



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO



FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA

CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA

Tema: Determinación del efecto de productos enzimáticos en el tratamiento de lodos PTAR Ambato y residuos verdes para la producción de biogás a escala de laboratorio

Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, previo la obtención del Título de Ingeniero Biotecnólogo, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología

Autor: Alex Javier Analuisa Morales

Tutor: Dr. Rodny David Peñafiel Ayala

Ambato - Ecuador

Julio - 2025

APROBACIÓN DEL TUTOR

Dr. Rodny David Peñafiel Ayala

CERTIFICA:

Que el presente trabajo de titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de este Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, el mismo que responde a las normas establecidas en el Reglamento de la Títulos y Grados de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Ambato, 23 de Junio de 2025

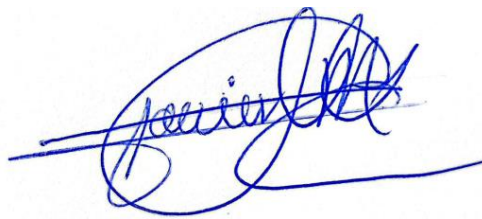
Dr. Rodny David Peñafiel Ayala

1712383520

TUTOR

AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo Alex Javier Analuisa Morales, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniero Biotecnólogo, son absolutamente originales, auténticos y personales; a excepción de las citas bibliográficas.



Alex Javier Analuisa Morales

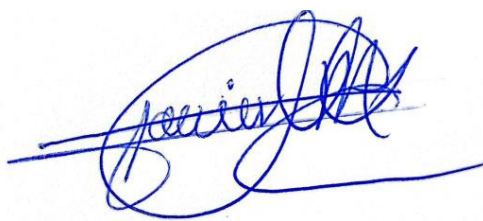
1805336979

AUTOR

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Informe Final del Trabajo de Titulación o parte de él, un documento disponible para su lectura consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedo los Derechos en línea patrimoniales de mi Informe Final del Trabajo de Titulación, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.



Alex Javier Analuisa Morales

1805336979

AUTOR

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos Profesores Calificadores, aprueban el presente Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencias e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

Para constancia firman:

Presidente del Tribunal

Dr. William Ricardo Calero Cáceres
1714348859

Dr. Santiago Casado Rojo
1759126954

Ambato, 07 de Julio de 2025

DEDICATORIA

Para mí es un placer y orgullo dedicarles esta Tesis a varias personas que fueron pilares y ejemplo a seguir durante este largo camino e importante etapa de mi vida. En primer lugar, a Dios por haberme dado vida, salud y fuerza para seguir adelante con mis propósitos, por ser el dador de mis cualidades y bendecir mi camino. A mis padres quienes son mis motores de mis sueños y haberme apoyado a lo largo de mi carrera profesional, por sus buenos consejos y por creer en mí. A mis hermanos por ser mis confidentes por ayudarme y apoyarme durante este largo camino. A mis docentes que han sido parte de mi camino universitario quiero agradecerles por trasmitirme los conocimientos necesarios para hoy poder estar aquí.

AGRADECIMIENTO

Con profunda estima y reconocimiento, extendiendo mi más sincera gratitud a mi Tutor Doctor Rodny David Peñafiel Ayala su dedicación docente y su inestimable guía ha sido pilar fundamental en la dirección y enriquecimiento de esta investigación. Mi gratitud se extiende a la Universidad Técnica de Ambato, bastión de excelencia académica, que ha fomentado el desarrollo de un espíritu crítico esencial para el análisis profundo de los desafíos de dicha investigación. Y para finalizar también agradezco a todos los que fueron mis compañeros de clase durante los niveles de Universidad ya que gracias al compañerismo, amistad y apoyo moral han aportado en un alto porcentaje a mis ganas de seguir en mi carrera profesional.

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

APROBACIÓN DEL TUTOR	ii
AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN	iii
DERECHOS DE AUTOR	iv
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO	v
DEDICATORIA	vi
AGRADECIMIENTO	vii
ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS	viii
ÍNDICES DE TABLAS	xi
ÍNDICES DE FIGURAS	xii
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN EJECUTIVO	xvii
ABSTRACT	xviii
CAPITULO I.- MARCO TEÓRICO	1
1.1. Antecedentes investigativos	1
1.1.1. Justificación	1
1.1.2. Biogás	2
1.1.3. Caracterización de Lodos PTAR y residuos verdes	4
1.1.4. Digestión anaerobia: principios y mecanismos	8
1.1.5. Aplicaciones de productos enzimáticos en la digestión anaeróbica	13
1.1.6. Biodigestores	15
1.1.7. Estudios preliminares	17
1.1.8. Actividad Metanogénica Específica	17
1.2. Objetivos	18
1.2.1. Objetivo general	18
1.2.2. Objetivos específicos	18

CAPITULO II.- METODOLOGÍA	19
2.1. Materiales	19
2.1.1. Equipos de laboratorio.....	19
2.1.2. Instrumentos de laboratorio	19
2.1.3. Reactivos de laboratorio	20
2.1.4. Insumos de laboratorio	23
2.2. Metodología	23
2.2.1. Selección del producto enzimático con mayor producción de metano	23
2.2.2. Análisis fisicoquímico de los parámetros del licor de biodigestión	28
2.2.3. Cuantificación de la producción de biogás.....	39
2.3. Método estadístico.....	40
CAPITULO III.- RESULTDOS Y DISCUSIÓN	41
3.1. Selección del producto enzimático con mejor rendimiento de metano.....	41
3.1.1. Ensayos de Actividad Metanogénica Específica AME por desplazamiento de liquido	41
3.2. Cuantificación de biogás en los biodigestores	44
3.3. Caracterización de los componentes de la mezcla y análisis de los parámetros fisicoquímicos del digestato	46
3.3.1. pH	47
3.3.2. Conductividad.....	49
3.3.3. Potencial de óxido-reducción	50
3.3.4. Demanda Química de Oxígeno.....	51
3.3.5. Sólidos totales.....	53
3.3.6. Solidos suspendidos totales	54
3.3.7. Sólidos Volátiles.....	55
3.3.8. Sulfato.....	57
3.3.9. Sulfuro	58
3.3.10. Fosfato	60

3.3.11. Hierro.....	62
3.3.12. Magnesio	63
3.3.13. Amonio	65
3.3.14. Cromo VI.....	66
3.3.15. Cromo total.....	68
3.3.16. Cadmio.....	70
CAPITULO IV.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	72
4.1. Conclusiones	72
4.2. Recomendaciones.....	73
MATERIAL DE REFERENCIA.....	75
ANEXOS	87

