O}_2}{\text{kg}} \right) = \frac{(B-M) \cdot 8 \cdot 1000 \cdot N_{FAS}}{m} \quad [\text{Ec. 15}]$$

Donde:

DQO = Demanda química de oxígeno ($\text{mg O}_2/\text{kg}$).

B = Volumen de FAS gastado en la valoración del blanco (mL).

M = Volumen de FAS gastado en la valoración de la muestra (mL).

N_{FAS} = Normalidad exacta del FAS.

m = Peso de muestra (g).

Para la determinación de DQO_{soluble} , el procedimiento es similar al anterior, difiere en la necesidad de filtrar la muestra previamente. Para ello se utilizan filtros Watman GF/C de 47 mm ϕ . Y en este caso el resultado se expresa en $\text{mg O}_2/\text{L}$

2.3.8. Carbono total (CT), carbono inorgánico (CI) y carbono orgánico total (COT)

solubles

El carbono total es una medida del contenido en carbono soluble, tanto inorgánico como orgánico, presente en una muestra. Se ha determinado mediante una técnica instrumental, utilizando un analizador de carbono Shimadzu modelo $TOC-V_{CSH}$ (Figura 2.2.8.1).

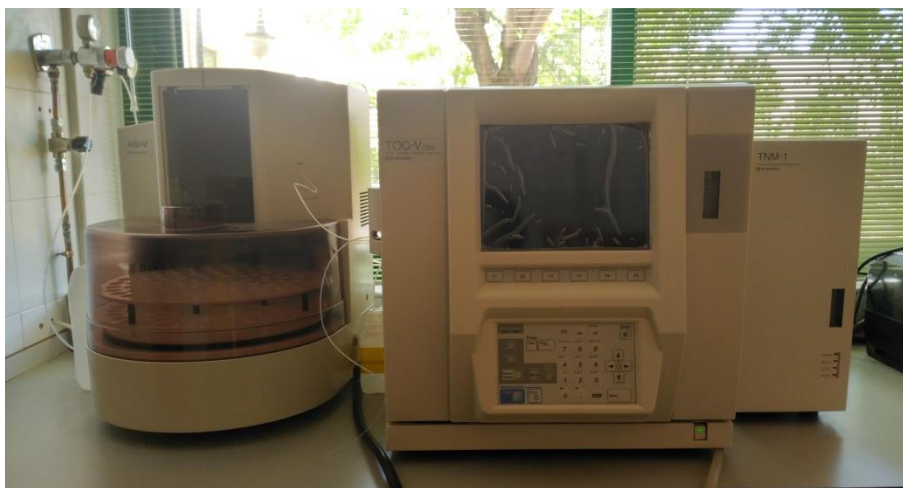


Figura 2.2.8.1. Analizador Shimadzu TOC-V_{CSH}.

La muestra requiere de una filtración previa. El método de determinación se basa en la oxidación catalítica de todo el carbono presente en la muestra a CO₂ y la posterior detección de este producto final mediante espectrometría de infrarrojos. Dicha oxidación se realiza en un horno relleno con un catalizador de platino depositado sobre partículas de alúmina, junto con el gas portador que actúa como oxidante (oxígeno N50).

Por otro lado, se determina en el mismo equipo instrumental el carbono inorgánico de la muestra. La muestra, en fase vapor, se hace burbujear, junto con el gas portador (oxígeno N50), por una disolución de ácido fosfórico al 20%, de modo que al detector espectrofotométrico de infrarrojos sólo llega la fracción de CO₂ correspondiente al carbono inorgánico contenido en la muestra.

La diferencia entre la concentración de CT y CI, permite cuantificar la concentración de COT presente en la muestra.

2.3.9. Nitrógeno total soluble (NTS)

El contenido en nitrógeno total soluble (TSN, mg N/L) se ha cuantificado utilizando un analizador de carbono Shimadzu modelo TOC-V_{CSH} con un módulo TNM-1 (Figura 2.2.8.1.) El principio de funcionamiento del analizador se basa en el método de oxidación catalítica de la combustión. Al introducir la muestra en el tubo de combustión y calentarse a 720°C, el nitrógeno

total en la muestra se descompone para formar monóxido de nitrógeno gaseoso. El gas se enfría y se deshumidifica y se detecta con un analizador de gases de quimioluminiscencia.

2.3.10. Nitrógeno total (N-NT)

Se toman de 0,2 a 2,0 gramos de muestra (que contenga una cantidad igual o menor de 60 mg de nítrico), se ponen en un tubo Kjeldahl y se añaden 10 mL de reactivo sulfúrico-salicílico. Se agita para que se moje toda la muestra y se deja en reposo durante 30 minutos. A continuación se añade un gramo de tiosulfato sódico sólido y se agita. Se deja en reposo 15 minutos y finalmente se añaden 10 mL de ácido sulfúrico concentrado y 5 gramos de catalizador Kjeldahl (Cu-Se).

Se coloca el tubo en un dispositivo de calentamiento durante 180 minutos a 350°C. Seguidamente, se deja enfriar y se procede a su destilación en presencia de NaOH 35% hasta $\text{pH} > 9,5$. El destilado se recoge sobre un volumen en exceso de ácido sulfúrico $\approx 0,1\text{N}$ (10 mL) al que se han añadido unas gotas de naranja de metilo. Finalizada la destilación (200 mL), el exceso de ácido sulfúrico que no ha sido neutralizado en la destilación se valora frente a una solución de NaOH $\approx 0,1\text{N}$ hasta el viraje del indicador.

$$N - NT \left(\frac{\text{mg N}}{\text{g muestra}} \right) = \frac{[(V_{H_2SO_4} \cdot N_{H_2SO_4}) - (V_{NaOH} \cdot N_{NaOH})] \cdot 14}{m} \quad [\text{Ec. 16}]$$

Donde:

N-NT = Nitrógeno total (mg N/g muestra).

$V_{H_2SO_4}$ = Volumen de ácido sulfúrico añadido al erlenmeyer durante la destilación (mL).

$N_{H_2SO_4}$ = Normalidad del ácido sulfúrico añadido al erlenmeyer durante la destilación.

V_{NaOH} = Volumen de NaOH gastado en la valoración (mL).

N_{NaOH} = Normalidad del NaOH utilizado en la valoración.

m = Masa de muestra (g).

2.3.11. Nitrógeno total Kjeldahl (N-NTK)

En un tubo Kjeldahl se adicionan de 0,2 a 2,0 gramos de muestra, a continuación se le añaden 5 mL de ácido sulfúrico concentrado y 5 gramos de catalizador Kjeldahl (Cu-Se). Posteriormente se somete a digestión durante 180 minutos a 350°C. Una vez transcurrido ese tiempo se dejan enfriar las muestras y se someten a destilación en presencia de NaOH al 35% hasta pH>9,5. El destilado se recoge sobre un volumen en exceso de ácido sulfúrico ≈0,1N (10 mL) al que se han añadido unas gotas de naranja de metilo. Finalizada la destilación (200 mL), el exceso de ácido que no ha sido neutralizado en la destilación se valora frente a una solución de NaOH ≈0,1N hasta el viraje del indicador.

$$N - NTK \left(\frac{mg N}{g \text{ muestra}} \right) = \frac{[(V_{H_2SO_4} \cdot N_{H_2SO_4}) - (V_{NaOH} \cdot N_{NaOH})] \cdot 14}{m} \quad [\text{Ec. 18}]$$

Donde:

N-NTK = Nitrógeno total Kjeldahl (mg N/g muestra).

$V_{H_2SO_4}$ = Volumen de ácido sulfúrico añadido al erlenmeyer durante la destilación (mL).

$N_{H_2SO_4}$ = Normalidad del ácido sulfúrico añadido al erlenmeyer durante la destilación.

V_{NaOH} = Volumen de NaOH gastado en la valoración (mL).

N_{NaOH} = Normalidad del NaOH utilizado en la valoración.

m = Masa de muestra (g).

2.3.12. Nitrógeno amoniacal (N-NH₄⁺)

Se toma un volumen dado de muestra y se determina la cantidad de NaOH al 35% que se necesita para llevar el pH del volumen tomado a 9,5. Se toma otro volumen igual de muestra y se introduce en el destilador Kjeldahl. Inmediatamente, se le añade un volumen de NaOH igual al

determinado con anterioridad, evitándose así la pérdida de NH_3 que comienza a liberarse de la muestra. Esta determinación no necesita digestión alguna de la muestra a analizar.

Se destila mediante arrastre de vapor recogiendo el destilado sobre un volumen en exceso de ácido sulfúrico $\approx 0,1\text{N}$ (10 mL) al que se le han añadido unas gotas de naranja de metilo. Finalizada la destilación (200 mL), el exceso de ácido que no ha sido neutralizado por el amoníaco liberado se valora frente a una solución de $\text{NaOH} \approx 0,1\text{N}$ hasta viraje del indicador.

$$N - \text{NH}_4^+ \left(\frac{\text{mg } N - \text{NH}_4^+}{\text{g muestra}} \right) = \frac{[(V_{\text{H}_2\text{SO}_4} \cdot N_{\text{H}_2\text{SO}_4}) - (V_{\text{NaOH}} \cdot N_{\text{NaOH}})] \cdot 14}{m} \quad [\text{Ec. 19}]$$

Donde:

$N - \text{NH}_4^+$ = Nitrógeno amoniacal (mg $N - \text{NH}_4^+$ /g muestra).

$V_{\text{H}_2\text{SO}_4}$ = Volumen de ácido sulfúrico añadido al erlenmeyer en la destilación (mL).

$N_{\text{H}_2\text{SO}_4}$ = Normalidad del ácido sulfúrico añadido al erlenmeyer en la destilación.

V_{NaOH} = Volumen de NaOH gastado en la valoración (mL).

N_{NaOH} = Normalidad del NaOH utilizado en la valoración.

m = Masa de muestra (g).

2.3.13. Fósforo

La determinación del fósforo total se ha llevado a cabo por el método colorimétrico. Para ello se pesa aproximadamente 1 g de la muestra a analizar en un tubo Kjeldahl. A continuación se le añaden 10 mL de un reactivo de digestión compuesto por:

-250 mL de ácido sulfúrico concentrado/500 mL de reactivo.

-250 mL de ácido nítrico concentrado/500 mL de reactivo.

-50 g de nitrato potásico/500 mL de reactivo.

El tubo Kjeldahl se introduce en el bloque de digestión. La muestra es sometida a una temperatura máxima de 200°C durante 75 minutos, siendo el aumento de temperatura gradual. La rampa de temperatura es la siguiente:

-10 minutos a 50 °C.

-30 minutos a 100°C.

-30 minutos a 150 °C.

-75 minutos a 200 °C.

Terminado el proceso de digestión, la muestra es transferida a un vaso de precipitado de 250 mL; al tubo que contiene la muestra se le añade un poco de agua destilada para arrastrar los restos de muestra al vaso de precipitado. El pH de la muestra es ajustado hasta un valor comprendido entre 6,8 y 7,2. A continuación, se filtra y se transfiere a un matraz aforado de 100 mL. Seguidamente, se enrasa el matraz con agua destilada. A continuación se toman 50 mL de muestra del matraz y se transfieren a un erlenmeyer de 100 mL y se añaden 8 mL de un segundo reactivo combinado formado por:

-50 mL de ácido sulfúrico diluido (70 mL de ácido sulfúrico concentrado/500 mL) en 100 mL de reactivo.

-5 mL de disolución de tartrato de antimonio y potasio (1,3715 g/500 mL) en 100 mL de reactivo.

-15 mL de disolución de molibdato amónico (20 g/500 mL) en 100 mL de reactivo.

-30 mL de disolución de ácido ascórbico (1,76g/100 mL) en 100 mL de reactivo.

Posteriormente todas las muestras se analizarán en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 880 nm. La concentración se calcula mediante una recta de calibrado previamente

realizada con patrones de concentración conocida. Para la corrección de la turbidez o color interferente, se preparará un blanco con agua destilada.

La siguiente expresión permite cuantificar la concentración de fósforo en la muestra:

$$U. A. = 0,1868 \cdot C \quad [Ec. 19]$$

donde:

U.A. = Unidades de absorbancia obtenidas en el espectrofotómetro a 880 nm.

C = Concentración de fósforo total (mg/L).

2.3.14. Perfil de ácidos orgánicos volátiles (AOV)

Su determinación cuantitativa se ha llevado a cabo siguiendo el método propuesto por Ceccon (1990). Consiste en la conversión en ácidos orgánicos volátiles, de las correspondientes sales, mediante la acidificación del medio para posteriormente analizar la muestra por cromatografía gaseosa.

Se toman 2 mL de muestra y se filtran con microfiltros WATMAN modelo CF/C de 47 mm ϕ , se añaden 50 μ L de H_3PO_4 concentrado y 50 μ L de ácido crotonico (2000 mg/L). Todo el conjunto se filtra con un microfiltro de 0,45 μ m Millex-HV. El filtrado se inyecta en un cromatógrafo de gases Hewlett-Packard HP-560 (Figura 2.2.14) con un detector de ionización de llama y una columna capilar de Nukol-silice de SUPELCO de 15 m y 0,53 mm de I.D. con una película de 0,5 μ m de espesor.

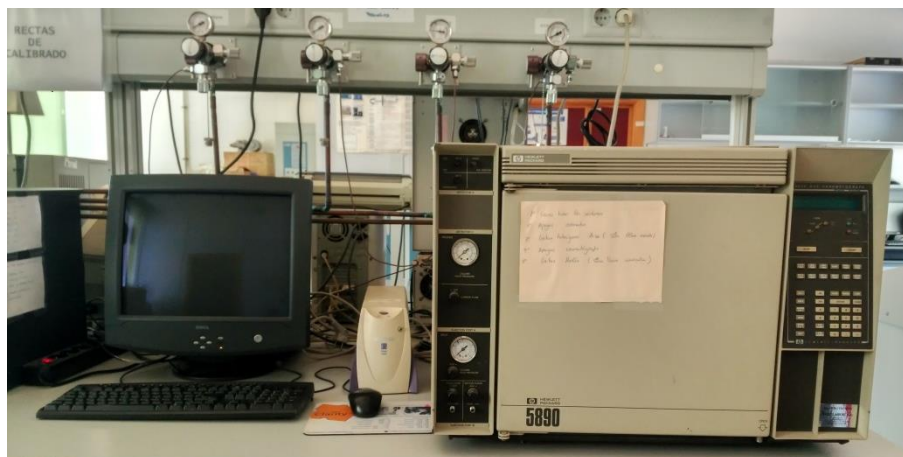


Figura 2.2.14. Cromatógrafo de gases Hewlett-Packard HP-560.

La temperatura del horno se ha programado de 100 a 150°C con un gradiente de 4°C/minuto. Se ha utilizado una mezcla al 50 % de He y N₂.

La señal eléctrica procedente del detector es enviada a un módulo de interfase analógica (IA 406) de la marca Beckman. Un ordenador recibe en continuo la señal desde la interfase y ésta es procesada como datos y convertida en resultados mediante el software “System Gold” de la misma marca Beckman. El informe de los análisis puede ser visualizado en la pantalla como gráfico o tabulado.

2.3.15. Composición del biogás

La composición del biogás se determina utilizando un cromatógrafo de gases Micro GC 490 (Figura 2.2.14.1) con detector de conductividad térmica (TCD). El equipo utiliza una columna de 10m PPQ calefactada y como gas portador He. La muestra gaseosa se inyecta en el cromatógrafo. La temperatura a la que se encuentra el inyector es de 80°C y la columna a 100°C, siendo la presión en la columna de 100 kPa.

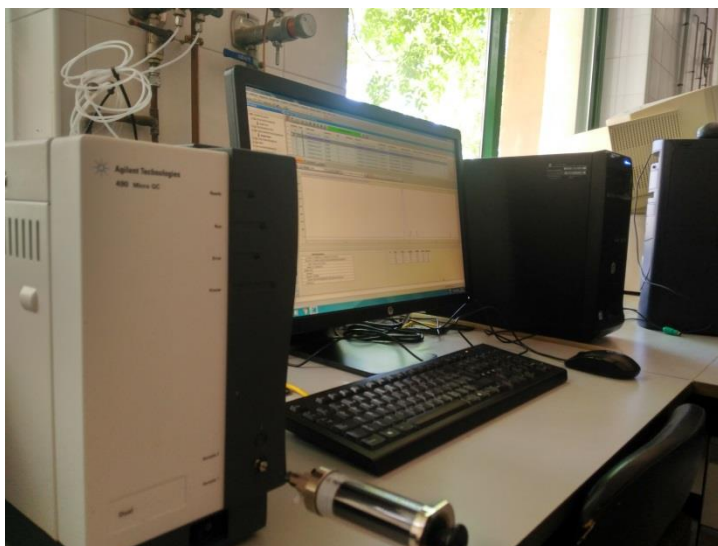


Figura 2.2.14.1. Cromatógrafo Micro GC 490.

2.3.16. Determinación del poder calorífico superior

Se determina el poder calorífico quemando en atmósfera de oxígeno la muestra dentro de un calorímetro calibrado tipo bomba con funda isotérmica bajo condiciones controladas (Equipo Calorímetro Isoperibólico PARR Mod. 1261).

La camisa del calorímetro se mantiene a temperatura constante mientras el calor generado en la combustión de la muestra eleva la temperatura de la cubeta y bomba. El pequeño flujo de calor entre la cubeta y su entorno es registrado por un microprocesador, que determina continuamente el efecto de cualquier intercambio y aplica las correcciones apropiadas debido a la contribución de calor por otros procesos, y las correcciones termoquímicas y del termómetro.

2.3.17. Análisis elemental (CHN - S)

La determinación de carbono, hidrógeno y nitrógeno en el digestado, se ha llevado a cabo utilizando un “analizador CHN-1000” que opera en atmósfera de O₂ a aproximadamente 1050°C.

