



Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C.

Posgrado en Ciencias Ambientales

**Purificación biológica de biogás por microorganismos
metanógenos hidrogenotróficos.**

Tesis que presenta

Ing. Ambiental Mónica Cortés Castillo

Para obtener el grado de:

Maestra en Ciencias Ambientales

en la opción de

Biotecnología Ambiental

Directora de Tesis:

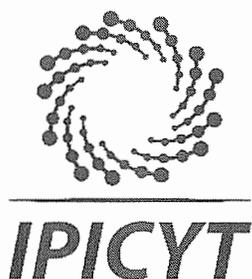
Dra. Sonia Lorena Arriaga García

Miembros del comité:

Dr. Francisco Javier Cervantes Carrillo

Dr. Felipe Alatríste Mondragón

San Luis Potosí, México, Mayo 2019.



Constancia de aprobación de la tesis

La tesis “**Purificación biológica de biogás por microorganismos metanogenos hidrogenotróficos**” presentada para obtener el Grado de Maestra en Ciencias Ambientales fue elaborada por **Mónica Cortés Castillo** y aprobada el diecisiete de mayo del dos mil diecinueve por los suscritos, designados por el Colegio de Profesores de la División de Ciencias Ambientales del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C.

Dra. Sonia Lorena Arriaga García
Directora de la tesis

Dr. Felipe Alatraste Mondragón
Miembro del Comité Tutorial

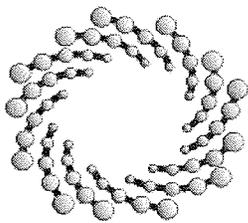
Dr. Francisco Javier Cervantes Carrillo
Miembro del Comité Tutorial



Créditos Institucionales

Esta tesis fue elaborada en el Laboratorio de Biotecnología Ambiental de la División de Ciencias Ambientales del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., bajo la dirección de la Dra. Sonia Lorena Arriaga García.

Durante la realización del trabajo el autor recibió una beca académica del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT 611417).



IPICYT

Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C.

Acta de Examen de Grado

El Secretario Académico del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., certifica que en el Acta 074 del Libro Primero de Actas de Exámenes de Grado del Programa de Maestría en Ciencias Ambientales está asentado lo siguiente:

En la ciudad de San Luis Potosí a los 17 días del mes de mayo del año 2019, se reunió a las 11:00 horas en las instalaciones del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., el Jurado integrado por:

Dr. Felipe Alatríste Mondragón	Presidente	IPICYT
Dr. Francisco Javier Cervantes Carrillo	Secretario	UNAM
Dra. Sonia Lorena Arriaga García	Sinodal	IPICYT

a fin de efectuar el examen, que para obtener el Grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS AMBIENTALES

sustentó la C.

Mónica Cortés Castillo

sobre la Tesis intitulada:

Purificación biológica de biogás por microorganismos metanógenos hidrogenotróficos

que se desarrolló bajo la dirección de

Dra. Sonia Lorena Arriaga García

El Jurado, después de deliberar, determinó

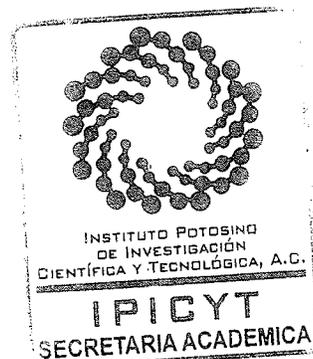
APROBARLA

Dándose por terminado el acto a las 12:33 horas, procediendo a la firma del Acta los integrantes del Jurado. Dando fe el Secretario Académico del Instituto.

A petición de la interesada y para los fines que a la misma convengan, se extiende el presente documento en la ciudad de San Luis Potosí, S.L.P., México, a los 17 días del mes de mayo de 2019.

Mtra. Ivonne Lizette Cuevas Vélez
Jefa del Departamento del Posgrado

Dr. Maícial Bonilla Marín
Secretario Académico



Agradecimientos

Agradecimiento a la Dra. Sonia Arriaga por el apoyo, asesoramiento y confianza durante la realización de este trabajo de tesis.

Al Dr. Francisco Cervantes y Dr. Felipe Alatríste por sus consejos y asesoramientos en los tutorales.

Al C. Guillermo Andrés Hernández, por su proactiva participación en trabajo experimental realizado en su corta pero provechosa estancia por el instituto.

A la M.C. Itzel Covarrubias por su paciencia y conocimientos transmitidos para el uso de equipo de laboratorio.

Finalmente, al IPICYT, por haberme albergado durante el tiempo de duración de la maestría, por permitirme conocer nuevas técnicas y habilidades.

Dedicatorias

A Dios por permitirnos la vida, por darme una familia, amor, salud y trabajo. Porque, aunque no podamos verlo no significa que no está junto a nosotros cuidándonos y guiándonos a lo largo de nuestra vida.

A la Dra. Sonia, por su confianza y esfuerzo puesto en mí, sin duda sin su guía no habría sido posible este trabajo.

A mis amigos y colegas, por hacer el paso por el IPICYT más divertido y ameno.

A mi familia, por educarme y enseñarme lo esencial de la vida, gracias a mis padres y mis hermanos, lo quiero con todo el corazón.

A mi esposo, Edgar Vázquez, por su amor y cariño, por permitirme compartir nuevos logros junto a ti.

Dedico con gran cariño, este trabajo a mi hija Valentina, que Dios te bendiga cada paso de tu vida, gracias por haber alumbrado y despertado el más puro amor de mi corazón.

Lista de Tablas

Tabla 1	Componentes del biogás.
Tabla 2	Tipos de procesos fisicoquímicos para purificación de biogás.
Tabla 3	Procesos biológicos para purificación de biogás (Angelidaki et al., 2018).
Tabla 4	Estudios reportados de biometanización in situ, ex situ, bioproductos
Tabla 5	Microorganismos estudiados en el proceso de generación de biogás
Tabla 6	Composición de medio mineral (Lee et al., 2007)
Tabla 7	Composición de solución buffer para determinación de análisis granulométrico.
Tabla 8	Composición medio mineral para actividad metanogénica (Celis et al, 2005).
Tabla 9	Pruebas de toxicidad y biodegradabilidad para experimentos (H ₂ :CO ₂ :CH ₄) y (H ₂ :CO ₂).
Tabla 10	Etapas de aclimatación
Tabla 11	Coefficiente de partición adimensional de H ₂ , CO ₂ y CH ₄ en aceite de silicona y medio mineral ($H = C_s^g / C_s^l$).
Tabla 12	Velocidades máximas de producción de metano, las cuales fueron obtenidas mediante la aplicación del modelo matemático de Gompertz para ajustar los datos experimentales de la producción de CH ₄ .
Tabla 13	Velocidades de producción de procesos de biometanización ex situ.
Tabla 14	Proporciones de metano
Tabla 15	Contenido de metano en la fase oleosa

Lista de Figuras

Figura 1	Esquema de la digestión anaerobia de materia orgánica compleja (Morales et al, 2015)
Figura 2	Presión parcial del gas hidrógeno y tendencia a rutas metabólicas
Figura 3	Transferencia de masa parcial en TPPBs considerando biomasa suspendida en fase acuosa (a) e incluyendo una fase sólida usada como soporte para crecimiento de biomasa (b) (Quijano & Hernandez, 2009).
Figura 4	Actividad metanogénica, volumen de metano acumulado
Figura 5	Pruebas de toxicidad y biodegradabilidad para el aceite de silicona para los tratamientos T1 (inóculo, medio mineral, 24H ₂ :6CO ₂ :10CH ₄ y fase oleosa), T2 (inóculo, medio mineral, 32H ₂ :8CO ₂ y fase oleosa), T6 (inóculo, medio mineral y fase oleosa), T9 (inóculo, 24H ₂ :6CO ₂ :10CH ₄ y fase oleosa), y T10 (inóculo, 32H ₂ :8CO ₂ y fase oleosa). Adición de aceite de silicona 10% (v/v).
Figura 6	Pruebas de toxicidad y biodegradabilidad para el aceite de silicona para los tratamientos T3 (inóculo, medio mineral, 24H ₂ :6CO ₂ :10CH ₄), T4 (inóculo, medio mineral, 32H ₂ :8CO ₂), T5 (inóculo, medio mineral), T7 (medio mineral, 24H ₂ :6CO ₂ :10CH ₄) y T8 (medio mineral, 32H ₂ :8CO ₂). Sin adición de aceite de silicona.
Figura 7a	Etapa uno del periodo de aclimatación, adición de 4H ₂ :1CO ₂ . ■ CH ₄ producido; ● H ₂ consumido; ▲ CO ₂ consumido.
Figura 7b	Etapa uno de aclimatación, adición de 4H ₂ :1CO ₂ . Del periodo de tiempo día 65 a 97. ■ CH ₄ producido; ● H ₂ consumido; ▲ CO ₂ consumido.
Figura 8	Etapa dos del periodo de aclimatación. ● CH ₄ producido; ■ H ₂ consumido; ▲ CO ₂ consumido.
Figura 9	Cinética 3 gases (H ₂ :CO ₂ :CH ₄) con fase oleosa, experimento
Figura 10	Cinética control fase oleosa y consorcio
Figura 11	Cinética 3 gases (H ₂ :CO ₂ :CH ₄) sin fase oleosa, experimento
Figura 12	Cinética control con medio mineral y consorcio
Figura 13	Cinética 2 gases (H ₂ :CO ₂) con fase oleosa, experimento.
Figura 14	Cinética control con medio mineral y consorcio
Figura 15	Cinética 2 gases (H ₂ :CO ₂) sin fase oleosa, experimento
Figura 16	Cinética control con medio mineral y consorcio

Índice

Introducción.....	13
Capítulo 1. Antecedentes	15
1.1 Problemática energética en México	15
1.2 Energías renovables	16
1.3 Biogás.....	16
1.4 Problemática del uso directo del biogás	19
1.5 Métodos de purificación del biogás.....	21
1.5.1 Métodos físicos	21
1.5.2 Métodos químicos	22
1.5.3 Métodos biológicos.....	23
1.6 Biometanización.....	24
1.6.1 Microorganismos involucrados en el proceso de biometanización.....	35
1.7 Sistemas de partición de dos fases	36
Capítulo 2. Hipótesis y Objetivo	40
2.1 Hipótesis	40
2.2 Objetivo general.....	40
Capítulo 3. Desarrollo Experimental	41
3.1 Inóculo y medio mineral	41
3.2 Pruebas de toxicidad y biodegradabilidad.....	43
3.3 Determinación de coeficientes de partición;.....	44
3.4 Aclimatación del inóculo	45
3.5 Cinéticas de biometanización con y sin fase oleosa.	46
3.6 Técnicas analíticas	48
3.6.1 Cromatografía de gases (GC).....	48
3.6.2 Electroforesis capilar	48
Capítulo 4. Resultados y discusión.....	49
4.1 Caracterización del inóculo	49
4.2 Pruebas de toxicidad y biodegradabilidad.....	49
4.2.1 Pruebas de toxicidad y biodegradabilidad con gases (H ₂ , CO ₂ y CH ₄)	50
4.3 Determinación de coeficientes de partición.....	51
4.4 Aclimatación de lodo anaerobio	52

4.5 Cinéticas de biometanización de una y dos fases	55
4.5.1. Cinéticas de biometanización con tres gases (hidrógeno, metano y dióxido de carbono).....	55
4.5.2 Cinéticas de biometanización con dos gases (hidrógeno y dióxido de carbono)	57
Capítulo 5. Conclusiones y perspectivas.....	64
5.1 Conclusiones	64
5.2 Perspectivas	65
Anexos.....	66
Referencias bibliográficas	71

Resumen

El constante efecto adverso del uso de combustibles fósiles en el planeta, tal como el cambio climático, ha llevado a la exhaustiva búsqueda de combustibles alternativos con menores o escasos efectos desfavorables. Dentro de la categoría de energías verdes se encuentra el biogás, mezcla de gases (60% metano y 40% dióxido de carbono, entre otros), sin embargo, el gas CO_2 disminuye el poder calorífico del biogás por lo que existen procesos físicos, químicos o biológicos para la remoción o conversión de este componente. De esta manera, la purificación biológica de biogás permite alcanzar valores superiores al 95% de metano para poder ser utilizado como combustible para transporte y/o inyectado en la línea de gas natural. El presente estudio abarca el proceso de purificación de biogás ex situ mediante microorganismos metanógenos hidrogenotróficos con inyección de $\text{H}_2:\text{CO}_2:\text{CH}_4$ y una segunda fase oleosa para permitir la correcta transferencia de masa de los gases a la fase líquida.

Se realizaron estudios de biometanización para poder alcanzar mezclas de gases con proporciones mayores al 96% de metano con la adición de fase oleosa y gases. Se utilizó una composición de gases 60:15:25 de $\text{H}_2:\text{CO}_2:\text{CH}_4$ para el caso de experimentos con tres gases y 62.5% CH_4 , 37.5% CO_2 para las cinéticas de dos gases. Para el caso de la fase oleosa, se utilizó 10% (v/v) de aceite de silicona, todos los experimentos tuvieron duración de 15 días. Mediante cromatografía de gases se monitoreó el consumo de hidrógeno y dióxido de carbono, así como la generación de metano a lo largo de los experimentos. Se encontró que el sistema de tres gases y fase oleosa obtuvo una producción máxima de metano de $174 \text{ mL L}^{-1}_{\text{reactor}} \text{ d}^{-1}$, 15% mayor al sistema de tres gases, pero sin fase oleosa. Y, cuando se utilizaron dos gases y fase oleosa, la producción de metano alcanzó $160 \text{ mL L}^{-1}_{\text{reactor}} \text{ d}^{-1}$, 34% por encima del sistema conformado de dos gases y medio mineral. Esto permitió establecer que la inyección al sistema de metano no interviene con el proceso de biometanización ya que se alcanzaron proporciones de metano de 99.64% y 99.42%, respectivamente.

Por lo tanto, la adición de una segunda fase oleosa con características no biodegradable y no tóxica para los microorganismos permite ampliar el umbral de la baja solubilidad del hidrógeno en el sistema y consecuentemente aumentar la transferencia de masa de la fase gas a la fase líquida y de esta manera alcanzar una proporción de metano superior al 96%. Estableciendo así que la purificación ex situ de biogás es una alternativa prometedora para poder generar combustibles gaseosos con menores impactos negativos.

Introducción

Conforme a estadísticas del Banco Mundial, en los últimos 53 años, la cantidad de CO₂ emitida ha incrementado considerablemente de 1.7 a 3.9 toneladas per cápita, obteniendo así un incremento del 103.4%. Este incremento se le atribuye a la quema de combustibles fósiles para transporte, generación de energía y utilización en la industria, principalmente. Como resultado de la combustión de estos materiales, sus productos son considerados gases de efecto invernadero (GEI), gases capaces de calentar y dañar la atmósfera de la Tierra. Algunos ejemplos de GEI son; dióxido de carbono CO₂, metano CH₄, vapor de agua, entre otros. Entre sus efectos se presenta el calentamiento global, el cual es el cambio de la temperatura mundial ocasionado por el exceso de acumulación de radiación solar, la cual queda atrapada en la atmósfera evitando su liberación, provocando aumento de la temperatura.

Así mismo, dentro de la problemática energética, a nivel mundial aproximadamente el 90 por ciento de la energía consumida proviene de recursos fósiles no renovables. Ante este panorama, varios países del mundo han incursionado en la búsqueda de fuentes alternativas de energía y México no es la excepción (Sánchez, 2013).

En los últimos años, el rubro de las energías verdes, alternativas o limpias, ha ido en aumento. Dentro del rubro de la bioenergía, se encuentra la producción de biogás, en donde la biomasa es convertida gracias a un proceso biológico de digestión anaerobia, que consta de una serie de reacciones bioquímicas en la que residuos orgánicos son degradados o consumidos por un conjunto de microorganismos en una mezcla de gases con la siguiente proporción: metano (CH₄) de 50% a 70% y dióxido de carbono (CO₂) de 25% a 40% principalmente, aunque puede contener otros componentes tales como el siloxanos, vapor de agua, ácido sulfhídrico, nitrógeno, oxígeno e hidrógeno.

El biogás en México es un bioenergético capaz de sustituir a los combustibles fósiles en la generación de energía. La Secretaría de Energía considera que existe un potencial de 3000 MW para la generación de energía eléctrica a través de biogás proveniente de la recuperación y aprovechamiento del metano (SENER, 2012). Dado el poder calorífico del biogás, el cual es de 23 MJ/kg, sus principales usos en México están relacionados con la generación de energía térmica, mecánica o eléctrica. Así mismo, el factor de emisión de CO₂ (0.246 kgCO₂e/GJ) corrobora que la utilización de bioenergía como el biogás, previene el aumento irracional de las emisiones que producen el cambio climático (Wellinger & Lindberg, 2007).

El poder calorífico del biogás es de 23 MJ/m³ (Wellinger & Lindberg, 2007), y este poder puede aumentar si se elimina su principal componente de dilución (CO₂). Una vez que el biogás es producido, este puede pasar a través de dos procesos uno de purificación donde se eliminan los componentes traza como siloxanos, vapor de agua, ácido sulfhídrico, nitrógeno, oxígeno e hidrógeno; posteriormente, la corriente de gas ahora principalmente compuesta de CH₄ y CO₂ pasa a un proceso de enriquecimiento donde el

CO_2 es transformado a CH_4 . El proceso de enriquecimiento de biogás puede llevarse a cabo por una vía fotocatalítica conocida como reacción de Sabatier en donde el catalizador utilizado es níquel donde se inyectan 4 moles de H_2 para llevar a cabo la reacción bajo una temperatura de 300°C (Angelidaki et al., 2018). También puede llevarse a cabo por vía biológica catalizada por microorganismos metanógenos hidrogenotróficos, que a diferencia de los microorganismos metanogénicos convencionales que degradan el acetato en metano, estos microorganismos llevan a cabo la metanogénesis con CO_2 mediante reducción con H_2 y a temperatura mesofílica (Götz et al., 2016). Este proceso es conocido como biometanización y actualmente es tema de estudio a nivel mundial. A través de este proceso se incrementa el porcentaje de CH_4 hasta el 95% aumentando el poder calorífico de este, además de que el uso directo de este gas enriquecido puede llevarse a cabo.

En el proceso de metanización, una de las desventajas más importantes es la baja solubilidad de los reactantes en agua, conocemos que el CO_2 es 23 veces más soluble que el H_2 , por lo que esto da lugar a una baja transferencia de masa de la fase gas a la fase líquida. Logrando que el paso limitante de esa reacción biológica sea el suministro de H_2 a los microorganismos. Existe la posibilidad de agregar a estos sistemas una segunda fase que sea hidrofóbica y que permita se incremente el transporte de masa, estos sistemas son conocidos como sistemas de dos fases (Two-phase-partition-bioreactors TPPB, por sus siglas en inglés). En el presente trabajo de tesis se pretende hacer uso de los sistemas bifásicos para eliminar el cuello de botella del proceso biológico de purificación de biogás e incrementar la velocidad de producción de metano a través del incremento de la transferencia de masa de H_2 en el sistema.

Capítulo 1. Antecedentes

1.1 Problemática energética en México

Las fuentes primarias de energía son los hidrocarburos y corresponden al 81.2% de toda la energía primaria producida y consumida. En México, la dependencia es mayor; en el año 2011, el 91.2 % de la producción de energía primaria correspondió a combustibles fósiles, (64.1 % petróleo, 24 % gas y 3.1 % carbón) (Estrada Gasca, 2013).

México es considerado un país que depende de los combustibles fósiles para satisfacer sus requerimientos de energía. El amplio uso de estos combustibles ha generado efectos perjudiciales para el medio ambiente, tales como emisiones de gases de efecto invernadero, sustancias contaminantes y tóxicas por la combustión, sumado a efectos colaterales como lo es la contaminación de suelo, aire y agua, trayendo como consecuencia problemas como el calentamiento global, agotamiento de recursos no renovables, entre otros. Los efectos de este consumo exponencial de combustibles fósiles hacen necesaria la búsqueda de fuentes alternativas de energía (Islas Sampeiro & Matrínez Jiménez, n.d.)

De esta manera, México ha incursionado en la generación de energía eléctrica mediante nuevas fuentes de generación diferentes al uso de combustibles fósiles. Según datos de la SENER, en 2012 la capacidad instalada para producir energía en el país a partir de fuentes distintas al petróleo era de 52 mil MW, siendo las principales fuentes: geotérmicas (62.4%), hidroeléctricas (21.9%) y nucleares (3.1%).

México, posee importante potencial para la generación de energía a través de la radiación solar, es decir, una capacidad de producción de 245 MW por encima de Brasil, Chile y Argentina. También es considerado un importante productor a partir de fuentes geotérmicas con un 8.9% de participación total en octubre de 2010 donde ocupó la cuarta posición (958 MW), sólo precedido por Estados Unidos (3,093 MW), Filipinas (1,904 MW) e Indonesia (1,197 MW) según datos de la Asociación Mexicana de Geotermia (AMG).

Para el caso de producción de bioenergía, se tiene el biogás que ocupa el tercer lugar dentro de las fuentes renovables de mayor crecimiento para la generación de electricidad. Ésta pasó de 13.1 TWh en 2000 a 47.6 TWh en 2011, con una tasa de crecimiento medio anual del 13%.

Del total de electricidad generada a partir de biogás a nivel mundial en el año 2010, Alemania fue el país que tuvo una mayor participación (37.3%) en el uso del biogás como fuente para generación de energía eléctrica, generando 16.2 TWh, siendo el mayor productor de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE); seguido por Estados Unidos, con el 22.4%, es decir, 9.8 TWh del total generado a nivel mundial. En tercer lugar, está el Reino Unido, con el 13.1% (5.7 TWh), e Italia en el cuarto, con 4.6% (2.0 TWh).