ÍNDICES DE TABLAS

Tabla 1. Equipos de laboratorio	19
Tabla 2. Instrumentos de laboratorio	20
Tabla 3. Reactivos de laboratorio	20
Tabla 4. Descripción de los productos enzimáticos comerciales	22
Tabla 5. Insumos de laboratorio.....	23
Tabla 6. Componentes del medio basal	24
Tabla 7. Determinación de la Actividad Metanogénica Especifica aplicando productos enzimáticos	44
Tabla 8. Comparación entre los tratamiento y control respecto a la producción de metano ..	46
Tabla 9. Caracterización inicial de los componentes de la mezcla	47

ÍNDICES DE FIGURAS

Figura 1. Sistema para los ensayos de Actividad Metanogénica Específica	27
Figura 2. Esquematización de los ensayos para la Actividad Metanogénica Específica aplicando productos enzimáticos microbianos.	27
Figura 3. Diseño de los biorreactores a utilizarse.	29
Figura 4. Configuración de los sistemas para las 12 semanas de operación.	30
Figura 5: Monitoreo diario de la Actividad metanogénica específica y su regresión lineal..	42
Figura 6: Cuantificación de biogás semanal.	44
Figura 7: Producción acumulada de metano.	45
Figura 8: Monitoreo semanal de pH en los biodigestores.	48
Figura 9: Monitoreo semanal de la conductividad en los biodigestores.	50
Figura 10: Monitoreo semanal del potencial redox en los biodigestores.	51
Figura 11: Monitoreo semanal de la Demanda Química de Oxígeno en los biodigestores...	52
Figura 12: Monitoreo semanal de solidos totales en los biodigestores.	54
Figura 13: Monitoreo semanal de solidos suspendidos totales en los biodigestores.	55
Figura 14: Monitoreo semanal de los sólidos volátiles en los biodigestores.	56
Figura 15: Monitoreo semanal de sulfato en los biodigestores.	58
Figura 16: Monitoreo semanal de Sulfuro en los biodigestores.	60
Figura 17: Monitoreo semanal de Fosfato en los biodigestores.	61
Figura 18: Monitoreo semanal de Hierro en los biodigestores.	63
Figura 19: Monitoreo semanal de Magnesio en los biodigestores.	65
Figura 20: Monitoreo semanal de Amonio en los biodigestores.	66
Figura 21: Monitoreo semanal de Cromo VI en los biodigestores.	67
Figura 22: Monitoreo semanal de cromo total en los biodigestores.	69
Figura 23: Monitoreo semanal de cromo cadmio en los biodigestores.	71

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Biodigestor a escala de laboratorio que se instalaron	87
Anexo 2. Sistema para los ensayos de Actividad metanogénica específica que se instalaron	87
Anexo 3. Curva de calibración de sulfuro	88
Anexo 4. Análisis de la varianza (ANOVA) del ensayo AME para evaluar el efecto de los tratamientos (enzimas) sobre la producción de metano	89
Anexo 5. Prueba de Tukey aplicada al ensayo de actividad metanogénica específica.....	89
Anexo 6. Análisis de la varianza (ANOVA) de DQO para los efectos de los tratamientos y semana (semana 3-5) Análisis de la varianza (ANOVA) de DQO para los efectos de los tratamientos y semana (semana 3-5).....	89
Anexo 7. Prueba de Fisher de DQO para el efecto de las semanas (semana 3-5).....	90
Anexo 8. Análisis de la varianza (ANOVA) de sólidos totales para los efectos de los tratamientos y semana (semana 3-5).....	90
Anexo 9. Análisis de la varianza (ANOVA) de sólidos suspendidos totales para los efectos de los tratamientos y semana (semana 3-5).....	90
Anexo 10. Prueba de Fisher de sólidos suspendidos totales para el efecto de las semanas (semana 3-5).....	90
Anexo 11. Análisis de la varianza (ANOVA) de sólidos volátiles para los efectos de los tratamientos y semana (semana 3-5).....	91
Anexo 12. Prueba de Fisher de sólidos volátiles para el efecto de los tratamientos (semana 3-5).	91
Anexo 13. Análisis de la varianza (ANOVA) de sulfuro para los efectos de los tratamientos y semana (semana 3-5).....	91
Anexo 14. Prueba de Fisher de sulfuro para el efecto de los Tratamientos (semana 3-5).....	91
Anexo 15. Prueba de Fisher de sulfuro para el efecto de las semanas (semana 3-5)	92
Anexo 16. Análisis de la varianza (ANOVA) de sulfato para los efectos de los tratamientos y semana (semana 3-5).....	92
Anexo 17. Prueba de Fisher de sulfato para el efecto de los Tratamientos (semana 3-5).....	92
Anexo 18. Prueba de Fisher de sulfato para el efecto de las semanas (semana 3-5).....	92
Anexo 19. Análisis de la varianza (ANOVA) de fosfato para los efectos de los tratamientos y semana (semana 3-5).....	93
Anexo 20. Prueba de Fisher de fosfato para el efecto de las semanas (semana 3-5).....	93
Anexo 21. Análisis de la varianza (ANOVA) de hierro para los efectos de los tratamientos y semana (semana 3-5).....	93

Anexo 22. Análisis de la varianza (ANOVA) de hierro para los efectos de las semanas (semana 3-5).....	93
Anexo 23. Análisis de la varianza (ANOVA) de magnesio para los efectos de los tratamientos y semana (semana 3-5).....	94
Anexo 24. Prueba de Fisher de magnesio para el efecto de los Tratamientos (semana 3-5)...	94
Anexo 25. Análisis de la varianza (ANOVA) de amonio para los efectos de los tratamientos y semana (semana 3-5).....	94
Anexo 26. Prueba de Fisher de amonio para el efecto de los Tratamientos (semana 3-5).....	94
Anexo 27. Análisis de la varianza (ANOVA) de cromo total para los efectos de los tratamientos y semana (semana 3-5).....	95
Anexo 28. Prueba de Fisher de cromo total para el efecto de los Tratamientos (semana 3-5).	95
Anexo 29. Prueba de Fisher de cromo total para el efecto de las semanas (semana 3-5).	95
Anexo 30. Análisis de la varianza (ANOVA) de cadmio para los efectos de los tratamientos y semana (semana 3-5).....	95
Anexo 31. Prueba de Fisher de cadmio para el efecto de los Tratamientos (semana 3-5)	96
Anexo 32. Análisis de la varianza (ANOVA) de DQO para los efectos de los tratamientos y semana (semana 6-12).....	96
Anexo 33. Prueba de Fisher de DQO para el efecto de los tratamientos (semana 6-12).....	96
Anexo 34. Prueba de Fisher de DQO para el efecto de las semanas (semana 6-12)	96
Anexo 35. Análisis de la varianza (ANOVA) de sólidos totales para los efectos de los tratamientos y semana (semana 6-12).....	97
Anexo 36. Prueba de Fisher de solidos totales para el efecto de los tratamientos (semana 6-12).	97
Anexo 37. Análisis de la varianza (ANOVA) de solidos suspendidos totales para los efectos efecto de los tratamientos y semana (semana 6-12).....	97
Anexo 38. Prueba de Fisher de sólidos suspendidos totales para el efecto de los tratamientos (semana 6-12).....	97
Anexo 39. Prueba de Fisher de sólidos suspendidos totales para el efecto de las semanas (semana 6-12).....	98
Anexo 40. Análisis de la varianza (ANOVA) de sólidos volátiles para los efectos de los tratamientos y semana (semana 6-12).....	98
Anexo 41. Prueba de Fisher de sólidos volátiles para el efecto de los tratamientos (semana 6-12).	98