El analizador cuantifica el carbono, hidrógeno y nitrógeno presente en las muestras a través de sistemas de detección específicos, absorción de infrarrojos en los casos de carbono e hidrógeno y mediante termoconductividad en el caso del nitrógeno.

El analizador CHN-1000 calcula la cantidad de carbono, hidrógeno y nitrógeno presente en las muestras a través de las lecturas potenciométricas observadas en las correspondientes celdas de IR y termoconductividad cuando éstas son atravesadas por los gases de combustión, concretamente a partir del Área en cada una de las celdas, utilizando para cada parámetro curvas de calibrado del tipo:

$$\text{mg X} = A \cdot \text{Área}^3 + B \cdot \text{Área}^2 + C \cdot \text{Área} + D \quad [\text{Ec. 20}]$$

Siendo X: carbono, hidrógeno o nitrógeno.

El equipo expresa los resultados en %C, %H y %N teniendo en cuenta la cantidad de muestra analizada:

$$\%X = \frac{\text{mg X}}{\text{mg muestra}} \cdot 100 \quad [\text{Ec. 21}]$$

Dado que las muestras son analizadas secas, los resultados estarán expresados en base seca o húmeda respectivamente. El equipo presenta la opción de corrección de resultados por humedad en la muestra para análisis con el fin de expresarlos en base seca. Para ello se introducirá manualmente el valor de la humedad en la muestra para análisis, determinada independientemente. Entonces el equipo recalcula los resultados como sigue:

$$\% X (S/S) = \frac{100}{100 - \%h} \cdot \%X(S/h) \quad [\text{Ec. 22}]$$

Siendo X: carbono o nitrógeno.

En el caso del hidrógeno:

$$\% H (S/S) = \frac{100}{100 - h\%} \cdot (H\%(S/h) - \frac{1}{9}h) \quad [\text{Ec. 23}]$$

Donde:

%H (s/s) corresponde al hidrógeno orgánico y en la material mineral.

La determinación del azufre se basa en la absorción de radiación IR por el SO_2 , cuando la muestra se quema en un tubo de combustión que opera a una temperatura de 1371°C en una corriente de oxígeno que oxida el azufre contenido en la muestra a SO_2 .

La humedad y las partículas son retenidas por perclorato de magnesio (anhidrona) y por un microfiltro respectivamente, antes de pasar por el detector.

La corriente de gas es impulsada por una bomba de vacío y pasa a través de un detector de IR. La diferencia entre la radiación detectada antes y después del paso de la corriente de gas es la correspondiente a la absorbida por el SO_2 y es proporcional a su concentración.

2.4. Determinación de variables respirométricas

La actividad microbiológica de las muestras orgánicas se ha evaluado a través de las variables respirométricas determinadas con la utilización de un respirómetro estático en fase líquida. Este equipo ha sido diseñado y desarrollado por el Departamento de Ingeniería Química de la Universidad de Córdoba, del grupo de investigación RNM-271, en el periodo 2003/2004 y posteriormente patentado (P2004-02908) (figura 2.4.1). Permite determinar la Velocidad Específica de Consumo de Oxígeno (VECO, $\text{mg O}_2/(\text{g SV}\cdot\text{h})$) y el Consumo Acumulado de Oxígeno (CAO, $\text{mg O}_2/\text{g SV}$). De acuerdo a la clasificación de la IWA (International Water Association), se trata de un respirómetro LSS donde la concentración de oxígeno se mide con un sensor de oxígeno disuelto en fase líquida (L) y no se produce alimentación de gas (S) ni de líquido (S) durante la medida. El sistema consiste en un baño termostático donde se introducen dos matraces Erlenmeyer o reactores biológicos (1L de capacidad cada uno), en los cuales se lleva a cabo el proceso. En dichos matraces, se introduce una cantidad de muestra, dependiendo de la actividad de la misma. Se enrasa con agua destilada hasta 1L. Durante el tiempo de medida, las muestras se mantuvieron agitadas de manera constante a 300 rpm.



Figura 2.4.1. Respirómetro estático en fase líquida.

En cada reactor son introducidos un electrodo Mettler, modelo IMPRO-6000, que permite medir la concentración de oxígeno disuelto, y unos difusores de aire que permiten mantener la concentración de oxígeno disuelto entre 6,8 y 7,0 mg O₂/L, quedando cada matraz cerrado herméticamente. La fuente de aire fue una red de aire comprimido del laboratorio controlada por el accionamiento de dos electroválvulas. Cuando se produce la inyección de aire en el matraz (entre 100 y 300 L/h), el líquido que ocupa todo el volumen del recipiente y el gas sobrante rebosan por el orificio superior y son conducidos a través de un tubo a un depósito auxiliar situado en la parte superior del matraz. Cuando se detiene la aireación, caen de nuevo al matraz. Aún así, el recipiente puede considerarse hermético ya que la difusión del oxígeno que pueda producirse en el depósito de rebose, a través de los tubos es prácticamente nula

Por otro lado, el respirómetro dispone de un módulo de acondicionamiento de señal (Mettler, modelo 4200) que permite transformar la señal en forma de corriente, que nos proporcionan los electrodos de oxígeno, a señal en tensión que es la que admite la tarjeta de adquisición de datos.

Como se mencionó anteriormente, el funcionamiento discontinuo del respirómetro gira en torno a dos consignas, la concentración máxima y mínima de oxígeno establecidas (6,8-7,0 mg O₂/L), considerando un ciclo el tiempo que transcurre desde el valor máximo al mínimo. Durante

este periodo, el software recoge los datos de concentración de oxígeno disuelto frente al tiempo, que suelen venir representados por la recta de pendiente negativa. El valor absoluto de dicha pendiente se corresponde con un valor de VECO ($\text{mg O}_2/\text{g SV}\cdot\text{h}$).

La serie de ciclos transcurre durante unas 20 horas, resultando una curva típica como la que se muestra en la figura 2.4.2 Mediante el cálculo de la integral del área bajo la curva se obtiene otro dato de interés, la CAO₂₀ ($\text{mg O}_2/\text{g SV}$) si bien, el consumo acumulado podría ser calculado a cualquier tiempo durante el transcurso del experimento.

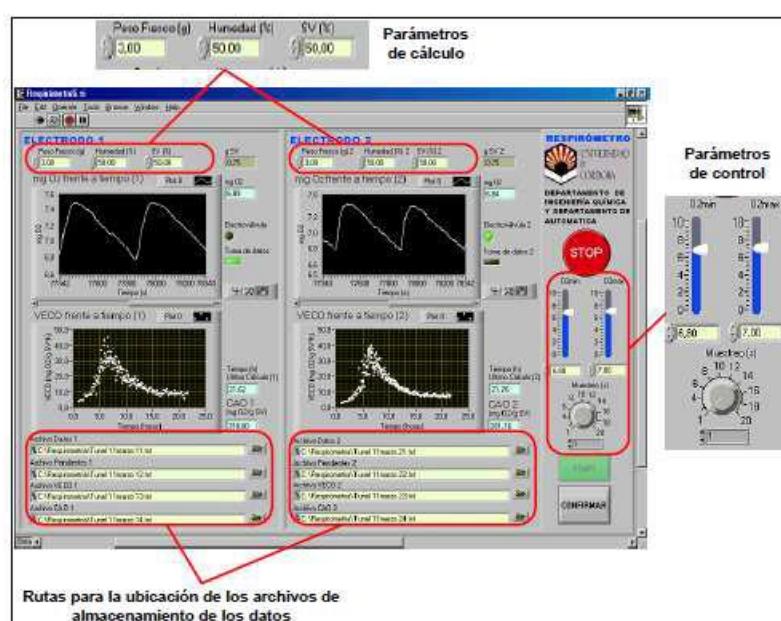


Figura 2.4.2. Pantalla donde se programan las condiciones del ensayo y se recogen los resultados durante el transcurso del mismo (Dios, 2008).

Como puede observarse en la figura 2.4.2, la pantalla recoge la información procedente de cada uno de los reactores en dos columnas similares. Al inicio del experimento es necesario introducir datos sobre la muestra introducida en cada reactor (peso (g), humedad (%) y sólidos volátiles (%)). Las gráficas superiores de cada columna recogen la evolución del contenido en oxígeno disuelto (mg O_2), que, como se comentó anteriormente, da lugar a rectas decrecientes de pendiente negativa, cuyo valor absoluto se corresponde con una VECO ($\text{mg O}_2/\text{g SV}\cdot\text{h}$). El valor de cada una de las VECO ($\text{mg O}_2/\text{g SV}\cdot\text{h}$) calculadas se recoge en la gráfica inferior. Dichas

gráficas, muestran la evolución típica de esta variable durante un proceso de degradación de la materia orgánica.

En la parte inferior de cada columna, se muestran las cuatro rutas en las que son recogidos los datos que se generan durante el ensayo:

1. Concentración de oxígeno frente al tiempo, durante la fase de consumo de oxígeno de cada ciclo.
2. Pendiente de la curva concentración de oxígeno frente al tiempo, calculada al final de la fase de consumo de oxígeno de cada ciclo.
3. VECO frente al tiempo, calculada al final de la fase de consumo de oxígeno de cada ciclo.
4. CAO frente al tiempo, calculada al final de la fase de consumo de oxígeno de cada ciclo.

2.5. Software

Para el tratamiento de datos, análisis estadístico y elaboración de gráficas se han empleado los software Sigma-plot (versión 11.0) y Statistica (versión 7.0).

2.6. Referencias

APHA, AWWA & WEF, 2005. Standard methods for the examination for water and wastewater.

17th Edition. Edited by Leonore S. Clesceri, Arnold E. Greenberb and R. Rhoder Trussell.

Washington, DC, USA

Ceccon, L., 1990. Quantitative determination of free volatile fatty acids from dairy products on a

Nukol capillary column. *Journal of Chromatography*. 519: 369-378.

Dios M., 2008. Estudio y desarrollo de técnicas respirométricas para el control de la estabilidad del compost. Tesis Doctoral.

Lide, D.R: 2004. Handbook of Chemistry and Physics. CRC PRESS.

Soto M., Méndez R., Lema J.M., 1993. Operación y control de digestores anaerobios (I). Ingeniería Química.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN/RESULTS AND DISCUSSION



Bloque I. Evaluación de diferentes residuos como materias primas para el proceso de digestión anaerobia

Section I. Evaluation of different wastes as raw materials for anaerobic digestion

Existe una gran variedad de actividades que generan residuos orgánicos, cada uno de ellos con características fisicoquímicas diferentes y una problemática de gestión asociada. Entre las posibles tecnologías para la gestión y tratamiento de los residuos orgánicos, la digestión anaerobia es una técnica adecuada que permite, además del tratamiento del residuo, su valorización energética. La relación entre las características fisicoquímicas y cómo pueden influir en los diferentes residuos puede resultar de gran interés para poder gestionarlos de la forma más adecuada. Para poder llevar a cabo el proceso de biometanización son necesarios unos requerimientos mínimos de nutrientes que se aportan al proceso, así como una adecuada proporción entre algunos de ellos, tales como carbono, nitrógeno y fósforo (C:N:P). Además, es conveniente tener en cuenta que la generación de los residuos no se produce de forma aislada y puede resultar de interés la posibilidad de llevar a cabo el tratamiento simultáneo de varios residuos mediante co-digestión. En este caso, es fundamental realizar de forma adecuada las posibles mezclas que pueden llevarse a cabo para poder evaluar la viabilidad tecnológica y económica de ciertas combinaciones que puedan resultar de interés. La utilización de diferentes herramientas puede hacerse esencial para planificar los porcentajes de mezcla o qué residuos combinar, siendo esta información de especial importancia.

Es destacable que, si bien la presencia de nutrientes es necesaria, el exceso de los mismos puede conducir a un proceso inhibitorio. El establecimiento de los límites de concentración en el caso del nitrógeno está más establecido en bibliografía, aunque no es independiente de su proporción respecto a la carga orgánica. Por el contrario, existe

un gran vacío en cuanto al efecto de la concentración de fósforo y su proporción respecto al carbono y nitrógeno presentes y biodisponibles.

Así, este bloque está constituido por las siguientes publicaciones científicas:

Publicación I: A. Gil, M. Toledo, J.A. Siles, M.A. Martín. Multivariate analysis and biodegradability test to evaluate different organic wastes for biological treatments: Anaerobic co-digestion and co-composting. Waste Management 78 (2018) 819–828. DOI: 10.1016/j.wasman.2018.06.052.

Publicación II: A. Gil, J.A. Siles, P. Márquez, M.C. Gutiérrez, M.A. Martín. Optimizing the selection of organic waste for biomethanization. Environmental Technology. DOI: 10.1080/09593330.2017.1397769.

Publicación III: A. Gil, J.A. Siles, A. Serrano, A.F. Chica, M.A. Martín. Effect of variation in the C/[N+P] ratio on anaerobic digestion. Environmental Progress & Sustainable Energy (2018) (in press). DOI: 10.1002/ep.12922.

I.I. Breve descripción del artículo “Multivariate analysis and biodegradability test to evaluate different organic wastes for biological treatments: Anaerobic co-digestion and co-composting”

Además de la gran diversidad de sustancias residuales existentes, sus propiedades físico-químicas también lo son dependiendo de su naturaleza y proceso de generación, siendo de especial interés aquellos de naturaleza orgánica. Los residuos de este tipo son susceptibles de ser sometidos a procesos de tratamiento biológicos, como la digestión anaerobia y el compostaje, frecuentemente utilizadas para la gestión de residuos biodegradables.

A la hora de seleccionar el/los residuos a tratar, hay que tener en cuenta las características de estos y los requerimientos que el proceso al que se vaya a someter. Por ello, es importante evaluar las características con respecto al contenido en nutrientes (C, N y P), así como su disponibilidad y otras variables que puedan aportar información sobre su mayor o menor biodegradabilidad (VECO, velocidad específica de consumo de oxígeno; DO_{20} , demanda de oxígeno a las 20 horas).

Tomando de partida las caracterizaciones físico-químicas de diferentes residuos muy contaminantes y abundantes en la sociedad actual, en este trabajo se han utilizado diversas herramientas estadísticas (análisis de componentes principales, en inglés PCA; análisis de cluster, en inglés CA; regresión multivariante) para evaluar las similitudes entre los sustratos con respecto a sus variables fisicoquímicas, la relación entre algunas de ellas, así como estimar las combinaciones de residuos más adecuadas para su tratamiento biológico.



Contents lists available at ScienceDirect

Waste Management

journal homepage:



Multivariate analysis and biodegradability test to evaluate different organic wastes for biological treatments: Anaerobic co-digestion and co-composting

A. Gil, M. Toledo, J.A. Siles, M.A. Martín [†]

University of Cordoba (Spain), Department of Inorganic Chemistry and Chemical Engineering, Campus Universitario de Rabanales, Carretera N-IV, km 396, Edificio Marie Curie, 14071 Córdoba, Spain



ARTICLE INFO

Article history:

Received 4 April 2018

Revised 22 June 2018

Accepted 27 June 2018

Keywords:

Biological treatments

Principal components analysis

Cluster analysis

Multivariate regression

Biodegradability test

ABSTRACT

This study proposes the combination of statistical analysis and a biodegradability test to complement the composition of different wastes in order to find the optimal balance of nutrients for their joint bioconversion. Due to the need to determine the adequate balance of nutrients, the use of alternative techniques to experimental procedures could significantly reduce the cost and time of the process. With this aim, fifteen organic wastes (nine solid and six liquid wastes) were selected and different statistical analyses were performed on the physico-chemical characterization and respirometric variables. Liquid and solid wastes were analyzed separately using principal components analysis (PCA) (PC1 + PC2: 67% of total variance explained for solid substrates and PC1 + PC2: 85% of total variance explained for liquid substrates). The analysis provided considerable information about the predominant chemical composition of each substrate as well as their similarities and deficiencies to identify possible mixtures. In addition to PCA, cluster analyses (CA) were performed to group the substrates and identify the most significant differences between them. The joint evaluation of PCA and CA permitted identifying the optimal waste mixtures (i.e., glycerol-strawberry-fish waste) by correlating the loadings and scores plot, the cluster analysis dendograms and the COD/TKN ratio from the physico-chemical characterization. Moreover, multivariate regression was found to be an appropriate tool for predicting microbiological activity, as well as the soluble available biodegradable organic matter of each substrate. Inorganic carbon (C_{IC}) and total organic carbon (C_{TOC}) were found to be the most influential parameters in the prediction correlation of oxygen consumption and oxygen uptake rate.

Abbreviations: AD, anaerobic digestion; CA, cluster analysis; C_{IC} , inorganic carbon (mg/kg); COD, chemical oxygen demand (mg/kg); COD_S , soluble chemical oxygen demand (mg/kg); C_{TC} , total carbon (mg/kg); C_{TOC} , total organic carbon (mg/kg); FS, fixed solids (%); M, moisture (%); OD_{20} , cumulative oxygen demand at 20 h (mg $O_2/g_{SUBSTRATE}$); PC, principal component; PCA, principal components analysis; P_T , total phosphorous (mg/kg); SOUR, specific oxygen uptake rate (mg $O_2/g_{SUBSTRATE}$ h); TKN, total Kjeldahl nitrogen (mg/kg); TN_S , total soluble nitrogen (mg/kg); TS, total solids (mg/kg); VA, volatile acidity (mg C_2/k g); VS, volatile solids (mg/kg).

© 2018 Elsevier Ltd. All rights reserved.

I.II. Breve descripción del artículo “Optimizing the selection of organic waste for biomethanization”

La tecnología de digestión anaerobia, permite el tratamiento y valorización energética de residuos biodegradables. En ocasiones, puede resultar interesante la posibilidad de tratar conjuntamente más de un residuo, proceso que se conoce como co-digestión. En la literatura encontrada a este respecto, destaca la relevancia que el balance de nutrientes tiene para que la digestión y co-digestión se desarrollen adecuadamente.