El rápido desarrollo de los biocombustibles en el mercado ha llevado a generar conciencia en la población en temas medios ambientales, económicos y en la sostenibilidad social de las industrias.

1.2 Energías renovables

Las energías limpias son aquellas que en su proceso de extracción, procesamiento y distribución generan reducidos impactos ambientales como son: la energía geotérmica, solar, eólica, hidroeléctrica y bioenergía. Encontrándose que las ventajas principales del uso de este tipo de energía son las reducidas emisiones de gases causantes del cambio climático y que es considerada la única fuente energética capaz de retar al petróleo en el mercado de los combustibles líquidos para el sector transporte principalmente (Islas Sampeiro & Matrínez Jiménez, n.d.).

Dentro de las energías renovables, encontramos la energía eólica, solar, geotérmica, mareomotriz y bioenergía (biomasa, biogás y biocombustibles). En 2010, la oferta total de energía primaria en el mundo fue de 12,715 millones de toneladas equivalentes de petróleo (Mtpe), de las cuales 13.3% (1,685.7 Mtpe) provinieron de fuentes renovables de energía a nivel mundial. La contribución de otras fuentes de energía fue de 32.3% para petróleo, 27.3% para carbón, 21.5% para gas natural y 5.7% para energía nuclear (Valle-Pereña & Ortega-Navarro, 2012).

La bioenergía posee diferentes clasificaciones siendo los biocombustibles, biocarburantes y el biogás, todos provenientes de la transformación de materia orgánica como residuos orgánicos naturales y antropogénicos. Para México, la producción de biogás proviene principalmente de la generación en rellenos sanitarios; sin embargo, sólo el 20% de los rellenos sanitarios del país cuenta con sistemas de captación de biogás por lo que se emiten un total de 50 millones de toneladas equivalentes de dióxido de carbono a la atmósfera. La implementación de sistemas de captación de biogás en rellenos sanitarios es urgente, no sólo por el aprovechamiento energético, sino también por la reducción de la emisión del gas metano, cuyo efecto de calentamiento global es 25 veces mayor que el dióxido de carbono (Weber, 2012).

De esta manera, se ha estudiado la generación de biogás, proveniente de la descomposición de la materia orgánica, el cual puede ser utilizado con la misma eficiencia y versatilidad que el gas natural en actividades tales como transporte, calor y electricidad obteniendo como resultado incremento en las metas de consumo de energía renovable del país.

1.3 Biogás

El biogás es un producto de la descomposición anaerobia de la materia orgánica. Es generado por una serie de reacciones en distintas etapas de degradación, relacionadas con la actividad de un consorcio microbiano de diversas bacterias y arqueas (productoras de metano). Está compuesto principalmente por dióxido de carbono y metano (ver Tabla 1). La concentración de cada compuesto varía dependiendo de la

fuelle de origen del gas y la composición de la biomasa (Weber, 2012). La materia prima utilizada para la generación de biogás, es materia orgánica tal como estiércol de animales y humanos, desechos agrícolas, rastros municipales, basura orgánica, lodos de depuradoras, paja, bagazos de caña y agave, cascarilla de trigo y arroz, rastrojo de maíz, virutas y desechos de madera y papel, entre otros (Islas Sampeiro & Matrínez Jiménez, n.d.).

Tabla 1. Composición del biogás. (Instituto Internacional de Recursos Renovables, 2014)

Componente	Concentración
Metano (CH ₄)	50-75% (vol)
Dióxido de carbono (CO ₂)	25-45% (vol)
Vapor de agua (H ₂ O)	2-7% (vol)
Ácido sulfhídrico (H ₂ S)	20-20000 ppm
Nitrógeno (N ₂)	<2% (vol)
Oxígeno (O ₂)	<2% (vol)
Hidrógeno (H ₂)	<1% (vol)

El proceso de la digestión anaerobia mediante el cual el biogás es producido, involucra una compleja serie de reacciones bioquímicas y se puede dividir en cuatro etapas que se desarrollan de manera simultánea y secuencial en ausencia de oxígeno (Figura 1): hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis (Batstone et al., 2002).

Etapa 1: Hidrólisis

Los conceptos de desintegración, solubilización e hidrólisis enzimática son usualmente expresados por el término cinético general de hidrólisis. Durante esta etapa, las macromoléculas o grandes polímeros (peso molecular entre 10^3 - 10^9) son reducidos de tamaño, pasan de ser moléculas complejas solubles e insolubles como carbohidratos, proteínas, lípidos y ácidos nucleicos (peso molecular entre 100 - 350) que no pueden ser directamente metabolizados por los microorganismos anaerobios, a ser monómeros o moléculas más pequeñas y simples. La hidrólisis de polímeros orgánicos es llevada a cabo por enzimas extracelulares (proteasas, celulasas, lipasas y amilasas), producidas por bacterias fermentativas primarias. Esto facilita el transporte a través de la membrana celular para el metabolismo de los monómeros liberados (aminoácidos, monosacáridos, ácidos grasos de cadena larga y glicerol) (Vavilin, 2008).

Etapa 2 y 3: Acidogénesis y acetogénesis

En esta etapa los monómeros liberados anteriormente son degradados mediante reacciones fermentativas, en donde los compuestos orgánicos funcionan como aceptores y donadores de electrones. Los principales productos de esta etapa son ácidos grasos volátiles (AGV), como ácido propiónico, n-butírico, n-valérico, capríónico y láctico, así como alcoholes. Así como los precursores directos para la formación de metano (CH_4), que son el ácido fórmico, metilaminas, ácido acético, metanol, hidrógeno (H_2) y CO_2 (Weber, 2012).

El ácido acético es el mayor intermediario en la cadena alimenticia anaerobia. Diversos sustratos como CO_2 , H_2 , carbohidratos, alcoholes, ácidos carboxílicos, aldehídos, compuestos aromáticos y algunos sustratos halogenados pueden ser oxidados y producir reductores utilizables para la reducción de CO_2 a acetato, por medio de la ruta del acetyl-CoA mejor conocida como ruta heterofermentadora. Cuando las hexosas (azúcares de seis carbonos) son convertidas exclusivamente a acetato, la reacción fermentativa es llamada homoacetogénesis (Müller, 2003). Al contrario que las bacterias acetogénicas, éstas no producen hidrógeno como resultado de su metabolismo, sino que lo consumen como sustrato (Stanikova et al., 2015). Las bacterias que participan en estas etapas son estrictamente anaerobias. Existe otro tipo de bacterias acetogénicas que se caracterizan por la producción obligada de H_2 y por su participación en la degradación de compuestos aromáticos, se denominan acetógenos obligados productores de hidrógeno, OHPA, por sus siglas en inglés (Obligate Hydrogen Producing Acetogens), dentro de estos microorganismos tenemos a géneros como: *Syntrophomonas*, *Syntrophobacter*, *Syntrophospora* y *Syntrophus* (Müller, 2003).

Etapa 4: Metanogénesis

La formación de CH_4 , el cual es el último producto de la digestión anaerobia está limitado a tres tipos de precursores: CO_2 , compuestos que contengan un grupo metilo y acetato. Todos los metanógenos son estrictamente arqueas anaerobias. Las arqueas son organismos muy antiguos, su existencia fue evidenciada cuando Béchamp y Popoff descubrieron su existencia en el siglo XIX gracias a la formación de gas metano debido a la actividad microbológica. Cuando la metanogénesis es mediada por el CO_2 como precursor se denomina hidrogenotrófica o hidrogenófila y se utiliza H_2 como principal donador de electrones (Weber, 2012).

Las bacterias metanogénicas son generalmente de dos grupos: hidrogenotróficas y acetoclásticas. Las bacterias metanogénicas hidrogenotróficas utilizan hidrógeno y dióxido de carbono para formar metano, mientras que las acetoclásticas utilizan ácido acético, metanol y algunas aminas presentes antes de la digestión. Alrededor del 70% de metano producido en la digestión anaeróbica es producido por las bacterias acetoclásticas al descomponer el ácido acético (Instituto Internacional de Recursos Renovables, 2014).

Reacción de la metanogénesis hidrogenotrófica:

A partir de dióxido de carbono $4 \text{H}_2 + \text{CO}_2 \rightarrow \text{CH}_4 + 2 \text{H}_2\text{O}$

El segundo tipo es la metanogénesis metilotrófica, que incluye metanol, metilaminas y sulfatos metilados.

El tercer tipo es la metanogénesis acetotrófica o acetoclástica, donde el precursor principal es el ácido acético. En ambientes naturales, dos terceras partes del CH_4 generado biológicamente se deriva del acetato (Weber, 2012).

Las arqueas metanogénicas son un grupo filogenéticamente diverso. Para fines de este estudio nos enfocaremos en el proceso de biometanización con el uso de microorganismos hidrogenotróficos, los cuales pueden llevar a cabo la primer reacción biológica citada anteriormente.

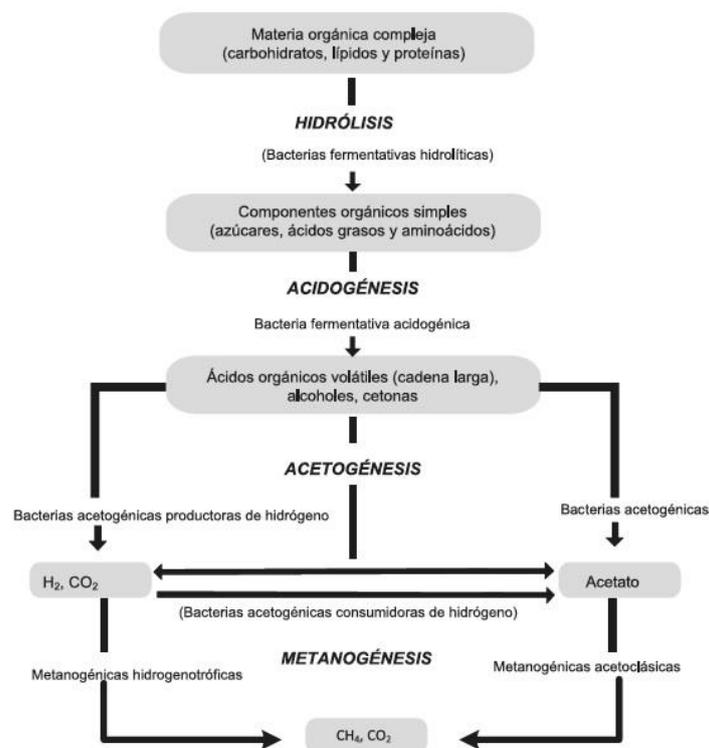


Figura 1. Esquema de la digestión anaerobia de materia orgánica compleja (Morales et al, 2015)

1.4 Problemática del uso directo del biogás

Los principales contaminantes del biogás que causan problemas en su uso son el H_2S , el NH_3 y los siloxanos. Otros contaminantes presentes son el agua, el polvo, el CO_2 , los VOC (hidrocarburos y derivados halogenados).

Su presencia constituye un problema importante porque:

- Pueden ser perjudiciales para cualquier dispositivo de conversión térmico o termo catalítico de biogás (por ejemplo, causar corrosión, erosión e incrustaciones en los dispositivos de conversión) y
- Generar emisiones nocivas para el medio ambiente.

Dentro de los principales problemas relacionados al uso directo del biogás, podemos encontrar, problemas de corrosión en dispositivos por presencia de agua la cuál reacciona con el ácido sulfhídrico, el amoníaco y el dióxido de carbono para formar ácidos. Otro componente que también genera problemas es el polvo, el cual genera obstrucción en las tuberías. Los siloxanos, permiten la formación de cristales que causan obstrucción y corrosión de las tuberías. La presencia de amoníaco en el biogás, al momento de su combustión, genera óxidos de nitrógeno NO_x, los cuales son GEI que impactan en el cambio climático.

La presencia de altas concentraciones de CO₂ ocasiona que el poder calorífico del biogás disminuya. Esta disminución en el poder calorífico está directamente ligada a la concentración de CO₂. Este gas es uno de los componentes del biogás que se encuentra en gran proporción (40%), por lo que es considerado un gas de dilución. Existen (procesos físicos, químicos y biológicos) para eliminar, convertir o disminuir en mayor cantidad este compuesto e implícitamente aumentar el poder calorífico del gas de 23 a 36 MJ/Kg, es decir enriquecer su contenido de CH₄.

De esta manera, una vez obtenido el biogás a partir de un proceso de digestión anaerobia, hay dos etapas de tratamiento del biogás, la primera corresponde a la purificación de biogás que se refiere a la eliminación o transformación de elementos distintos al metano y dióxido de carbono del biogás, es decir eliminación de compuestos traza. Seguido por la etapa de enriquecimiento de metano, donde se puede encontrar el proceso conocido como biometanización, el cual consiste en aumento de la composición de metano mediante la ayuda de microorganismos que llevan a cabo la transformación de dióxido de carbono presente a metano mediante la inyección de hidrógeno.

Existe otro indicador de la efectividad de combustión que posee el metano o el gas natural, el cual es conocido como Índice de Wobbe, el cual es un indicador de la intercambiabilidad de los gases combustibles, como el gas natural, el gas licuado de petróleo y se define con frecuencia en las especificaciones de suministro de gas y servicios de transporte. Se utiliza para la establecer la cantidad de gases que se requiere hacer en una mezcla de gases y aire para controlar y asegurar una buena combustión (Wijffels & Barten, n.d.).

1.5 Métodos de purificación del biogás

Para poder satisfacer la purificación de metano, existen técnicas fisicoquímicas y biológicas encargadas de la eliminación o transformación de componentes, entre los cuales se encuentra la eliminación de CO₂, siloxanos, H₂S, NH₃, entre otras impurezas presentes en el biogás.

1.5.1 Métodos físicos

Absorción física: los tratamientos bajo esta categoría se utilizan en el proceso de purificación gracias a la facilidad de operación y costos, en donde se utiliza agua presurizada como absorbente. El biogás es alimentado y comprimido desde el fondo a una columna de lecho empacada y el agua presurizada es rociada desde la cima de la columna. Este proceso de absorción es un proceso contracorriente y permite la separación de CO₂, H₂S, NH₃ y vapor de agua (Morero, Gropelli, & Campanella, 2010), Niesner, Jecha, & Stehlík, 2013).

Separación por membrana: la corriente de biogás es transportada por una membrana de diámetros variados la cual debe tener afinidad por ciertos componentes del biogás, de esta manera los contaminantes quedan atrapados en la membrana, enriqueciendo la corriente de gas con mayor proporción de metano. Se pueden alcanzar diferentes composición desde 12 hasta 88 % de metano. Los procesos de separación multietapas pueden alcanzar una eficiencia de 98% a una presión de trabajo muy alta de 4 MPa. Una de las característica de la membrana es que debe estar compuesta por polímeros de celulosa-acetato con una permeabilidad y afinidad mayor para el CO₂ y H₂S (20 y 60 veces mayor, respectivamente) que para el metano (Morero, Betzabet; Gropelli, 2010).

Adsorción sobre carbón activado: Se puede eliminar H₂S también mediante el uso de carbón activado, que a menudo se dosifica con ioduro de potasio (KI) o ácido sulfúrico (H₂SO₄) para aumentar la velocidad de reacción. En los filtros biológicos el H₂S se convierte catalíticamente en azufre elemental y agua (Petersson & Wellinger, 2009).

Separación gas-gas: La separación gas-gas es un proceso de separación de alta presión que separa selectivamente el CO₂ del CH₄, las presiones de operación van desde 2.000 hasta 3.600 kPa. Se puede alcanzar hasta un 96 % de CH₄ puro. Sin embargo, para tener dicha eficiencia y prolongar la vida útil de la membrana, es necesario instalar una desulfuración y la etapa de secado antes de que el biogás entre en los módulos de membrana (Ryckebosch, Drouillon, & Vervaeren, 2011).

Absorción gas-líquido: En este proceso se permite la separación de la fase gaseosa de la líquida mediante el uso de membranas hidrofóbicas, las moléculas de la corriente gaseosa fluyen en una dirección, en la que son capaces de difundir a través de la membrana. Una vez del otro lado, esta será absorbida por el líquido que fluye a contracorriente. Una importante ventaja de esta tecnología es que

opera a presión atmosférica. La eliminación del CO₂ se realiza mediante una solución de amina que permite llevar al biogás de un 55 % hasta un 96 % de CH₄ en un solo paso, por lo que se puede decir que esta tecnología tiene una alta eficiencia. Por otro lado, la solución de amina puede ser regenerada por calentamiento, de tal manera que se puede obtener un CO₂ con alta pureza que puede ser utilizado en otras aplicaciones industriales (Morero et al., 2010).

1.5.2 Métodos químicos

Absorción química: Tiene como objetivo la formación de enlaces químicos reversibles entre el soluto y solvente. Este proceso se realiza a altas temperaturas y alta demanda de energía (Niesner et al., 2013). Para los casos donde se utiliza carbón activado el costo de operación es menor, ya que las moléculas son retenidas por fuerzas electrostáticas débiles, la reacción puede verse afectada por la humedad, afinidad, temperatura y presión (Varnero, Carú, Galleguillos, & Achondo, 2012).

Adsorción en una superficie sólida: A partir de una buena elección del adsorbente, el proceso puede remover CO₂, H₂S, humedad y otras impurezas selectiva o simultáneamente. Se puede realizar con alguna forma de silicio, alúmina, carbón activado o silicatos. Se lleva a cabo a altas temperaturas y presiones (Petersson & Wellinger, 2009), (Betzabet, 2014).

Separación criogénica: en este proceso el biogás es comprimido a aproximadamente 80 bar. La compresión se realiza en varias etapas. El gas comprimido se seca para evitar que se congele durante el proceso de enfriado, después se enfría y se condensa el CO₂, el cual es procesado para recuperar el metano disuelto, que es reciclado a la entrada del gas para obtener pureza del 97% (Morero et al., 2010).

Métodos de secado químico (adsorción o absorción). Este proceso requiere trabajar a presiones elevadas. La adsorción utiliza como tamices moleculares alúmina o zeolitas. De manera que, dentro de los métodos empleados para el secado de gases, tenemos: Secado por adsorción de vapor de agua sobre gel de sílice, alúmina o algunos componentes químicos, que pueden enlazarse a las moléculas de agua, absorción de agua en trietilenglicol, absorción de agua con sales higroscópicas (Morero et al., 2010), (Ryckebosch et al., 2011).

Tabla 2. Tipos de procesos fisicoquímicos para purificación de biogás.

Tipo de tratamiento	Método	Compuesto que elimina
Físico	Absorción física	CO ₂
	Separación por membrana	H ₂ S, CO ₂
	Condensación:	CO ₂ , Agua

	Adsorción sobre carbón activado	Siloxanos, H ₂ S
Químicos	Absorción química	CO ₂
	Adsorción en una superficie sólida	H ₂ S, CO ₂
	Absorción con compuestos de hierro	Siloxanos, H ₂ S, CO ₂
	Absorción con compuestos orgánicos	CO ₂
	Separación criogénica	CO ₂ , Siloxanos, Agua
	Métodos de secado químico (adsorción o absorción)	Agua, CO ₂
Biológico	Biológicos	H ₂ S, CO ₂

1.5.3 Métodos biológicos

Además de las técnicas fisicoquímicas para la purificación de biogás, existen métodos biológicos que han sido probados a escala laboratorio y piloto. Existen dos grandes categorías para los métodos biológicos, los cuales involucran los microorganismos quimiotótrofos o fotosintéticos (Angelidaki et al., 2018). Estos métodos, utilizan la capacidad metabólica de algunos microorganismos para la conversión del dióxido de carbono en productos de alto valor agregado.

La gran ventaja que presentan los procesos biológicos, respecto de los sistemas fisicoquímicos es la carencia de contaminantes secundarios, menores costos de inversión y operación por el bajo consumo de reactivos, menor consumo energético al poder trabajar a temperatura ambiente, altas eficiencias de degradación, la biomasa puede estar inmovilizada en el sistema. Sin embargo, son procesos lentos, siendo necesario buscar nuevos microorganismos que reduzcan los tiempos de residencia y hagan más competitivo el proceso a nivel industrial (Varnero et al., 2012).

Los métodos quimiotótrofos se encuentran divididos por los procesos de purificación de biogás, in situ, ex situ, los cuales se describen más abajo, ambos tienen la particularidad de transformar el CO₂ en metano mediante el uso de microorganismos, en los cuales se obtienen composiciones mayores al 99% de metano. Y los métodos fotoautótrofos consisten en secuestrar el CO₂ presente en el biogás para obtener una corriente de gas rica en metano del 97%. A la par de este proceso es posible la separación de H₂S (Angelidaki et al., 2018). El uso de microorganismos en la eliminación de sulfuro de hidrógeno presente

en el biogás, se basa en la oxidación microbiológica de H₂S a compuestos de azufre de fácil eliminación, como azufre elemental (S⁰) o sulfatos (SO₄⁻²), fijando CO₂ simultáneamente como función estequiométrica de la oxidación del sulfuro. De esta forma, se puede lograr un enriquecimiento en metano, al remover CO₂ y eliminar el elemento (H₂S) más corrosivo y limitante respecto a usos posteriores del gas purificado (Varnero et al., 2012).

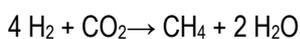
Existen otros procesos de purificación de biogás que tienen como objetivo la conversión de CO₂ al inyectar H₂ para la generación de productos de interés industrial, tal es el caso de la producción de ácido succínico y composición de la corriente de metano del 95%. También se encuentran métodos de purificación realizados en una celda de electrólisis microbiana, los electrones liberados por bacterias de la oxidación de los compuestos orgánicos en el ánodo pueden combinarse con protones para generar hidrógeno en la cámara del cátodo y utilizar el H₂ producido junto con el CO₂ presente en el biogás para convertir a CH₄ con eficiencias del 80% (Angelidaki et al., 2018).