Anexo 42. Prueba de Fisher de sólidos volátiles para el efecto de las semanas (semana 6-12)	98
Anexo 43. Análisis de la varianza (ANOVA) de sulfuro para los efectos de los tratamientos y semana (semana 6-12)	99
Anexo 44. Prueba de Fisher de sulfuro para el efecto de los Tratamientos (semana 6-12)	99
Anexo 45. Prueba de Fisher de sulfuro para el efecto de las semanas (semana 6-12)	99
Anexo 46. Análisis de la varianza (ANOVA) de sulfato para los efectos de los tratamientos y semana (semana 6-12)	99
Anexo 47. Prueba de Fisher de sulfato para el efecto de los Tratamientos (semana 6-12)	100
Anexo 48. Prueba de Fisher de sulfato para el efecto de las semanas (semana 6-12)	100
Anexo 49. Análisis de la varianza (ANOVA) de fosfato para los efectos de los tratamientos y semana (semana 6-12)	100
Anexo 50. Prueba de Fisher de fosfato para el efecto de los tratamientos (semana 6-12)	100
Anexo 51. Prueba de Fisher de fosfato para el efecto de las semanas (semana 6-12)	101
Anexo 52. Análisis de la varianza (ANOVA) de hierro para los efectos de los tratamientos y semana (semana 6-12)	101
Anexo 53. Prueba de Fisher de hierro para el efecto de los tratamientos (semana 6-12)	101
Anexo 54. Prueba de Fisher de hierro para el efecto de las semanas (semana 6-12)	101
Anexo 55. Análisis de la varianza (ANOVA) de magnesio para los efectos de los tratamientos y semana (semana 6-12)	102
Anexo 56. Prueba de Fisher de magnesio para el efecto de los Tratamientos (semana 6-12)	102
Anexo 57. Análisis de la varianza (ANOVA) de amonio para los efectos de los tratamientos y semana (semana 6-12)	102
Anexo 58. Prueba de Fisher de amonio para el efecto de los Tratamientos (semana 6-12)	102
Anexo 59. Prueba de Fisher de amonio para el efecto de las semanas (semana 6-12)	103
Anexo 60. Análisis de la varianza (ANOVA) de cromo total para los efectos de los tratamientos y semana (semana 6-12)	103
Anexo 61. Prueba de Fisher de cromo total para el efecto de los Tratamientos (semana 6-12)	103
Anexo 62. Prueba de Fisher de cromo total para el efecto de las semanas (semana 6-12)	103
Anexo 63. Análisis de la varianza (ANOVA) de cadmio para los efectos de los tratamientos y semana (semana 6-12)	104
Anexo 64. Prueba de Fisher de cadmio para el efecto de los Tratamientos (semana 6-12)	104

Anexo 65. Prueba de Fisher de cadmio para el efecto de las semanas (semana 6-12).....	104
Anexo 66. Resultados completos de los análisis semanales del licor de digestión de los biodigestores	104
Anexo 67. Resultados restantes de los análisis semanales del licor de digestión de los biodigestores (continuación).....	108
Anexo 68. Carta compromiso con EMAP	110

RESUMEN EJECUTIVO

Las plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR) generan diariamente grandes cantidades de lodos, cuya gestión representa uno de los mayores desafíos debido a su constante acumulación. Paralelamente, el incremento en los residuos verdes ha intensificado las emisiones de gases de efecto invernadero, como dióxido de carbono y metano, al dificultar su descomposición natural. En este contexto, la digestión anaeróbica (DA) se plantea como una alternativa sostenible para valorizar los desechos mediante la recuperación de energía en forma de biogás. Además, el uso de productos enzimáticos puede acelerar la generación de biogás. De esta manera, se contribuye a una mejor sostenibilidad frente a esta problemática de nivel global. La investigación se estructuró en dos fases. En la primera, se aplicó el método de Actividad Metanogénica Específica (AME) para seleccionar, entre tres productos comerciales, aquel con mayor eficiencia en la producción de metano. En la segunda fase, se aplicó el producto seleccionado a cuatro biodigestores de 4L, con distintas configuraciones de alimentación y adición enzimática. Se monitorearon parámetros fisicoquímicos clave como pH, sólidos, nutrientes y metales pesados. La producción de metano fue cuantificada mediante desplazamiento de líquido. Los resultados demostraron que la adición enzimática mejoró significativamente la generación de metano, influenciada por condiciones óptimas de pH, amonio, temperatura y sólidos. Se concluye que el uso de productos enzimáticos representa una estrategia eficaz para valorizar residuos orgánicos, aportando al estado del arte una alternativa biotecnológica para optimizar la producción de biogás y la calidad del digestato.

Palabras clave: Digestión anaerobia, Productos enzimáticos, lodos de PTAR, residuos verdes, biogás, Actividad Metanogénica Específica, Digestato

ABSTRACT

Wastewater treatment plants (WWTPs) generate large quantities of sludge daily, the management of which represents one of the greatest challenges due to its constant accumulation. At the same time, the increase in green waste has intensified greenhouse gas emissions, such as carbon dioxide and methane, by hindering its natural decomposition. In this context, anaerobic digestion (AD) is proposed as a sustainable alternative for valorizing waste through energy recovery in the form of biogas. Furthermore, the use of enzymatic products can accelerate biogas generation, thereby contributing to greater sustainability in the face of this global problem. The research was structured in two phases. In the first, the Specific Methanogenic Activity (SMA) method was applied to select, from among three commercial products, the one with the greatest methane production efficiency. In the second phase, the selected product was applied to four 4L biodigesters, with different feed configurations and enzyme addition. Key physicochemical parameters such as pH, solids, nutrients, and heavy metals were monitored. Methane production was quantified by liquid displacement. The results demonstrated that enzyme addition significantly improved methane generation, influenced by optimal pH, ammonium, temperature, and solids conditions. It is concluded that the use of enzymatic products represents an effective strategy for valorizing organic waste, providing a state-of-the-art biotechnological alternative for optimizing biogas production and digestate quality.