Evaluar la viabilidad de diferentes combinaciones y proporciones de residuos o sustratos ha de ser un paso previo a su aplicación práctica. En consecuencia, disponer de una herramienta sencilla, como la formulación de balances de materia a los macronutrientes del proceso (C, N y P) ha resultado de gran ayuda para la evaluación preliminar de posibles mezclas a digerir. Solo se ha requerido una caracterización química de los posibles sustratos residuales.

Una vez seleccionadas las mezclas más idóneas, en base a la relación DQO_{total}/NTK , $DQO_{soluble}/NT_{soluble}$, concentración de acidez, la presencia de una mínima concentración de fósforo biodisponible, etc., se han establecido los márgenes más adecuados o los valores óptimos, en el caso de que existieran, de los porcentajes de residuos a mezclar. Esta herramienta he permitido descartar o seleccionar combinaciones para su posterior comprobación experimental de biodegradabilidad anaerobia.



ENVIRONMENTAL TECHNOLOGY, 2017
<https://doi.org/10.1080/09593330.2017.1397769>



Optimizing the selection of organic waste for biomethanization

A. Gil, J. A. Siles, P. Márquez, M. C. Gutiérrez and M. A. Martín

Department of Chemical Engineering, Campus Universitario de Rabanales, University of Cordoba, Cordoba, Spain

ABSTRACT

This study evaluates the feasibility of using simultaneous mass balances of different nutrients as a tool for optimizing feeding composition in anaerobic digestion. Different ratios, among them total chemical oxygen demand/total Kjeldahl nitrogen (TCOD/TKN) and soluble chemical oxygen demand/TCOD (SCOD/TCOD), were assessed. The TCOD/total volatile solids (TVS) ratio was 1.73 kg O₂/kg TVS, while, with the exception of the sewage sludge, pig slurry and animal wastes, a linear relationship was established between phosphorus and nitrogen (0.06 kg P/kg TKN ($R^2 = 0.9045$)). The study was applied to different mixtures of waste (cucumber, quince, tomato, strawberry waste, vinasse, glycerol, tomato plant, pig slurry, sewage sludge, fish waste, landfill leachate and viscera). The mass balance was performed for 50 mixtures chosen at random, containing three different wastes. After evaluating the theoretical optimal values determined by the mass balances, the most promising data were compared with the experimental results of the anaerobic co-digestion of one of the three waste mixtures. As predicted by the mass balances, the codigestion of glycerol, strawberry extrudate and fish waste (41:54:4 in VS) improved methane production to a maximum value of 0.308 m³ CH₄/kg TVS_{added} for an organic loading rate of 0.62–4.26 kg TVS/m³·d.

ARTICLE HISTORY

Received 14 July 2017
 Accepted 22 October 2017

KEYWORDS

Nutrients ratio; mass balance; optimization; anaerobic co-digestion; organic waste

Nomenclature

C	Cucumber
DW	Dry weight
F/I	Feed/inoculum
FW	Fish waste
Gly	Glycerol
LI	Landfill leachate
OLR	Organic loading rate
PS	Pig slurry
Q	Quince
S	Strawberry waste
SCOD	Soluble chemical oxygen demand
SN	Soluble nitrogen
SS	Sewage sludge
STN	Soluble total nitrogen
STOC	Soluble total organic carbon
STP	Standard temperature and pressure
T	Tomato
TCOD	Total chemical oxygen demand
TKN	Total Kjeldahl nitrogen
TFS	Total fixed solids
TN	Total nitrogen
Tp	Tomato plant
TP	Total phosphorus
TS	Total solids
TSS	Total suspended solids
TVS	Total volatile solids
V	Distillery vinasse
Vs	Viscera
VSS	Volatile suspended solids

CONTACT M. A. Martín ig2masam@uco.es Department of Chemical Engineering, Campus Universitario de Rabanales, University of Cordoba, Edificio Marie Curie (C-3), Ctra. N IV, km 396, 14071 Cordoba, Spain


© 2017 Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group

I.III. Breve descripción del artículo “Effect of variation in the C/[N+P] ratio on anaerobic digestion”

El balance de nutrientes contenidos en los sustratos es una variable fundamental a tener en cuenta a la hora de implantar el proceso de digestión anaerobia. La bibliografía es abundante a este respecto, acerca de la idoneidad del contenido en materia orgánica y nutrientes, expresada generalmente como DQO:N:P y C/N. Esta información suele estar referida a los requerimientos mínimos de nutrientes que la compleja población microbiana precisa para el arranque del proceso. En este trabajo se ha puesto de manifiesto cómo influye no solo en la etapa inicial de puesta en marcha el balance de nutrientes aportado, sino también su variación durante el desarrollo de la biometanización de los tres macronutrientes C, N y P.

Se ha establecido una ratio de referencia, basándose en la información bibliográfica, calculada en equivalentes de carbono, nitrógeno y fósforo, correspondiendo a un valor de 53 (C/[N+P]). En el desarrollo experimental, realizado a escala de laboratorio, se ha evaluado el comportamiento de la digestión anaerobia frente a diferentes condiciones de operación: (1) ratio de referencia constante, (2) variación del aporte de nitrógeno, (3) variación del aporte de fósforo y (4) variación del aporte de nitrógeno y fósforo. De este modo se ha observado cómo la menor afección en la producción de metano en el biogás, respecto a un sustrato fácilmente biodegradable y en las proporciones óptimas, se produce en el caso en que el incremento de nitrógeno y fósforo se lleve a cabo de forma simultánea. Esto confirma la importancia que un correcto balance de nutrientes tiene sobre la biometanización, resultando ser una cuestión fundamental para la correcta gestión de los residuos biodegradables y permitiendo la optimización del proceso.

Effect of Variation in the C/[N+P] Ratio on Anaerobic Digestion

Aida Gil, Jose A. Siles, Antonio Serrano, Arturo F. Chica, and M. Angeles  Martín

Department of Chemical Engineering, Campus Universitario de Rabanales, University of Cordoba (Spain), Edificio Marie Curie (C-3), Ctra. N IV, km 396, Cordoba 14071, Spain; iq2masam@uco.es (for correspondence)

Published online 00 Month 2018 in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com). DOI 10.1002/ep.12922

Published: 4 May 2018

The importance of the balance between the nutrients in the anaerobic digestion process was assessed at laboratory scale. A soluble synthetic solution was used as substrate. The variable used to monitor the proportion of nutrients in the substrate was the [C]/[N+P] ratio expressed as equivalents of each element. A blank assay with a constant ratio of 53 and three experiments in which this variable was modified in the range 53–1 were performed. An increase in the concentration of nitrogen and phosphorus both separately and in combination was observed. The most relevant results show a loss of N in the biogas in the form of NH₃ for concentrations of around 400 mg N soluble/L in the liquid phase of the reaction, and a loss of soluble phosphorus in the form of calcium phosphate due to precipitation at concentrations above 250 mg P soluble/L, regardless of the experimental procedure. No significant effects were observed in the production of biogas for a ratio in the range 53–40, while biogas production decreased by 8% for a ratio of 20 when both N and P increased in the best of cases and by up to 46% when only N increased. © 2018 American Institute of Chemical Engineers Environ Prog, 00: 000–000, 2018

Keywords: C/N+P ratio, nutrients balance, nitrogen, phosphorus, anaerobic digestion.

**Bloque II. Lodos de estación depuradora de aguas residuales
(EDAR)**

**Section II. Sewage sludge derived from wastewater treatment
plant (WWTP)**

Los lodos procedentes de depuradora requieren de un tratamiento y gestión adecuados, máxime cuando se pretende alcanzar objetivos como la finalización de su depósito en vertedero, aplicación directa al suelo o su incineración sin recuperación energética. La digestión anaerobia ha sido una tecnología ampliamente empleada para este fin, aunque, debido a la baja biodegradabilidad que presenta este tipo de sustrato digerido de forma individual, el rendimiento en la producción de metano no es elevado. Es por ese motivo por el que se investigan posibles pretratamientos para mejorar su biodegradabilidad, con el objeto de valorizarlo energéticamente. Los pretratamientos tienen como objetivo facilitar que una mayor concentración de carbono esté biodisponible para transformarse en biogás. No obstante, en paralelo se produce la solubilización de nitrógeno, lo que puede ser un factor limitante de las condiciones de operación aplicadas durante el pretratamiento. Además, un pretratamiento no está libre de costes asociados al consumo de recursos energéticos y/o de sustancias químicas. Por ello, se hace necesario evaluar la mejora que el pretratamiento aporta en la recuperación energética en forma de metano en el biogás.

Es conveniente tener en el horizonte el objetivo de la suficiencia energética en las EDAR, con todo lo que ello conlleva. Por ejemplo, utilizar el digestor anaerobio de fangos de una EDAR como instalación centralizada de otros residuos que se produzcan en las zonas aledañas de forma estacional, como puede suceder en las regiones agrícolas. Esto contribuiría simultáneamente a la recuperación energética y a la mejora del tratamiento de residuos en la zona. Por ello, y aunque hasta la fecha los estudios de aplicación de pretratamientos no sean muy favorables energéticamente, pueden ser

convenientes siempre que se compensen con otros aportes paralelos.

Así, este bloque está constituido por las siguientes publicaciones científicas:

Publicación IV: A. Gil, J.A. Siles, M. Toledo, M.A. Martín. Effect of microwave pretreatment on centrifuged and floated sewage sludge derived from WWTP. Renewable Energy (under review)

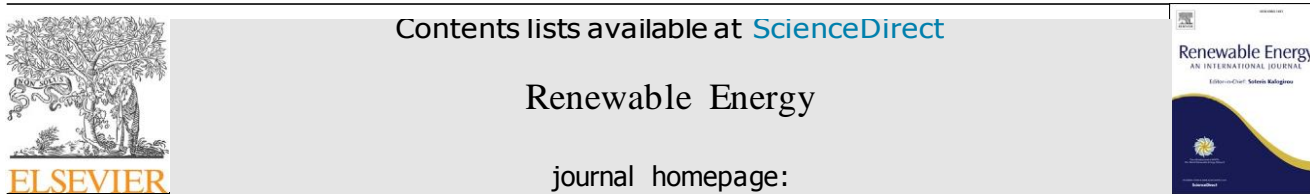
Publicación V: A. Gil, J.A. Siles, M.A. Martín, A.F. Chica, F.S. Estévez-Pastor, E. Toro-Baptista. Effect of microwave pretreatment on semi-continuous anaerobic digestion of sewage sludge. Renewable Energy 115 (2018) 917-925. DOI: 10.1016/j.renene.2017.07.112.

II.IV. Breve descripción del artículo “Effect of microwave pretreatment on centrifuged and floated sewage sludge derived from WWTP”

Las plantas de tratamiento de aguas residuales generan un residuo sólido denominado lodo, que es mezcla de los sólidos en suspensión retirados en el tratamiento primario y de los microorganismos aerobios excedentes en el tratamiento secundario. Las características más relevantes, generalmente, son un elevado porcentaje en humedad (95-98%) y contenido en materia orgánica (70%, sobre base seca). Tras su generación debe ser acondicionado, con el objeto de reducir su volumen, disminuyendo su contenido en agua principalmente y estabilizar la materia orgánica, comúnmente mediante un tratamiento biológico. Dependiendo del destino final que se le pretenda dar, se requieren actuaciones diferentes.

Dado que los tratamientos aplicados a los lodos suelen ser biológicos, debido a la baja biodegradabilidad que estos presentan, para mejorar su gestión se emplean pretratamientos de distinta índole. Entre ellos se encuentran los pretratamientos térmicos y a su vez, incluyéndose en este grupo, la tecnología de microondas.

En este trabajo se ha evaluado el/los efecto/s que este pretratamiento genera sobre el lodo de EDAR tanto centrifugado como flotado, ya que el contenido en humedad entre ambos varía significativamente. Así, las variables consideradas han sido las condiciones de operación del pretratamiento y las características del lodo a tratar. Entre los hallazgos encontrados destacan los resultados de la aplicación de dos potencias eléctricas distintas y varias energías específicas, evaluando el comportamiento sobre la materia orgánica, solubilización del carbono y nitrógeno, así como su posterior biodegradabilidad aerobia.



Effect of microwave pretreatment on centrifuged and floated sewage sludge derived from WWTP



A. Gil, J.A. Siles, M. Toledo, M.A. Martín *

^a Department of Inorganic Chemistry and Chemical Engineering, University of Cordoba, Campus Universitario de Rabanales, Edificio Marie Curie (C-3), Ctra. N IV, km 396, 14071 Cordoba, Spain

*e-mail: q2masam@uco.es

(Received 6 August 2018, Under Review)

Abstract

As a result of the growing number of wastewater treatment plants, increasing quantities of sewage sludge are being produced. Biological treatments are usually the most frequent method used to treat this type of waste. However, due its poor biodegradability, a previous treatment is required to enhance this sludge. In this study, the application of a microwave pretreatment was evaluated at different power ratings (400 and 700 W) for a specific applied energy ranging from 0-30,000 J/g TS. The pretreatment was applied to floated sludge and centrifuged sludge from a WWTP. Organic matter solubilization was evaluated in both sludges based on the CODs/TVS ratio. The results showed a 43% and 66% increase and 187% and 162% in solubility for the floated sludge and centrifuged sludge at 400 and 700W, respectively. The increase in organic and nitrogenous matter during pretreatment had a positive effect on the aerobic biodegradability of the floated sludge and biodegradation kinetics, as the specific oxygen uptake rate increased up to 8.5 times for 15,000 J/g TS. Independently of the moisture content, the floated sludge showed the best results above 10,000 J/g TS. No significant differences were observed between the applied powers in terms of organic matter solubilization.

II.V. Breve descripción del artículo “Effect of microwave pretreatment on semi-continuous anaerobic digestion of sewage sludge”

La gestión de los lodos de depuradora y la posibilidad de realizarla en la propia instalación en la que se genera, supone un gran interés. Ya que aplicando una tecnología como la digestión anaerobia, permite no solo el tratamiento de este tipo de residuos, sino también su valorización energética, pudiendo utilizarse esta en el autoconsumo de las plantas de tratamiento de aguas residuales.

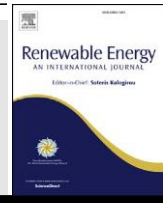
Sin embargo, estos lodos suelen tener una baja biodegradabilidad, por lo que su valorización directa no presenta altos rendimientos. En literatura se ha abordado esta problemática y se han propuesto diversos pretratamientos para solventar dicho inconveniente, siendo el tipo de sustrato y pretratamiento, así como las condiciones de operación muy influyentes en los resultados obtenidos. En este estudio, se ha considerado la gestión del lodo flotado, ya que previamente se evaluó la idoneidad del pretratamiento con microondas con respecto a otros lodos, así como las mejores condiciones de operación (700 J/s, 63 s). La aplicación del microondas, como pretratamiento previo a la digestión anaerobia, ha mejorado no solo la biodegradabilidad del lodo, sino también la producción de metano y la velocidad de carga orgánica, alcanzando valores superiores a los obtenidos con el lodo sin pretratar y, por tanto, permitiendo incrementar la eficiencia del proceso de biometanización.



Contents lists available at ScienceDirect

Renewable Energy

journal homepage:



Effect of microwave pretreatment on semi-continuous anaerobic digestion of sewage sludge



A. Gil ^a, J.A. Siles ^a, M.A. Martín ^{a,*}, A.F. Chica ^a, F.S. Estévez-Pastor ^b, E. Toro-Baptista ^b

^a Department of Inorganic Chemistry and Chemical Engineering, University of Cordoba, Campus Universitario de Rabanales, Edificio Marie Curie (C-3), Ctra. N IV, km 396, 14071 Cordoba, Spain

^b Empresa Metropolitana de Aguas de Sevilla, S.A. (EMASESA), C/ Escuelas Pías, 1, 41008 Sevilla, Spain

article info

Article history:

Received 4 February 2017 Received in revised form 7 July 2017
 Accepted 27 July 2017
 Available online 4 August 2017

Keywords: Anaerobic digestion Pretreatment Microwave Sewage sludge Methane yield

Corresponding author.
 E-mail address: iq2masam@uco.es (M.A. Martín).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.renene.2017.07.112>

0960-1481/© 2017 Elsevier Ltd. All rights reserved.

abstract

Sewage sludge is a waste produced worldwide in wastewater treatment plants (WWTP) that constitutes a major environmental and health problem. Although anaerobic digestion has become a widely used method for the management and treatment of sewage sludge, the biomethanization of this waste leads to low biodegradability and low methane production. Microwave pretreatment under fixed conditions of 20×10^6 J/kg TS (Total Solids) and 700 J/s has been described as an interesting alternative in order to improve the feasibility of the anaerobic digestion of sewage sludge. In this study at laboratory scale, the semi-continuous anaerobic digestion of raw sewage sludge and pretreated sewage sludge were compared in terms of organic loading rate (OLR), biodegradability and methane production. The main results were found to be OLR up to 2.80×10^{-5} kg TVS (Total Volatile Solids)/m³\$s, 70% biodegradability and a 20% improvement in methane yield compared to sewage sludge without pretreatment. Higher loads led to free ammonia accumulation, increase of pH values and system destabilization.

© 2017 Elsevier Ltd. All rights reserved

Nomenclature

- Al Alkalinity
- k Chemical oxygen demand
- CO Extracellular polymeric substances
- D Flame ionization detector
- EP Fixed solids
- S Synthetic solution composed of glucose, sodium acetate and lactic acid
- FI
- HR Hydraulic retention times
- T IC Inorganic carbon
- MS Microwaved sludge
- S substrate Ammoniacal
- N-NH₄^b nitrogen
- OLR Organic loading rate

- SCOD Soluble chemical oxygen demand
- STN Soluble total nitrogen
- STOC Soluble total organic carbon
- STP Standard temperature and pressure conditions
- TCOD Total chemical oxygen demand
- TS Total solids
- TVS Total volatile solids
- TVS_{initial} Initial total volatile solids
- TVS_{remaining} Remaining total volatile solids
- VA Volatile acidity
- VFA Volatile fatty acids
- WMSS
- WWTP Unpretreated sewage sludge Wastewater treatment plant

Bloque III. Gestión de residuos vegetales procedentes del cultivo en invernadero

Section III. Management of vegetable waste derived from greenhouse cultivation

La actividad agrícola genera grandes cantidades de residuos vegetales y excedentes de producción. Así, el incremento de las áreas dedicadas al cultivo en invernadero intensifica la generación de este tipo de residuos. Una alternativa para su gestión, estando en consonancia con el concepto de economía circular, es la aplicación de la digestión anaerobia como tecnología de tratamiento y valorización energética de estos residuos.