Tabla 3. Procesos biológicos para purificación de biogás (Angelidaki et al., 2018).

Proceso biológico	Compuesto que elimina
In situ, ex situ	CO ₂
Fotoautótrofos	CO ₂ , H ₂ S
Celda de electrólisis microbiana	CO ₂

1.6 Biometanización

Una vez que el biogás es purificado y se han eliminado algunos componentes trazas (siloxanos, ácido sulfhídrico, etc.) este puede pasar por un proceso de enriquecimiento en donde el CO₂ es transformado a CH₄ por la acción de microorganismos metanógenos hidrogenotróficos y en presencia de H₂ de acuerdo con la siguiente reacción:



Es importante mencionar, que la reacción anterior puede realizarse de manera química y en la presencia de un catalizador de níquel a una temperatura de 200 a 500° C y a presión de 10 a 30 atm, este proceso es conocido como reacción de Sabatier y tiene un $\Delta G = -130.7 \text{ KJ/mol}$ (Leonzio, 2016).

Para que se lleve a cabo esta reacción biológica se requiere de arqueas metanogénicas y se deben cumplir algunas características, como ausencia de oxígeno, condiciones mesofílicas a termofílicas (temperaturas entre 37 a 57°C). (Guneratnam et al., 2017) propone que la temperatura idónea es 65°C para poder alcanzar una producción de metano mayor al 98% en el afluente o corriente de gas de interés.

En el proceso biológico de biometanización, es importante mantener el pH adecuado el cual varía entre 6.5 - 8.5 (Ahern, Deane, Persson, Gallachoir, & Murphy, 2015) para que los microorganismos que participan como catalizadores, principalmente microorganismos hidrogenotróficos, puedan realizar la reacción y obtener energía para crecimiento celular y mantenimiento de la célula (Luo & Angelidaki, 2012). Otro aspecto por considerar es la presión parcial del gas hidrógeno (H_2), ya que a partir de esta condición se puede mejorar el rendimiento del proceso. (Mulat et al., 2017).

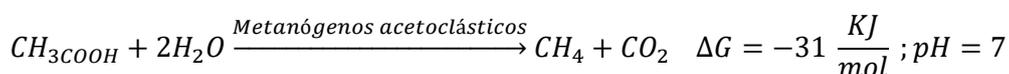
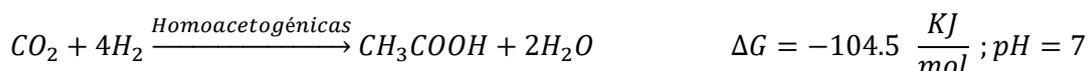
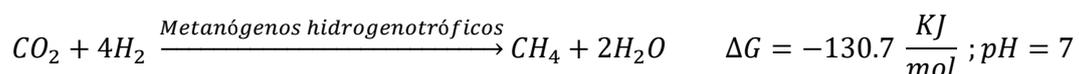
En estudios previos se ha determinado que la solubilidad del hidrógeno en agua es extremadamente baja (1.47 mg/L a 30°C, 1 atm H_2) 23 veces menor comparado con la del CO_2 a 60°C (Ahern et al., 2015) por lo que el suministro de hidrógeno a las células metanogénicas en cultivos sumergidos se convierte en un factor limitante de en el proceso de biometanización. Para aumentar el contenido de metano, es necesario, aumentar el coeficiente de transferencia de masa del hidrógeno y/o aumentar la solubilidad de H_2 en el medio de cultivo (García Lapeña, 2013). Este aumento de transferencia de masa está asociado a las siguientes características; tipo de reactor que se esté utilizando, pH, temperatura, presión parcial de H_2 y tipo de microorganismo presente en el reactor. Para aumentar la transferencia de masa del hidrógeno de la fase gas a la fase líquida, algunas consideraciones que pueden realizarse son; utilizar diámetros variados de difusores encargados de suministrar el gas en el reactor, algunos ejemplos son membranas de fibras huecas o un lecho de cerámica. Lo que hacen estos difusores es suministrar pequeñas burbujas de gas H_2 en el reactor lo que permite incrementar el tiempo de contacto entre el microorganismo y gases (Bassani, Kougiass, & Angelidaki, 2016)

Otro ajuste que puede hacerse es cambiar las presiones del sistema con la finalidad de aumentar la solubilidad del hidrógeno. Si se aumenta la presión del gas se tiene como resultado una mejor difusión del gas ya que permite que se incremente el gradiente de concentración entre la fase gas y la fase líquida (Bernhardt, Jaenicke, & Lüdemann, 1987). Existen estudios que han investigado el efecto de la presión parcial del hidrógeno tales como (Luo & Angelidaki, 2012), de esta manera, al aumentar la presión parcial del gas, se incrementa la producción de metano (Benjaminsson, Benjaminsson, & Rudberg, 2013).

Se conoce que la reacción de conversión de CO_2 e H_2 , puede ocurrir por diferentes microorganismos y, por lo tanto, se tendrá diferentes productos, en algunos casos. Por ejemplo, se sabe que la conversión de estos gases (CO_2 y H_2) si se realiza por arqueas metanogénicas hidrogenotróficas se obtiene metano y agua, tal como el proceso de la reacción de Sabatier liberando una energía libre de Gibbs de $\Delta G^{\circ} = -130.7$ KJ/mol a pH 7. En cambio, si esta conversión de gases se da por bacterias homoacetogénicas se obtiene como producto acetato y agua y esta reacción si se realiza a pH neutro se tiene un energía libre de Gibbs de $\Delta G^{\circ} = -104.5$ KJ/mol.

Estudios como los de (Demler & Weuster-Botz, 2011) y demostraron que el aumento de la presión parcial de hidrógeno también aumenta la producción de acetato para algunas especies de arqueas como

Acetobacterium homoacetogénica. A pesar de que esta ruta provee menor energía para los microorganismos (-104.5 KJ/mol) comparada con la reacción de biometanización (-130.7 KJ/mol), una manera de compensar la menor ganancia de energía de la homoacetogénesis, es que el acetato que producen las bacterias oxidantes junto con las arqueas metanogénicas acetoclásticas pueden llevar la reacción de metanogénesis por microorganismos metanogénicos acetoclásticos y obtener una energía libre de Gibbs de $\Delta G^{\circ} = -31$ KJ/mol. Tal como se muestra a continuación.



Reacciones de Sabatier, homoacetogénesis y metanogénesis acetoclástica.

La adición de CO₂ al reactor también trae efectos; el dióxido de carbono es muy soluble, por lo tanto, dentro del digestor reacciona con iones hidróxido para formar iones bicarbonato (HCO₃⁻) que aumenta la capacidad buffer (O'Shea, Wall, Kilgallon, Browne, & Murphy, 2017). El consumo de CO₂ para formar metano, hace que disminuya la presión parcial de este gas y por lo tanto la capacidad de amortiguación también baja lo que provoca un aumento del pH, que tiene un efecto negativo sobre la metanogénesis (Wang, Xie, Luo, Zhou, & Angelidaki, 2013), de esta manera es importante la relación 4:1 de CO₂:H₂. El intervalo de pH de la metanogénesis es de 6 a 8.5. Si el pH es menor a 6, se favorece la producción y acumulación de ácidos grasos volátiles (AGV), lo que impide la capacidad de los metanógenos para poder llevar la metanización. En la modalidad in situ, que se explica más adelante, si no se favorece el pH de la metanogénesis, se tendrá mayor producción de ácidos grasos (si pH<6), mayor cantidad de bacterias acidogénicas y menor concentración de metano en el afluente.

En las plantas de biogás, donde se quiere llevar a cabo o donde ya se realiza la biometanización, encontramos la presencia de bacterias oxidantes, de bacterias productoras de ácidos grasos volátiles, de arqueas metanogénicas principalmente. Es por eso por lo que la presencia de AGV's afecta el pH y la disponibilidad de los iones amonio. Bajos valores de pH y altas concentraciones de iones amonio pueden afectar la metanogénesis (Bornhöft, Hanke-Rauschenbach, & Sundmacher, 2013).

La biometanización se puede realizar en dos diferentes modalidades, in situ y ex situ. El proceso in situ, consiste en añadir directamente una corriente de H₂ al digestor anaerobio donde se produce el biogás (CH₄/CO₂). Sin embargo, esta acción es muy difícil, ya que las condiciones esenciales de temperatura y

presión (termofílicas y altas presiones) (Götz et al., 2016) que necesitan los microorganismos hidrogenotróficos, son más difíciles de mantener a diferencia de la modalidad de ex situ, donde el control de pH, temperatura, presión parcial y producción y/o acumulación de ácidos grasos volátiles es más fácil (Luo & Angelidaki, 2012). Es importante entender que en esta modalidad in situ no hay adición de dióxido de carbono, el propio CO₂ contenido en el biogás del proceso de digestión anaerobia de materia orgánica es el que reacciona.

Otra dificultad para alcanzar buenas proporciones de metano en el proceso in situ, es la falta o baja sintrofia entre microorganismos, esto quiere decir que hay algunas reacciones de oxidación-reducción que no son termodinámicamente favorables (tienen ΔG positivo) es decir, que los microorganismos no obtienen energía para su mantenimiento o crecimiento celular, a diferencia de otras reacciones que si son favorables (ΔG negativo) de las cuales si obtienen energía suficiente. Lo que se espera es que estas reacciones sean acopladas entre microorganismos para que se obtenga un mismo objetivo, que es la conversión a metano y crecimiento de los microorganismos de interés.

Por ejemplo, en las siguientes ecuaciones se muestra la energía requerida o liberada que se necesita para poder llevar a cabo: dos procesos. La bacteria acetogénica que convierte el etanol en ácido acético e hidrógeno tiene un ΔG=5.95 KJ lo que significa que es no favorable, en cambio la reacción para convertir dióxido de carbono e hidrógeno en metano tiene un ΔG= -130.7 KJ, lo que significa que es una reacción espontánea o favorable.

Bacteria acetogénica $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} + \text{H}_2\text{O} = \text{CH}_3\text{COOH} + 2\text{H}_2$ ΔG = 5.95 kJ/reacción

Arquea Metanogénica Hidrogenotrófica $2\text{H}_2 + 0.5\text{CO}_2 = 0.5\text{CH}_4 + \text{H}_2\text{O}$ ΔG= - 130.7 kJ/reacción

La ventaja principal de esta opción in situ, es que no se requiere inversión adicional para un segundo reactor. Sin embargo, ocurre una competencia entre diferentes procesos propios de la digestión anaerobia (ver Figura 1), y resulta más costoso y difícil controlar las condiciones óptimas para que se lleve a cabo el proceso de biometanización, además de los otros procesos propios de generación de biogás. En los procesos in situ el aprovechamiento de la inyección de H₂ no es el adecuado porque se pueden catalizar diversos procesos que no necesariamente llevan a mejorar el porcentaje de CH₄ en el biogás, esto, además, acarrearía un incremento en los costos de producción de biometano.

En la Tabla 4, se describen algunos estudios que se han reportado acerca del proceso de biometanización en la modalidad **in situ y ex situ**.

Varios autores han estudiado la adición de hidrógeno en un digestor anaerobio, tal es el caso de (Mulat et al., 2017), demostrando así que la adición ideal de H₂, debe estar relacionada a la relación estequiométrica 4:1 de H₂:CO₂. (Marko Burkhardt & Busch, 2013) estableció que la relación H₂:CO₂ debe

ser de 3.76:1 y (Jürgensen, Ehimen, Born, & Holm-Nielsen, 2015) encontró que la relación debe ser de 3.4:1.

(Bassani et al., 2016), utilizaron en un reactor granular (UASB) conectado a una cámara separada, donde se inyectó H_2 . Diferentes materiales de empaque (anillos rashig y esponja cerámica de alúmina) se utilizaron para aumentar la transferencia de masa gas-líquido. También se aumentó la transferencia de masa gracias a la recirculación de líquidos y gases. El gas fue suministrado mediante difusores de cerámica con la finalidad de disminuir el tamaño de las burbujas y así aumentar la transferencia de masa. Gracias a esta configuración, se obtuvo una concentración de metano en el efluente de 82%.

En el estudio de (Marko Burkhardt & Busch, 2013) se utilizó un reactor de lecho escurrido de tres fases (fase gas-fase líquida-biopelícula), con la novedad de que la fase líquida estaba por debajo de la cama empaca donde crecía la biopelícula. Se suministró biogás con una composición 70:30 $CH_4:CO_2$, obteniendo una conversión de 97,9% de biometano, gracias a la actividad microbiana del consorcio, el cual operó a 37°C.

Para el estudio de (Jürgensen et al., 2015) se alimentó el reactor con una corriente de biogás sintético de composición 64% metano y 32.5% de CO_2 , donde se suministró en relación estequiométrica de $H_2:CO_2$ 3.4:1 para realizar la biometanización, encontrándose que si la relación $H_2:CO_2$ es mayor a cuatro (>4) el dióxido de carbono es casi 100% convertido en metano; sin embargo, se encontró H_2 en la corriente de biometano. Además, se alcanzó un índice de Wobbe (el cual se explica en la introducción, ver antecedentes) necesario para cumplir con los estándares del gas natural 46.1 - 56.5 MJ/m³.

La segunda modalidad, **ex situ**, consiste en la inyección de H_2 y/o de CO_2 (cuando este es requerido), en la mayoría de los casos se hace uso del biogás proveniente del digestor, para que en un reactor independiente a la digestión anaerobia enriquecido con microorganismos hidrogenotróficos, se lleve a cabo la reacción de CO_2 e H_2 y de esta manera aumente la proporción de metano en el afluente. Esta modalidad permite incrementar el poder calorífico del gas metano debido a que no existe limitación en la fuente de carbono. Además, otra ventaja es que, al llevarse a cabo en un reactor diferente, las condiciones de operación pueden ser controladas más fácilmente que en el proceso in situ, y así puedan prevalecer las condiciones óptimas de establecimiento de los microorganismos metanógenos hidrogenotróficos (Wang et al., 2013).

Dentro de la modalidad ex situ, de acuerdo con la Tabla 4, los principales reactores que se han utilizado son CSTR con rendimientos mayores del 82% de CH_4 (Martin, Fornero, Stark, Mets, & Angenent, 2013), Reactor de lecho continuo con rendimientos mayores al 98% de CH_4 (M. Burkhardt, Koschack, & Busch, 2015) y reactores de membranas con >90% CH_4 (Bernacchi, Rittmann, H. Seifert, Krajete, & Herwig, 2014).

Para el caso del estudio de (Díaz, Pérez, Alfaro, & Fdz-Polanco, 2015), se utilizó un bioreactor metanogénico con la cualidad que dentro de este se colocaron membranas huecas con diámetro de 0.4 μm con la finalidad de poder suministrar los gases (CO_2/H_2) y de esta manera aumentar la solubilidad del H_2 . La proporción de metano obtenida en este estudio aumentó de 60 hasta el 95%. (Savvas, Donnelly, Patterson, Chong, & Esteves, 2017) utilizó un reactor de flujo tapón con gases CO_2 y H_2 a 37°C para realizar la producción de metano donde obtuvo una eficiencia de conversión de biometano de 98%.

Se han realizado estudios donde se han determinado especies de metanógenos hidrogenotróficos a partir de técnicas de biología molecular encontrando las siguientes especies encargadas de la biometanización. En el estudio de (Díaz et al., 2015) el microorganismo responsable fue *M. thermoautotrophicum* y *Methanococcus thermolithotrophicus*. (Savvas et al., 2017), los microorganismos responsables fueron *Methanosaeta concilii*, *Methanosarcina barkeri*, *Methanobacterium bryantii*, *Methanomicrobium mobile*, *Methanococcus voltae*. Todas estas especies pertenecientes al grupo de microorganismos hidrogenotróficos. (Kougias et al., 2017), el microorganismo dominante es *Methanothermobacter thermautotrophicus*. (Bassani et al., 2017a) las pruebas moleculares indicaron la presencia de *Anaerobaculum* y *Methanothermobacter thermautotrophicus*. (Luo & Angelidaki, 2012), la especie de microorganismos dominante fue *Methanobacteriales*. (Bassani, Kougias, Treu, & Angelidaki, 2015), *Clostridiales*, *proteobacteria*, *desulfobulbaceae*, *phylum bacteroidetes*, *Thermoanaerobacteraceae*, *Methanoculleus* y *Methanoregulaceae*. (Rachbauer, Beyer, Bochmann, & Fuchs, 2017), encontraron que las especies presentes en mayor cantidad en el reactor fueron *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Chloroflexi*, *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Spirochaetes* y *Synergistetes*, todas estas especies perteneciente al grupo de microorganismo hidrogenotróficos.

(Agneessens et al., 2017) realizaron la purificación de biogás ex situ en botellas serológicas inyectando diferentes concentraciones de H_2 , y obtuvieron una buena transferencia de masa de H_2 y porcentajes de CH_4 en el biogás de 59 a 100%.

Se han llevado a cabo estudios donde se ha estudiado el efecto de los difusores de gases; por ejemplo, (Kougias et al., 2017) estudiaron la transferencia de hidrógeno mediante la operación de cuatro reactores en lote a 65°C , alcanzando concentraciones de metano de 86, 86, 54 y 98% en los reactores del 1 al 4, encontrando en el cuarto reactor de 98% gracias a la biopelícula que se formó en los difusores de gases. (Bassani et al., 2017a) realizaron un estudio utilizando 4 reactores de flujo ascendente en donde una mezcla de gases H_2 , CH_4 y CO_2 en proporción 62:23:15 fueron continuamente alimentados en los reactores operados a condiciones termofílicas (55°C) y pH de 6.5 a 8.5. La configuración de los 2 primeros reactores consistió en utilizar difusores de cerámica de alúmina de diferente diámetro con la finalidad de reducir el tamaño de las burbujas de H_2 y así aumentar el tiempo de contacto con los microorganismos.

(Guneratnam et al., 2017) y (Bassani et al., 2015), estudiaron el efecto de dos temperaturas en el proceso de biometanización. Guneratnam estudió temperaturas de 55 y 65°C, en reactores tipo CSTR operados en lote, encontrándose que a 55°C se obtuvo una concentración de 85% y a 65°C una concentración de metano de 88%. (Bassani et al., 2015), estudiaron el efecto de temperatura de 35 y 55°C, encontrando que a 35°C se obtiene una composición de 85 y a 55°C composición de 89% al utilizar 2 reactores CSTR en dos etapas, es decir, en la primer etapa se generó el biogás y en la segunda se añadió H₂ al reactor.

En el estudio realizado por (Wang et al., 2013), se centró en la conversión de CO₂ e H₂ en metano en un reactor de membranas de fibras huecas, donde los gases se hacían pasar por las membranas para ayudar a aumentar la transferencia de masa. Los responsables de la conversión, de acuerdo con estudios moleculares, fueron *Firmicutes*, *Proteobacteria* y *Bacteroidetes*.

Seifert et al., 2011, realizaron un estudio donde se acopló la electrólisis del agua (donde se produce H₂) con un reactor CSTR con entrada de CO₂ e hidrógeno proveniente de la electrólisis del agua. Los responsables de realizar la conversión fueron un consorcio microbiano donde se encontró una concentración de metano de 98%. Lo importante de este estudio, es recalcar la importancia del almacenamiento del hidrógeno, ya que en varios países se carece de instalaciones adecuadas para almacenar H₂, además de lo peligroso que resulta, ya que cuando es almacenado a altas presiones (>100atm) se corre el riesgo de una explosión. Gracias a este estudio, una nueva opción de almacenamiento de H₂ es la conversión biológica a biometano.

(Rachbauer, Voitl, Bochmann, & Fuchs, 2016a), realizaron un estudio en un reactor de lecho empacado donde se alimentó biogás con composición de 36–42% de CO₂ proveniente de una planta de digestión anaerobia e hidrógeno molecular a una carga de 6.5 m²H₂/m³ de reactor. Se obtuvo una composición de CH₄ del 96% gracias a la biopelícula que se formó en el material de soporte.

El estudio realizado por (Alitalo, Niskanen, & Aura, 2015) consistió en dos bioreactores (de lecho empacado) en serie conectados a un sistema de recirculación, con suministro de H₂ y CO₂. Donde el material de empaque fueron hojas de vermiculita y perlita granular donde los microorganismos se adhirieron. Se demostró que se puede obtener una producción de metano eficaz con una estructura de reactor relativamente simple y sin agitación mecánica o reciclado continuo.