Keywords: Anaerobic digestion, Enzymatic products, WWTP sludge, Biogas, Specific Methanogenic activity, Digest

CAPITULO I.- MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes investigativos

1.1.1. Justificación

Las plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR) generan diariamente cantidades enormes de lodos como subproducto de los sistemas de tratamiento de aguas residuales (Sharma et al., 2022). Su gestión es una de las problemáticas más desafiantes en las PTAR debido a la inevitable producción (Kor & Eskicioglu, 2019). De igual forma, los residuos verdes han tenido un aumento radical, provocando que tarden más tiempo en descomponerse ocasionando emisiones de gases de efecto invernadero como CO_2 y metano (X. Liu et al., 2023).

Actualmente, Ecuador no cuenta con normativas ambientales específicas para el manejo apropiado de los lodos de PTAR, añadiendo que actualmente el destino son los rellenos sanitarios (Saltos, 2023). Una alternativa al tratamiento se basa en el proceso de digestión anaeróbica DA (Nabaterega et al., 2021). Siendo la recuperación de energía a partir de estos lodos el punto de atención en los últimos años (Díaz et al., 2020).

Esto debido a las crecientes preocupaciones sobre la seguridad energética, los impactos ambientales como el cambio climático han hecho del proceso de digestión anaeróbica una tecnología factible para producir energía renovable. Por tanto, el biogás y la digestión anaeróbica de lodos tienen un gran potencial (Volschan et al., 2021).

No obstante, investigaciones previas indica que la adición de enzimas a los digestores anaeróbicos mejora la digestión, siendo la producción de biogás el principal objetivo de la aplicación de enzimas durante el proceso de digestión anaerobia (Mariani, 2018). Dando énfasis a las enzimas hidrolíticas que son los biocatalizadores más importantes para la digestión anaerobia en la producción de biogás (Nugraha et al., 2021). En base a esta información, se plantea estudiar el efecto de la adición de enzimas al proceso de digestión anaeróbica de los lodos de PTAR-Ambato en conjunto con los residuos verdes dentro de un biodigestor para la obtención de biogás.

1.1.2. Biogás

1.1.2.1. Naturaleza y composición del biogás

El biogás es una mezcla de gases generados, como resultado de la descomposición de la materia orgánica o desechos orgánicos (desechos municipales, desechos agrícolas, desechos alimentarios) a partir de la actividad de bacterias anaerobias, específicamente metanogénicas. Del conjunto de gases presente en el biogás, el elemento de mayor interés es el gas metano (**Jameel et al., 2024**). El biogás se compone de metano (50-75%), dióxido de carbono (25-50%), nitrógeno (2-8%) y un pequeño porcentaje de compuestos traza como sulfuro de hidrogeno, amoniaco, hidrogeno y compuestos orgánicos volátiles. Es una fuente de energía renovable que puede reducir de manera efectiva las emisiones de gases de efecto invernadero y, por tanto, reducir el impacto climático del consumo de energía (**Li et al., 2019**).

1.1.2.2. Procesos bioquímicos involucrados en la producción de biogás

De manera general, cuatro procesos bioquímicos son los que están relaciones con la producción de biogás por medio de la digestión anaerobia: Hidrolisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis (**Sánchez et al., 2020**).

– Hidrólisis

Durante esta etapa las bacterias transforman las moléculas orgánicas complejas insolubles como carbohidratos, proteínas, lípidos, etc. en moléculas más simples y solubles. Este proceso es llevado a cabo por enzimas como celulosa, proteasa y lipasa excretadas por los microorganismos responsables de la fermentación, donde las proteínas se hidrolizan a aminoácidos, los lípidos en ácidos grasos de cadena larga, carbohidratos en azúcares simples.

– Acidogénesis

En esta etapa las moléculas hidrolizadas que son compuestos relativamente solubles se convierten en una variedad de moléculas de pequeño tamaño específicamente ácidos grasos

volátiles como acetato, propionato, butirato, ácido valérico, ácido fórmico, ácido láctico y también moléculas como H_2 , CO_2 y amoníaco.

– Acetogénesis

En este proceso las moléculas que son el producto de la acidogénesis como el propionato, butirato, ácido valérico, ácido fórmico, ácido láctico acidogénesis con excepción del acetato, son nuevamente convertidas en ácido acético, CO_2 y H_2 por las bacterias acetogénicas.

– Metanogénesis

En la última etapa el material orgánico degradable (ácido acético) se convierte en metano y CO_2 por un grupo de arqueas conocidas como metanógenos acetoclásticos.

(Zamri et al., 2021).

1.1.2.3. Ventajas y aplicaciones del biogás: sostenibilidad energética y economía circular

La forma más simple de aplicación del biogás es la combustión directa para calefacción e iluminación. Además, la aplicación más sofisticada es su uso para la generación de energía, la llamada cogeneración. La cogeneración es la producción simultánea de electricidad y calor mediante la combustión de biogás. Este es el llamado proceso de "calor y energía combinados" (CHP) (Korbag et al., 2021).

Si bien, el biogás se utiliza principalmente en aplicaciones de cogeneración (CHP) en todo el mundo, este se puede utilizar en tres ámbitos: como combustible para automóviles, generación de vapor y energía eléctrica. Sin embargo, una aplicación muy atractiva del biogás para la producción de electricidad es su uso en pilas de combustible. Las ventajas de las aplicaciones de las pilas de combustible con metano consisten en su mayor eficiencia en comparación con la combustión y la cogeneración (Beschkov, 2021).

No obstante, el biogás se puede convertir en biometano que se puede utilizar como combustible para vehículos, sustituto del gas natural en usos industriales, comerciales y domésticos, o alimentar a las redes de gas natural para reemplazar al gas natural. El dióxido de carbono se

puede extraer del biogás y utilizar como materia prima para invernaderos y también como materia prima para la producción de combustible químico (Barasa & Olanrewaju, 2022).

1.1.3. Caracterización de Lodos PTAR y residuos verdes

1.1.3.1. Problemática ambiental asociada a los lodos de PTAR

A pesar de que los lodos presentan una composición rica en nutrientes como nitrógeno y fósforo y se los puede utilizar en diferentes aplicaciones, normalmente se los considera como contaminantes. Actualmente, existe una preocupación pública por la aplicación de estos lodos teniendo en cuenta sus efectos a largo plazo por contener compuestos orgánicos potencialmente tóxicos. El riesgo de la aplicación de los lodos para las personas y el medio ambiente se debe a la acumulación excesiva de metales pesados en los suelos agrícolas provocando una mayor absorción de metales pesados por los cultivos, generando así una alteración en la calidad de los alimentos y por ende a los seres humanos, ya que puede contener un alto riesgo cancerígeno (Kobe et al., 2023).