Dentro de los residuos vegetales generados, se encuentran los constituidos por los frutos que hayan sido descartados por los controles de calidad o por las contingencias en el mercado. Por otra parte, se encuentran los restos vegetales originados tras la recogida de las cosechas, los cuales están constituidos principalmente por hojas, tallos y algunos frutos. Esta fracción de los residuos vegetales presenta un elevado contenido lignocelulósico, con baja y lenta biodegradabilidad, por lo que podría resultar de interés la aplicación de un pretratamiento previo a la digestión anaerobia, con objeto de mejorar la cinética y el rendimiento energético conseguido.

En el entorno económico que supone la producción en invernadero, la posibilidad de un tratamiento de los residuos, hasta la fecha, no va mucho más allá de su depósito en zonas de acumulación, las cuales frecuentemente sufren incendios y generan lixiviados altamente cargados en materia orgánica y nitrógeno. Adicionalmente, la generación de olores desagradables es frecuentemente motivo de queja de la población que habita las zonas colindantes.

Nuevamente el concepto de planta o instalación centralizada de tratamiento toma auge pues, además de estos residuos, la co-digestión con otros que se generen en la

misma área geográfica, como son los lodos de depuradora, puede ser una alternativa interesante para todos los agentes generadores de los mismos.

Así, este bloque está constituido por las siguientes publicaciones científicas:

Publicación VI: A. Gil, J.A. Siles, A. Serrano, M.A. Martín. Mixture optimization of anaerobic co-digestion of tomato and cucumber waste. *Environmental Technology* 36 (20) (2015) 2628-2636. DOI: 10.1080/09593330.2015.1041425.

Publicación VII: A. Gil, J.A. Siles, M.C. Gutiérrez, M.A. Martín. Evaluation of physicochemical pretreatment of tomato plant for anaerobic digestion. *Biomass Conversion and Biorefinering* (under review).

Publicación VIII: K. Hamraoui, A. Gil, H. El Bari, J.A. Siles, A.F. Chica, M.A. Martín. Evaluation of hydrothermal pretreatment for biological treatment of lignocellulosic feedstock (pepper plant and eggplant). *Waste Management* (under review).

III.VI. Breve descripción del artículo “Mixture optimization of anaerobic co-digestion of tomato and cucumber waste”

La agricultura ha ido evolucionando hacia un sistema cada vez más intensivo de explotación, para poder suministrar una gran cantidad y variedad de productos. El sistema de cultivo en invernadero es una técnica muy desarrollada en el área mediterránea, de modo que el mercado puede ofrecer productos durante todo el año, sin depender de la estacionalidad de los cultivos. Por otra parte, las exigencias de calidad y las fluctuaciones de los mercados, conllevan una selección más exhaustiva, elevando la cuantía de los productos de descarte. En áreas dedicadas al cultivo en invernadero, este hecho puede conllevar un grave problema de gestión de los residuos generados, ya que este tipo de residuos biodegradables no pueden quedar sin tratar, su almacenamiento es limitado y la legislación regula cada vez más su deposición en vertedero.

Como ya se ha indicado anteriormente, el proceso de biometanización requiere de unos aportes de nutrientes mínimos para que la población microbiana implicada opere de forma adecuada. En este estudio se han evaluado dos tipos de frutos, el tomate y pepino por su importancia en términos de producción en la cuenca mediterránea. Además, su producción suele coincidir temporalmente a lo largo del año en cultivos de invernadero, por lo que la evaluación de su co-digestión anaerobia se ha considerado de especial relevancia, ya que en determinados momentos se generan excedentes que se convierten en residuos derivados de esta actividad. Así, la mejora del balance de nutrientes a través de la combinación de ambos sustratos, ha permitido incrementar el rendimiento en la producción de metano para mezclas con 65:35 de tomate y pepino residuales, respectivamente. Estos resultados suponen un avance en la gestión de dichos residuos

agroindustriales, siendo de interés para contribuir al desarrollo de la economía circular.

Mixture optimization of anaerobic co-digestion of tomato and cucumber waste

Aida Gil, José Ángel Siles, Antonio Serrano and M^a Ángeles Martín*

Department of Chemical Engineering, Campus Universitario de Rabanales, University of Cordoba, Edificio Marie Curie (C-3), Ctra. N IV, km 396, 14071 Cordoba, Spain

(Received 11 September 2014; accepted 12 April 2015)

Greenhouse cultivation has significantly increased the production of vegetables and reduced dependence on environmental conditions. In Mediterranean areas, vegetable crops are nowadays one of the most important sources of organic waste generation. Anaerobic digestion is among the methods used to treat this type of biodegradable waste. However, the selection of the organic wastes to be subjected to this microbial treatment is a crucial aspect due to seasonality and simultaneity of the original crops. In this sense, as waste does not have frequently the proper nutrient balance, co-digestion with other substrates generated in the same geographical area is recommended to ensure the correct development of the process. This work studies the mesophilic co-digestion of tomato waste (TW) and cucumber waste (CW), which are common greenhouse wastes that do not contain an adequate ratio among nutrients (C/N/P) and are generated simultaneously. The influence of the percentage of both wastes in the mixture on the overall performance of the process was evaluated. The combination of TW and CW was found to be feasible in terms of stability, biodegradability and methane yield, which reached a value of 292 mL_{STP} CH₄/g VS (STP: standard temperature and pressure, 0°C and 760 mmHg) for the percentage of tomato in the mixture, which is considered optimal at 55–75%. The most suitable organic load rate was determined for a percentage of 65% of TW, reaching a value of 1562 kg_{waste} m⁻³ month⁻¹.

Keywords: anaerobic co-digestion; kinetics; tomato waste; cucumber waste; mixture optimization

Nomenclature

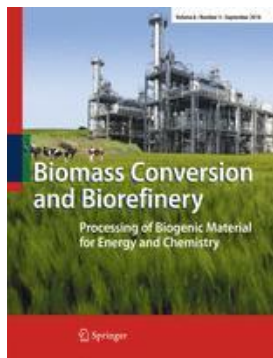
Alk	alkalinity (mg CaCO ₃ /L)	P–P _{total}	total phosphorus (mg/kg)
C2	acetic acid (mg/L)	STP	standard temperature and pressure (760 mmHg and 0°C)
C3	propionic acid (mg/L)	TOC	total organic carbon (mg/L)
C4	butyric acid (mg/L)	TS	total solids (mg/kg)
C5	valeric acid (mg/L)	TW	tomato waste
COD	chemical oxygen demand (mg O ₂ /L)	VA	volatile acidity (mg C ₂ /L)
COD/N	ratio chemical oxygen demand/total nitrogen (mg O ₂ /mg N)	VA/Alk	volatile acidity/alkalinity (equivalent C ₂ /equivalent CaCO ₃)
COD:N:P	ratio chemical oxygen demand:total nitrogen:total phosphorus (mg O ₂ :mg N:mg P)	VFA	volatile fatty acid (mg acetic acid/L)
CW	cucumber waste	VS	volatile solids (mg/kg)
G	volume of methane (mL _{STP})	Y _{CH₄/S}	methane yield coefficient (mL _{STP} CH ₄ /g VS)
G _{exp}	maximum cumulative volume of methane obtained experimentally (mL _{STP})		
G _m	maximum methane volume accumulated (mL _{STP})		
HHV	higher heating value (kcal/kg)		
iC4	isobutyric acid (mg/L)		
iC5	isovaleric acid (mg/L)		
K	apparent kinetic constant for methane production (h ⁻¹)		
MS	mineral solids (mg/kg)		
N-NH ₄ ⁺	ammoniacal nitrogen (mg/kg)		
N-NTK	total kjeldahl nitrogen (mg/kg)		
N-TN	total nitrogen (mg/kg)		
OLR	organic loading rate (g VS/L _{reactor} h; kg _{waste} m ⁻³ month ⁻¹)		

III.VII. Breve descripción del artículo “Evaluation of physicochemical pretreatment of tomato plant for anaerobic digestion”

La sustitución de los combustibles fósiles, así como de los sistemas tradicionales de obtención de energía, es una línea prioritaria de investigación y avance, siendo fundamental la búsqueda de recursos alternativos de carácter renovable. A nivel mundial las explotaciones agrícolas generan grandes cantidades de restos vegetales, incluyendo productos de descarte del mercado, tallos, hojas o frutos que quedan tras la finalización y recogida de la cosecha. Dichos sustratos tradicionalmente se han depositado en zonas adyacentes a las de producción, se han destinado al alimento del ganado o se ha procedido a su compostaje para la obtención de una enmienda orgánica.

La característica general que presenta este tipo de biomasa es su elevado contenido lignocelulósico, presentando cierta resistencia a ser biodegradada. Por ello, cuando se considera su gestión mediante la aplicación de tecnologías de carácter biológico como la digestión anaerobia, que además permite su valorización energética, suele ser interesante la aplicación de un pretratamiento. A través de éste se mejora su biodegradabilidad, de modo que los nutrientes quedan más accesibles para la población microbiana, que interviene en el proceso de biometanización. En este trabajo se ha evaluado la viabilidad de la combinación de un pretratamiento físico-químico a los restos vegetales del cultivo del tomate, muy frecuentemente cultivado de forma intensiva en invernadero, con la finalidad de mejorar el posterior rendimiento en la producción de metano. Se ha observado que el tratamiento hidrotérmico sin adición de reactivo es el más idóneo bajo las condiciones ensayadas, alcanzándose

una mejora en los resultados de biometanización de este sustrato con el pretratamiento. Este hecho permitiría contribuir a una mejor gestión de este tipo de restos vegetales que presentan elevada generación en la actualidad.



Evaluation of physicochemical pretreatment of tomato plant for anaerobic digestion

Aida Gil, Jose A. Siles, M. Carmen Gutiérrez, M. Ángeles Martín*

Department of Chemical Engineering, Campus Universitario de Rabanales, University of Cordoba,
Edificio Marie Curie (C-3), Ctra. N IV, km 396, 14071 Cordoba, Spain.

* Corresponding author: E-mail: iq2masam@uco.es; Phone: +34 957212273;

Fax: +34 957218625

(Received 19 September 2018, Under Review)

Abstract

This study evaluates different hydrothermal pretreatment conditions for the tomato plant. Since these plants produce abundant waste due to their lignocellulosic content, biodegradation through anaerobic digestion is difficult. Hydrothermal pretreatment of the tomato plant was carried out at different times (0,600, 900, 1200, 1800 and 3600 s), with pressure and temperature conditions maintained at 394K and 202,650 total Pa. In addition, acid and base were added to determine if they favored the hydrolysis of the lignocellulosic material. After determining the most appropriate pretreatment time for the different options (with or without chemical reagent), aerobic biodegradability was evaluated, as well as the structural changes caused by the pretreatment. From this stage of pretreatment evaluation, it was concluded that the conditions of greatest interest were 900 s (15-minute) hydrothermal pretreatment without the addition of chemical reagents (TPWH (t15)). The anaerobic digestion process was subsequently evaluated by comparing TPWH (t15) with the untreated tomato plant, obtaining a mean value of 0.125 ± 0.006 and 0.097 ± 0.010 m³_{STP} CH₄/kg TVS (total volatile solids) (STP: standard temperature and pressure conditions, 273K and 101,325 Pa), respectively, once the methane production stabilized.

Abbreviations: **RM**, raw material; **TPW**, tomato plant waste; **TPWH**, tomato plant waste hydrothermal; **TPWAH**, tomato plant waste acid-hydrothermal; **TPWAkH**, tomato plant waste alkali-hydrothermal; **SOUR**, specific oxygen uptake rate; **OD₂₀**, oxygen demand; **Alk**, alkalinity ; **TS**, total solids ; **FS**, fixed solids; **TVS**, total volatile solids; **VA**, volatile acidity; **STN**, soluble total nitrogen; **STOC**, soluble total organic carbon.

III.VIII. Breve descripción del artículo “Evaluation of hydrothermal pretreatment for biological treatment of lignocellulosic feedstock (pepper plant and eggplant)”

Derivado del interés que supone la gestión de los residuos vegetales en zonas de explotación intensiva la posible aplicación de un tratamiento biológico que, además de tratar, permita su valorización energética posibilita vehicular una posible solución ambientalmente sostenible en zonas con una elevada generación de este tipo de residuos.

Para la valorización energética mediante biometanización de los mismos, de carácter lignocelulósico, se recomienda la aplicación de pretratamientos que puedan incrementar y acelerar su biodegradabilidad. Entre los pretratamientos se postula el hidrotérmico, sin necesidad de adición de reactivos, como uno de los más eficaces, compatible con la biotecnología orientada a la gestión de sustancias residuales.

En este contexto, se han determinado las mejores condiciones de operación para el pretratamiento hidrotérmico (120°C y 40 minutos), evaluando el incremento en la solubilización de carbono y nitrógeno, y la mejora en la producción de metano, comparativamente con los de la planta del pimiento y berenjena sin pretratar. Se han conseguido incrementos de 1,4 y 1,8 veces en la producción de metano para la co-digestión de la mezcla (1 g SV/L, 50:50) de los residuos de planta de pimiento y berenjena pretratados hidrotérmicamente, respecto a los residuos biometanizados de forma individual sin pretratar.

Los resultados obtenidos han sido de gran interés para continuar con esta línea de investigación, permitiendo la gestión conjunta de grandes volúmenes de residuos generados en este

tipo de explotaciones.



Evaluation of hydrothermal pretreatment for biological treatment of lignocellulosic feedstock (pepper plant and eggplant)

Hamraoui, K.^{aφ}, Gil, A.^{bφ}, El Bari, H.^a, Siles, J.A.^{b*}, Chica, A.F.^b,
Martín, M.A.^b

^a Renewable Energy and Environment Laboratory-Faculty of Sciences Ibn Tofail, Kénitra Morocco.

^b University of Cordoba (Spain) – Department of Inorganic Chemistry and Chemical Engineering. Campus Universitario de Rabanales. Carretera N-IV, km 396, Edificio Marie Curie, 14071 Córdoba. Spain. Phone: +34 957 212273; fax: +34 957 218625

φ Hamraoui K. and Gil A. equally contributed to the work.

* Corresponding author: e-mail: a92siloj@uco.es

(Received 6 September 2018, Under Review)

Abstract

Plant residues are an important source of organic matter that can be degraded by aerobic or anaerobic biological processes. However, due to the presence of lignocellulosic material, these residues are not easily biodegradable. Greenhouse crops, such as pepper and eggplant, generate large amounts of this type of waste after harvesting. In this study, a hydrothermal pretreatment was applied at 120°C and different times to evaluate the enhancement of C and N solubilization in these residues. The highest solubilization of C was obtained at 40 minutes, as no significant increases were observed at higher times (100% and 68% for pepper plant [PP] and eggplant [EP], respectively). The solubilization of N shows a linear behavior (PP $r^2=0.9670$ and EP $r^2=0.9395$). Aerobic and anaerobic biodegradability were also evaluated, with better results found for the anaerobic digestion of the pretreated substrates. The nutrients balance with anaerobic co-digestion of both pretreated substrates (50:50% wt) improved methane production by 1.4 and 1.8 with respect to the substrates individually.

III.VIII. Breve descripción del artículo “Evaluation of hydrothermal pretreatment for biological treatment of lignocellulosic feedstock (pepper plant and eggplant)”

Derivado del interés que supone la gestión de los residuos vegetales en zonas de explotación intensiva la posible aplicación de un tratamiento biológico que, además de tratar, permita su valorización energética posibilita vehicular una posible solución ambientalmente sostenible en zonas con una elevada generación de este tipo de residuos.

Para la valorización energética mediante biometanización de los mismos, de carácter lignocelulósico, se recomienda la aplicación de pretratamientos que puedan incrementar y acelerar su biodegradabilidad. Entre los pretratamientos se postula el hidrotérmico, sin necesidad de adición de reactivos, como uno de los más eficaces, compatible con la biotecnología orientada a la gestión de sustancias residuales.

En este contexto, se han determinado las mejores condiciones de operación para el pretratamiento hidrotérmico (120°C y 40 minutos), evaluando el incremento en la solubilización de carbono y nitrógeno, y la mejora en la producción de metano, comparativamente con los de la planta del pimiento y berenjena sin pretratar. Se han conseguido incrementos de 1,4 y 1,8 veces en la producción de metano para la co-digestión de la mezcla (1 g SV/L, 50:50) de los residuos de planta de pimiento y berenjena pretratados hidrotérmicamente, respecto a los residuos biometanizados de forma individual sin pretratar.

Los resultados obtenidos han sido de gran interés para continuar con esta línea de investigación, permitiendo la gestión conjunta de grandes volúmenes de residuos generados en este

tipo de explotaciones.



Evaluation of hydrothermal pretreatment for biological treatment of lignocellulosic feedstock (pepper plant and eggplant)

Hamraoui, K.^{aφ}, Gil, A.^{bφ}, El Bari, H.^a, Siles, J.A.^{b*}, Chica, A.F.^b,
Martín, M.A.^b

^a Renewable Energy and Environment Laboratory-Faculty of Sciences Ibn Tofail, Kénitra Morocco.

^b University of Cordoba (Spain) – Department of Inorganic Chemistry and Chemical Engineering. Campus Universitario de Rabanales. Carretera N-IV, km 396, Edificio Marie Curie, 14071 Córdoba. Spain. Phone: +34 957 212273; fax: +34 957 218625

φ Hamraoui K. and Gil A. equally contributed to the work.