Tabla 4. Estudios reportados de biometanización in situ, ex situ, bioproductos

In situ, Ex situ, Bioproductos	Proceso	Microorganismo / Bioproducto	Porcentaje de metano obtenido	Referencia
In situ	Botellas en lote	<i>Methanobacterium</i>	89%	Mulat et al., 2017
	Reactor de lecho escurrido	Consortio microbiano de Microorganismo hidrogenotróficos	98%	Burkhardt & Bush, 2013
	Reactor UASB conectado a una cámara de H ²	Consortio microbiano de Microorganismo hidrogenotróficos	82%	Bassani et al., 2016
	Digestor anaerobio	Consortio microbiano	92%	Jürgensen et al., 2014

Continuación Tabla 4. Estudios reportados de biometanización in situ, ex situ, bioproductos

In situ, Ex situ, Bioproductos	Proceso	Microorganismo / Bioproducto	Porcentaje de metano obtenido	Referencia
Ex situ	CSTR en dos etapas a condiciones termofílicas	<i>Clostridiales, proteobacteria, desulfobulbaceae, phylum bacteroidetes, Thermoanaerobacteraceae, Methanoculleus y Mehanoregulaceae</i>	89% y 85%	Bassani & Angelidaki, 2015
	Burbujeo de gas en bioreactor de membranas	Consortio microbiano de Microorganismo hidrogenotróficos	95%	Díaz et al., 2015
	Flujo tapón con soporte de ruedas de polietileno como soporte	<i>Methanosaeta concilii, Methanosarcina barkeri, Methanobacterium bryantii, Methanomicrobium mobile, Methanococcus</i>	99%	Savvas et al., 2017
		<i>voltae,</i>		
	CSTR - 6 diferentes experimentos en lote	<i>Methanobacterium y Methanobacteriales</i>	59-100%	Agneessen et al., 2017
	CSTR con membrana de fibras huecas colocadas dentro del reactor	<i>Firmicutes, Proteobacteria and Bacteroidetes</i>	99%	Wang et al., 2013
	4 reactores operados en lote, adición de CO ₂ e H ₂ .	<i>Methanothermobacter and Methanoculleus</i>	98%	Kougias et al., 2016
	Reactores de flujo ascendente	<i>Anaerobaculum & Methanothermobacter thermotrophicus.</i>	96%	Bassani et al., 2017
	Acoplación de electrolisis microbial (MEC) y digestión anaerobia.	<i>Methanospirillum</i>	98%	Tao Bo et al., 2014
	CSTR a escala piloto	Consortio microbiano de Microorganismo hidrogenotróficos	87%	Nordberg et al., 2011

Continuación Tabla 4. Estudios reportados de biometanización in situ, ex situ, bioproductos

In situ, Ex situ, Bioproductos	Proceso	Microorganismo / Bioproducto	Porcentaje de metano obtenido	Referencia
Ex situ	CSTR a diferentes condiciones de temperatura	<i>Methanobacterales</i>	95%	Luo et al., 2012
	CSTR a diferentes condiciones de temperatura	<i>Methanothermobacter</i>	90%	Guneratnam et al., 2016
	CSTR conectado a corriente de electrólisis para obtener H ₂	Consortio microbiano de Microorganismo hidrogenotróficos	95%	Seifert et al., 2011
	Reactor de lecho empacado	Biopelícula de arquea metanogénica	96%	Rachbauer et al., 2016
	Reactor termofílico de lecho ascendente	<i>Methanothermobacter thermautotrophicus</i>	96%	Bassani et al., 2017
	Reactor de lecho empacado	<i>Methanobacterium</i>	87%	Rachbauer et al., 2017
	Reactor de lecho empacado con vermiculita y perlita granular	Consortio microbiano	90%	Alitalo et al., 2015

Continuación Tabla 4. Estudios reportados de biometanización in situ, ex situ, bioproductos

In situ, Ex situ, Bioproductos	Proceso	Microorganismo / Bioproducto	Porcentaje de metano obtenido	Referencia
Bioproductos	Biometanización y pirólisis	Syngas, biochar, biometano	67%	Salman et al., 2017
	Digestor Anaerobio	CO > C ₂ H ₆ > MeOH > C ₂ H ₄ > DME	92%	Jürgensen et al., (2014)
	Biometanización y Electrocoagulación del agua	<i>Methanosaeta</i> , <i>Methanospirillum</i>	97%	Kim et al., 2013

Otro de los grandes beneficios de la biometanización es la generación de subproductos, que son producidos a la par de la biometanización, es decir, son generados por los microorganismos participantes presentes en la biometanización, pero no son considerados el producto principal de la reacción. Entre algunos de ellos podemos encontrar CO, C₂H₆, C₂H₄, carbono en estado sólido, entre otros. Como el caso del estudio realizado por Jürgensen et al., (2014), donde se encontró una concentración muy baja de subproductos (>100 ppm) encontrándose en el siguiente orden CO > C₂H₆ > C₂H₄. Donde el CO fue el único en contenido mayor al 1%, fueron obtenidos a condiciones de temperatura alta (250°C) y presión atmosférica.

En esta sección también se consideraron aquellos estudios los cuales se ha implementado una fusión de dos tecnologías; por ejemplo, la biometanización acoplada a un proceso de pirólisis que investigó (Salman, Schwede, Thorin, & Yan, 2017) En este estudio se acopla la digestión anaerobia de la fracción biodegradable de los desechos con la pirólisis de residuos lignocelulósicos. A diferencia de la digestión convencional que se alcanza 52% de metano aproximadamente, con esta nueva modalidad se llegó hasta contenido de metano de 67%. La adición de biochar (uno de los tres productos de la pirólisis) ayuda a incrementar de 5 a 31% el contenido de biometano. El syngas (producto de la pirólisis) fue alimentado a un reactor para convertirlo en biometano bajo condiciones de 300°C de temperatura y 6 bar de presión. Además, la pirólisis produce calor, el cual puede ser utilizado en la digestión anaerobia.

Para el estudio realizado por (Kim, Choi, & Chung, 2013) se utilizó el CO₂ proveniente de industria electrónica y el H₂ se obtuvo de la electrocoagulación del agua residual de la industria. En el estudio se varió la relación estequiométrica de CO₂:H₂ (1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6, 1:7 y 1:8) encontrando que a mayores

inyecciones de H₂ aumentó la producción de CH₄ y éste disminuyó bruscamente cuando la proporción de H₂ a CO₂ en la inyección superó la relación 1: 6. La producción de CH₄ alcanzó su punto máximo cuando esta proporción alcanzó 1:5, indicando que se requiere de H₂ que exceda el valor teórico (1: 4).

1.6.1 Microorganismos involucrados en el proceso de biometanización

Como se puede observar en la Tabla 4, los principales microorganismos involucrados en la biometanización caen dentro del grupo *Methanobacteriales*, *Methanococcales*, *Methanomicrobials* y *Methanosarcinaceae* los cuales pueden ser enriquecidos a condiciones mesofílicas y termofílicas (Baserba, Angelidaki, & Karakashev, 2012). La especie *Methanosarcinaceae*, tiene la capacidad para utilizar acetato, CO₂/H₂, metanol, aunque tiene mayor afinidad al consumo de CO₂/H₂, es por eso por lo que se ha reportado en varios estudios.

Tabla 5. Microorganismos estudiados en el proceso de generación de biogás.

Microorganismo	Descripción	Referencia
<i>Bacteroidetes</i> , <i>Proteobacteria</i> , <i>Firmicutes</i> y <i>Actinobacteria</i>	Hidrólisis de polisacáridos y proteínas	(Kougias et al., 2015).
<i>Firmicutes</i> y <i>Proteobacteria</i>	Bacterias acetogénicas y sintróficas que pueden degradar AGV's	(Schmidt et al., 2011).
<i>Methanosaeta</i>	Acetoclásticos	Guneratnam et al., 2016).
<i>Methanosarcina</i>	Acetoclásticos e hidrogenotróficos. Aparecen cuando los niveles de AGV's son muy bajos	(Guneratnam et al., 2016). (Angelidaki, 2015)
<i>Methanobacteriales</i>	Hidrogenotróficos	(Luo et al., 2012).
<i>Desulfobulbus propionicus</i> y <i>Desulfurivibrio</i> <i>alkaliphilus</i>	Hidrogenotróficos termófilos	(Bassani & Angelidaki, 2015).

<i>Bacteroides, Cellulophaga</i> y <i>Flavobacterium</i>	Producen ácidos orgánicos, CO ₂ y H ₂ a partir de carbohidratos, lípidos y proteínas	(Hanreich et al., 2013)
<i>Clostridiales</i>	Realizan hidrólisis de la celulosa, que corresponde a la primer etapa para la generación de biogás	(Wang et al., 2014).

En la Figura 2 se representa las rutas metabólicas, acorde a la presión parcial de hidrógeno y la energía libre de Gibbs, que se obtienen de la reacción. De este modo, a bajas presiones parciales de hidrógeno y energía libre de Gibbs alta, es decir, con signo negativo, la producción de Propianato es más favorable. En cambio, si en el reactor se tuviera gran cantidad de acetato, los microorganismos tenderían a la ruta de la metanogénesis acetoclástica ya que esta reacción tiene un ΔG más negativo que la ruta hidrogenotrófica.

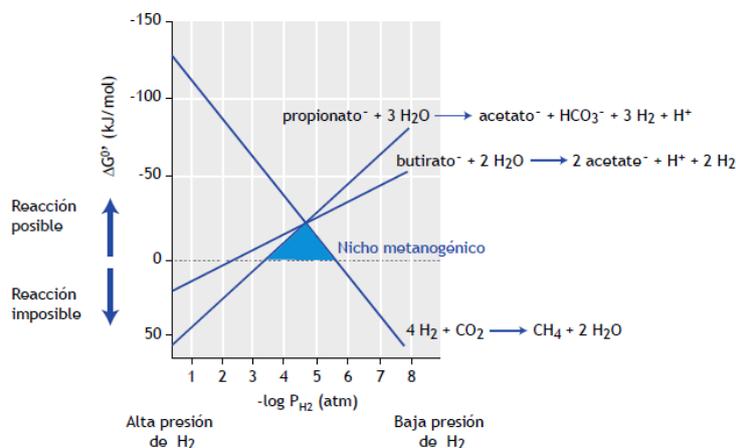


Figura 2. Presión parcial del gas hidrógeno y tendencia a rutas metabólicas (Romero Zúñiga, 2001).

1.7 Sistemas de partición de dos fases

Los biorreactores de partición de dos fases (TPPB) han demostrado ser una tecnología eficaz para reducir la toxicidad que se origina a partir de altas concentraciones de sustancias xenobióticas en los procesos de biodegradación (Amsden, Bochanyasz, & Daugulis, 2003). Así mismo, los TPPB se han utilizado para eliminar compuestos orgánicos volátiles (COV) de corrientes de gas contaminadas o para minimizar la toxicidad de altas cargas de compuestos inhibitorios.

La tecnología de biorreactor de partición bifásica puede mejorar la eficiencia de los procesos de bioconversión al reducir las concentraciones de sustrato y/o producto por debajo de los niveles citotóxicos (Haddock, Nadim, & Gibson, 1993). Es importante mencionar que la tecnología de los reactores de dos fases ha sido estudiada por diferentes autores y han comprobado que la interfaz sólido-líquido, gas-líquido y líquido-líquido permite ayudar a los microorganismos a tener menor contacto con sustancias tóxicas que causan la inhibición o muerte celular y a suministrar en concentraciones menores estas sustancias a los microorganismos, los cuales tomarán al sustrato de acuerdo con su velocidad de crecimiento (Raúl Muñoz, Daugulis, Hernández, & Quijano, 2012). Los TPPB con fases sólidas y líquidas están compuestos por una fase acuosa que contiene células y una fase polimérica sólida que separa sustratos tóxicos y/o poco solubles (Rehmann & Daugulis, 2007) o por fases líquidas, generalmente hidrófobas (oleosas), que mejoran el transporte de sustratos poco solubles, ver Figura 3. A continuación, se describe la particularidad de los reactores de dos fases.

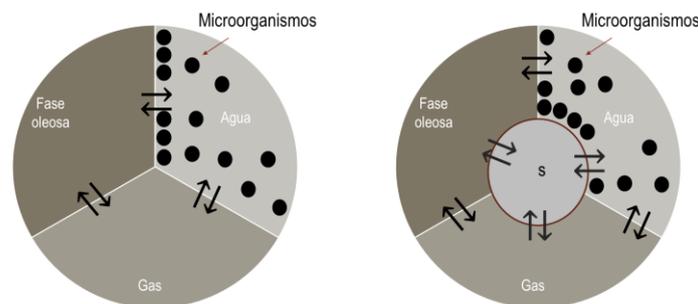


Figura 3 . Transferencia de masa parcial en TPPBs considerando biomasa suspendida en fase acuosa (a) e incluyendo una fase sólida usada como soporte para crecimiento de biomasa (b) (Quijano & Hernandez, 2009).

Los TPPBs se caracterizan por poseer una fase acuosa que contiene el cultivo microbiano o los microorganismos de interés y una segunda fase líquida o sólida inmiscible (pudiendo ser un disolvente orgánico o polímero sólido). La adición de una segunda fase no acuosa nos permite superar dos limitaciones principales encontradas durante la biodegradación de contaminantes: 1) La alta toxicidad de algunos contaminantes que resulta en la inhibición celular y 2) un suministro limitado de sustrato a la comunidad microbiana, proceso que resulta al tratar un contaminante con baja afinidad por el agua (Quijano, Couvert, & Amrane, 2010) o algún compuesto indispensable en alguna ruta metabólica.

Es por eso que la fase no acuosa, retiene selectivamente las moléculas tóxicas lejos de las células cuando estas se exponen a altas concentraciones de sustrato y lo convencional de esta segunda fase es que facilitan la entrega de los sustratos a los microorganismos paulatinamente (Daugulis, 2001). De esta manera, la presencia de una fase inmiscible en agua mejora la transferencia de sustratos hidrófobos (por

ejemplo, hexano, oxígeno, hidrógeno, entre otros) o reduce la toxicidad de sustancias inhibitoras (por ejemplo, benceno, tolueno, etc.) a los microorganismos presentes en la fase acuosa (Raul Muñoz, Villaverde, Guieysse, & Revah, 2007).

La partición o racionamiento del sustrato es inducida por el sistema que busca mantener el equilibrio termodinámico entre ambas fases. Donde la primera acción que ocurre es la absorción del sustrato al momento de su adición al sistema, conocida como la fase de secuestro (fase inmisible), la segunda acción es la liberación del sustrato en la fase líquida cuando la concentración de la sustancia o contaminante disminuye (se consume) debido a la biodegradación realizada por los microorganismos presentes, es por eso que se da un desplazamiento del equilibrio de manera paulatina donde los microorganismos presentes consumen el sustrato disponible en la fase orgánica y permite la absorción o transferencia del contaminante o sustrato hacia dicha fase (Amsden et al., 2003).

(Raul Muñoz et al., 2007) sugieren que la fase acuosa puede estar formada de hexadecano, aceite de silicona o perlas de polímero, ya que el mecanismo de sorción que se da al utilizar polímeros es la absorción o disolución del sustrato en la estructura polimérica y es independiente de la superficie de contacto, en contraste con el carbón activado granular, que se fabrica para poseer una gran área de superficie específica para la adsorción de moléculas orgánicas (Amsden et al., 2003).

De acuerdo con (Daugulis, 2001), la fase no acuosa adecuada para uso en TPPBs debe poseer las siguientes características; ser de bajo costo, fácilmente disponible, inmisible en agua, no biodegradable, biocompatible (es decir, no tóxica para los microorganismos) y tener una alta afinidad a los sustratos.

El primer paso para evaluar la idoneidad de una fase no acuosa que se va a usar como fase de partición en un TPPB es determinar la capacidad de absorción del compuesto a eliminar, que se expresa por el coeficiente de partición (PC) y es la relación de las concentraciones del compuesto en las fase gaseosa y en la fase líquida o sólida en el equilibrio (Tomei, Mosca Angelucci, & Daugulis, 2016). En cuanto menor sea el coeficiente de partición, mayor será la capacidad de absorción de la fase no acuosa y de eliminar la sustancias tóxicas o hidrofóbicas (Bacon, Peterson, Daugulis, & Parent, 2015).

La capacidad de los reactores de partición para eliminar contaminantes en fase gaseosa ha sido reportada previamente, sobre todo para eliminar compuestos hidrofobos del aire (Raúl Muñoz, Arriaga, Hernández, Guieysse, & Revah, 2006).

Para abordar el presente trabajo de investigación, se planea hacer uso de las capacidades que brindan los sistemas de partición de dos fases en cuanto a la mejora del transporte de masa de gases hidrofóbicos. Durante el proceso de enriquecimiento de biogás una de las limitantes es la baja transferencia de masa de H_2 a los microorganismos que se encuentran en fase acuosa como ya se

mencionó anteriormente se han reportado estrategias para mejorar esta transferencia como el aumento en la presión del sistema para mejorar la solubilidad de los gases o se han utilizado diversos tipos de reactor; sin embargo, en este trabajo se abordará la limitante de transporte de masa de H_2 a través del uso de sistemas de partición líquido-líquido. Hasta el momento, no se han reportado estudios del uso de reactores de partición para el enriquecimiento de biogás.

Capítulo 2. Hipótesis y Objetivo

2.1 Hipótesis

La adición de una fase oleosa a los sistemas de purificación de biogás en presencia de microorganismos hidrogenotróficos favorecerá el transporte de masa de los gases H_2 y CO_2 a los microorganismos. Se espera que la fase oleosa al ser de naturaleza hidrofóbica sirva como un reservorio para capturar los gases y así estos gases aumenten su solubilidad y estén más disponibles para los microorganismos.

2.2 Objetivo general

Estudiar el proceso de biometanización ex situ de biogás a través de microorganismos hidrogenotróficos en experimentos de una y dos fases.

Capítulo 3. Desarrollo Experimental

La estrategia metodológica de este proyecto se realizó en cinco fases experimentales. Siendo la primer fase experimental la caracterización fisicoquímica del inóculo proveniente de Casa Herradura. En la misma fase experimental se determinó la actividad metanogénica, con el objetivo de cuantificar la capacidad de producción de metano por el consorcio microbiano presente en el inóculo. En la siguiente fase experimental se realizaron las pruebas de toxicidad y biodegradabilidad con aceite de silicona (polidimetilsiloxano) como fase oleosa modelo a través de la inyección de dos gases (H_2 y CO_2) o tres gases (H_2 , CO_2 y CH_4) para simular condiciones más cercanas al biogás. En la tercera fase experimental se determinaron los coeficientes de partición de la fase oleosa y medio mineral con el objetivo de conocer la sorción de los gases. En la cuarta fase experimental se realizó la aclimatación del inóculo a condiciones hidrogenotróficas para propiciar el crecimiento de los microorganismos de interés. Durante la última fase experimental se realizaron cinéticas de biometanización con y sin fase oleosa y con dos o tres gases inyectados a escala laboratorio en lote con el objetivo de analizar la producción de metano.

3.1 Inóculo y medio mineral

El inóculo utilizado fue obtenido de la planta de tratamiento de aguas residuales de la industria tequilera Casa Herradura, ubicada en Guadalajara, Jalisco, México.

Para poder mantener una buena actividad microbiana, en todos los experimentos se utilizó la siguiente composición de medio mineral.

Tabla 6. Composición de medio mineral (Ju et al., 2008)

Compuesto	Concentración (mg/L)
$MgCl \cdot 6H_2O$	16.05
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	1.20
$ZnCl_2$	5.91
$Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$	1.29
$MnCl_2 \cdot 4H_2O$	13.19
$CuCl_2 \cdot 2H_2O$	2.69
$CoCl_2 \cdot 2H_2O$	0.30

KCl	1.00
FeCl · 6H ₂ O	5.23
NaCl	200
(NH ₄) ₂ HPO ₄	200

3.1.1 Caracterización del inóculo.

La caracterización fisicoquímica del inóculo se realizó de acuerdo con *APHA (2005)*, (American Public Health Association, American Water Works Association, & Water Environment Federation, 1999). El cual consistió en poner a peso constante tres crisoles en una estufa a 100°C por 2 horas y se registró el peso, después se le agregó un gramo de lodo, el cual contenía la menor cantidad de líquido. Los sólidos suspendidos totales se midieron después de dejar secar las cápsulas a 105 °C durante 12 horas. Posteriormente, los crisoles se colocaron en una mufla a 550°C durante 1 hora, se dejaron enfriar en un desecador para después ser pesados y poder determinar la cantidad de sólidos suspendidos fijos. Los sólidos suspendidos volátiles se calcularon mediante la diferencia entre los sólidos totales y los sólidos fijos.

Así mismo, se determinó el tamaño de gránulo, utilizando una solución buffer y haciendo pasar por tamices de diferentes diámetros el inóculo, para conocer el análisis granulométrico. Para determinar el índice granulométrico, se deberá preparar una solución buffer con los reactivos de la Tabla 7.

Tabla 7. Composición de solución buffer para determinación de análisis granulométrico.

Compuesto	Concentración (g/L)
Fosfato disódico (Na ₂ HPO ₄)	5
Fosfato sódico (NaH ₂ PO ₄)	1
Fosfato dipotásico (K ₂ HPO ₄)	4

Para conocer el tamaño de gránulo del lodo se hizo pasar una alícuota de 25 mL de muestra del inóculo por tamices de 2.36 mm, 1.7 mm, y 90 µm utilizando 35 mL de la solución buffer.

Posteriormente, se determinó el pH del inóculo con la ayuda de Thermo Electron Orion 4 Star previamente calibrado a pH de 4.1, 7 y 10.1 para medir las muestras, las cuales consiste en tomar una alícuota de 10 mL del inóculo y utilizar el electrodo de pH.

3.1.2 Actividad metanogénica.

La actividad metanogénica específica (AM) es conocida como la producción de metano por lodo granular. Para determinar la actividad metanogénica se emplearon botellas serológicas de 60 mL de volumen total con 30 mL de medio basal (Tabla 6) y una concentración de 3 g SSV/L (Xu et al., 2015), concentración de acetato de 2 g DQO/L. Las botellas fueron selladas con tapones de hule y anillos metálicos. Además, se intercambiaron la atmósfera de las botellas mediante la inyección de N₂ por 1 min para obtener condiciones anaerobias. Las botellas se incubaron a 37°C durante 72 h, una vez transcurrido este tiempo se decantó el medio de las botellas y se repuso con medio mineral nuevo, así como 1 g DQO/L. Nuevamente se realizó el intercambio de atmósfera, antes descrito, y se incubaron a 37°C. Adicionalmente, se realizó un control (respiración endógena) el cual contenía las mismas concentraciones de inóculo y medio mineral, pero sin acetato. Para conocer la cantidad de metano producido en las botellas se determinó mediante la técnica de volumen desplazado con una solución de NaOH al 3% (Torres & Perez, 2010), analizando las muestras cada 1, 2 o 3 horas, respectivamente. Para conocer la actividad metanogénica se calculó a partir de la pendiente del volumen de metano acumulado en el tiempo dividido entre la concentración de SSV presentes en la botella.