Además de la presencia de metales pesado, los lodos de depuradora contienen agentes biológicos que pueden ser perjudiciales para los organismos vivos debido a que algunos de ellos son patógenos o simplemente pueden alterar los ambientes ecológicos. Habitualmente se pueden encontrar cuatro grupos de patógenos en los lodos: virus, bacterias, parásitos y hongos.

– Bacterias

La flora microbiana presente en los lodos es muy diversa y abundante, la mayoría de bacterias son saprofitas, aunque algunas de ellas son potencialmente patógenas. Se han identificado 243 especies bacterianas potencialmente patógenas en lodos activados, incluidos seis patógenos principales (*Bacillus anthracis*, *Clostridium perfringens*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, y *Vibrio cholera*) además de *Salmonella*, *Shigella*, *Klebsiella*,

Serratia, *Enterobacter* y *Proteus* todas ellas pueden causar diversas infecciones del tracto urinario, neumonía, infecciones de sangre, e infecciones gastrointestinales.

Además, *E.coli* y *Salmonella* son bacterias que pueden sobrevivir una vez liberadas al medio ambiente a partir de la aplicación de lodos en tierras agrícolas. Como resultado, el consumo de alimentos de estas tierras podría ser una vía de contaminación. Se ha evidenciado que, a bajas concentraciones de *Salmonella* en los lodos, ciertas verduras como la lechuga y tomate pueden contener estas bacterias en sus tejidos.

Por otro lado, la presencia de bacterias patógenas podría agravarse más por la presencia de antibióticos en las aguas residuales. Esto incrementaría el número de bacterias resistentes a los antibióticos. Asimismo, la alta densidad de bacterias en los reactores de la PTAR aumenta la probabilidad de transferencia de material genético entre bacterias, esto generaría graves problemas sanitarios.

– Hongos

La presencia de hongos en los lodos de depuradora es alta, estos microorganismos juegan un papel fundamental en el tratamiento de aguas residuales, debido a que participan en la degradación de diversos contaminantes. No obstante, varios de ellos son patógenos para las plantas y causarían enfermedades en frutas y verduras. Igualmente, al ser hongos oportunistas, también tienen propiedades patógenas potenciales para los humanos y animales.

– Virus

Dado el origen de las aguas residuales, los lodos contienen normalmente virus, destacándose adenovirus, rotavirus, poliovirus y virus de la hepatitis A, su viabilidad procedían de alrededor de 15%-25% para rotavirus y virus de la hepatitis A mientras que en un 100% y 90% adenovirus y poliovirus, evidenciando que los procesos de tratamiento de agua y lodos no son lo suficiente para inactivar los virus, poniendo en evidencia los posibles riesgos sanitarios de la exposición de lodos en el medio ambiente.

(Rorat et al., 2019).

1.1.3.2. Composición fisicoquímica de lodos PTAR

Las características de los lodos pueden variar drásticamente según el tipo de descarga de la planta de tratamiento de aguas residuales. A menos que exista una clasificación para las aguas residuales municipales, industriales y escorrentías de agua de lluvia, es complicado sistematizar las características de los lodos de depuradora. Tanto las aguas residuales industriales como las municipales pueden presentar composiciones variables de materia orgánica e inorgánica en los lodos de una PTAR común. De igual forma, los distintos procesos por los que pasa los lodos dan lugar a diferentes características **(Dasari et al., 2024)**.

Los siguientes datos representan la caracterización de lodos de una planta de tratamiento de aguas residuales de Gaza, donde los lodos a evaluar fueron lodos primarios y secundarios que posteriormente fueron acumulados por seis meses además de que fueron estabilizados, los parámetros evaluados fueron pH, conductividad, nitrógeno total, magnesio, etc., los resultados indican un pH 6,55; CE 7160 $\mu S/cm$; TKN 5440 mg/kg ; Mg 1623 mg/kg ; $PO_4^{-3} - P$ 213 mg/kg ; Cd 2 mg/kg ; Cr 118 mg/kg ; Fe 9755 mg/kg **(Meghari & Omar, 2017)**.

En otra investigación se reportan que un lodo digerido de una PTAR presenta los siguientes parámetros en porcentajes como: sólidos secos totales (ST); sólidos volátiles (% de ST); nitrógeno (N, % de ST); fósforo (P_2O_5 , % de ST); hierro (no como sulfuro); pH; (6-12); (30-60); (1.6-6); (1.5-4); (3-8); (6.5-7.5) (Yan et al., 2009). Por otro lado, en la PTAR de Bhagwanpur, Varanasi los lodos muestran un pH 6,6; nitrógeno 147.28 mg/kg ; fósforo 67.15 mg/kg ; potasio 170;03 mg/kg ; hierro 83.47 mg/kg ; cobre 29.9 mg/kg ; cadmio 3.44 mg/kg y cromo 8.86 mg/kg **(Singh et al., 2023)**.

1.1.3.3. Propiedades de los residuos verdes

Existen variaciones en las características de los residuos verdes debido a factores como la temporada, el clima, el lugar y las políticas de conservación. No obstante, a diferencia de otros tipos de biomasa, la biomasa de los residuos verdes tiene ciertas características en común, por ejemplo, baja densidad; alto contenido de materia orgánica predominado por la lignocelulosa, la cual está compuesta de celulosa, hemicelulosa y lignina la cual es resistente a la descomposición, además, contiene una alta relación C/N generalmente mayor a 40. Los

nutrientes principales como N, P y K son menos del 2% de la materia seca. La presencia de metales pesados como Pb, Hg y Cd son muy bajos. En cuanto al porcentaje de humedad puede contener entre un 5,2% y 69% como valor mínimo y valor máximo, de la misma forma en materia volátil tiene 1,2% y 48,3%; C 26,8% y 58,3%; N 0,2% y 3,20%; P 0,007% y 0,40%; K 0,30% y 1,90%; relación C/N 12 y 410; celulosa 15,2% y 52,7%; hemicelulosa 4% y 30,6%; lignina 5% y 36,2%, en cuestión de metales pesados Hg 0,02 y 0,27 *mg/kg*; Pb 0,74 y 54 *mg/kg*; As 0,08 y 5 *mg/kg*; Cd 0,06 y 0,26 *mg/kg*; Cr 0,52 y 61,40 *mg/kg* (X. Liu et al., 2023b).

1.1.3.4. Sinergia entre lodos y residuos verdes

La monodigestión de los lodos suele ser ineficiente al tratar de eliminar la materia orgánica y se requiere un tratamiento más prolongado para eliminar más materia orgánica. Los lodos es una mezcla de materia orgánica rica en nitrógeno, y tiene una baja relación C/N que varía de 6 a 9, que es menor a lo que se requiere para un adecuado funcionamiento de la digestión anaerobia. Una relación C/N desequilibrada significa una dieta desequilibrada para los microorganismos y, por ende, ocasiona efectos negativos sobre la actividad microbiana.