* Corresponding author: e-mail: a92siloj@uco.es

(Received 6 September 2018, Under Review)

Abstract

Plant residues are an important source of organic matter that can be degraded by aerobic or anaerobic biological processes. However, due to the presence of lignocellulosic material, these residues are not easily biodegradable. Greenhouse crops, such as pepper and eggplant, generate large amounts of this type of waste after harvesting. In this study, a hydrothermal pretreatment was applied at 120°C and different times to evaluate the enhancement of C and N solubilization in these residues. The highest solubilization of C was obtained at 40 minutes, as no significant increases were observed at higher times (100% and 68% for pepper plant [PP] and eggplant [EP], respectively). The solubilization of N shows a linear behavior (PP $r^2=0.9670$ and EP $r^2=0.9395$). Aerobic and anaerobic biodegradability were also evaluated, with better results found for the anaerobic digestion of the pretreated substrates. The nutrients balance with anaerobic co-digestion of both pretreated substrates (50:50% wt) improved methane production by 1.4 and 1.8 with respect to the substrates individually.

Keywords: anaerobic digestion; lignocellulosic feedstock; hydrothermal pretreatment; eggplant; pepper plant; biogas.

1. Introduction

The use of renewable energy sources is a critical issue worldwide due to the serious negative environmental consequences of using fossil fuels and the future depletion of these fuels. In this regard, biomass has become one of the most promising markets for renewable energy sources.

Agriculture is one of the major sources for the production of biomass. After the harvesting of crops, plant residues consisting mainly of stems, leaves and some fruits remain. It is important that these plant residues are managed properly, since uncontrolled incineration has negative effects on the environment, such as air pollution and loss of resources, and the abandonment of these residues can lead to the spread of diseases and pests and the contamination of soil and aquifers, among others (Moreno et al., 2015). However, the plant residues generated after harvesting also provide an accessible source of renewable energy (Anjum et al., 2016), as this biomass source is a substrate capable of being biodegraded. Anaerobic digestion (AD) is an alternative technology to improve the management of this organic waste and recover energy. AD is of interest for these residues since methane is produced from the lignocellulosic wastes, with the consequent economic and environmental benefits (Kumari and Singh, 2018; Chandra et al., 2012).

Anaerobic digestion is considered a viable and mature technology. The benefits of this technology include the recovery of bioenergy, the reduction in environmental pollution and the production of organic fertilizer from the digested residues. The type and structure of substrates also affect the efficiency of biogas production. Organic materials are mainly composed of carbohydrates, proteins and lipids, which can be degraded to simpler compounds by microorganisms in four stages: hydrolysis, acidogenesis, acetogenesis and methanogenesis (Deublein et al., 2008).

However, this type of lignocellulosic biomass (LB) has the disadvantage that it is not easily

biodegradable by anaerobic microorganisms because the biodegradable organic matter remains trapped in the lignocellulosic structure (Mosier et al., 2005). Lignocellulose is composed of cellulose (40–50%), hemicellulose (25–35%) and lignin (15–20%), which are organized in a complex arrangement and vary according to the type of plant (Ender Us et al., 2011).

Although plant remains have traditionally been managed by composting and used for cattle feed, this alternative is becoming increasingly difficult due to the intensification of agricultural production. In Campo de Dalías (Almería, Spain), this is due to two fundamental reasons. Firstly, the rapid growth of surface area dedicated to greenhouse crops, which has increased from 0 hectares to 16,000 in 30 years. The annual horticultural production in this area of Spain is 2.5 million tons (pepper, eggplant, tomato, cucumber, green beans, marrow, melon and watermelon); a figure that represents 5% of the total production in the European Union and 21% of the production in Spain (Parra, 2008). Secondly, the amount of waste generated in this area has also increased to 380,000 tons per year.

As mentioned above, plant residues are limited by the recalcitrance of the biomass. The existence of lignin and hemicellulose creates obstacles to protect the cellulose from degradation by microorganisms. Lignin cannot be used during AD and the existence of lignin not only provides a physical barrier, but also inactivates the cellulase by irreversible absorption (Kim et al., 2015; Yuan et al., 2013). The elimination of lignin or hemicellulose can increase the digestibility of cellulose (Gu et al., 2015; Hsu et al., 2010). Therefore, an appropriate pretreatment prior to AD might be necessary to release cellulose from the protection of the lignin and hemicellulose, and thus achieve a higher rate of biogas production and substrate degradation (Monlau et al., 2013). Moreover, pretreatment modifies the size, structure and chemical composition of biomass (Nissila et al., 2014).

Different pretreatment methods, including biological, hydrothermal, mechanical and chemical processes or a combination of these methods, have been suggested to improve solids reduction, enzyme accessibility to cellulosic fibers and biogas production from substrate solids

(Tanaka et al., 1997; Bougrier et al., 2008; Salsabil et al., 2009; Dhar et al., 2012). These techniques generally require the addition of reagents or additional energy, which is more costly (Lim et al., 2013). The overall performance and viability of these techniques depend on a wide range of factors in addition to energy use and performance (Carrere et al., 2010).

The methods used to pretreat the substrate are intended to promote and improve the hydrolysis of the high molecular compounds to readily biodegradable constituents and to increase the yields of anaerobic digestion products. The hydrolysis step in the AD of the solid substrates is generally considered to be a speed limiting step (Wei Li et al., 2016). However, hydrothermal pretreatment appears to be efficient in terms of solubilization (Bougrier et al., 2008) and has been shown to decompose the lignocellulosic walls and hence improve LB biodegradability (Hendriks and Zeeman, 2009; Mosier et al., 2005) so that it can be used in AD.

Studies on the pretreatment of lignocellulosic waste have shown that more research is needed to improve its applicability, since the results depend on both the type of pretreatment and the characteristics of the lignocellulosic substrates (Kumari and Singh, 2018; Pelleri and Gidaracos, 2017; Pecorini et al., 2016). The main objective of this study is to evaluate the effect of hydrothermal pretreatment at 120°C and different times to enhance nutrient solubility in abundant lignocellulosic substrates such as pepper and eggplant and to improve aerobic biodegradability, AD and co-digestion. The management of this waste by anaerobic co-digestion would enable the development of a circular economy for these crops through the recovery of the nutrients in the digestate and energy in the biogas.

2. Materials and Methods

2.1. Chemical analyses

The following components were analyzed in the raw materials used as substrates before pretreatment: total solids (TS, g/kg), fixed solids (FS, g/kg), volatile solids (VS, g/kg), total

chemical oxygen demand (TCOD, mg O₂/kg), total Kjeldhal nitrogen (TKN, mg/kg) and total phosphorus (TP, mg/kg). The analyses were carried out according to the Standard Methods of the American Public Health Association (APHA, 1989). Metal content (HCl digestion) was determined by Xame photometry (Standard operating procedure manual, 1995) with a Perkin–Elmer A Analyst 300 atomic absorption spectrophotometer.

To evaluate the pretreatment, total organic carbon (TOC, g C/kg) and soluble total nitrogen (STN, g N/kg) were monitored over time and analyzed using a Shimadzu TOC-VCPH combustion/nondispersive infrared analyzer.

Additionally, the following parameters were determined in the effluents after each load of the anaerobic digesters: pH, TS (mg/kg), FS (mg/kg), VS (mg/kg), TOC (mg/L), N-NH₄⁺ (mg/L), alkalinity (Alk, mg CaCO₃/L), and volatile acidity (VA, mg CH₃COOH/L). All analyses were carried out in accordance with the Standard Methods of the APHA.

For the structural analysis of the raw material and the pretreated substrates, Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR) was used. The FTIR analysis of the samples was measured using a Perkin Elmer Spectrum Two™ instrument (Massachusetts, USA) equipped with an attenuated total reflectance (ATR) module. The spectra were recorded in a range of 4000 cm⁻¹ to 450 cm⁻¹ with a resolution of 4 cm⁻¹. Twenty scans were performed in the described range and the profile and structural changes in the solid fraction of the evaluated samples were obtained.

2.2. Substrates

To carry out this study, the remains of pepper plant (*Capsicum sp.*) and eggplant (*Solanum melongena*) harvested after one productive cycle were used as raw material. Due to the high demand for these plants, they are usually grown in greenhouses and produce a large amount of residues after harvesting. Greenhouses usually generate 25–37 of pepper plant residues and 25–44 tons of eggplant residues per hectare (Tolón and Lastra, 2010).

The pepper plant (PP) and eggplant (EP) residues were left to dry and then crushed to facilitate their homogenization and subsequent handling. The characterization of the raw materials corresponding to PP and EP is shown in Table 1.

Table 1. Physicochemical characterization of pepper plant and eggplant.

Characteristics	Pepper plant	Eggplant
Total Solids (g/kg)	983 ± 9	983 ± 5
Volatile Solids (g/kg)	869 ± 7	805 ± 13
Fixed Solids (g/kg)	114 ± 6	173 ± 9
Total Kjeldahl Nitrogen (g N/kg)	16.0 ± 0.1	18.0 ± 0.1
Total Phosphorus (g P/kg)	0.326 ± 0.001	0.378 ± 0.001
Total Chemical Oxygen Demand (g O₂/kg)	1,095 ± 50	905 ± 50
C/N	31.6 ± 0.7	26.0 ± 0.4
Cu (mg/L)	13.0 ± 0.5	9.0 ± 0.2
Ni (mg/L)	11.0 ± 0.2	6.0 ± 0.2
Zn (mg/L)	31.0 ± 0.3	43.0 ± 0.6
Pb (mg/L)	10.0 ± 0.6	4.0 ± 0.3
Cd (mg/L)	3.0 ± 0.6	3.0 ± 0.2
Cr (mg/L)	13.0 ± 0.2	6.0 ± 0.2

2.3. Experimental set up

2.3.1. Hydrothermal pretreatment

Hydrothermal pretreatment was carried out in closed bottles to avoid loss of water and volatile compounds by evaporation. Each bottle was fed with 15 g of PP or EP substrate and the samples were heat treated in an autoclave (Selecta P. Autester Mod. 437-G) working at 120°C and 2 atm. The autoclave was equipped with a time programming system to control the pretreatment time. The pretreatment times were fixed at 0, 10, 20, 30, 40, 60 and 70 min for both feedstocks.

2.3.2. Respirometry test

A respirometry test was performed to evaluate the aerobic biodegradability of both plants

with and without pretreatment.

The respirometer consisted of a thermostated bath and two 1-L Erlenmeyer flasks. The content of the flasks was magnetically stirred at 300 rpm and two oximeters monitored the oxygen content, which was maintained between 6.8–7.0 mg/L through the injection of compressed air. Oxygen concentration was measured and registered continuously by a data acquisition system (Chica et al., 2003) (Publication No. ES2283171 A1 of 16 October 2007) developed by the RNM-271 Engineering Chemical research group (2007).

The experiment was performed in duplicate, where microbiological activity is expressed as specific oxygen uptake rate (SOUR, kg O₂/kg TVS·s) and cumulative oxygen demand for twenty hours (OD₂₀, kg O₂/kg TVS).

2.3.3. Anaerobic digesters

The experimental set-up used for AD consisted of four 1-L Pyrex complete mixing digesters working under mesophilic conditions (35°C). The digesters were equipped with four connections to load feedstock, ventilate the biogas, inject inert gas (nitrogen) to maintain the anaerobic conditions and remove effluent. The content of the digesters was magnetically stirred and temperature was maintained by means of a thermostatic jacket containing water at 37°C. The volume of methane produced during the process was measured using 1-L Boyle-Mariotte reservoirs connected to each reactor. To remove the CO₂ produced during the process, tightly closed bubblers containing a NaOH solution (6 N) were connected between the two elements. The methane volume displaced an equal measurable volume of water from the reservoir, which was measured with a test tube. This volume was corrected in order to prevent the effect of water steam pressure and the measured methane was then expressed at standard temperature and pressure conditions (STP: 0°C and 1 atm).

2.3.3.1. Experimental procedure

In order to activate the biomass prior to the experiments, the digesters were first fed with a

synthetic solution composed of glucose, sodium acetate and lactic acid (GAL solution) at concentrations of 50 g/L, 25 g/L and 21 mL/L, respectively. During this initial period, the organic load added to the digesters was gradually increased from 0.50 to 1.00 g VS/L over a 15-day period. During this inoculation period, the volume of methane was measured as a function of time.

Once this preliminary inoculation step was completed, a series of mesophilic experiments were carried out using the PP and EP. The load added to the digesters was increased from 0.25 g VS/L to 1.00 g VS/L, with intervals of 0.25 g VS/L in each assay to allow the biomass adaptation to the substrates.

In a previous stage, the digesters were fed with untreated PP and EP to obtain the methane production yield of the substrates without pretreatment. Each load was carried out at least in triplicate for each of the four digesters with the pretreated substrate: two digesters were initially feed PP (RA) and another two were fed EP (RB). As shown in Table 2, the digesters were then fed a mixture of PP and EP in varying percentages. The results were expressed as mean value \pm standard deviation. Loads of 1.00 g VS/L were added to the digesters throughout the experimental process.

Table 2. Percentages of pepper plant and eggplant in the mixture.

RA	PP						RB
→	%	100	75	50	25	0	←
	EP						
	%	0	25	50	75	100	

During the experiment, the volume of methane was measured as a function of time and the samples were taken and analyzed before and after feeding. All the experiments, including start-up, biomass adaptation and waste treatment, were carried out over a 60-day period.

The anaerobic inoculum used in the experiment was obtained from the EMACSA La Golondrina Waste Water Treatment Plant located in Cordoba, Spain.

The characteristics of the inoculum were pH: 7.72 ± 0.01 , TS and VS: $23,575 \pm 255$ mg/kg and

10,277±382 mg/kg, respectively. The methanogenic activity of the inoculum was 59 mL_{STP}/g VS·h.

2.4. Software

Sigma-Plot software (version 11.0) was used to create the graphs, perform the statistical analysis (mean values and standard deviation) and fit the experimental data presented in this work.

3. Results and Discussion

3.1. Evaluation of hydrothermal pretreatment

To evaluate the hydrothermal pretreatment, the solubilization of carbon and nitrogen during the experiment time was considered. Figure 1 shows the variation in the TOC concentration with pretreatment time. As can be seen, TOC increased with time up to 40 minutes. After this time, no increases in TOC content were observed for either substrate, and the PP values remained above the corresponding EP values. As shown in the figure, the increase in the concentration of TOC in the PP after pretreatment led to an increase of 108 g TOC/kg with respect to the untreated substrate (a 100% increase). EP showed an increase of 82 g C/kg (68%), which was lower than the previous one. These values correspond to a pretreatment time of 40 minutes, since the solubilization of organic matter did not improve at higher times. Other authors have evaluated the solubilization of organic matter in algae through CODs and obtained the highest percentage of solubilization for hydrothermal pretreatment at 120°C for 30 minutes (Cho et al., 2013), although it depends on the characteristics of each substrate.

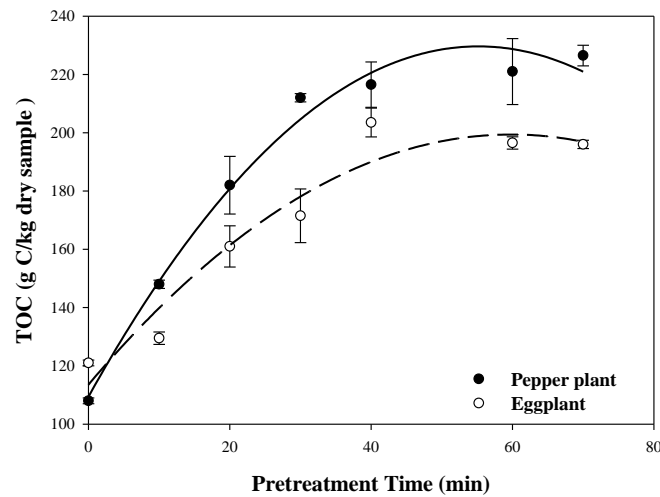


Figure 1. Variation in TOC concentration in the substrates at different pretreatment times.

Figure 2 shows the solubilization behavior of the soluble total nitrogen (STN), which is similar for both substrates. The solubilized nitrogen increased linearly with respect to the pretreatment time (PP $r^2=0.9670$ and EP $r^2=0.9395$). As can be seen in the figure, EP has a higher STN content than PP for the different pretreatment times. However, PP shows a larger increase in STN content than EP. Specifically, the STN increased by 56% and 27% with respect to the values for PP and EP without pretreatment, respectively. Both values are higher than the 22% obtained by Tampio et al. (2014) for pretreated food waste at 160°C. Given that AD can be carried out after the pretreatment, a high soluble nitrogen content is not recommended as it can inhibit the process (Chen et al., 2008). At adequate concentrations, however, soluble nitrogen is an essential nutrient for the proper development of the process.

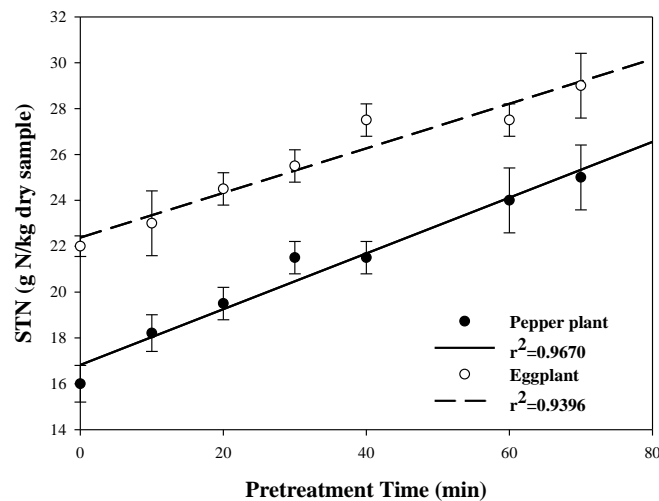


Figure 2. Variation in STN concentration in the substrates at different pretreatment times.