La composición del medio mineral que se utilizó en los experimentos de determinación de actividad metanogénica se encuentra descrito en la Tabla 8 para 500 mL de solución.

Tabla 8 . Composición medio mineral para actividad metanogénica. Adaptado de (Visser, 1993).

Compuesto	g
K ₂ HPO ₄	1.25
NH ₄ Cl	0.140
MgCl ₂ · 6H ₂ O	0.415
CaCl ₂ · 2H ₂ O	0.005
NaHCO ₃	1.25
Extracto de levadura	0.05

3.2 Pruebas de toxicidad y biodegradabilidad

Se realizaron pruebas de toxicidad y biodegradabilidad para el aceite de silicona con la presencia de dos gases H₂:CO₂ en proporción 80:20 y pruebas con tres gases con inyección de metano, dióxido de carbono e hidrógeno en relación 10:6:24, respectivamente. Para lograr el éxito de estos experimentos, se adicionó medio mineral, inóculo, fase oleosa que consistió en aceite de silicona (10%v/v) y gases

correspondientes, selladas con tapones de hule y arillos metálicos así mismo se intercambió la atmósfera de las botellas serológicas con gas inerte nitrógeno para que prevalecieran condiciones anaerobias. Todos los experimentos se realizaron por triplicado con la particularidad que algunos contenían tres gases ($H_2:CO_2:CH_4$) y otro experimentos con dos gases ($H_2:CO_2$). En la Tabla 9 se enlistan los diferentes experimentos que se realizaron durante esta etapa. Las concentraciones de gases fueron monitoreadas mediante cromatografía de gases durante el periodo de tiempo de 23 días.

Tabla 9. Pruebas de toxicidad y biodegradabilidad para experimentos ($H_2:CO_2:CH_4$) y ($H_2:CO_2$).

Tratamiento	H_2 (mL)	CO_2 (mL)	CH_4 (mL)	Fase oleosa (mL)	Medio mineral (mL)	Inóculo (mL)
1	24	6	10	2	11.8	6.2
2	32	8		2	11.8	6.2
3	24	6	10	-	13.8	6.2
4	32	8	-	-	13.8	6.2
5	0	-	-	-	13.8	6.2
6	0	-	-	2	11.8	6.2
7	24	6	10	-	20	-
8	32	8	-	-	20	-
9	24	6	10	2	-	6.2
10	32	8	-	2	-	6.2

3.3 Determinación de coeficientes de partición;

El coeficiente de partición (m) para hidrógeno, metano y dióxido de carbono, fue calculado a partir de la relación que existe entre la concentración en la fase gaseosa y la concentración en la fase líquida (Ec. 1). La concentración de estos compuestos en la fase líquida se obtuvo a través de un balance de masa a partir de la ecuación 2.

Para poder lograr esta etapa de experimentación, se llevó a cabo la medición mediante cromatografía de gases para conocer las concentraciones de los gases inyectados en las botellas serológicas y de esta manera, poder conocer cuál es la cantidad de gas que es transferida a la fase no acuosa/oleosa. Los experimentos se realizaron en botellas de vidrio de 60 mL previamente lavadas con gas inerte nitrógeno

sellados con tapón de hule y arillos metálicos. Los experimentos consistieron en colocar diferentes concentraciones de gases (de 10 a 50 mL respectivamente) para ser monitoreados por cromatografía de gases a las 0, 24, 48 y 72 horas. Se añadieron 10% (v/v) de fase de aceite de silicona y 18 mL para el caso de medio mineral. Las botellas se mantuvieron a una temperatura de 30 °C y agitación de 150 rpm, a manera de permitir el equilibrio entre el aceite de silicona o medio mineral con los gases. Se consideró que al transcurrir el tiempo de 72 horas se alcanzó el equilibrio entre la fase gas y la fase oleosa y las concentraciones de gases medidas por cromatografía a partir de este tiempo fueron constantes. Las muestras de gases fueron tomadas mediante una jeringa Sigma Aldrich con capacidad de 1 mL e inyectadas al cromatógrafo para conocer su composición.

Para conocer las concentraciones de hidrógeno, metano y dióxido de carbono en la fase gas y fase oleosa, se tomaron los resultados obtenidos mediante cromatografía de gases y al utilizar las curvas de calibración de cada gas, se calculó la cantidad de moles presentes en cada muestra. De esta manera, se pudieron conocer las concentraciones de cada compuesto en la fase inicial y a las 72 horas. A continuación, se muestran las ecuaciones utilizadas:

$$H = C_s^g / C_s^l \quad \text{Ec. (1)}$$

Donde:

H es el coeficiente de partición (adimensional)

C_s^g es la concentración del gas (H_2 , CH_4 o CO_2) en la fase gaseosa, (g/m^3)

C_s^l es la concentración del gas en la fase líquida, (g/m^3)

$$C_s^l = C_s^i - C_s^g \quad \text{Ec. (2)}$$

Donde:

C_s^i es la concentración del gas (H_2 , CH_4 o CO_2) inicial, (g/m^3)

C_s^g es la concentración del gas en la fase gaseosa [en equilibrio], (g/m^3)

3.4 Aclimatación del inóculo

El proceso de aclimatación de lodo anaerobio a condiciones metanógenas hidrogenotróficas consistió en incubar el inóculo con el sustrato a degradar a la temperatura óptima de operación para alcanzar el estado estable de los sistemas. Durante el transcurso del periodo de operación se alimentó el sistema con gases (H_2 y CO_2) para propiciar el crecimiento de las arqueas encargadas de la biometanización.

Dado que el lodo que se utilizó proviene de un proceso anaerobio, se puede deducir que existen diferentes microorganismos encargados de realizar la metanogénesis, se pueden encontrar microorganismos metanógenos hidrogenotróficos, acetoclásticos y homoacetogénicos; sin embargo,

como el sustrato que se añadió en la planta de origen es diferente a hidrógeno y dióxido de carbono, la cantidad de hidrogenotróficos es considerada baja, por lo que se requirió hacer pasar el lodo anaerobio por una etapa de enriquecimiento con la finalidad de aumentar la población de dichos microorganismos.

Para poder realizar el enriquecimiento se utilizaron botellas de vidrio con capacidad de 120 mL, donde se colocó lodo anaerobio junto con medio mineral y glucosa en concentración 2 g/L de ser el caso. Previo a la adición de los gases, las botellas fueron llenadas con medio mineral, inóculo y después fueron lavadas con gas inerte nitrógeno para el intercambio de atmósfera posteriormente se añadieron los gases en relación $4\text{H}_2:1\text{CO}_2$, es decir 4 moles de hidrógeno por cada mol de dióxido de carbono.

En la Tabla 10 se puede encontrar las características de cada etapa.

Tabla 10. Etapas de aclimatación

Etapa	Duración (días)	Lodo (mL)	Medio mineral (mL)	H ₂ (mL)	CO ₂ (mL)
Primera	94	60	20	32	8
Lavado de lodo anaerobio					
Segunda (inanición)	23	60	20	32	8

La etapa del lavado de lodo anaerobio consistió en colocar sobre una parrilla de agitación, el lodo anaerobio en 1.6 L agua desionizada para ser agitado durante 12 min, posteriormente se pasó el lodo y agua desionizada por un tamiz de 250 μm para decantar el excedente de agua, dicha maniobra se realizó por triplicado para asegurarse de retirar el remanente de materia orgánica que pudiese estar presente en el inóculo.

3.5 Cinéticas de biometanización con y sin fase oleosa.

Las determinaciones de las cinéticas de biometanización fueron realizadas en botellas serológicas de 60 mL de volumen total y 20 mL de volumen de trabajo (inóculo, medio mineral y fase oleosa de ser el caso) y 40 mL para la fase gaseosa (hidrógeno, dióxido de carbono y metano según corresponda). Para el caso de 2 gases (H₂ y CO₂) se inyectaron gases en relación $32\text{H}_2:8\text{CO}_2$ y cuando se añadió metano a la mezcla se introdujeron en relación $24\text{H}_2:6\text{CO}_2:10\text{CH}_4$, con la finalidad de conocer cuál era el efecto que aportaba el metano en el proceso de biometanización.

Las botellas fueron selladas con tapones de hule y anillos metálicos de aluminio. Para contar con condiciones anaerobias dentro de las botellas, la fase gaseosa fue purgada con una corriente de nitrógeno por 1 min, posteriormente la presión fue equilibrada a la presión atmosférica al provocar la purga de exceso de gas al conectar una aguja conectada a una manguera dentro de un recipiente con agua. Las botellas se incubaron a 37°C y 150 rpm.

Cada tratamiento fue realizado por triplicado y evaluado simultáneamente con experimentos en ausencia de gases para corregir la actividad endógena. La producción de gases fue monitoreada mediante cromatografía de gases cada tercer día con un máximo de duración de 14 días. Las muestras de gases fueron tomadas mediante una jeringa Sigma Aldrich con capacidad de 1 mL e inyectadas al cromatógrafo para conocer su composición. Así mismo, cada botella fue monitoreada con un manómetro para conocer la presión real de cada sistema. Adicionalmente, una vez tomada la muestra para el cromatógrafo y la presión, del sobrenadante se obtenía un 1 mL de solución la cual fue analizada mediante electroforesis capilar siguiendo los pasos descritos en la sección 3.6.2 para evaluar la presencia y concentración de ácidos grasos volátiles.

Las velocidades de producción de metano se calcularon en base al modelo de crecimiento de Gompertz. Este modelo describe una curva asintótica, mediante la siguiente ecuación;

$$S_c = a * \exp(-b \exp -kt) \quad \text{Ec. (3)}$$

Donde:

Sc: Concentración de metano producida (g/m³).

a: Máxima concentración producida (g/m³).

b: Parámetro relacionado con las condiciones iniciales (adimensional).

k: Velocidad de producción de metano (h⁻¹).

t: Tiempo (h)

Para determinar la tasa volumétrica máxima (Vmax) de volumen acumulado y producción de CH₄, al evaluar la ecuación se obtiene la siguiente ecuación para determinar la Vmax.

$$Vmax = \frac{dSc}{dt} \Big|_{Sc=e^{-1} \cdot A} = A \cdot K \cdot \frac{\ln e}{e} = 0.368 \cdot A \cdot K \quad \text{Ec. (4)}$$

Se utiliza la herramienta matemática del modelo Gompertz para ajustar los datos experimentales de la producción de CH₄ a fin de obtener los parámetros del modelo A y K. Los cuáles permitirán predecir las velocidades de producción máxima de CH₄.

3.6 Técnicas analíticas

3.6.1 Cromatografía de gases (GC)

El análisis de las concentraciones de metano (CH_4), dióxido de carbono (CO_2) e hidrógeno (H_2), se realizó mediante el uso de un cromatógrafo de gases (Thermo Trace serie 1300) equipado con TCD (detector de conductividad térmica), y una columna Carboxen-1010 PLOT (30 m x 0.53 mm), utilizando nitrógeno como gas acarreador. Las temperaturas del inyector, horno y detector se mantuvieron en 230, 160 y 230 °C.

Las muestras provenientes de las botellas serológicas de 60 mL fueron colectadas con un volumen de inyección de 100 μL con un jeringa de gases marca Sigma Aldrich. Las concentraciones fueron establecidas mediante los parámetros obtenidos de las ecuaciones de la recta provenientes de las curvas de calibración de metano, dióxido de carbono e hidrógeno.

3.6.2 Electroforesis capilar

El análisis de la presencia de ácidos grasos volátiles (ácido butírico, ácido propiónico, ácido fórmico, ácido láctico y ácido acético) fueron medidas mediante un sistema de electroforesis capilar marca Agilent 1600. Las muestras fueron tomadas del sobrenadante de las botellas serológicas las cuales fueron centrifugadas durante 8 min a 13 000 rpm y se filtraron con una membrana de 0.22 μm y 13 mm de diámetro. La muestra se inyectó con una presión de 50 mbar por 4 segundos. El voltaje aplicado fue de -30kV y la temperatura del capilar se mantuvo en 20°C. La señal se detectó a una longitud de onda de 300 nm. El tiempo de análisis fue de 19 min. Dentro de las muestras el agua que se utilizó fue agua desionizada con la finalidad de evitar la interferencia de iones. Se usaron concentraciones de 100, 200, 400, 600, 800 y 1000 ppm para realizar las curvas de calibración y posteriormente conocer las concentraciones de ácidos grasos volátiles.

Capítulo 4. Resultados y discusión

4.1 Caracterización del inóculo

La caracterización del lodo granular que se utilizó para los experimentos de la sección 3.2, 3.3, 3.4 y 3.5, reveló una cantidad de 9.729 g SSV/L y un pH de 7.3. Además, se obtuvo el tamaño de gránulos, el cual se encuentra dentro del intervalo de 1.77 mm y mayor a $5\mu\text{m}$, el cual nos indicaría que tiene buena capacidad de formación de biopelícula para su posterior uso en experimentos en continuo. La actividad metanogénica para el lodo proveniente de casa Herradura fue de 0.3 g DQO- $\text{CH}_4/\text{g VSS-d}$, la cual se encuentra dentro de lo reportado para la actividad metanogénica acetoclástica (Omil et al., 1997) y que abarca de 0.3-0.6 g DQO- $\text{CH}_4/\text{g VSS-d}$. Para el análisis de la evolución de la producción acumulada de metano se utilizó un modelo matemático basado en la ecuación de Gompertz (Lay et al., 1997), a continuación, se muestra la Figura 4.

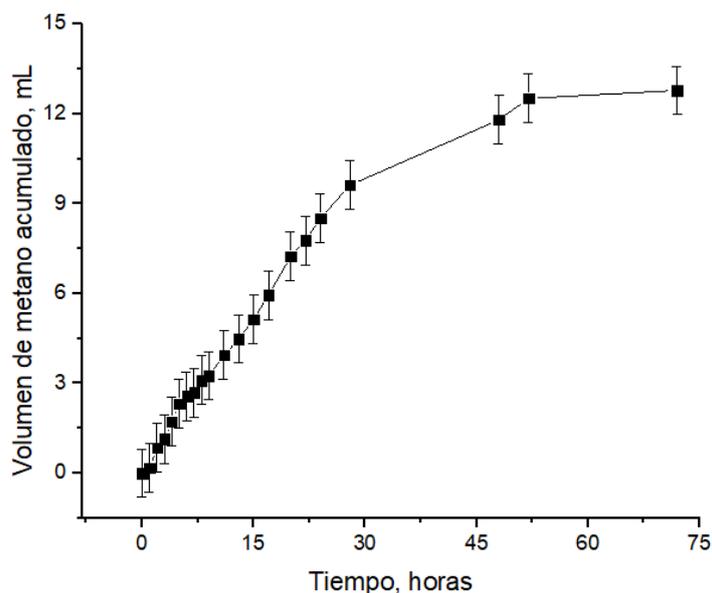


Figura 4. Actividad metanogénica, volumen de metano acumulado.

4.2 Pruebas de toxicidad y biodegradabilidad

La toxicidad es la capacidad inherente de un agente químico de producir un efecto nocivo sobre los organismos vivos, siendo la resultante de la concentración y del tiempo de exposición, modificado por variables como la temperatura, formas químicas y disponibilidad (APHA, 1989).

Los experimentos consistieron en realizar pruebas de toxicidad y biodegradabilidad de acuerdo con las metodologías discutidas en la sección 2.2. Durante la duración de los experimentos se monitoreó por 23 días la producción de CO_2 . Se consideró tóxico a la sustancia cuya producción de CO_2 era menor a la

cantidad producida por la respiración endógena (RE) y biodegradable a aquella donde la producción de CO_2 era significativamente mayor que la RE. A continuación, se muestran las gráficas obtenidas.

4.2.1 Pruebas de toxicidad y biodegradabilidad con gases (H_2 , CO_2 y CH_4)

Las pruebas de toxicidad y biodegradabilidad se realizaron de acuerdo a lo descrito en la sección 2.2. Los experimentos se realizaron para analizar el efecto de H_2 , CO_2 y CH_4 . Se encontró que el aceite de silicona no posee un efecto tóxico sobre el lodo anaerobio, ya que la producción de CO_2 se mantuvo por debajo si se compara con el experimento control con inóculo y medio mineral, tal como se muestran en la Figura 5 y 6.

Además, se detectó que la presencia de metano en el sistema inhibió la producción de dióxido de carbono evitando de esta manera la toxicidad de la sustancia.

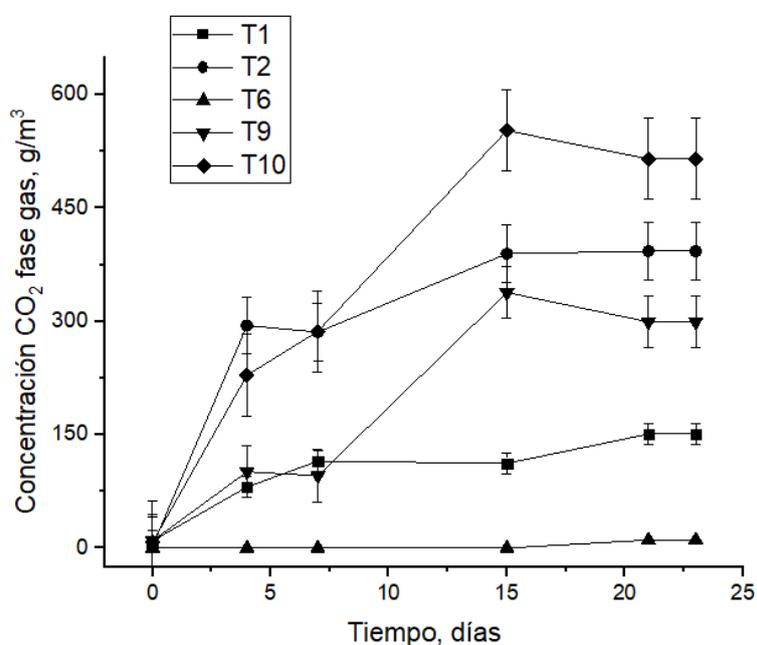


Figura 5. Pruebas de toxicidad y biodegradabilidad para el aceite de silicona para los tratamientos T1 (inóculo, medio mineral, $24\text{H}_2:6\text{CO}_2:10\text{CH}_4$ y fase oleosa), T2 (inóculo, medio mineral, $32\text{H}_2:8\text{CO}_2$ y fase oleosa), T6 (inóculo, medio mineral y fase oleosa), T9 (inóculo, $24\text{H}_2:6\text{CO}_2:10\text{CH}_4$ y fase oleosa), y T10 (inóculo, $32\text{H}_2:8\text{CO}_2$ y fase oleosa). Adición de aceite de silicona 10% (v/v).

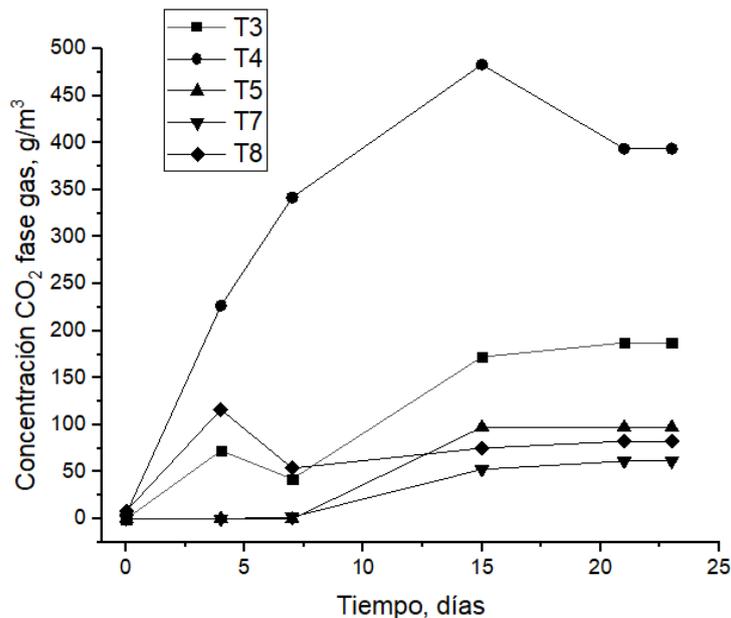


Figura 6. Pruebas de toxicidad y biodegradabilidad para el aceite de silicona para los tratamientos T3 (inóculo, medio mineral, 24H₂:6CO₂:10CH₄), T4 (inóculo, medio mineral, 32H₂:8CO₂), T5 (inóculo, medio mineral), T7 (medio mineral, 24H₂:6CO₂:10CH₄) y T8 (medio mineral, 32H₂:8CO₂). Sin adición de aceite de silicona.

En cuanto a la biodegradabilidad se encontró que el dióxido de carbono producido en los experimentos en presencia de aceite de silicona era menor o igual al experimento control de respiración endógena. Por lo tanto, el aceite de silicona no fue tóxico ni biodegradable para el inóculo utilizado.

4.3 Determinación de coeficientes de partición

El coeficiente de partición se calculó para hidrógeno, dióxido de carbono y metano mediante la metodología descrita en la Sección 2.3 En la Tabla 11 se muestran los resultados obtenidos de los experimentos de partición. En el anexo A se muestran las Figuras obtenidas para cada coeficiente de partición.

Tabla 11. Coeficiente de partición adimensional de H₂, CO₂ y CH₄ en aceite de silicona y medio mineral

$$(H = C_s^g / C_s^l).$$

Gas	*Coeficiente de Henry (H) en agua	H en medio mineral	H en aceite de silicona	Relación medio mineral/aceite

H ₂	51,717	2,510	0,097	25,858
CH ₄	28,814	1,334	0,095	14,030
CO ₂	1,222	1,025	0,095	10,760

*Compilación de coeficientes de la ley de Henry en agua (Sander, 2015).