Los residuos de cocina es un tipo de biomasa con alto contenido orgánico que incluye carbohidratos, proteína cruda, grasa cruda entre otros materiales, lo que la hace un sustrato adecuado para la digestión anaerobia. Pero la digestión solo de estos residuos puede dar lugar a un mal desempeño en la producción de metano, debido a la acumulación de ácidos grasos volátiles por la rápida hidrólisis-acidogénesis.

Teniendo en cuenta las propiedades complementarias de los lodos y residuos de cocina, agruparlos proporcionaría suficiente capacidad amortiguadora (lodos) contra la acumulación de ácidos grasos en la fermentación de los residuos de cocina, lo que generaría un mejor rendimiento de biogás y una mejor estabilidad del proceso. Sin embargo, los residuos de cocina continúan siendo un sustrato rico en nitrógeno con una relación C/N que varía de 14,7 a 36,4.

En la digestión anaerobia, los sustratos con alto contenido de carbono y bajo contenido de nitrógeno son los más requeridos. En términos de relación C/N para el digestor, los residuos lignocelulósicos, incluidos los residuos agrícolas, residuos verdes y la hierba, pueden ser co-

sustratos prometedores en la digestión anaerobia, por su riqueza en carbono en una relación C/N superior a 50. Aplicar los desechos verdes como un solo sustrato en la digestión también presenta límites debido a una baja producción hidrolítica, la cual es causada por los compuestos celulosa y la lignina.

Se han demostrado que los desechos verdes es un complemento apropiado para un sistema de co-digestión de lodos y residuos de cocina, debido a la composición equilibrada en la materia orgánica presente en el sistema. Esto permite obtener relaciones C/N más equilibradas, como también proporcionar sustancias menos supresoras. Pero una adición excesiva de desechos verdes dificulta la carga hacia el sistema, pudiendo deberse a la naturaleza recalcitrante de la lignocelulosa en los desechos verdes (**Chen et al., 2019**).

Se han evaluado los efectos interactivos de distintos cosustratos a través de co-digestión anaerobia, en donde, los lodos de depuradora aportaron a un proceso más estable y una comunidad microbiana sana debido a sus abundantes metales traza. Por el contrario, los residuos de alimentos confirmaron una mayor viabilidad económica del proceso debido a los altos niveles de materia orgánica biodegradable. La degradación de residuos de jardín pudo mejorarse mediante comunidades microbianas más diversas con una mayor diversidad metabólica (**Mu et al., 2019**).

1.1.4. Digestión anaerobia: principios y mecanismos

1.1.4.1. Concepto y etapas principales del proceso

La digestión anaerobia es un proceso biotecnológico complejo respaldado por la acción conjunta de diferentes comunidades microbianas, que convierten los desechos orgánicos en metano y dióxido de carbono, en ausencia de oxígeno. Este proceso agrupa cuatro rutas metabólicas que facilitan la descomposición y transformación consecutiva de los sustratos orgánicos. Los productos generados por el metabolismo anaerobio influyen en el rendimiento, la estabilidad y la resiliencia de las comunidades microbianas (**Yin et al., 2024**).

– Hidrólisis

La hidrólisis es la primera etapa para la generación de biogás. Las moléculas complejas como carbohidratos, proteínas y lípidos son transformadas a moléculas más simples como azúcares, aminoácidos y ácidos grasos de cadena larga. Esta etapa depende primordialmente de las condiciones ambientales, como el contenido de materia orgánica, pH, temperatura, el espacio disponible para la degradación enzimática y las sustancias inhibitorias (**Aggarangsi et al., 2023**). Por ejemplo, la celulosa es un almidón insoluble que se encuentra comúnmente en lodos municipales primarios y secundarios. La celulosa puede constituir aproximadamente el 15% del peso seco de los lodos. Cuando la celulosa es hidrolizada en un biodigestor, se liberan muchas moléculas de glucosa soluble, debido a bacterias hidrolíticas como *Cellulomonas* la cual procesa la enzima celulasa y rompe los enlaces entre las unidades de glucosa (**Gerardi, 2003**).

– Acidogénesis

La acidogénesis ocurre después de la reacción de hidrólisis, donde se produce intermediarios para una digestión posterior. Durante esta etapa, se convierte moléculas simples en ácidos grasos de cadena corta o ácidos grasos volátiles (AGV), alcohol e hidrogeno H_2 . Las bacterias acidogénicas o acidógenas llevan a cabo este paso. Los principales productos durante este proceso los principales productos son el ácido propiónico, al ácido butírico y el ácido acético, aunque en pequeñas cantidades se encuentran el ácido caproico, valérico, láctico y succínico. El más importante de los ácido es el acetato puesto es que el principal ácido orgánico utilizado como sustrato por las bacterias formadoras de metano como (*Bacteroides, Clostridium, Butyribacterium, Propionibacterium, Pseudomonas and Ruminococcus*). En la generación de biogás, la acidogénesis se caracteriza por ser la reacción que ocurre a mayor velocidad, aunque puede ocasionar la acumulación de AGV lo que provoca una disminución de pH en el sistema y puede provocar una falla en el proceso (**Aggarangsi et al., 2023**).

– Acetogénesis

La fabricación de acetato se produce en esta etapa mediante los intermediarios (AGV y alcohol) generados en la acidogénesis. Este proceso es fundamental, ya que el acetato es responsable del 60-70% del metano total generados. Los productos generados por las bacterias acetogénicas son el ácido acético, hidrogeno y dióxido de carbono. No obstante, existen dos maneras de por

las cuales se consume hidrogeno en el medio, teniendo en cuenta que se forma una gran cantidad de H_2 por la formación de los ácidos acético y propionato. La primera es mediante los microorganismos metanogénicos, quienes utilizan hidrogeno y dióxido de carbono para generar metano, la otra forma es a través de la formación de ácidos orgánicos, como los ácidos propiónico y butírico, que se forman mediante la reacción entre el hidrogeno, el dióxido de carbono y el ácido acético. Las bacterias acetógenicas *Syntrophomonas wolfei* y *Syntrophobacteri wolinii* son las que se encuentra comúnmente en los digestores anaerobios.