Figure 3 shows the linear relationship between the TOC and STN content in both substrates at the different pretreatment times. As can be seen, the relationship is better for EP. Moreover, almost all the data for both PP and EP are within a 99% confidence interval. Consequently, the increase in the carbon in the liquid fraction is proportional to the solubilization of the nitrogen, thus indicating that the hydrothermal pretreatment affects the entire substrate (Serrano et al., 2016).

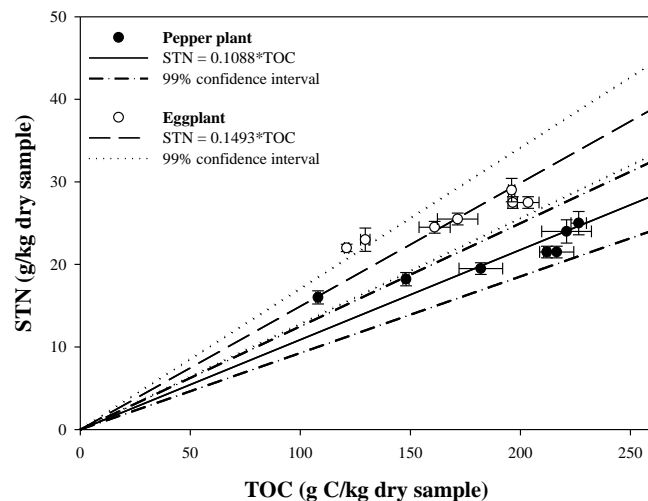


Figure 3. Variation in the concentration TOC with STN in pretreated pepper plant and eggplant

It is important to note that temperatures above 160°C promote the solubilization of the lignocellulosic biomass, but phenolic compounds also occur, which may have inhibitory and/or

toxic effects for the microbiological population (Pellera and Gidarakos, 2017; Hendriks et al., 2009; Gossett et al., 1982). However, given that the operating temperature was lower than 160°C, no undesirable compounds should be formed. Furthermore, a pH of between 4 and 7 prevents the degradation of sugars and the formation of inhibitors (Kumari and Singh, 2018). In this case, the pH after pretreatment ranged from 6.63 to 6.00 and from 7.00 to 6.02 pH units for EP and PP, respectively, corresponding to the raw material and the maximum pretreatment time.

Consequently, hydrothermal pretreatment is an efficient method for accelerating solubilization due to its effect on both the physicochemical properties and structural characteristics of PP and EP under the study conditions. It is important to note that the results of the pretreatment will depend on the substrate type, the pretreatment type and the operating conditions. Moreover, due to the complexity of lignocellulosic structures, the same pretreatment applied to different substrates will yield different results (Pellera and Giradakos, 2018).

3.2. Evaluation of structural changes

Following the application of the hydrothermal pretreatment, the possible structural changes in the substrates were evaluated at 40 minutes time. As can be seen in the FTIR spectra (Figure 4), there were no changes in the functional groups present in the EP and PP substrates after the pretreatment. This indicates that the soluble matter has the same chemical structure as the initial substrate.

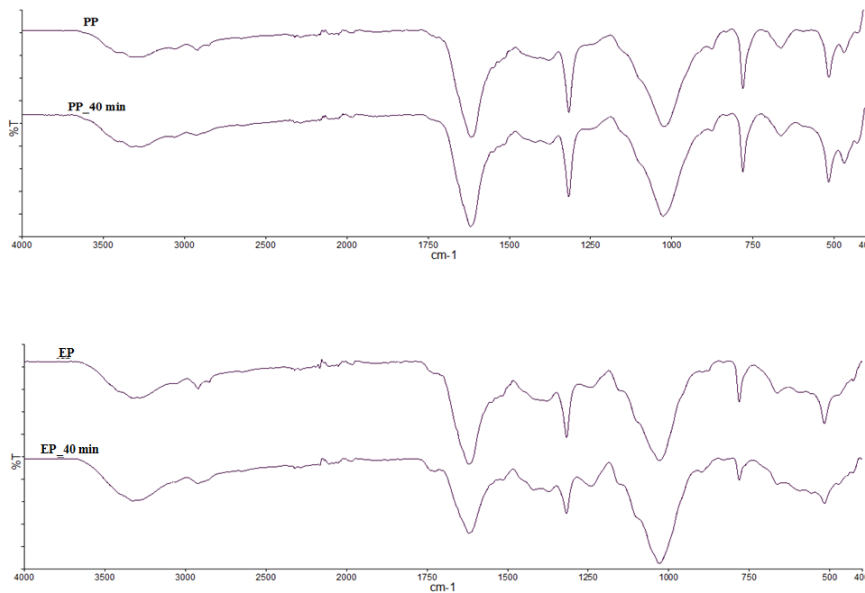


Figure 4. FTIR spectra of the substrate with and without pretreatment (400-4000 cm^{-1} wavelength). (A) PP and PP pretreatment (40 min), (B) EP and EP pretreatment (40 min).

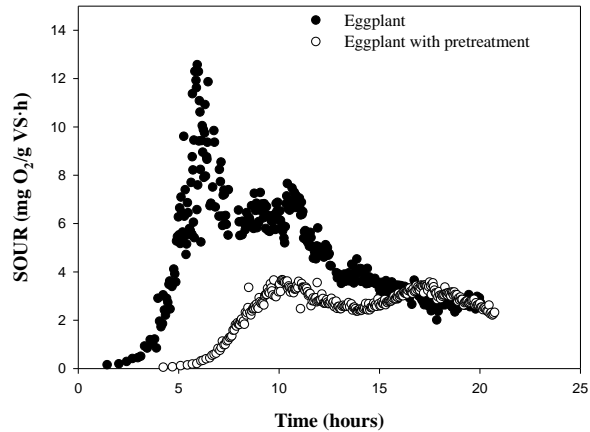
The large band at 1042 cm^{-1} is due to C–O, C–C stretching or C–OH bending in hemicelluloses (Xiao et al., 2001). The peaks corresponding to 1045 and 1270 cm^{-1} are usually related to the lignin content (Kaparaju and Felby, 2010). Kaparaju and Felby (2010) applied hydrothermal pretreatment at temperatures above 165°C to wheat straw and corn stover and found variations in the profiles.

3.3. Biodegradability test

The oxygen consumption rate in the microbial degradation of the organic matter in the sample (dissolved or suspended) can be evaluated by aerobic biodegradability provided that solubilization and/or hydrolysis occurs within 20 hours under the experimental conditions. The determination of oxygen consumption is useful for evaluating the substrate biodegradability. Figure 5 shows the results of the biodegradability test for EP and PP when applying a hydrothermal pretreatment time of 40 minutes and without pretreatment. As shown in the figure, the oxygen consumption rate increases until reaching a maximum value (SOUR_{max}) and then decreases due to a reduction in the biodegradable organic matter available in the mixing liquor. As can be seen, the

maximum SOUR value differs for each sample. The maximum SOUR values for each sample are shown in Table 3.

A)



B)

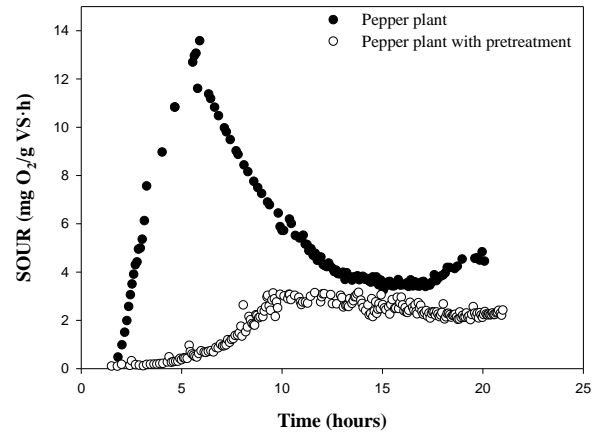


Figure 5. Aerobic biodegradability (A) eggplant, (B) pepper plant

Table 3. Respirometric variables: SOURmax and OD₂₀.

		SOURmax (mg O ₂ /(g VS·h))	OD ₂₀ (mg O ₂ /g VS)
Eggplant	Without pretreatment	12	78
	Hydrothermal pretreatment (40 min)	4	37
Pepper plant	Without pretreatment	13	111
	Hydrothermal pretreatment (40 min)	3	20

The SOURmax value for both substrates corresponds to the samples without pretreatment, thus indicating higher microbiological activity. In addition, the OD₂₀ value is a variable proportional to the biodegradability of the evaluated sample. These values are also shown in Table 3, where it is shown that the highest OD₂₀ corresponds to both substrates without pretreatment. This behavior may be due to the fact that the pretreatment sanitizes the substrate by inhibiting its microbial population and the biodegradability test therefore indicates lower values in these cases. It should be noted that in this type of test, inoculation with microorganisms is not carried out as in the

case of biological oxygen demand (BOD). The BOD test indicates that both substrates are biodegradable under aerobic conditions and are therefore susceptible to anaerobic conditions. Several authors have observed a correlation between aerobic and anaerobic biodegradability in wastes of different kinds, as well as lignocellulosic and other substrates from meat industry waste (Liu et al., 2015, Buendía et al., 2008).

3.4. Evaluation of anaerobic digestion

3.4.1. Monitoring parameters and stability

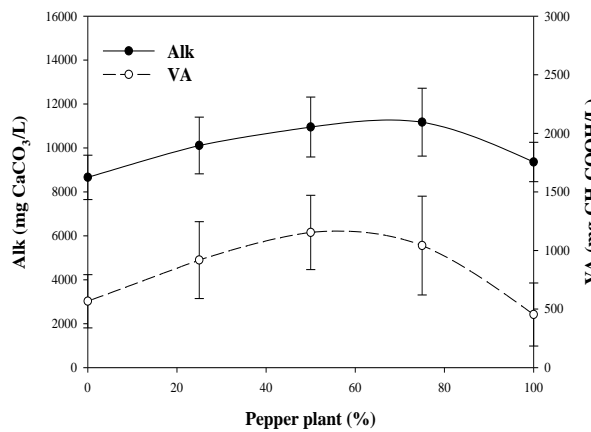
Following the evaluation of the hydrothermal pretreatment conditions, the AD of PP and EP with a 40-minute hydrothermal pretreatment was evaluated.

The stability of the anaerobic process is a crucial factor in achieving the appropriate energy recovery of the pretreated substrate given that process destabilization can easily occur. AD stability was evaluated according to the evolution of the pH, alkalinity and volatile acidity during the AD of the pretreated PP and EP.

The pH was approximately constant throughout the experiments, with an average value of 8.15 ± 0.06 . This value was slightly higher than the value recommended in the literature for AD (Fanin 1987; Weathley, 1990). Figure 6A shows the alkalinity values reached for each percentage of the substrates in the mixture. The lowest alkalinity values coincide with the loads of the individual substrates, and reach a maximum value for the mixture with 50% of each substrate. The observed trend coincides with the evolution of VA. Although the alkalinity values are high, they are compensated by the VA content as the VA/Alk ratio was less than 0.1 throughout the experimental process, which is indicative of a stable process (Balaguer et al, 1992).

As can be observed in Figure 6B, Alk and VA have a linear relationship (r^2 of 0.8157). The values obtained during the AD process are within $\pm 10\%$, which is consistent with the VA/Alk ratio indicated above.

A)



B)

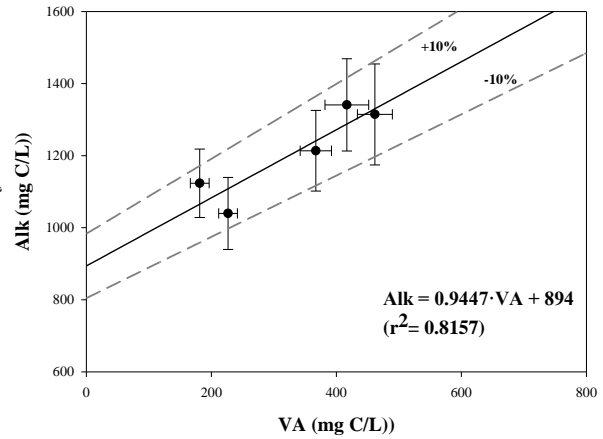


Figure 6. (A) Variation in VA and Alk during anaerobic codigestion, (B) relationship between VA and Alk during anaerobic co-digestion.

In addition, it is important to monitor the free ammonia concentration as it is one of the main inhibitors of AD (Borowsk et al, 2014; Chen et al., 2008). As regards the evolution of the soluble nitrogen content in the mixing liquor of the digesters during co-digestion, 78% of the TSN content is in ammoniacal form (Figure 7). The nitrogen content is in the range 377 ± 35 to 711 ± 69 mg N/L and does not exceed the values indicated in the literature as inhibitory (Chen et al., 2008).

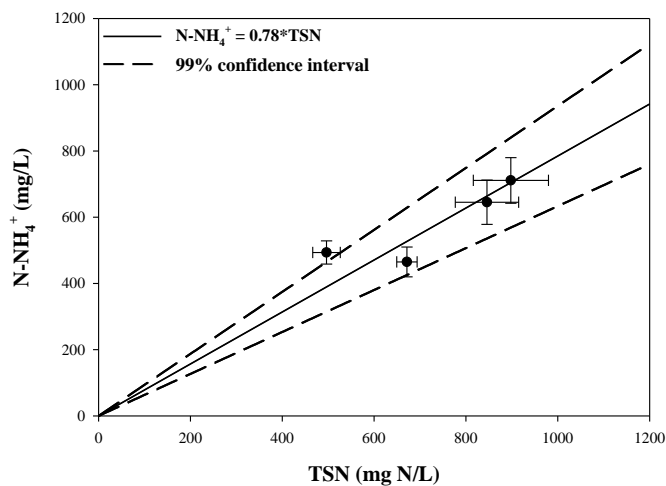


Figure 7. Relationship between the concentration of TSN and N-NH₄⁺ values during the hydrothermal pretreatment of pepper and eggplant.

On the other hand, ammoniacal nitrogen content, temperature and pH are factors that determine the formation of free ammonia. This form of nitrogen is considered to be responsible for ammonia inhibition (Angelidaki and Ahring, 1993). Figure 8 shows the free ammonia content during the anaerobic co-digestion process, which was calculated according to the process described in the literature (Siles et al., 2010; Østergaard, 1985). The free ammonia values remained constant from 54 ± 15 to 104 ± 42 mg N/L, with the lowest values observed for loads of 50% of each substrate in the mixture and the highest values at 100% of each substrate, which coincides with the behavior of ammoniacal nitrogen. Therefore, the observed values were not high and did not exceed the values indicated in the literature as inhibitors of the process (Rajagopal et al., 2013; Siles et al., 2010; Chen et al., 2008; Angelidaki and Ahring, 1993). Given that the lowest values were obtained for the loads corresponding to 50% of each substrate (PP:EP, 50:50), this percentage of residue in the mixture could be suitable for combined treatment under the experimental conditions.

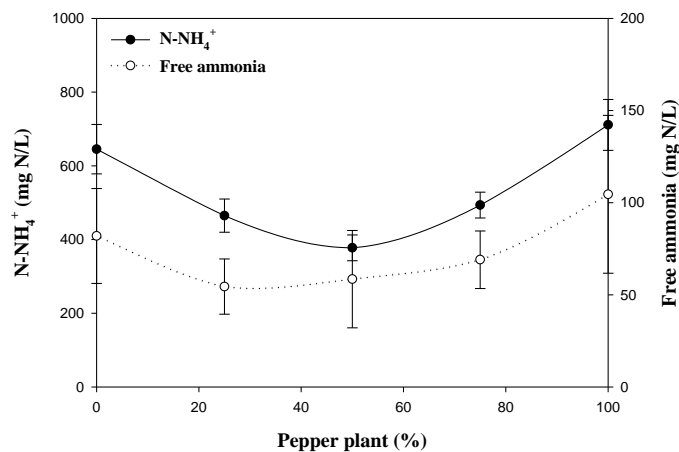


Figure 8. Variation in $N-NH_4^+$ and free ammonia in the mixing liquor of the digesters fed with different percentages of pretreated substrates.

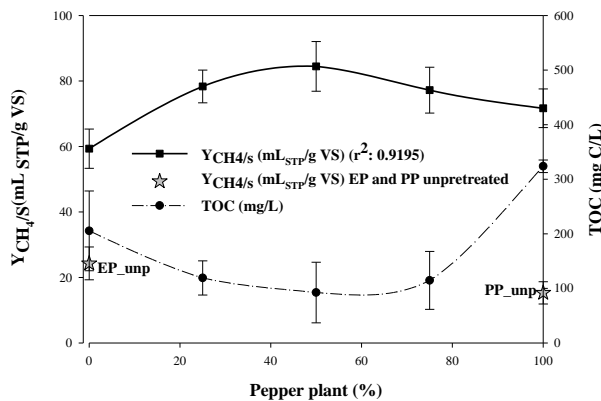
3.4.2. Methane yield coefficient and solubilization of organic matter

In order to evaluate methane production during the process, the production yield of the PP and EP substrates without pretreatment was taken as a reference. Figure 9A shows the reference values for the untreated substrates (24 and 15 mL_{STP}/g VS for EP and PP, respectively), which were

always lower than the values for the pretreated substrates. The methane yield was 2.4 times higher for the pretreated EP and 4.7 times higher for the pretreated PP. These results are higher than those obtained by Pecorini et al. (2016) in their study on urban organic waste with different lignocellulosic content at 134°C. Other studies have reported that temperatures above 100°C decrease methane production due to the alteration of the chemical composition of the substrate (Fernández-Cegrí et al., 2012). Pellerá and Gidarakos (2017) observed an improvement in methane production in only one pretreated substrate (orange peel, 150°C) with respect to the untreated substrate. Chandra et al (2012) obtained 222% more methane from rice straw treated at 200°C for 10 minutes compared to untreated rice straw, and Cho et al (2013) obtained 1.2 times more methane after hydrothermal pretreatment (120°C, 30 minutes) of algae.