El aceite de silicona fue el que presentó mayor afinidad hacia los gases (coeficientes de partición más pequeños), ya que tiene una magnitud de 10 a 25 veces más pequeña comparada con los coeficientes de partición de los gases en medio mineral. Se encontró que el aceite de silicona es más afín a los gases en el siguiente orden, siendo aquel el compuesto que se sorbe con mayor facilidad el metano y dióxido de carbono con coeficientes idénticos (0.095) seguido por el hidrógeno (0.097), aunque como se puede ver no es significativa la diferencia de absorción de los tres gases. Los coeficientes de partición de los gases en medio mineral presentan la misma tendencia que el coeficiente de partición en agua siendo el H₂ el gas menos soluble, seguido de CH₄ y CO₂, lo anterior es consistente con otros reportes encontrados en la literatura (Sander, 2015). Aunque los gases tuvieron una mayor solubilidad en medio mineral que en agua lo anterior muy probablemente se debió por la presencia de sales minerales que favorece la solubilidad.

Los resultados indican que se espera una mayor transferencia de masa de la fase gas hacia la fase líquida cuando se utiliza aceite de silicona, permitiendo de esta manera contrarrestar el bajo transporte de hidrógeno debido a la baja solubilidad en sistemas acuosos. Ya que se pudo reducir 532 veces el umbral de la solubilidad de hidrógeno (51.717/0.097).

Durante la realización de los experimentos de partición, se observó que los compuestos hidrógeno, dióxido de carbono y metano presentaban valores de concentración constantes en la fase gaseosa, después de las 72 horas, aunque se inyectaron volúmenes diferentes al sistema. Lo cual indicó que se alcanzó un equilibrio en la interfase gas-líquido.

4.4 Aclimatación de lodo anaerobio

Se realizó el enriquecimiento de microorganismos metanógenos hidrogenotróficos de acuerdo con lo establecido en la Sección 2.5. Dicha aclimatación tuvo como objetivo el crecimiento óptimo de los microorganismos hidrogenotróficos encargados de llevar a cabo la fijación de CO₂ usando como donador de electrones el H₂. Se añadieron gases H₂:CO₂ en relación 4:1, es decir, cuatro moles de hidrógeno por cada mol de dióxido de carbono en el espacio de cabeza de cada botella.

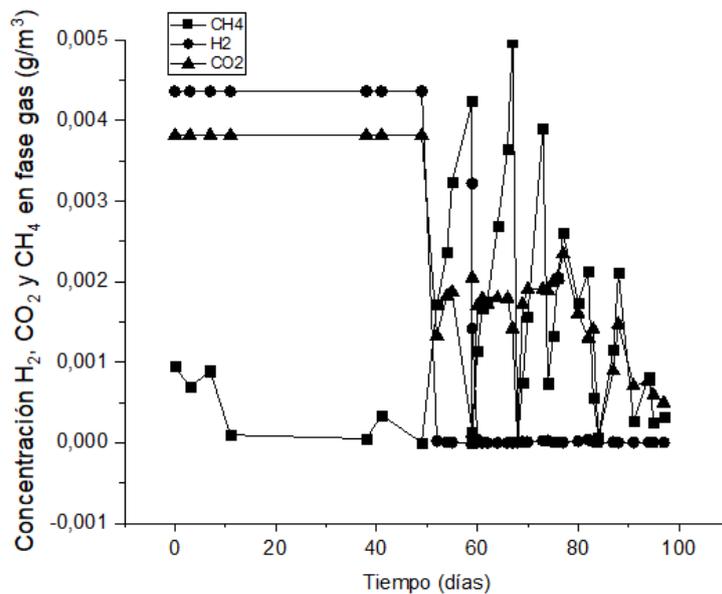


Figura 7a. Etapa uno del periodo de aclimatación, adición de 4H₂:1CO₂. ■ CH₄ producido; ● H₂ consumido; ▲ CO₂ consumido.

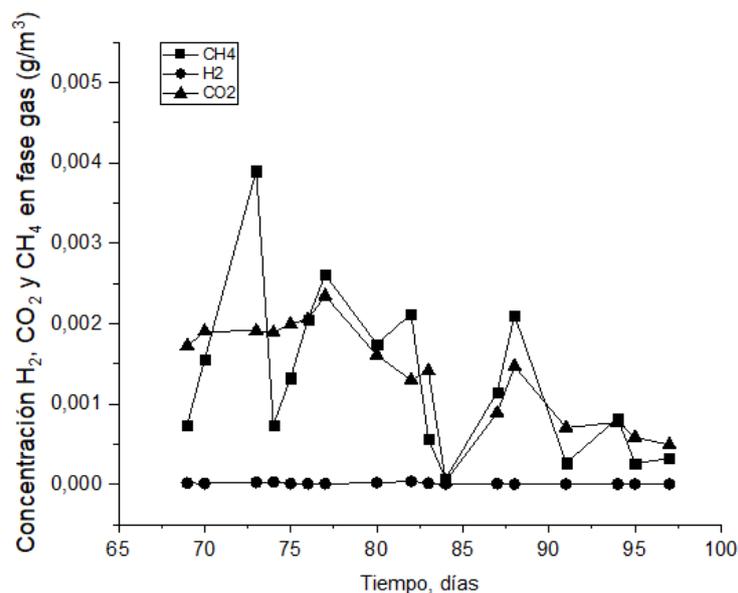


Figura 7b. Etapa uno de aclimatación, adición de 4H₂:1CO₂. Del periodo de tiempo día 65 a 97. ■ CH₄ producido; ● H₂ consumido; ▲ CO₂ consumido.

Como se puede observar en la Figura 7a, al inicio de la etapa de aclimatación se puede observar que se tuvo una producción constante de metano, debido a que se administró una baja cantidad de hidrógeno y dióxido de carbono, conforme transcurrió el tiempo se pudo obtener una mayor producción de metano debido al consumo de la materia orgánica presente en el lodo anaerobio. Después de este tiempo (día

45) se observó una producción constante de metano en el sistema, el cual se atribuye al consumo de los sustratos en la fase gas (H_2 y CO_2) únicamente, es decir se llegó al agotamiento del ruido endógeno. En la Figura 7b, se aprecia con mayor facilidad el consumo de los gases y la producción de metano en el interior de las botellas serológicas.

Una vez transcurrido el tiempo de 97 días, el lavado del lodo anaerobio fue exitoso ya que se pudo remover el remanente de materia orgánica presente en el lodo original. De esta manera, el consumo de hidrógeno y dióxido de carbono se puede reconocer fácilmente, tal como se muestra en la Figura 8.

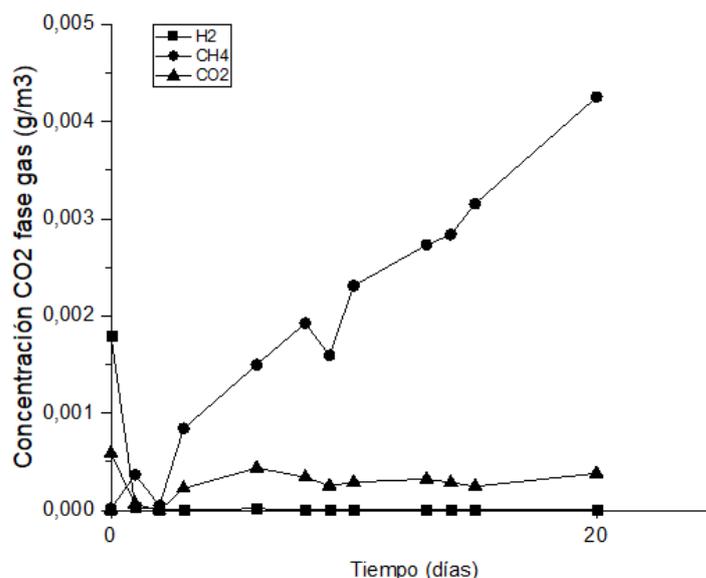


Figura 8. Etapa dos del periodo de aclimatación. ● CH_4 producido; ■ H_2 consumido; ▲ CO_2 consumido.

Posterior al lavado del lodo anaerobio, se observó la tendencia del consumo de hidrógeno y dióxido de carbono y por tanto un incremento en la producción de metano. Se dedujo que el periodo de aclimatación de 117 días fue exitoso para el enriquecimiento de los microorganismos encargados de llevar a cabo la biometanización, por lo que el lodo que se utilizó en experimentos posteriores muy probablemente contiene arqueas que son los microorganismos reportados que realizan el proceso de consumo de CO_2 e H_2 .

4.5 Cinéticas de biometanización de una y dos fases

Los experimentos de cinéticas de biometanización permitieron establecer la capacidad del inóculo, previamente aclimatado de acuerdo con las condiciones evaluadas, para la producción de biometano bajo los parámetros establecidos. En el primer conjunto de cinéticas se evaluó el potencial de conversión de hidrógeno y dióxido de carbono a biometano por el inóculo, pero en presencia de metano en el sistema, para conocer el papel de una composición de biogás más real en el experimento, con composiciones parecidas a las que normalmente se produce el biogás (62.5% CH₄, 37.5% CO₂), con adición de fase oleosa 10% (v/v) y sin adición de esta fase. Estos experimentos se realizaron junto con su control, el cual consiste en un experimento con medio mineral y microorganismos sin presencia de los gases, con y sin adición de fase oleosa según corresponda. En la segunda parte de experimentos, se evaluó la producción de biometano con la particularidad de tener presente en el sistema la participación de dos gases exclusivamente, (H₂ y CO₂) con adición de fase oleosa 10% (v/v) y sin fase oleosa. Así mismo, se tuvo el experimento control con medio mineral y microorganismos, pero sin gases, con y sin adición de fase oleosa, respectivamente. Todos los experimentos se realizaron por triplicado. Las composiciones de los gases utilizados en el primer conjunto de cinéticas fueron de un 25% de CH₄, 15% de CO₂ y 60% de H₂, para la segunda ronda de cinéticas la composición fue de 20% de CO₂ y 80% de H₂, respetando la relación estequiométrica 4H₂:1CO₂.

4.5.1. Cinéticas de biometanización con tres gases (hidrógeno, metano y dióxido de carbono)

En la Figura 9, se observa la cantidad de volumen de metano producido por el sistema con la adición de 10% (v/v) de fase oleosa. Se observó una mayor producción de metano (87%) en comparación con el control sin fase oleosa (Figura 10). Se logró aclimatar un consorcio capaz de llevar a cabo el proceso de biometanización de enriquecimiento de biogás sin ruido endógeno, como se puede observar en los controles sin gases, incluyendo sólo medio mineral e inóculo (Figura. 10 y 12). El experimento con fase oleosa y presencia de gases produjo 94 mL de CH₄ mientras que el sin fase oleosa y gases presentes fue de 75 mL de CH₄ al final de la cinética (Figura. 10). Se logró obtener una mezcla de gases con 99.64% de pureza de metano para el sistema con fase oleosa y gases añadidos a diferencia del sistema con gases añadidos y medio mineral (sin fase oleosa), el cual obtuvo una proporción de metano de 96.31%, encontrando que en ambos sistemas la biometanización se realizó con éxito teniendo mezcla de gases con metano mayores al 95% lo cual permite denominarlo biometano.

Al comparar la producción de metano que se produjo en ambos sistemas con gases añadidos, pero con y sin fase oleosa añadida, se obtuvo un 20% más de metano en la cinética con fase oleosa que en la cinética con medio mineral (sin fase oleosa). Las velocidades de producción de metano y la composición del biogás se discuten más adelante.

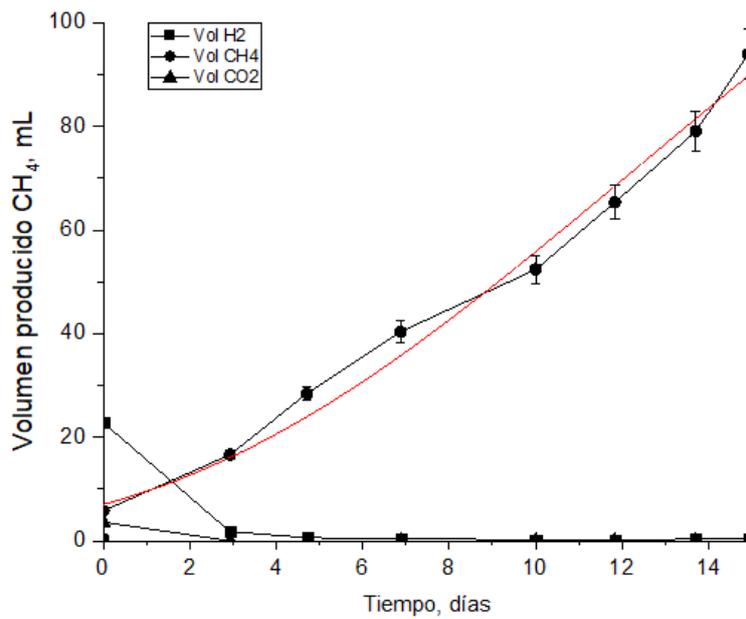


Figura 9. Cinética 3 gases (H₂:CO₂:CH₄) con fase oleosa, experimento.

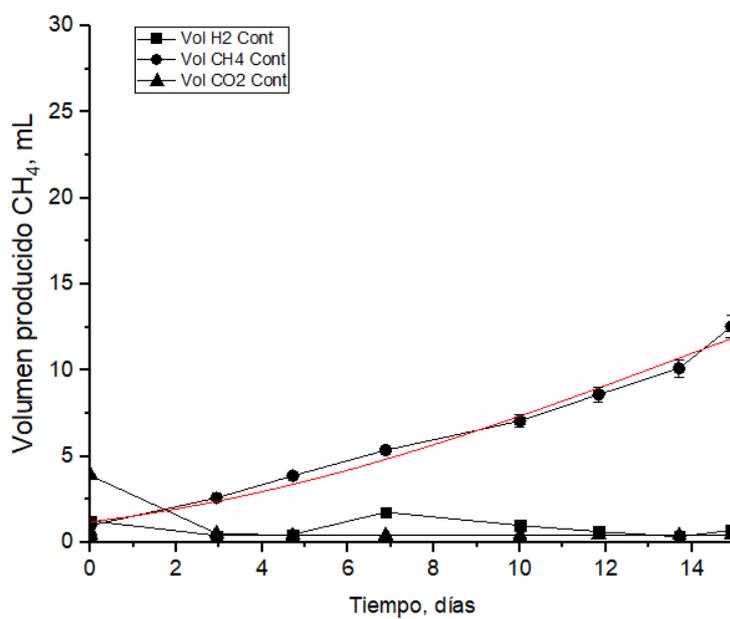


Figura 10. Cinética control con medio mineral y consorcio.

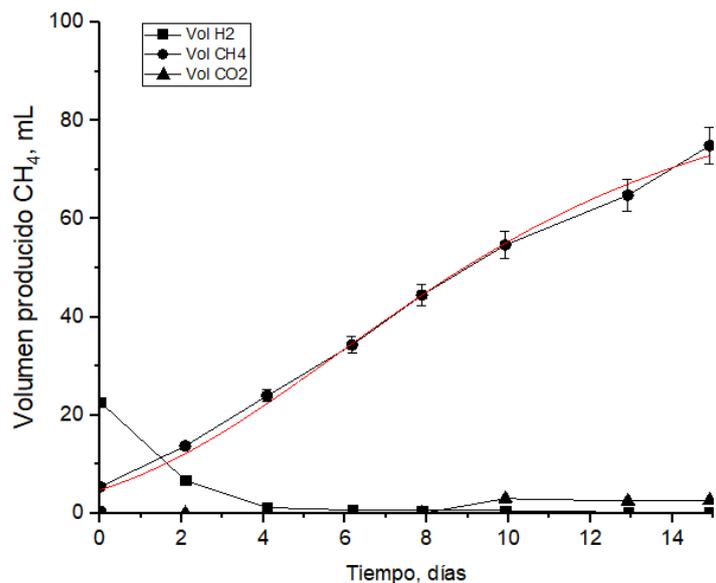


Figura 11. Cinética 3 gases (H₂:CO₂:CH₄) sin fase oleosa, experimento

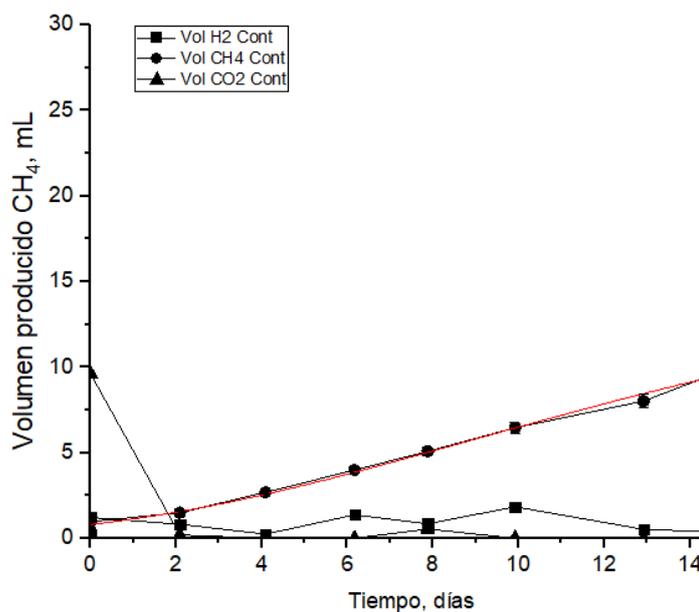


Figura 12. Cinética control con medio mineral y consorcio

4.5.2 Cinéticas de biometanización con dos gases (hidrógeno y dióxido de carbono)

Para el caso de las cinéticas de biometanización con dos gases, en la Figura 13, se observa una producción mayor en un 70% en comparación con el experimento control con fase oleosa y sin gases (Figura 14). Se observa una buena producción de metano gracias al lodo aclimatado, estableciendo que los microorganismos metanógenos hidrogenotróficos encargados de la biometanización se encuentran presentes en el lodo, ya que la fuente de alimento de estos experimentos consiste únicamente en H₂ y CO₂, corroborándose que se suprimió el material endógeno del consorcio. Cuando se inyectan dos gases, el volumen de CH₄ producido fue de 73 mL para el sistema con aceite de silicona y de 45 mL para el

sistema con medio mineral y gases presentes; es decir, el sistema con aceite produjo 38% más CH_4 que el sistema control con medio mineral (Fig. 13 y 15). Para ver el efecto real de la adición de metano al sistema, es necesario sustraer el CH_4 inicial añadido al sistema en el volumen total producido de CH_4 de las cinéticas con 3 gases, para el experimento con aceite el volumen producido era de 94 mL y para la cinética con medio mineral fue de 75 mL, y el CH_4 añadido a estos experimentos fue de 10 mL al inicio del experimento, por lo que el CH_4 producido realmente en estos experimentos por la actividad biológica de los microorganismos hidrogenotróficos fue de 84 mL para el experimento con aceite y 3 gases (H_2 , CH_4 , CO_2) y 65 mL para el experimento con medio mineral y 3 gases. La cantidad de metano producido en los experimentos de dos gases (H_2 y CO_2) fue de 73 mL para el experimento con aceite y gases añadidos y de 45 mL para el experimento sin fase oleosa y gases añadidos. Como se puede ver, este volumen real producido por actividad biológica del experimento 3 gases y fase oleosa es mayor al volumen producido cuando se inyectaron solo dos gases (H_2) por lo que podemos decir que la presencia de CH_4 en el sistema no afectó el proceso de biometanización, al contrario, la favoreció ligeramente.

Para la etapa experimental con dos gases, se obtuvo una mezcla de gases de composición del 99.42% para el sistema de fase oleosa y gases añadidos y 99.4% para el sistema con gases y medio mineral.

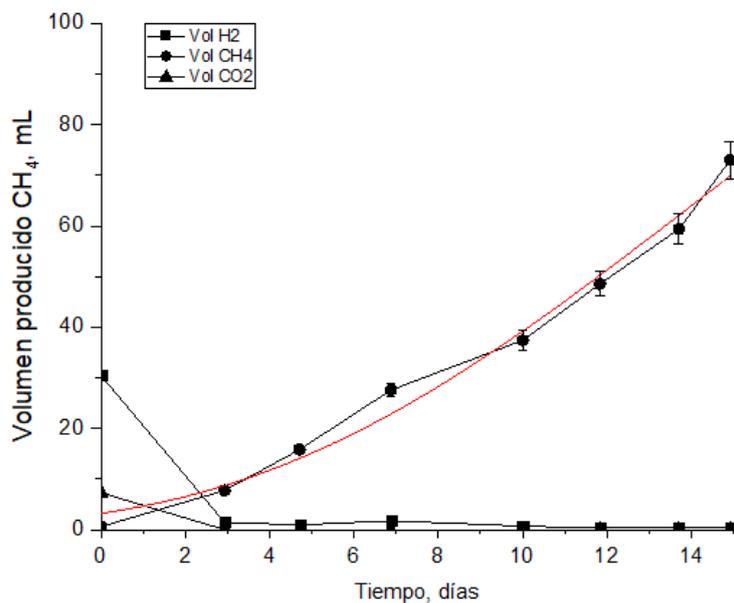


Figura 13. Cinética 2 gases (H_2 : CO_2) con fase oleosa, experimento.