– Metanogénesis

La fase final del proceso de degradación anaeróbica de compuestos orgánicos en metano y dióxido de carbono son las arqueas, microorganismos anaerobios obligados, las cuales son extremadamente sensibles al oxígeno y a otras condiciones ambientales (pH, temperatura e inhibidores). Estos microorganismos son la clave para la producción de biogás. Sin embargo, estos microorganismos utilizan un número limitado de sustratos, entre ellos el ácido acético, hidrogeno, dióxido de carbono, ácido fórmico, metanol, metilaminas y el monódico de carbono. Debido a su afinidad por el sustrato y el grado de generación de metano, los microorganismos metanogénicos se dividen en dos grupos principales.

- Metanógenos acetilclásticos: son microorganismos que utilizan acetato, aunque solo unas pocas especies metanogénicas son capaces de generar metano a partir de acetato, este grupo de bacterias son las que predominan en la digestión anaerobia, produciendo alrededor del 60-70% de total la producción de metano. Entre los más destacados están: *Methanosarcina*, *Methanosaeta* y *Methanosaeta*.
- Metanógenos hidrogenotróficos: son microorganismos que utilizan hidrogeno, aunque a diferencia de los metanógenos acetilclásticos, casi todas las especies metanogénicas conocidas son capaces de producir metano a partir de hidrogeno y dióxido de carbono, entre los más frecuentes en los reactores anaerobios son *Methanobacterium*, *Methanospirillum* y *Methanobrevibacter*.

(de Lemos Chernicharo, 2007)

1.1.4.2. Factores que influyen en la digestión anaerobia

Es importante comprender el proceso de digestión anaerobia y los factores que influyen en la producción de biogás.

– pH

El pH es un indicador muy importante para determinar la rapidez de los procesos químicos o biológicos. La mayor parte de microorganismos necesitan un pH neutro para un correcto funcionamiento. En la digestión anaerobia, el rango de pH óptimo es muy limitado. Se ha investigado que el proceso puede ser estable en distintos rangos de pH, pero, se ha identificado que el intervalo de 6,3 a 7,8 es el más ideal para la digestión anaerobia.

No obstante, la digestión anaerobia puede sufrir cambios de pH a lo largo del proceso y en las diferentes rutas metabólicas. Por ejemplo, durante la hidrólisis, el pH óptimo está entre 5 y 6 ya que las bacterias ácido génicas requieren un pH ligeramente ácido. Además, el pH puede incrementarse hasta un rango de 6,5-8 durante la metanogénesis, teniendo en cuenta que durante las últimas etapas del proceso el pH debe ser superior a 6, caso contrario, puede existir una acumulación de ácido grasos volátiles generando una disminución excesiva del pH, y, por ende, se inhibirá la población microbiana.

La temperatura puede alterar el pH al afectar la solubilidad del dióxido de carbono en la reacción, por lo tanto, a mayor temperatura el pH será mayor ya que la solubilidad del dióxido de carbono es baja y la formación de ácido carbónico es pobre. Además, debido a la degradación de proteínas, puede haber un aumento en el pH debido a la producción de amoníaco como resultado de la degradación. Tanto la hidrólisis como la acidogénesis son menos sensibles al pH, y pueden trabajar dentro de un rango de 5,5 a 6,5.

– Temperatura

La temperatura es otro factor importante en cualquier proceso biológico. Es necesario que los microorganismos no solo sobrevivan, sino que también se multipliquen y puedan generar enzimas necesarias para el proceso de digestión anaerobia a diferentes temperaturas. Por lo común, la temperatura mesófila se la considera óptima para los microorganismos anaeróbicos.

Sin embargo, es necesario tener mucho cuidado con las pequeñas variaciones en la temperatura ya que pueden ser significativas en la producción de metano, debido a que los microorganismos que se han adaptado a una temperatura necesitan reajustarse a una nueva temperatura, lo que puede generar cambios en su estructura.

Investigaciones indican que, a una temperatura termófila, la etapa de hidrólisis se acelera generando una mayor degradación de compuestos recalcitrantes, aumentando el rendimiento de biogás. Sin embargo, si se excede por encima de los 40°C, puede existir una mayor producción de ácidos que pueden dar un efecto inhibitor sobre los microorganismos metanogénicos. Así mismo, una razón más para no utilizar una temperatura termófila es la posible desnaturalización de las enzimas bacterianas, que son primordiales para que se logre una digestión adecuada, a una temperatura alta. Por el contrario, a temperaturas en un rango psicrófilico 4-25°C es complicado y se necesita complementos adicionales para lograr un crecimiento microbiano y una producción de biogás óptima.

– **Mezcla**

Es necesario mezclar para mejorar el contacto entre la biomasa y el sustrato de manera constante, permitiendo una distribución equilibrada de la temperatura en todo el reactor y así evitar la formación de zonas muertas en el reactor. De la misma forma una agitación constante evita la formación de espuma y mantienen la homogeneidad en todo el sistema.

(Theuerl et al., 2020)

– **Tasa de carga orgánica**

La tasa de carga orgánica es un parámetro fundamental para los sistemas alimentados por lotes, así como de forma continua. Incrementar la tasa de carga orgánica, implica aumentar el rendimiento de biogás hasta que la relación no sea constante. Esto se debe a la alteración del equilibrio entre el sustrato y el inóculo. Ahora, si a tasa de carga orgánica es muy poca se puede generar inhibición de la actividad microbiana. Por el contrario, si la proporción de carga orgánica es muy alta, puede ocasionar una hidrólisis más rápida en comparación con la metanogénesis, generando una mayor producción de ácidos grasos volátiles generando una falla en el reactor debido al bajo pH.

- **Características del sustrato**

Este parámetro desempeña un importante papel en la configuración del sistema de operación para la digestión anaeróbica. Es fundamental identificar las características físicas y químicas de la materia prima que serán degradados mediante la digestión anaeróbica, permitiendo obtener información relevante sobre el diseño del reactor, así como la estabilidad del proceso y los parámetros operativos. Estas características son: sólidos totales, sólidos volátiles, humedad, nutrientes, lípidos, proteínas amoniacas, tamaño de partícula, ácidos grasos volátiles, carbohidratos, lignina y biodegradabilidad.

- **Relación C/N**

Estudios indican que una relación C/N entre 25 y 30 se considera ideal para el proceso de digestión anaeróbica. Por un lado, si la proporción es superior a 30, es posible la acumulación de amoníaco y por ende una inhibición en los microorganismos, ya que el amoníaco es tóxico para las bacterias metanogénicas. Por el otro lado, si las relaciones C/N son inferiores a 25, los microorganismos pueden experimentar una deficiencia de nitrógeno y una disminución de pH provocado por la acumulación de ácidos grasos volátiles. La coigestión es una alternativa que puede utilizarse para mejorar las relaciones C/N de un sustrato.