As can be seen in Table 2, the methane production yield also varies depending on the percentage of the pretreated substrates in the mixture to be co-digested (Table 2). An optimum yield is obtained when the mixture contains 50% of each pretreated substrate, which corresponds to a value of $84.5 \pm 7.6 \text{ mL}_{\text{STP}} \text{ CH}_4/\text{g VS}$. Therefore, co-digestion of the pretreated substrates increases the methane yield with respect to the individual substrates with and without pretreatment. The results obtained for the production yield are consistent with those obtained for TOC in the mixing liquor. As can be seen in Figure 8, lower TOC values coincide with higher methane production values due mainly to the transformation of solubilized and biodegradable organic matter into biogas. Figure 9B shows the TOC content of the substrates with and without pretreatment in relation to the methane production of each. As can be seen, there is a linear correlation ($r^2 = 0.9928$) between the TOC content of each substrate and higher methane production. This linearity is similar to that obtained by Pecorini et al. (2016) for the production of methane and CODs in the treatment of lignocellulosic substrates. Moreover, as can be observed in the figure, the production of CH_4 increased by 144% and 393% in the treated EP and PP, respectively. As regards TOC, the increase was 68% and 151% for the treated EP and PP, respectively.

A)



B)

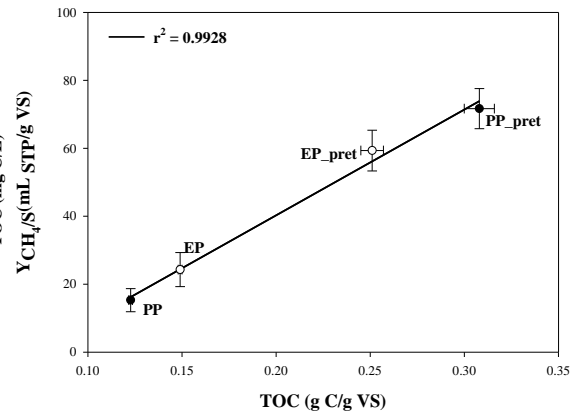


Figure 9. (A) Mean values and standard deviation of TOC and methane yield coefficient ($Y_{CH_4/S}$) determined for the different anaerobic digestion assays, (B) correlation between the release of TOC and methane yield coefficient ($Y_{CH_4/S}$)

In addition to the production of methane, once the AD process is completed, a digestate is obtained. This digestate consists of new biomass generated during the process and the fraction of the non-biodegraded substrate. The digestate can be used as an organic amendment in agriculture, as it is considered biologically stable and partially sanitized (Tambone et al., 2009). The elemental analysis of the digestate showed that the C/N ratio was 14 ± 3 , and it could therefore be suitable for use as compost, since the digestate must have a C/N ratio of less than 20 (Moreno and Moral, 2007). Furthermore, it might be possible to recover these nutrients for use in agricultural systems through composting. This would result in a decreased dependence on chemical fertilizers and the increased durability of the nutrients cycling (Paudel et al., 2006) with the consequent economic and environmental benefits (Koroneos and Nanaki, 2012).

4. Conclusions

This study evaluated the influence of hydrothermal pretreatment at 120°C and different times on the solubilization and the degradability of two solid agricultural wastes, pepper plant and eggplant. The evaluation showed that the most adequate pretreatment time was 40 minutes for both substrates (EP and PP).

Moreover, the combination of a hydrothermal pretreatment and co-digestion of pepper plant with eggplant showed a positive synergy for methane production and stability. A maximum value of 84.5 ± 7.6 mL CH_4 STP/g VS was reached for a 50:50 mixture of PP and EP, which entailed an improvement in the results obtained for each of the substrates individually. The application of a pretreatment and the co-digestion of these substrates is of interest provided that these treatments are energetically viable, in which case an evaluation of the entire process would be required.

Nomenclature

Alk alkalinity (mg CaCO_3 /L)

EP eggplant

FS fixed solids (mg/L; g/kg)

LB lignocellulosic biomass

N- NH_4^+ ammonical nitrogen (g/L; g/kg)

PP pepper plant

STN soluble total nitrogen (g N/kg)

STP standard temperature and pressure conditions (0°C and 1 atm).

TCOD total chemical oxygen demand (mg O_2 /kg)

TKN total Kjeldhal nitrogen (mg/kg)

TOC total organic carbon (g C/kg)

TP total phosphorus (mg/kg)

TS total solids (mg/L; g/kg)

VA volatile acidity (mg acetic acid CH_3COOH /L)

VS total volatile solids (mg/L; g; g/kg)

Y_{CH_4} methane yield coefficient (mL CH₄/g VS)

Acknowledgements

The authors are very grateful to the Spanish Ministry of Economy, Industry and Competitiveness (Project CTM2017-88723-R) and the Ministry of Education, Culture and Sport (Grant FPU2013). We also wish to express our gratitude to Inmaculada Bellido and María Luisa López for their contribution to this research.

References

- Angelidaki, I., Ahring, B.K., 1993. Thermophilic anaerobic digestion of livestock waste: the effect of ammonia. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 38, 560-564.
- Anjum, M., Khalid, A., Mahmood, T., Aziz, I., 2016. Anaerobic co-digestion of catering waste with partially pretreated lignocellulosic crop residues. *Journal of Cleaner Production*. 117, 56-63.
- APHA (American Public Health Association), 1989. *Standard Methods for the*
- Balaguer, M.D., Vicent, M.T., Paris, J.M., 1992. Anaerobic fluidized bed reactor with sepiolite as support for anaerobic treatment of vinasses. *Biotechnol. Lett.* 14, 433-438.
- Batstone, D., Keller, J., Angelidaki, I., Kalyuzhnyi, S., Pavlostathis, S., Rozzi, A., Sanders, W., Siegrist, H., Vavilin, V., 2002. Anaerobic digestion model no. 1 (ADM1), IWA Task Group for Mathematical Modelling of Anaerobic Digestion Processes, vol. 41, IWA Publishing, London, pp. 4085–4096.
- Borowski, S., Domanski, J., Weatherley, L., 2014. Anaerobic co-digestion of swine and poultry manure with municipal sewage sludge. *Waste Manage.* 34, 513-521.
- Bougrier, C., Delgenes, J.P., Carrere, H., 2008. Effects of thermal treatments on five different waste activated sludge samples solubilisation, physical properties and anaerobic digestion. *Chemical Engineering Journal*. 139, 236–244.

- Buendía, I.M., Fernández, F.J., Villaseñor, J., Rodríguez, L., 2008. Biodegradability of meat industry wastes under anaerobic and aerobic conditions. *Water Research*. 42 (14), 3767-3774.
- Carrere, H., Dumas, C., Battimelli, A., Batstone, D.J., Delgenes, J.P., Steyer, J.P., Ferrer, I., 2010. Pretreatment methods to improve sludge anaerobic degradability: a review. *J. Hazard. Mater.* 183, 1–15.
- Chandra, R., Takeuchi, H., Hasegawa, T., 2012. Hydrothermal pretreatment of rice straw biomass: A potential and promising method for enhanced methane production, *Applied Energy*. 94, 129-140.
- Chen, Y., Cheng, J.J., Creamer, K.S., 2008. Inhibition of anaerobic digestion process: A review. *Bioresource Technology*. 99: 4044-4064.
- Chica, A.F., Mohedo, J.J., Martín, M.A., Martín, A., 2003. Determination of the stability of MSW compost using a respirometric technique. *Compost Science and Utilization*. 12, 119-129.
- Cho, S., Park, S., Seon, J., Yu, J., Lee, T., 2013. Evaluation of thermal, ultrasonic and alkali pretreatments on mixed-microalgal biomass to enhance anaerobic methane production. *Bioresource Technology*. 143, 330-336.
- Deublein, DSA, 2008. *Biogas from Waste and Renewable Resources - an Introduction*. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co KGaA;
- Fannin, K.F. 1987. Start-up, operation, stability, and control, *Anaerobic Digestion of Biomass*, pp. 171-196.
- Fernández-Cegrí, V., De la Rubia, M.A., Raposo, F., Borja, R., 2012. Effect of hydrothermal pretreatment of sunflower oil cake on biomethane potential focusing on fibre composition, *Bioresource. Technology*. 123, 424–429.
- Georgacakis, D., Sievers, D.M., Iannotti, E.L., 1982. Buffer stability in manure digesters.

- Agriculture Wastes. 4, 427-441.
- Gossett, J.M., Stuckey, D.C., Owen, W.F., McCarty, P.L., 1982. Heat treatment and anerobic digestion of refuse. *Journal of Environmental Engineering Division*. 108, 437-454.
- Grupo de investigación RNM-271 Ingeniería química, 2007. Universidad de Córdoba. Patente de un Respirómetro automatizado en Fase Líquida; P2004-02908. Publication No. ES2283171 A1.
- Gu, Y., Zhang, Y., Zhou, X., 2015. Effect of Ca (OH) (2) pretreatment on extruded rice straw anaerobic digestion. *Bioresource Technology*. 196, 116–122.
- Hendriks, A.T., Zeeman, G., 2009. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*. 100, 10–18.
- J. Moreno, R. Moral, J.L. García-Morales, J.A. Pascual y M.P. Bernal. 2015. Residuos orgánicos y agricultura intensiva. Red española de compostaje. Mundi Prensa.
- Kaparaju, P., Felby, C., 2010. Characterization of lignin during oxidative and hydrothermal pretreatment processes of wheat straw and corn stover. *Bioresource Technology*. 101, 3175–3181
- Kim, Y., Kreke, T., Ko, J.K., Ladisch, M.R., 2015. Hydrolysis-determining substrate characteristics in liquid hot water pretreated hardwood. *Biotechnology Bioengineering*. 112, 677–687.
- Koroneos, C.J., Nanaki, E.A., 2012. Integrated solid waste management and energy production e a life cycle assessment approach: the case study of the city of Thessaloniki. *Journal Cleaner Production*. 27, 141-150
- Kumari, D., Singh, R., 2018. Pretreatment of lignocellulosic wastes for biofuel production: a critical review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 90, 877-891.
- Li, W., Guo, J., Cheng, H., Wang, W., Dong, R., 2017. Two-phase anaerobic digestion of municipal solid wastes enhanced by hydrothermal pretreatment: Viability, performance and microbial community evaluation. *Applied Energy*. 189, 613-622.

- Lim, J.W., Jing-Yuan Wang, 2013. Enhanced hydrolysis and methane yield by applying microaeration pretreatment to the anaerobic co-digestion of brown water and food waste. *Waste Management*. 33 (4), 813-819.
- Liu, X., Bayard, R., Benbelkacem, H., Buffière, P., Gourdon, R., 2015. Evaluation of the correlations between biodegradability of lignocellulosic feedstocks in anaerobic digestion process and their biochemical characteristics. *Biomass and Bioenergy*. 81, 534-543.
- Monlau, F., Sambusiti, C., Barakat, A., Quéméneur, M., Trably, E., Steyer, J.P., Carrère, H., 2014. Do furanic and phenolic compounds of lignocellulosic and algae biomass hydrolyzates inhibit anaerobic mixed cultures? A comprehensive review. *Biotechnology Advances*. 32, 934–951.
- Moreno, J, Moral, R., 2008. *Compostaje*. Ediciones Mundi prensa. España. pp 102
- Mosier, N., Wyman, C., Dale, B., Elander, R., Lee, Y.Y., Holtzapple, M., Ladisch, M., 2005. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*. 96, 673–686.
- Nissila, M.E., Lay, C-H., Puhakka, J.A., 2014. Dark fermentative hydrogen production from lignocellulosic hydrolyzates-A review. *Biomass Bioenergy* 67, 147–159.
- Østergaard, N., 1985. *Biogasproduktion i det thermofile temperaturinterval*. STUB rapport nr. 21. Kemiteknik Dansk Teknologisk Institut, Taastrup.
- Patrisia de Oliveira, R., Vieira dos Santos, B., Costaa, L., Alves, M., Pasquinib, D., Alves, M., 2017. Xylanase and glucosidase production by *Aspergillus fumigatus* using commercial and lignocellulosic substrates submitted to chemical pre-treatments. *Industrial Crops and Products*. 95, 453-459.
- Paudel, K.P., Lohr, L., Cabrera, M., 2006. Residue management systems and their implications for production efficiency. *Renewable Agriculture and Food Systems*. 21, 124-133.

- Pecorini, I., Baldi, F., Carnevale, E.A., Corti, A., 2016. Biochemical methane potential tests of different autoclaved and microwaved lignocellulosic organic fractions of municipal solid waste. *Waste Management*. 56, 143-150.
- Pellera, F-M, Gidarakos, E., 2017. Microwave pretreatment of lignocellulosic agroindustrial waste for methane production. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 5, 352–365
- Pellera, F-M, Gidarakos, E., 2018. Chemical pretreatment of lignocellulosic agroindustrial waste for methane production. *Waste management*. 71, 689-703
- Puyuelo, B., Ponsá, S., Gea, T., Sánchez, A., 2011. Determining C/N ratios for typical organic wastes using biodegradable fractions. *Chemosphere*. 85 (4), 653e659.
- Rajagopal, R., Massè, D.I., Singh, G., 2013. A critical review on inhibition of anaerobic digestion process by excess ammonia. *Bioresource Technology*. 143, 632-641.
- Romano, R., Zhang, R., Teter, S., McGarvey, J.A., 2009. The effect of enzyme addition on anaerobic digestion of Jose Tall Wheat Grass. *Bioresource Technology*. 100(20), 4564-4571.
- Serrano, A., Siles, J.A., Martín, M.A., Chica, A.F., Estévez-Pastor, F.S., Toro-Baptista, E., 2016. Improvement of anaerobic digestion of sewage sludge through. *Journal of Environmental Management*. 177, 231-239.
- Siles, J.A., Brekelmans, J., Martín, M.A., Chica, A.F., Martín, A., 2010. Impact of ammonia and sulphate concentration on thermophilic anaerobic digestion. *Bioresource Technology*. 101, 9040-9048.
- Standard operating procedure manual. Edmonton: Soil and Crop Diagnostic center, Alberta Agriculture, Food and Rural Development; 1995.
- Sun, S.-L., Sun, S.-N., Wen, J.-L., Zhang, X.-M., Peng, F., Sun, R.-C., 2015. Assessment of integrated process based on hydrothermal and alkaline treatments for enzymatic saccharification

- of sweet sorghum stems. *Bioresource. Technology.* 175, 473–479.
- Tambone, F., Genevini, P., D'Imposano, G., Adani, F., 2009. Assessing amendment properties of digestate by studying the organic matter composition and the degree of biological stability during the anaerobic digestion of the organic fraction of MSW. *Bioresource Technology.* 100, 3140-3142.
- Tampio, E., Ervasti, S., Paavola, T., Heaven, S., Banks, C., Rintala, J., 2014. Anaerobic digestion of autoclaved and untreated food waste. *Waste Management.* 34, 370-377.
- Tanaka, S., Kobayashi, T., Kamiyama, K.I., Bildan, L.N., 1997. Effects of thermochemical pretreatment on the anaerobic digestion of waste activated sludge. *Water Science and Technology.* 35, 209–215.
- Tolón, A., LASTRA, X., 2010. La agricultura intensiva del poniente almeriense. Diagnóstico e instrumentos de gestión ambiental. M+A. *Revista Electrónica de Medioambiente, Norteamérica,* <http://revistas.ucm.es/index.php/MARE/article/view/MARE1010120018A/15042>
- Wheatley, A., 1990. *Anaerobic Digestion: a Waste Treatment Technology.*
- Xiao, B., Sun, X.F., Sun, R-C., 2001. Chemical, structural, and thermal characterizations of alkali-soluble lignins and hemicelluloses, and cellulose from maize stems, rye straw, and rice straw. *Polymer Degradation and Stability,* 74 (2), 307-319.
- Zhou, X., Li, Q., Zhang, Y., Gu, Y., 2016. Effect of hydrothermal pretreatment on *Miscanthus* anaerobic digestion. *Bioresource Technology.* 224, 721-726.

Conclusiones/Conclusions



Conclusiones

El trabajo de investigación realizado durante el desarrollo de esta Tesis Doctoral permite formular las siguientes conclusiones globales:

La valorización energética mediante biometanización de materia orgánica residual o de escaso valor en el mercado es muy dependiente de la composición y características de ésta. La digestión anaerobia individual frente a la co-digestión (o digestión conjunta) ha puesto de manifiesto la posibilidad de evaluar diversas mezclas de sustancias para incrementar la producción de metano y su biodegradabilidad. Independientemente de que la zona geográfica y estacionalidad condicionen las posibles combinaciones de residuos, la utilización de balances de materia y programas estadísticos como herramientas de predicción de las características más adecuadas para la mezcla influente al proceso de biometanización, constituye un nuevo inicio, o punto de partida, en el campo de la co-digestión anaerobia, ya que hasta la fecha se primaba el deshacerse de los residuos frente a la optimización de la recuperación energética (**Gil et al.**, 2018. Multivariate analysis and biodegradability test to evaluate different organic wastes for biological processes. *Waste Management*, 78, 819-828; **Gil et al.**, 2017. Optimizing the selection of organic waste for biomethanization. *Environmental Technology (In press)*).

Aunque en la bibliografía está ampliamente descrito el efecto de la acumulación de nitrógeno sobre el proceso de digestión anaerobia, sobre todo en relación al tratamiento de aguas residuales, en esta Tesis Doctoral se ha demostrado que es posible la acumulación conjunta de nitrógeno y fósforo a niveles significativamente elevados, reduciendo el efecto inhibitorio individual de cada uno de ellos sobre la producción de metano. El mantenimiento de la proporción de carbono, nitrógeno y fósforo, en forma biodisponible, disminuye los efectos adversos sobre dicho proceso microbiano, siempre respecto de la acumulación de un único nutriente tratar (**Gil et al.**, 2018. Effect of variation in the C/[N+P] ratio on anaerobic digestion. *Environmental Progress & Sustainable Energy (In press)*).