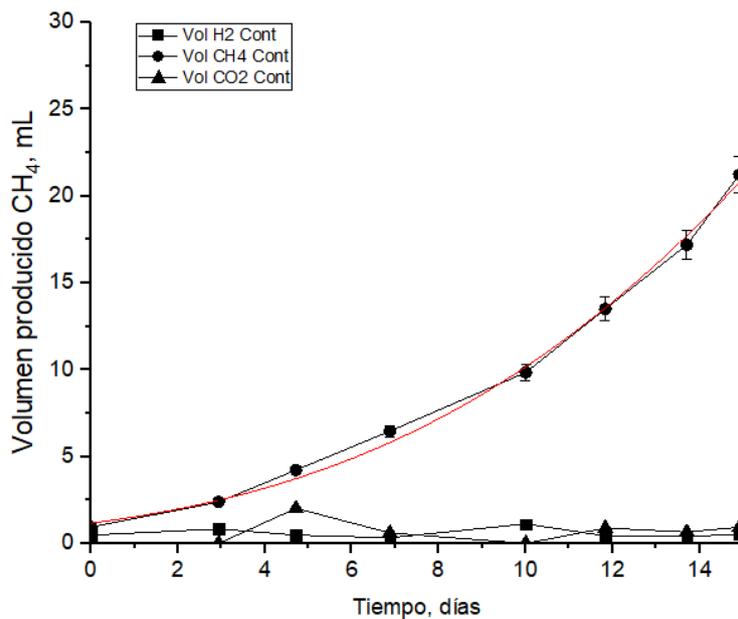


Figura 14. Cinética control con medio mineral y consorcio .

En el caso de los experimentos realizados con la adición de gases, pero sin contener aceite de silicona en el sistema, se obtuvo que la mayor producción de metano fue de 66% mayor a la obtenida por su control sin aceite de silicona. Aunque se encontró 52% por debajo de la producción máxima de metano obtenida para este sistema que fue de 94 mL (3 gases y fase oleosa).

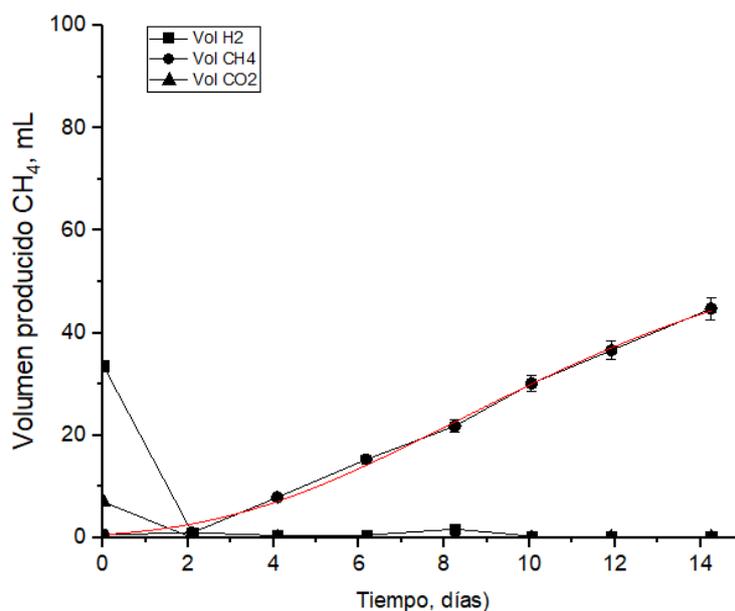


Figura 15. Cinética 2 gases (H₂:CO₂) sin fase oleosa, experimento

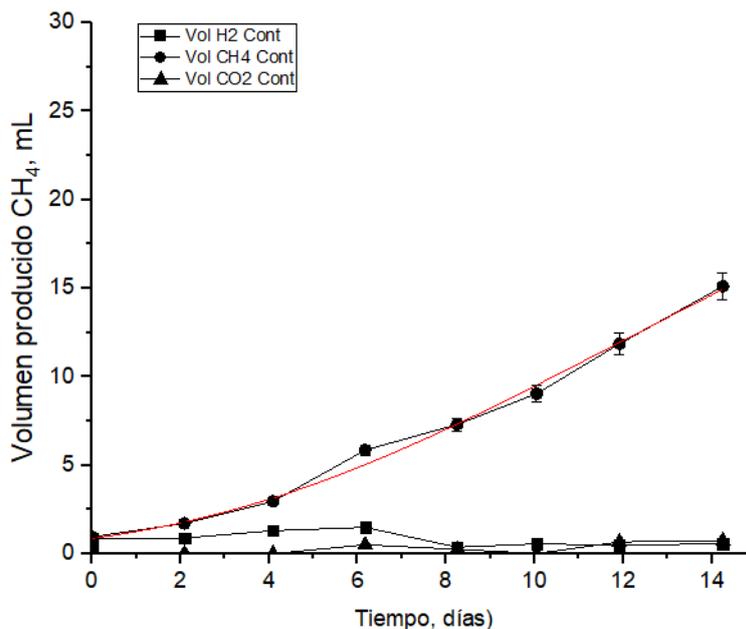


Figura 16. Cinética control con medio mineral y consorcio.

En la Tabla 12, se muestran las velocidades máximas de producción de metano, las cuales fueron obtenidas mediante la aplicación del modelo matemático de Gompertz para ajustar los datos experimentales de la producción de CH₄ con el objetivo de obtener los parámetros del modelo A y K. Los cuáles permitirán predecir las velocidades de producción de metano.

Tabla 12. Velocidades máximas de producción de metano.

Experimento, Biometanización	Velocidad de producción de CH ₄ (mL L ⁻¹ d ⁻¹)	
	Con Fase oleosa	Sin fase oleosa
3 gases H ₂ , CH ₄ , CO ₂	174.26±	148.81
Control sin adición de gases	23.42	17.54
2 gases H ₂ , CO ₂	160.20	104.82
Control sin adición de gases	48.41	32.44

Para el caso de las cinéticas de biometanización de gases H₂, CH₄, CO₂ el uso de la fase oleosa (aceite de silicona) aumenta 15% la velocidad de producción de metano en comparación con los experimentos compuestos con medio mineral únicamente, lo anterior debido a que el aceite de silicona aumenta la transferencia de masa del gas hidrógeno, metano y dióxido de carbono a la fase líquida donde se

encuentran los microorganismos, lo cual se comprobó a través del coeficiente de reparto de los gases en aceite.

En el caso de las cinéticas con dos gases (H_2 y CO_2) aumenta 34% la cantidad de volumen producido en comparación con su control, por lo que la adición de fase oleosa en ambos experimentos fue satisfactoria encontrando resultados superiores a sus controles compuestos de medio mineral e inóculo.

Tabla 13. Velocidades de producción de procesos de biometanización ex situ reportados.

Metano producido (mL L⁻¹ d⁻¹)	Composición de metano (%)	Proceso de biometanización ex situ
4 100	97.1	(Kim et al., 2013)
40	96	(Bassani et al., 2017b)
100	89	(Bassani et al., 2015)
6 350	90	(Alitalo et al., 2015)
38 000	44	(Dupnock & Deshusses, 2017)
460	85-88	(Guneratnam et al., 2017)
2 520	96	(Rachbauer, Voitl, Bochmann, & Fuchs, 2016b)
5 300	95	(Luo & Angelidaki, 2012)
174	99.96	Este estudio

Las velocidades de producción de estudios anteriormente reportados se encuentran por encima de los obtenidos atribuyéndosele principalmente a que fueron usados procesos en continuo no en lote, a los volúmenes o cargas que se alimentaron al reactor, tamaño de reactor, concentración de biomasa, por mencionar algunos (Tabla 13). Sin embargo, la composición de metano del sistema es mayor a los ya reportados, encontrándose que el sistema de dos fases posee una composición del 99.64% de metano, por lo que el uso de fase oleosa en reactores favorece la composición de CH_4 en la corriente de biogás. La aplicación de sistemas de dos fases a escalas de laboratorio mayores y en continuo muy probablemente arroje velocidades de producción de metano mayores, lo cual sería un tema de investigación en el cual se puede profundizar más adelante. Sin embargo, los datos obtenidos en este trabajo con volúmenes de trabajo de 20 mL en botellas serológicas de 60 mL nos indican una buena composición de metano, mayores a los reportados en estudios previos, aunque a velocidades menores.

Tabla 14. Composición de metano en el biogás producido.

Experimento, Biometanización	Proporción de metano (% v/v)	
	Con Fase oleosa	Sin fase oleosa
3 gases H ₂ , CH ₄ , CO ₂	99.64	44.49
Control sin adición de gases	96.31	48.79
2 gases H ₂ , CO ₂	99.42	60.05
Control sin adición de gases	99.44	63.51

La composición de metano en el gas generado en los experimentos en lote se encuentran enlistadas en la Tabla 14. Se obtuvieron proporciones de CH₄ en la mezcla de arriba de 96% para los experimentos con dos fases y en experimentos de una fase arriba de 44%, lo cual indican que el lodo anaerobio utilizado tuvo una satisfactoria aclimatación y enriquecimiento de microorganismos, por lo que el sistema fue capaz de producir biometano. Existen muy poca diferencia entre las composiciones de metano de los experimentos con aceite para dos y tres gases por lo que la adición de metano al sistema no interfiere con la biometanización, ya que como se ha demostrado la fase oleosa sorbe al hidrógeno, aunque una parte también es metano. Sin embargo, a pesar de sorber ambos gases no interfiere en la producción de metano, muy probablemente porque la capacidad de sorción de gases de la fase oleosa no ha alcanzado la saturación bajo las condiciones de concentraciones o proporciones de gases utilizadas. En el caso de los experimentos de una fase es claro que la composición de CH₄ en el experimento fue menor que cuando se usan sistemas bifásicos, comprobando así que el uso de sistemas bifásicos no solo favoreció la velocidad de producción de metano sino también su composición.

Al término de las cinéticas, se cuantificó la cantidad de metano sorbido en la fase oleosa, al calentar el sobrenadante hasta una temperatura de seguridad de 50°C para facilitar la desorción de metano, encontrándose con los parámetros descritos en la Tabla 15. Por lo que el sistema con tres gases y fase oleosa aumentaría en un 23% la producción de metano si consideramos el porcentaje de CH₄ sorbido en la fase oleosa al final de cada experimento.

Tabla 15. Contenido de metano en la fase oleosa

Experimento, Biometanización	Contenido de metano	
	Volumen acumulado (mL) con adición de metano sorbido en la fase oleosa	Volumen en fase oleosa (mL)
3 gases H ₂ , CH ₄ , CO ₂	103.71	9.71
2 gases H ₂ , CO ₂	80.08	7.09

Como se mencionó en la Sección 4.5.2, la participación real del metano en el sistema se puede observar si el metano que se añadió al inicio es sustraído para conocer el efecto real de este gas en el sistema donde se determinó que la presencia de metano en el sistema no afecta la biometanización ya que en el sistema de 3 gases y fase oleosa se obtuvieron 84 mL y para el caso de 2 gases con aceite de 73 mL.

Al comparar las cantidades de metano producidas tomando en cuenta el metano añadido al inicio de la experimentación y el metano sorbido en la fase oleosa, se obtuvo que para el experimento con fase oleosa y 3 gases se tuvo una cantidad de metano producido de 103.71 mL de metano con proporción de 99.68% y para el caso de 2 gases y aceite se obtuvieron 80.08 mL con proporción de 99.47% lo cual indica que la presencia de metano y la porción que se sorbe en el aceite de silicona no interfiere con la biometanización, es decir, no perjudica la transferencia de masa del gas hidrógeno de la fase gas a la fase líquida.

De acuerdo a la metodología descrita en la Sección 3.6.2 para la cuantificación de ácidos grasos volátiles, no se encontró presencia de estos compuestos, por lo que se corrobora una vez más, el éxito del proceso de aclimatación del lodo anaerobio, además se deduce que no existe ninguna otra reacción diferente al proceso de biometanización.

Capítulo 5. Conclusiones y perspectivas

5.1 Conclusiones

El proceso de biometanización ex situ estudiado en esta tesis, genera una buena base para el conocimiento y entendimiento de la investigación del enriquecimiento de biogás gracias a los resultados obtenidos de producción de metano.

En base a los parámetros de toxicidad y biodegradabilidad, se seleccionó el aceite de silicona por ser la fase no tóxica ni biodegradable para los microorganismos, a diferencia de hexadecano que no reunió la característica de ser no tóxica.

Los estudios realizados para conocer los coeficientes de partición de los gases (hidrógeno, dióxido de carbono y metano) demostraron que el aceite de silicona posee una buena capacidad de sorber hidrógeno lo que facilitó el transporte de masa de la fase gas a la fase líquida, donde los microorganismos toman el compuesto de acuerdo a las necesidades de consumo. De esta manera, el aceite de silicona sirvió como un vector de transferencia de masa de hidrógeno a los microorganismos aminorando uno de los cuellos de botella principales durante el enriquecimiento de biogás por conversión de CO_2 e H_2 a CH_4 .

Las etapas por las cuales se hizo pasar el inóculo anaerobio con la finalidad de enriquecer la población de arqueas metanógenas hidrogenotróficas fue favorable, encontrándose una buena relación de consumo de hidrógeno y dióxido de carbono con la producción de metano. También, el lavado de lodo anaerobio que se realizó con el fin de retirar materia orgánica remanente fue satisfactorio, obteniendo una producción de metano constante atribuida al proceso de biometanización de los microorganismos presentes y no a la producción de metano mediante la degradación de materia orgánica presente en el sistema, es decir pudo ser eliminado el ruido endógeno.

Los resultados obtenidos en este estudio confirmaron que el uso de fases oleosas presenta ventajas durante el proceso de enriquecimiento de biogás, las velocidades de producción de metano fueron 7 y 3 veces mayores que sus controles en los que no se usó fase oleosa para ambos casos, cuando se usan 3 y 2 gases, respectivamente.

La presencia de metano en el sistema, para el caso de cinéticas de biometanización con gases $24\text{H}_2:6\text{CO}_2:10 \text{ mL CH}_4$ permite obtener la máxima cantidad de volumen acumulado (103.71 mL). Ya que la cantidad de metano absorbido en la fase oleosa no intervino en la transferencia de masa del gas hidrógeno, encontrándose que la fase oleosa puede ser utilizada para procesos de biometanización con la particularidad de contar con tres o dos gases en el sistema.

5.2 Perspectivas

Estudiar el efecto de la agitación en el sistema de biometanización a 200 y 300 rpm, además de conocer cuál es el efecto que se genera en la producción de biometano al variar la cantidad (%v/v) que se añade al sistema de fase oleosa.

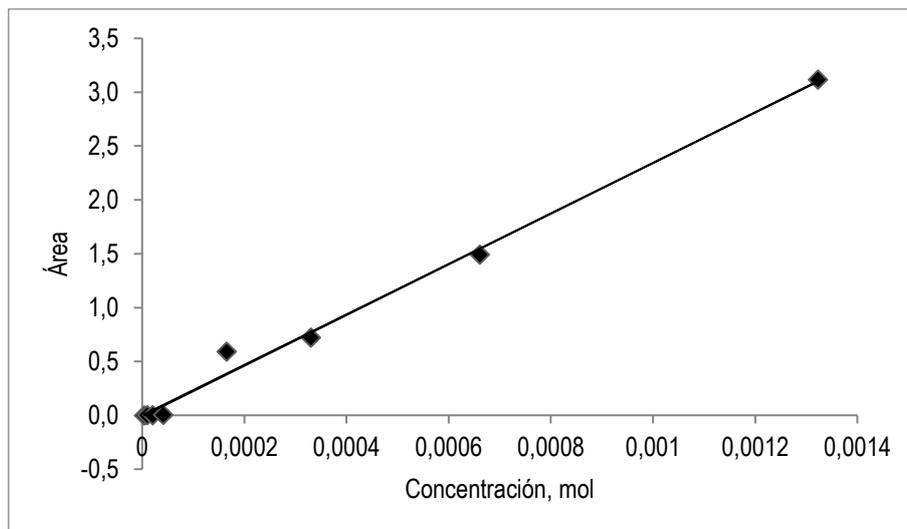
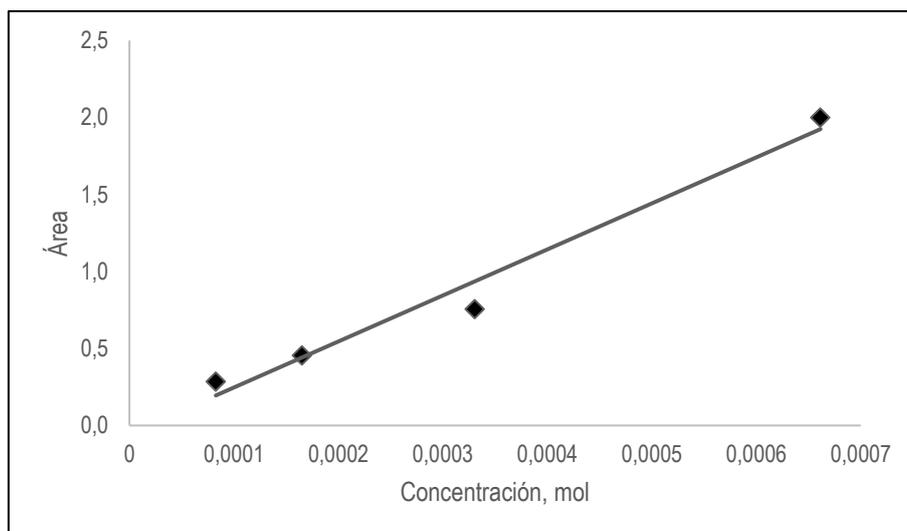
Realizar experimentos sacrificables para medir la cantidad de gases sorbidos en la fase oleosa diariamente y así calcular la cantidad de los mismos en la fase oleosa.

Variar la composición del biogás que es inyectado en las botellas para conocer el comportamiento del sistema de dos fases, ya que la composición de biogás es independiente a cada proceso; es decir, la composición de biogás varía conforme la materia orgánica que es utilizada en el digestor anaerobio, el tipo de reactor de utilizado, etc., y de esta manera acercar los experimentos de biometanización a la realidad.

Realizar experimentos de enriquecimiento de biogás en continuo, alimentado constantemente con una mezcla de gases hidrógeno, metano y dióxido de carbono, con la adición de fase oleosa y en composiciones variadas de la corriente de biogás.

Anexos

Anexo A, Curvas de calibración para cada gas (hidrógeno, metano y dióxido de carbono).

Figura A1. Curva de calibración de hidrógeno (GC) $Y=2354.3x+0.0109$. $R^2=0.993$ Figura A2. Curva de calibración de metano (GC) $Y=2988x-0.0519$. $R^2=0.974$

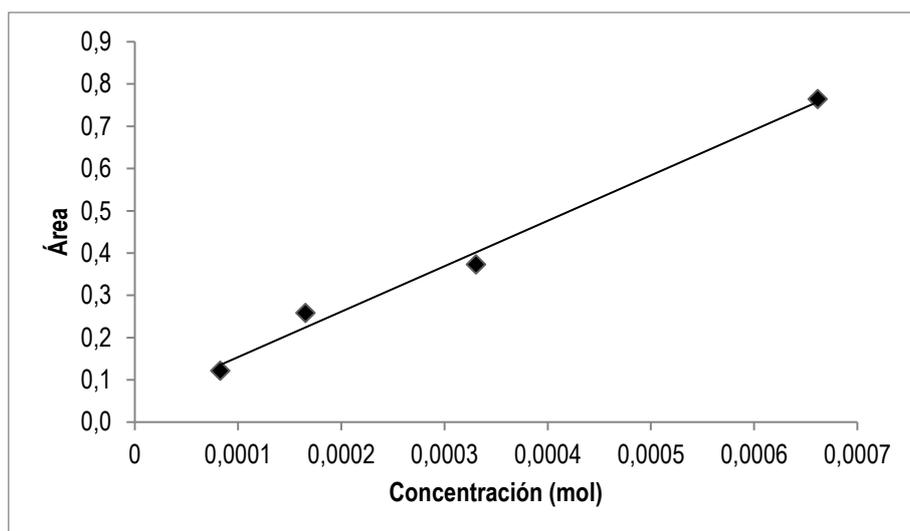
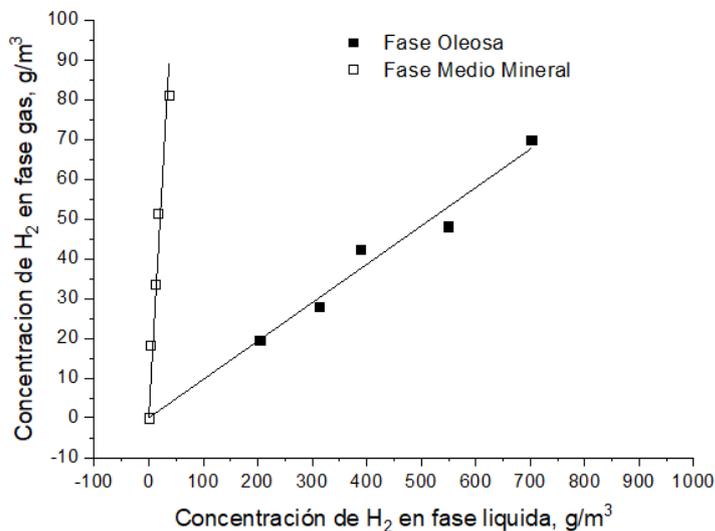


Figura A3. Curva de calibración de dióxido de carbono (GC) $Y=1075x+0.0463$. $R^2=0.9903$

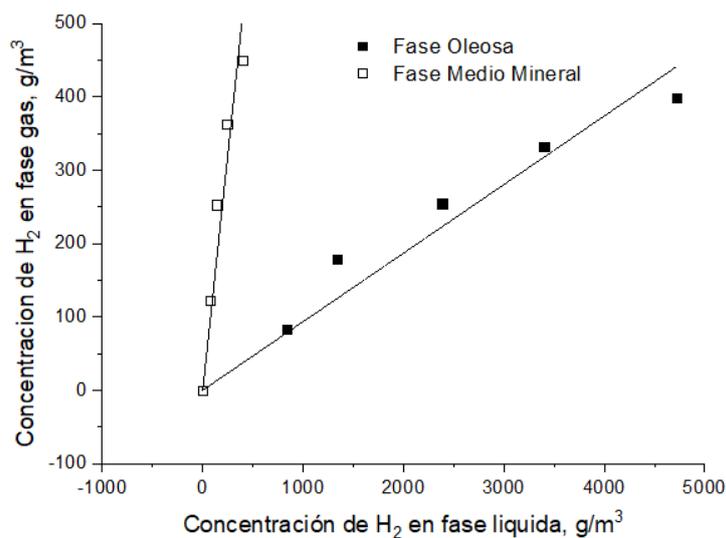
Anexo B, Coeficientes de partición de hidrógeno, metano y dióxido de carbono en aceite de silicona y medio mineral.

Coeficiente de partición en fase oleosa y medio mineral de hidrógeno.



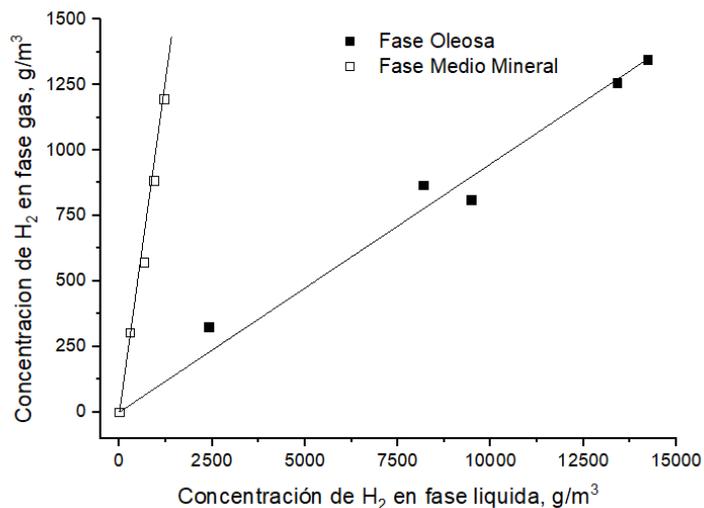
Curvas de los experimentos para obtener el coeficiente del partición de hidrógeno. Para medio mineral $Y=0.09653x$; $R^2:99.4$ y Aceite de silicona $Y=2.40688x$; $R^2: 94.8$.

Coeficiente de partición en fase oleosa y medio mineral de metano.



Curvas de los experimentos para obtener el coeficiente del partición de metano. Para medio mineral $Y=0.09354x$; $R^2:98.4$ y Aceite de silicona $Y=1.28933x$; $R^2:96.6$.

Coefficiente de partición en fase oleosa y medio mineral de dióxido de carbono.



Curvas de los experimentos para obtener el coeficiente del partición de dióxido de carbono. Para medio mineral $Y=0.09474x$; $R^2:99.4$ y Aceite de silicona $Y=1.0199x$; $R^2: 99.5$.

Cálculos de coeficientes de partición

A continuación, se enlistan los cálculos para la determinación de los coeficientes de partición de cada gas. A partir de los datos obtenidos en el cromatógrafo de gases, se calcularon mediante el uso de las ecuaciones de las curvas de calibración, los moles obtenidos para cada muestra.

$$y = mx + b \quad \text{Ec. (B1)}$$

Donde:

y = Área bajo la curva

m =pendiente

x =concentración, mol

b =intercepto

Si a partir de la ecuación B1, obtenemos los moles;

$$x = \frac{y-b}{m} \quad \text{Ec. (B2)}$$

Para obtener la concentración de solvente en la fase gaseosa, (g/m^3); se utilizan los moles obtenidos una vez alcanzado el equilibrio.

$$C_s^g = \frac{\text{mol} * \text{peso molecular}}{\text{volumen de espacio de cabeza}} \quad \text{Ec. (B3)}$$

Donde el volumen utilizado en aceite de silicona es de 0.52 L y para medio mineral de 0.042 L.

Para conocer la concentración de solvente en la fase líquida, (g/m³); se utilizan los moles de la diferencia de moles iniciales con los obtenidos una vez alcanzado el equilibrio.

$$C_s^l = \frac{\text{mol} * \text{peso molecular}}{\text{volumen de líquido}} \quad \text{Ec. (B4)}$$

Donde el volumen utilizado para los cálculos de coeficientes de partición en medio mineral es 0.018L y en aceite de silicona es 0.002L.

Referencias bibliográficas

- Agneessens, L. M., Ottosen, L. D. M., Voigt, N. V., Nielsen, J. L., de Jonge, N., Fischer, C. H., & Kofoed, M. V. W. (2017). In-situ biogas upgrading with pulse H₂ additions: The relevance of methanogen adaption and inorganic carbon level. *Bioresource Technology*, *233*, 256–263. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.02.016>
- Ahern, E. P., Deane, P., Persson, T., Gallachoir, B. O., & Murphy, J. (2015). A perspective on the potential role of biogas in smart energy grids. *Renewable Energy*, *78*, 648–656. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2015.01.048>
- Alitalo, A., Niskanen, M., & Aura, E. (2015). Biocatalytic methanation of hydrogen and carbon dioxide in a fixed bed bioreactor. *Bioresource Technology*, *196*, 600–605. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.08.021>
- Amsden, B. G., Bochanysz, J., & Daugulis, A. J. (2003). Degradation of Xenobiotics in a Partitioning Bioreactor in Which the Partitioning Phase is a Polymer. *Biotechnology and Bioengineering*, *84*(4), 399–405. <https://doi.org/10.1002/bit.10804>
- Angelidaki, I., Treu, L., Tsapekos, P., Luo, G., Campanaro, S., Wenzel, H., & Kougias, P. G. (2018). Biogas upgrading and utilization : Current status and perspectives. *Biotechnology Advances*, *36*(2), 452–466. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.01.011>
- Bacon, S. L., Peterson, E. C., Daugulis, A. J., & Parent, J. S. (2015). Selecting polymers for two-phase partitioning bioreactors (TPPBs): Consideration of thermodynamic affinity, crystallinity, and glass transition temperature. *Biotechnology Progress*, *31*(6), 1500–1507. <https://doi.org/10.1002/btpr.2148>
- Baserba, M. G., Angelidaki, I., & Karakashev, D. (2012). Bioresource Technology Effect of continuous oleate addition on microbial communities involved in anaerobic digestion process. *Bioresource Technology*, *106*, 74–81. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.12.020>
- Bassani, I., Kougias, P. G., & Angelidaki, I. (2016). In-situ biogas upgrading in thermophilic granular UASB reactor: key factors affecting the hydrogen mass transfer rate. *Bioresource Technology*, *221*, 485–491. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.09.083>
- Bassani, I., Kougias, P. G., Treu, L., & Angelidaki, I. (2015). Biogas Upgrading via Hydrogenotrophic Methanogenesis in Two-Stage Continuous Stirred Tank Reactors at Mesophilic and Thermophilic Conditions. *Environmental Science and Technology*, *49*(20), 12585–12593. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b03451>
- Bassani, I., Kougias, P. G., Treu, L., Porté, H., Campanaro, S., & Angelidaki, I. (2017a). Optimization of hydrogen dispersion in thermophilic up-flow reactors for ex situ biogas upgrading. *Bioresource Technology*, *234*, 310–319. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.03.055>
- Bassani, I., Kougias, P. G., Treu, L., Porté, H., Campanaro, S., & Angelidaki, I. (2017b). Optimization of hydrogen dispersion in thermophilic up-flow reactors for ex situ biogas upgrading. *Bioresource Technology*, *234*, 310–319. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.03.055>
- Batstone, D. J., Keller, J., Angelidaki, I., Kalyuzhnyi, S. V., Pavlostathis, S. G., Rozzi, A., ... Vavilin,

- V. A. (2002). The IWA Anaerobic Digestion Model No 1 (ADM1). *Water Science and Technology : A Journal of the International Association on Water Pollution Research*, 45(10), 65–73.
- Benjaminsson, G., Benjaminsson, J., & Rudberg, R. (2013). Power-to-Gas – A technical review. *SGC Rapport*, 284, 67. <https://doi.org/SGC Rapport 2013:284>
- Bernacchi, S., Rittmann, S., H. Seifert, A., Krajete, A., & Herwig, C. (2014). Experimental methods for screening parameters influencing the growth to product yield ($Y_{(x/CH_4)}$) of a biological methane production (BMP) process performed with *Methanothermobacter marburgensis*. *AIMS Bioengineering*, 1(2), 72–87. <https://doi.org/10.3934/bioeng.2014.2.72>
- Bernhardt, G., Jaenicke, R., & Lüdemann, H. D. (1987). High-Pressure Equipment for Growing Methanogenic Microorganisms on Gaseous Substrates at High Temperature. *Applied and Environmental Microbiology*, 53(8), 1876–1879. <https://doi.org/10.1126/science.1086823>
- Betzabet, M. (2014). Purificación de biogás con tecnologías de producción limpias. *Instituto de Desarrollo Tecnológico Para La Industria Química, PhD.*, 248.
- Bornhöft, A., Hanke-Rauschenbach, R., & Sundmacher, K. (2013). Steady-state analysis of the Anaerobic Digestion Model No. 1 (ADM1). *Nonlinear Dynamics*, 73(1–2), 535–549. <https://doi.org/10.1007/s11071-013-0807-x>
- Burkhardt, M., Koschack, T., & Busch, G. (2015). Biocatalytic methanation of hydrogen and carbon dioxide in an anaerobic three-phase system. *Bioresource Technology*, 178, 330–333. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.08.023>
- Burkhardt, Marko, & Busch, G. (2013). Methanation of hydrogen and carbon dioxide. *Applied Energy*, 111, 74–79. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2013.04.080>
- Daugulis, A. J. (2001). Two-phase partitioning bioreactors: A new technology platform for destroying xenobiotics. *Trends in Biotechnology*, 19(11), 457–462. [https://doi.org/10.1016/S0167-7799\(01\)01789-9](https://doi.org/10.1016/S0167-7799(01)01789-9)
- Demler, M., & Weuster-Botz, D. (2011). Reaction engineering analysis of hydrogenotrophic production of acetic acid by *Acetobacterium woodii*. *Biotechnology and Bioengineering*, 108(2), 470–474. <https://doi.org/10.1002/bit.22935>
- Díaz, I., Pérez, C., Alfaro, N., & Fdz-Polanco, F. (2015). A feasibility study on the bioconversion of CO₂ and H₂ to biomethane by gas sparging through polymeric membranes. *Bioresource Technology*, 185, 246–253. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.02.114>
- Dupnock, T. L., & Deshusses, M. A. (2017). High-Performance Biogas Upgrading Using a Biotrickling Filter and Hydrogenotrophic Methanogens. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. <https://doi.org/10.1007/s12010-017-2569-2>
- Estrada Gasca, C. A. (2013). Transición energética, energías renovables y energía solar de potencia. *Revista Mexicana de Física*, 59(2), 75–84. <https://doi.org/ISSN: 0035-001X>
- García Lapeña, B. (2013). Producción biológica de metano a partir de H₂ y CO₂. Retrieved from <http://uvadoc.uva.es:80/handle/10324/4950>
- Götz, M., Lefebvre, J., Mörs, F., McDaniel Koch, A., Graf, F., Bajohr, S., ... Kolb, T. (2016). Renewable Power-to-Gas: A technological and economic review. *Renewable Energy*, 85,

1371–1390. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2015.07.066>

- Guneratnam, A. J., Ahern, E., FitzGerald, J. A., Jackson, S. A., Xia, A., Dobson, A. D. W., & Murphy, J. D. (2017). Study of the performance of a thermophilic biological methanation system. *Bioresource Technology*, *225*, 308–315. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.11.066>
- Haddock, J. D., Nadim, L. M., & Gibson, D. T. (1993). Oxidation of biphenyl by a multicomponent enzyme system from *Pseudomonas* sp. strain LB400. *Journal of Bacteriology*, *175*(2), 395–400.
- Instituto Internacional de Recursos Renovables. (2014). Manual para la Implementación de Proyectos de Captura de Metano Emitido por la Agricultura y Ganadería en México, 157.
- Islas Sampeiro, J., & Matrínez Jiménez, A. (n.d.). Bioenergía, 30–39. Retrieved from https://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/61_2/PDF/Bioenergía.pdf
- Ju, D. H., Shin, J. H., Lee, H. K., Kong, S. H., Kim, J. Il, & Sang, B. I. (2008). Effects of pH conditions on the biological conversion of carbon dioxide to methane in a hollow-fiber membrane biofilm reactor (Hf-MBfR). *Desalination*, *234*(1–3), 409–415. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2007.09.111>
- Jürgensen, L., Ehimen, E. A., Born, J., & Holm-Nielsen, J. B. (2015). Dynamic biogas upgrading based on the Sabatier process: Thermodynamic and dynamic process simulation. *Bioresource Technology*, *178*, 323–329. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.10.069>
- Kim, S., Choi, K., & Chung, J. (2013). Reduction in carbon dioxide and production of methane by biological reaction in the electronics industry. *International Journal of Hydrogen Energy*, *38*(8), 3488–3496. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2012.12.007>
- Kougias, P. G., Treu, L., Benavente, D. P., Boe, K., Campanaro, S., & Angelidaki, I. (2017). Ex-situ biogas upgrading and enhancement in different reactor systems. *Bioresource Technology*, *225*, 429–437. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.11.124>
- Leonzio, G. (2016). Process analysis of biological Sabatier reaction for bio-methane production. *Chemical Engineering Journal*, *290*, 490–498. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.01.068>
- Luo, G., & Angelidaki, I. (2012). Integrated biogas upgrading and hydrogen utilization in an anaerobic reactor containing enriched hydrogenotrophic methanogenic culture. *Biotechnology and Bioengineering*, *109*(11), 2729–2736. <https://doi.org/10.1002/bit.24557>
- Martin, M. R., Fornero, J. J., Stark, R., Mets, L., & Angenent, L. T. (2013). A single-culture bioprocess of methanothermobacter thermotrophicus to upgrade digester biogas by CO₂-to-CH₄ conversion with H₂. *Archaea*, *2013*. <https://doi.org/10.1155/2013/157529>
- Morero, B., Betzabet; Gropelli, E. (2010). Revisión de tecnologías de purificación. *Ciencia y Tecnología*, *10*, 187–201. Retrieved from http://www.palermo.edu/ingenieria/pdf2012/cyt/numero10/10N_ISEU_CyT12.pdf
- Morero, B., Gropelli, E., & Campanella, E. a. (2010). Revisión de las principales tecnologías de purificación de biogás. *Ciencia y Tecnología*, *10*, 187–202.
- Mulat, D. G., Mosbæk, F., Ward, A. J., Polag, D., Greule, M., Keppler, F., ... Feilberg, A. (2017). Exogenous addition of H₂ for an in situ biogas upgrading through biological reduction of

- carbon dioxide into methane. *Waste Management*, *68*, 146–156.
<https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.05.054>
- Müller, V. (2003). Energy Conservation in Acetogenic Bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, *69*(11), 6345–6353. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.11.6345>
- Muñoz, Raúl, Arriaga, S., Hernández, S., Guieysse, B., & Revah, S. (2006). Enhanced hexane biodegradation in a two phase partitioning bioreactor: Overcoming pollutant transport limitations. *Process Biochemistry*, *41*(7), 1614–1619.
<https://doi.org/10.1016/j.procbio.2006.03.007>
- Muñoz, Raúl, Daugulis, A. J., Hernández, M., & Quijano, G. (2012). Recent advances in two-phase partitioning bioreactors for the treatment of volatile organic compounds. *Biotechnology Advances*, *30*(6), 1707–1720.
<https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2012.08.009>
- Muñoz, Raul, Villaverde, S., Guieysse, B., & Revah, S. (2007). Two-phase partitioning bioreactors for treatment of volatile organic compounds. *Biotechnology Advances*, *25*(4), 410–422. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2007.03.005>
- Niesner, J., Jecha, D., & Stehlík, P. (2013). Biogas upgrading technologies: State of art review in european region. *Chemical Engineering Transactions*, *35*, 517–522.
<https://doi.org/10.3303/CET1335086>
- O'Shea, R., Wall, D. M., Kilgallon, I., Browne, J. D., & Murphy, J. D. (2017). Assessing the total theoretical, and financially viable, resource of biomethane for injection to a natural gas network in a region. *Applied Energy*, *188*, 237–256.
<https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2016.11.121>
- Petersson, A., & Wellinger, A. (2009). Biogas upgrading technologies—developments and innovations. *IEA Bioenergy*, *20*. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2011.09.003>
- Quijano, G., Couvert, A., & Amrane, A. (2010). Ionic liquids: Applications and future trends in bioreactor technology. *Bioresource Technology*, *101*(23), 8923–8930.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06.161>
- Quijano, G., & Hernandez, M. (2009). Two-phase partitioning bioreactors in environmental biotechnology, 829–846. <https://doi.org/10.1007/s00253-009-2158-6>
- Rachbauer, L., Beyer, R., Bochmann, G., & Fuchs, W. (2017). Characteristics of adapted hydrogenotrophic community during biomethanation. *Science of the Total Environment*, *595*, 912–919. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.03.074>
- Rachbauer, L., Voitl, G., Bochmann, G., & Fuchs, W. (2016a). Biological biogas upgrading capacity of a hydrogenotrophic community in a trickle-bed reactor. *Applied Energy*, *180*, 483–490. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2016.07.109>
- Rachbauer, L., Voitl, G., Bochmann, G., & Fuchs, W. (2016b). Biological biogas upgrading capacity of a hydrogenotrophic community in a trickle-bed reactor. *Applied Energy*, *180*, 483–490. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2016.07.109>
- Rehmann, L., & Daugulis, A. J. (2007). Biodegradation of biphenyl in a solid-liquid two-phase partitioning bioreactor. *Biochemical Engineering Journal*, *36*(3), 195–201.
<https://doi.org/10.1016/j.bej.2007.02.016>

- Romero Zúñiga, L. E. (2001). *Control de procesos. Ingeniería Química* (Vol. 33).
- Ryckebosch, E., Drouillon, M., & Vervaeren, H. (2011). Techniques for transformation of biogas to biomethane. *Biomass and Bioenergy*, 35(5), 1633–1645.
<https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2011.02.033>
- Salman, C. A., Schwede, S., Thorin, E., & Yan, J. (2017). Enhancing biomethane production by integrating pyrolysis and anaerobic digestion processes. *Applied Energy*, 204, 1074–1083.
<https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2017.05.006>
- Sánchez, J. (2013). La crisis energética global, la posición de México en el mundo, 1–21.
- Sander, R. (2015). Compilation of Henry ' s law constants (version 4 . 0) for water as solvent, 4399–4981. <https://doi.org/10.5194/acp-15-4399-2015>
- Savvas, S., Donnelly, J., Patterson, T., Chong, Z. S., & Esteves, S. R. (2017). Biological methanation of CO₂ in a novel biofilm plug-flow reactor: A high rate and low parasitic energy process. *Applied Energy*, 202, 238–247.
<https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2017.05.134>
- SENER. (2012). Iniciativa Para El Desarrollo De Las Energías Renovables En México, 35.
- Stanikova, D., Surova, M., Ticha, L., Petrasova, M., Virgova, D., Huckova, M., ... Gasperikova, D. (2015). Melanocortin-4 receptor gene mutations in obese slovak children. *Physiological Research*, 64(6), 883–890. <https://doi.org/10.1073/pnas.0703993104>
- Tomei, M. C., Mosca Angelucci, D., & Daugulis, A. J. (2016). Towards a continuous two-phase partitioning bioreactor for xenobiotic removal. *Journal of Hazardous Materials*, 317, 403–415. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.05.092>
- Torres, P., & Perez, A. (2010). Actividad Metanogénica específica: una herramienta de control y optimización de sistemas de tratamiento anaerobio de aguas residuales. *Ingeniería de Recursos Naturales y Del Ambiente*, 9, 5–14. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=231116434001>
- Valle-Pereña, J., & Ortega-Navarro, H. (2012). Prospectiva de Energías Renovables 2012-2026. *Secretaría de Energía*, 1–156. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Varnero, M. T., Carú, M., Galleguillos, K., & Achondo, P. (2012). Tecnologías disponibles para la purificación de biogás usado en la generación eléctrica. *Informacion Tecnologica*, 23(2), 31–40. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642012000200005>
- Vavilin, V. A. (2008). Hydrolysis kinetics in anaerobic degradation of particulate organic material: An overview. *Waste Management*, 28(6), 939–951.
<https://doi.org/10.1016/j.wasman.2007.03.028>
- Visser. (1993). *IVMicrobiology Biotechnology* ©, 549–556.
- Wang, W., Xie, L., Luo, G., Zhou, Q., & Angelidaki, I. (2013). Performance and microbial community analysis of the anaerobic reactor with coke oven gas biomethanation and in situ biogas upgrading. *Bioresource Technology*, 146, 234–239.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.07.049>
- Weber. (2012). Producción de biogás en México estado actual y perspectivas. *Cuaderno Temático No. 5 Red Mexicana de Bioenergía*, 48.

Wellinger, A., & Lindberg, A. (2007). UPGRADING AND UTILISATION BIOGAS UPGRADING AND UTILISATION Table of Contents.

Wijffels, R. H., & Barten, H. (n.d.). *Bio-hydrogen*.

Xu, H., Gong, S., Sun, Y., Ma, H., Zheng, M., & Wang, K. (2015). High-rate hydrogenotrophic methanogenesis for biogas upgrading: The role of anaerobic granules. *Environmental Technology (United Kingdom)*, 36(4), 529–537.
<https://doi.org/10.1080/09593330.2014.979886>