En el marco de los biocombustibles gaseosos, y teniendo en cuenta la necesidad de que los procesos sean sostenibles en sus tres vertientes: social, económica y ambiental, el empleo de un residuo con un alto volumen de generación y presente en prácticamente todas las áreas geográficas desarrolladas, hace de las plantas centralizadas de digestión anaerobia una solución interesante. Dentro de la amplia variedad de residuos biodegradables existentes, los lodos de depuradora se generan en todas las áreas próximas a núcleos urbanos en las plantas de tratamiento de las aguas residuales, aunque estos presentan una baja biodegradabilidad. La aplicación de un pretratamiento mejora su gestión y valorización energética mediante biometanización, incrementando su rendimiento en términos energéticos y de cinética de transformación. Este hecho tiene su mayor aplicabilidad en zonas con marcados incrementos estacionales de población, plantas donde ha quedado infradimensionado el digester para el tratamiento de lodos o, simplemente, para facilitar su co-digestión con otros.

En esta Tesis Doctoral se ha incluido el pretratamiento como una de las prometedoras tecnologías de aplicación energética para la solubilización de materia carbonosa. Se ha demostrado que independientemente que el pretratamiento afecte de forma paralela a la solubilización del C y N, las características de partida del lodo también condicionan su posterior biodegradación anaerobia. La centrifugación, proceso habitual para el concentrado y posterior transporte del lodo, afecta negativamente a las características de éste, en el caso de que se pretrate mediante microondas residuos (**Gil et al.** Effect of microwave pretreatment on centrifuged and floated sewage sludge derived from WWTP. *Renewable Energy (Under review)*). La elevada concentración de acidez generada llega a afectar al proceso de biometanización de forma tan significativa que invierte las posibles ventajas del mismo. El pretratamiento del lodo flotado mediante microondas (700 J/s, 63 s) ha permitido mejorar un 20% el rendimiento en la producción de metano, respecto al lodo sin pretratar (**Gil et al.**, 2018. Effect of microwave pretreatment on semi-continuous anaerobic digestion of sewage sludge. *Renewable Energy*, 115, 917-925).

Por otro lado, uno de los pilares de la sociedad actual es la agricultura, ya sea por ser base de la alimentación como por ser una de las mayores fuentes sumidero de recursos y generadora de residuos. En la actualidad, y dentro del concepto de economía circular, conseguir reutilizar los residuos agronómicos, devolviendo al entorno económico energía y agua, así como recursos al suelo, es un horizonte verdaderamente prometedor. Dado que el cultivo en invernadero es de carácter intensivo, acorde a la actual demanda de productos agrícolas, han proliferado zonas geográficas con gran problemática asociada a la generación de residuos. La co-digestión de excedentes de tomate y pepino (55-75% de tomate en la mezcla) ha permitido alcanzar un rendimiento en metano de 292 NmL CH₄/g SV (Gil et al., 2015. Mixture optimization of anaerobic co-digestion of tomato and cucumber waste. *Environmental Technology*, 36, 2628-2636). La posibilidad de gestionar adecuadamente este tipo de residuos vegetales es necesaria, pero también hay que tener en cuenta la baja o lenta biodegradabilidad de algunas de las fracciones que constituyen los residuos vegetales por su contenido lignocelulósico, por lo que también se ha planteado la aplicación de un pretratamiento, hidrotérmico en este caso, para facilitar su biometanización, mejorando el rendimiento en la producción de metano para diferentes restos lignocelulósicos (plantas de tomate, pimiento y berenjena), concluyéndose que la digestión y/o codigestión anaerobia es capaz de valorizar también excedentes de producción de la agricultura con gran éxito (Gil et al. Effect of microwave pretreatment on centrifuged and floated sewage sludge derived from WWTP. *Renewable Energy (Under review)*; Gil et al., 2018. Effect of microwave pretreatment on semi-continuous anaerobic digestion of sewage sludge. *Renewable Energy*, 115, 917-925). Además, la fracción digerida y estabilizada (agua y materia en suspensión) es una fuente de nutrientes de nuevo para el suelo y una forma de que se mantengan los recursos (agua, nitrógeno, fósforo, carbono, etc.) en la propia zona de explotación.

Conclusions

After carrying out the research work included in this Doctoral Thesis, the following global conclusions have been formulated:

The energy recovery through biomethanization of residual or low value organic matter is markedly dependent on its composition and characteristics. The comparison between individual anaerobic digestion and co-digestion (or joint digestion) has shown the possibility of evaluating several mixtures of substrates to optimize methane production and biodegradability. Regardless of the fact that the geographical area and seasonality might determine the possible combinations of residual substrates to be carried out, the use of mass balances and statistical softwares as useful tools to predict the most suitable characteristics for the mixture to be digested constitutes a new starting point in the field of anaerobic co-digestion. So far, the priority has focused on getting rid of waste instead of optimizing energy recovery (Gil et al., 2018. Multivariate analysis and biodegradability test to evaluate different organic wastes for biological processes. *Waste Management*, 78, 819-828; Gil et al., 2017. Optimizing the selection of organic waste for biomethanization. *Environmental Technology (In press)*).

Although the effect of nitrogen accumulation on the anaerobic digesters is widely described in the literature, especially in relation to wastewater treatment, this PhD Thesis has demonstrated that the joint accumulation of nitrogen and phosphorus inside anaerobic digestion at markedly high levels is possible. In fact, the individual inhibitory effect of each element on methane production can be reduced. The maintenance of the proportion among carbon, nitrogen and phosphorus, in bioavailable form, diminishes the adverse effects on the anaerobic process in comparison to the accumulation of single nutrients (Gil et al., 2018. Effect of variation in the C/[N+P] ratio on anaerobic digestion. *Environmental Progress & Sustainable Energy (In press)*).

Within the framework of gaseous biofuels, and taking into account the need for seeking sustainable processes in its three aspects: social, economic and environmental, the use of waste with

high volume of generation and present in practically all developed geographical areas, makes the centralized biomethanization plants an interesting option. Among the wide variety of biodegradable waste, sewage sludge is generated in all urban wastewater treatment plants, although its anaerobic biodegradability is markedly low. The application of a pre-treatment might improve the management of sewage sludge and energy recovery through biomethanization, by increasing the process yield and transformation kinetics. This combined treatment might have wider applicability in areas with seasonal increases of population, in sludge treatment plants with undersized digesters or, simply, to facilitate co-digestion with another waste.

Pretreatment has been evaluated in this PhD Thesis as one of the most promising energy technologies to solubilize carbonaceous matter. It has been shown that regardless of whether the pretreatment affects to the parallel solubilization of C and N, the initial characteristics of sewage sludge also condition its subsequent anaerobic biodegradation. Centrifugation, which is a process usually implemented for the concentration and subsequent transport of sewage sludge, affects negatively the characteristics of such waste in case subsequent microwaving is also applied (**Gil et al.** Effect of microwave pretreatment on centrifuged and floated sewage sludge derived from WWTP. *Renewable Energy*, (*Under review*)). The generation of high acidity concentration affects the biomethanization process in such a negative way that its advantages become reversed. Microwaving floated sludge at 700 J/s for 63 s improved the methane production yield by 20% in comparison with the results obtained for raw sewage sludge (**Gil et al.**, 2018. Effect of microwave pretreatment on semi-continuous anaerobic digestion of sewage sludge. *Renewable Energy*, 115, 917-925).

On the other hand, one of the pillars of current society is agriculture, either because it is the basis for producing food or because it is one of the biggest sources of natural resources and waste generation. Within the concept of circular economy, reusing agronomic waste and returning energy to the economic environment and water, and resources to soils can be considered a markedly

interesting horizon. Given that greenhouse cultivation is intensive due to the current demand for agricultural products, geographical areas with significant waste disposal problems have spread specially in the most developed countries. In this context, anaerobic co-digestion of tomato and cucumber surplus (55-75% tomato in the waste mixture) allowed a methane yield as high as 292 NmL CH₄/g VS (Gil et al., 2015. Mixture optimization of anaerobic co-digestion of tomato and cucumber waste. *Environmental Technology*, 36, 2628-2636). Although managing adequately this type of waste is necessary, the low or slow biodegradability of plant residues due to their lignocellulosic content should be taken into account. Consequently, the application of a hydrothermal pretreatment has been proposed to facilitate the biomethanization of several lignocellulosic wastes (plant residues derived from tomato, pepper and eggplant cultivation) and to improve the methane yield coefficient. Anaerobic digestion and co-digestion have been found to be successfully capable of valorizing surplus agricultural production (Gil et al. Evaluation of physicochemical pretreatment of tomato plant for anaerobic digestion. *Waste Management (Under review)*); Hamraoui et al. Evaluation of hydrothermal pretreatment for biological treatment of lignocellulosic feedstock (pepper plant and eggplant). *Waste Management (Under review)*). In addition, the digested and stabilized fraction (containing water and suspended matter) is a source of nutrients for soils and an interesting way to maintain resources (water, nitrogen, phosphorus, carbon, etc.) in the cultivation area itself.

**PRODUCCIÓN CIENTÍFICA DE LA TESIS DOCTORAL/SCIENTIFIC
PRODUCTION OF THE PhD THESIS**

ARTÍCULOS DE INVESTIGACIÓN/RESEARCH ARTICLES

- **Gil, A.**, Toledo, M., Siles, J.A., Martín, M.A., 2018. Multivariate analysis and biodegradability test to evaluate different organic wastes for biological processes. *Waste Management*, 78, 819-828. Impact factor (2017): 4.723. Journal position on list of the corresponding fields: 25/ 241 (Environmental Sciences).
- **Gil, A.**, Siles, J.A., Márquez, P., Gutiérrez, M.C., Martín, M.A., 2017. Optimizing the selection of organic waste for biomethanization. *Environmental Technology* (in press). Impact factor (2017): 1.666. Journal position on list of the corresponding fields: 143/241 (Environmental Sciences).
- **Gil, A.**, Siles, J.A., Serrano, A., Chica, A.F., Martín, M.A., 2018. Effect of variation in the C/[N+P] ratio on anaerobic digestion. *Environmental Progress & Sustainable Energy* (in press). Impact factor (2017): 1.326. Journal position on list of the corresponding fields: 83/137 (Chemical Engineering).
- **Gil, A.**, Siles, J.A., Toledo, M., Martín, M.A. Effect of microwave pretreatment on centrifuged and floated sewage sludge derived from WWTP. *Renewable Energy*, (under review). Impact factor (2017): 4.900. Journal position on list of the corresponding fields: 7/33 (Green and Sustainable Science and Technology).
- **Gil, A.**, Siles, J.A., Martín, M.A., Chica, A.F., Estévez-Pastor, F., Toro-Baptista, E., 2018. Effect of microwave pretreatment on semi-continuous anaerobic digestion of sewage sludge. *Renewable Energy*, 115, 917-925. Impact factor (2017): 4.900. Journal position on list of the corresponding fields: 7/33 (Green and Sustainable Science and Technology).
- **Gil, A.**, Siles, J.A., Serrano, A., Martín, M.A., 2015. Mixture optimization of anaerobic co-digestion of tomato and cucumber waste. *Environmental Technology*, 36, 2628-2636. Impact factor

(2015): 1.760. Journal position on list of the corresponding fields: 113/225 (Environmental Sciences).

- **Gil, A.**, Siles, J.A., Gutiérrez, M.C., Martín, M.A. Evaluation of physicochemical pretreatment of tomato plant for anaerobic digestion. Waste Management (Under review). Impact factor (2017): 4.723. Journal position on list of the corresponding fields: 25/241 (Environmental Sciences).

- Hamraoui, K., **Gil, A.**, El Bari, H., Siles, J.A., Chica, A.F., Martín, M.A. Evaluation of hydrothermal pretreatment for biological treatment of lignocellulosic feedstock (pepper plant and eggplant). Waste Management (Under review). Impact factor (2017): 4.723. Journal position on list of the corresponding fields: 25/241 (Environmental Sciences).

- Hungría J., Siles J.A., **Gil A.**, Gutiérrez, M.C., Martín M.A. Revalorization of grape marc waste from liqueur wine: biomethanization. Renewable Energy (Under review Impact factor (2017): 4.900. Journal position on list of the corresponding fields: 7/33 (Green and Sustainable Science and Technology).

- Belhadja, S., Joutea, Y., El Baria, H., Serrano, A., **Gil, A.**, Siles, J.A., Chica, A.F., Martín, M.A., 2014. Evaluation of the anaerobic co-digestion of sewage sludge and tomato waste at mesophilic temperature. Appl Biochem Biotechnol, 172, 3862–3874. Impact factor (2014): 1.735. Journal position on list of the corresponding fields: 97/163 (Biotechnology and Applied Microbiology).

PARTICIPACIÓN EN CONGRESOS/CONGRESOS CONTRIBUTION

Comunicaciones orales/Oral communications

- Gil, A. Evaluation of C/[NP] ratio on mesophilic anaerobic digestion. Research Center. Comunicación oral. VI International Conference on Environmental, Industrial and Applied Microbiology. Internacional. Barcelona, España. 28-30 Octubre 2015.

- Gil, A. Tratamiento de residuos orgánicos industriales y hortofrutícolas mediante biometanización. Ceia3, Universidad de Córdoba. Comunicación Oral. III Congreso Científico de Investigadores en Formación en Agroalimentación Ceia3. Nacional. Córdoba, España. 19 de noviembre 2014.
- Gutierrez, M.C., Gil, A., Martín, Chica, A.F. estabilización aerobia de residuos orgánicos: seguimiento e impacto oloroso. Red Española de Compostaje. Comunicación Oral. IV Jornadas de la Red Española de Compostaje. Nacional. Libro de resúmenes, 309-312, ISSN/ISBN (978-84-617-2429-1. Murcia, España. 14 de noviembre 2014.
- Gil, A. Serrano, J.A. Siles, A. Martín. Impact of C[NP] ratio on mesophilic anaerobic digestion. ANQUE. Keynote. II International Congress of Chemical Engineering of ANQUE. Internacional. Madrid, España. 1-4 de julio 2014.
- Serrano, A. Gil, A., Siles, J.A., Chica, A.F., Martín, M.A. Pretreatment and anaerobic co-digestion of agro industrial waste. ANQUE. Comunicación oral. XXXIV Reunión Bienal de la Real Sociedad Española de Química. Nacional. XXXIV REUNIÓN BIENAL DE LA REAL SOCIEDAD ESPAÑOLA DE QUÍMICA (RSEQ). LIBRO DE RESÚMENES DE SIMPOSIOS. ISSN/ISBN 978-84-695-8511-5. Santander, España. 15 de septiembre de 2013.
- Siles, J.A., Serrano, A., Gil, A., Martín, A., Martín, M.A. Improvement of anaerobic digestion of agro-industrial wastes: pretreatment and co-digestion processes. IAMAW. Comunicación oral. IAMAW 1st International Workshop “Valorization of Mediterranean biowastes and effluents. Internacional. Libro resumen, ISSN/ISBN 978-84-615-8786. Santarém, Portugal. 5 de junio de 2012.

Comunicaciones en forma de póster/Poster contribution

- Toledo, M., Gutiérrez, M.C., Gil, A., Siles, J.A., Chica, A.F., Martín, M.A. Análisis quimiométrico y espectroscopía NIR para evaluar el impacto oloroso derivado del proceso de

compostaje de distintas materias primas. VI Jornadas de la Red Española de Compostaje. Valencia, España. 14-16 de noviembre de 2018.

- Gil, A., Gutiérrez, M.C., Siles, J.A., Chica, A.F., Martín, M.A. Evaluación del pretratamiento con microondas en lodos de EDAR para su digestión anaerobia. Red Española de Compostaje. Póster. V Jornadas de la Red Española de Compostaje. Nacional. Sevilla, España. 2016.
- Chica, A.F., Martín, M.A., Siles, J.A., Gutiérrez, M.C., Gil, A., Serrano, A., Bellido, I. Líneas de investigación del grupo de Ingeniería Química de Córdoba sobre tratamiento de aguas y residuos orgánicos. Universidad Autónoma de Madrid, Universidad Rey Juan Carlos, Universidad Complutense de Madrid, Universidad de Alcalá. Póster. XII Reunión de la Mesa Española de Tratamiento de Aguas. Nacional. Madrid, España. 20-22 Junio 2016.
- Serrano, A. Gil, J.A. Siles, M.A. Martín, A.F. Chica. Mejora de la digestión anaerobia de lodo de depuradora mediante pre-tratamiento con microondas. Universidad Autónoma de Madrid, Universidad Rey Juan Carlos, Universidad Complutense de Madrid, Universidad de Alcalá. Póster. XII Reunión de la Mesa Española de Tratamiento de Aguas. Nacional. Madrid, España. 20-22 Junio 2016.
- Gutierrez, M.C., Siles, J.A., Gil, A., Martín, M.A., Chica, A.F. Usual variables and odour concentration to evaluation composting process and odour impact. ANQUE. Póster. II International Congress of Chemical Engineering of ANQUE. Internacional. Madrid, España. 1-4 de julio 2014.
- Gil, A., Siles, J.A., Serrano, A., Chica, A.F., Martín, M.A. Posibles co-sustratos para el tratamiento de lodo de EDAR. IAMAW. Póster. VIII Jornadas técnicas sobre transferencia de tecnología sobre microbiología de fango activo. Nacional. Libro resumen de las VIII Jornadas Técnicas sobre Transferencia de Tecnología sobre Microbiología de fango activo. Sevilla, España. 19 de abril de 2012.

PREMIOS/AWARD

Premio a la mejor comunicación en el área de INGENIERÍA Y TECNOLOGÍA con el trabajo titulado “Tratamiento de residuos orgánicos industriales y hortofrutícolas mediante biometanización”. III Congreso Científico de Investigadores en Formación en Agroalimentación CeIA3, de la Universidad de Córdoba. Noviembre de 2014.