- **Tiempo de retención hidráulica (TRH)**

El tiempo de retención es un indicativo del tiempo en el cual los líquidos continúan permaneciendo dentro del reactor. Además, este parámetro depende de los parámetros operativos como volúmenes del reactor, temperatura y caudal en el caso de un sistema continuo. Es necesario un TRH alto para sustratos complejos como aquellos con un alto contenido de lípidos o lignocelulósicos, mientras que aquellos ricos en carbohidratos no necesitan un TRH largo.

(Aggarangsi et al., 2023)

1.1.5. Aplicaciones de productos enzimáticos en la digestión anaeróbica

1.1.5.1. Enzimas

Las enzimas son proteínas especializadas que se encargan de la respiración, la digestión entre otras actividades metabólicas en los seres vivos. Estas moléculas son catalizadores biológicos que reducen la energía necesaria para que se produzca una reacción, incrementándola velocidad de dicha reacción, sin que se alteren así mismas. En consecuencia, las enzimas permiten que se formen productos en un menor tiempo posible debido al uso de una menor cantidad de energía **(Aransiola et al., 2022)**. Es así que tienen la capacidad de degradar diversos productos de desecho en compuestos más simples. La producción de enzimas a partir de microorganismos es ventajosa debido a la facilidad de cultivo y a sus rendimientos que son altos. Esto ha hecho que los procesos microbianos se utilicen a nivel comercial y en innumerables industrias **(Agrawal, 2024)**.

1.1.5.2. Tipos de enzimas relevantes en la digestión anaerobia

El primer paso de la digestión anaerobia es la hidrólisis el cual además de ser el primer paso a la degradación de compuestos, también es el paso limitante de la velocidad de digestión, para acelerar la reacción del proceso, un grupo de enzimas hidrolíticas pueden mejorar la eficiencia de la digestión, pero las enzimas comerciales generan un alto costo para los procesos industriales.

Las enzimas hidrolíticas están tomando interés crucial en varios sectores como en la agricultura, el cuero, papel, alimentos, detergentes, textiles y aguas residuales. Estas enzimas como la carbohidratasa, proteasas, lipasas y celulasas, son sintetizados por muchos tipos de microorganismos, entre ellos, bacterias, hongo, arqueas y actinomicetos. Por un lado, las carbohidrasas son enzimas que descomponen los carbohidratos, las proteasas rompen los enlaces peptídicos de las proteínas y los convierten en péptidos y aminoácido **(L. Nair et al., 2023)**. En tanto, las lipasas tienen la tendencia a degradar los lípidos y pueden derivarse de una gran diversidad de microorganismos.

La biomasa lignocelulósica es una importante reserva sostenible, se compone de tres tipos de componentes, celulosa, hemicelulosa y lignina que están muy compactado y químicamente unidos por enlaces no covalentes y covalentes **(Chandra et al., 2021)**. La descomposición de

la celulosa se debe a la celulasas la cual rompe los enlaces $\beta - 1,4$ de la celulosa, liberando subunidades de azúcar como glucosa. Sin embargo, la descomposición en glucosa es llevada mediane la acción de tres tipos de enzimas: endoglucanasas, exogluconasas y β -glucosidasas (Dasari et al., 2024).

La hemicelulosa es complicada degradarlo a diferencia de la celulosa, su descomposición da como resultados azucares y ácido acético. Sin embargo, para degradar a la hemicelulosa se necesita enzimas como la xilanasa, la cual hidroliza el xilano, no obstante, la acción cooperativa de otras enzimas mejora la hidrolisis del xilano (Gunjal et al., 2020).

1.1.5.3. Beneficios y limitaciones de la aplicación de enzimas microbianas

Las enzimas son muy difíciles de sintetizar químicamente, por lo tanto, se ha usado microorganismos vivos. Diversas fuentes de sintetizar enzimas, el mercado global de enzimas se clasifica en microorganismos, plantas y animales. De entre las tres opciones, los microorganismos se destacan como la principal fuente debido a diversas características, como bajo costo de producción, fácil disponibilidad, menor tiempo de procesamiento, no toxicidad, respeto al medio ambiente y bajo aporte de energía. Este tipo de enzimas domina el mercado, aún más con las técnicas avanzadas de ingeniería genética y su extensa aplicación las hacen encabezar el mercado global de enzimas. Sin embargo, las limitaciones se encuentran en su purificación haciéndolas un poco costosas, pero su alta producción y disponibilidad de fuentes las hacen más baratas en comparación con otras fuentes (Rathore, 2023).

1.1.6. Biodigestores

1.1.6.1. Definición y tipos de biorreactores

El proceso de digestión anaerobia se lleva a cabo comúnmente dentro de un recipiente cerrado conocido como digestor o biorreactor anaeróbico.

- **Reactor anaerobio de lecho fijo:** El más conocido son los filtros anaerobios, este tipo de reactores se caracterizan por la presencia de un material de relleno estacionario, donde los sólidos biológicos pueden adherirse o quedar atrapados en sus poros. La biomasa adherida al material de soporte o retenida en sus poros degrada el sustrato

contenido en la corriente de depuradora y, aunque la biomasa se libera esporádicamente, el tiempo medio de residencia de los sólidos en el reactor suele ser mayor a 20 días.

- **Reactor anaerobio de lecho expandido:** En los reactores de lecho expandido y fluidizado la biomasa crece en películas de espesor reducido, adheridas a partículas de pequeño tamaño, a diferencia con los procesos de lecho estacionario, donde la biopelícula presenta un mayor espesor y esta adherida a un medio de soporte de mayor dimensión. Tanto a expansión como la fluidización reduce o elimina los problemas de bloque, además de aumentar la retención de biomasa y su contacto con el sustrato, permitiendo reducir los tiempos de retención hidráulica en los reactores.
- **Reactor anaeróbico de dos etapas:** la biomasa que se flocula en el reactor, junto con los sólidos influentes no digeridos que se extraen del sistema, se retiene por medio de un dispositivo de separación de sólidos y se devuelve al reactor de primera etapa donde se mezcla con las aguas residuales influentes. El problema en este tipo de sistema es la separación y concentración de los sólidos del efluente, debido a que las partículas productoras de gas hacen que los flocúlos de biomasa floten en lugar de sedimentarse.
- **Reactor anaeróbico con deflectores:** el reactor cuenta con deflectores verticales que obligan al líquido a realizar un movimiento secuencial de flujo descendente y ascendente, lo que garantiza un mayor contacto del agua residual con la biomasa presente en el fondo del sistema.
- **Reactor anaeróbico de manto de flujo ascendente (UASB):** Consiste primordialmente en un flujo ascendente de aguas residuales mediante un lecho de lodos denso con alta actividad microbiana. Los sólidos varían desde partículas muy densas hasta granulares con buena capacidad de sedimentación cerca del fondo (lecho de lodos) hasta un lodo más disperso y ligero cerca de la parte superior del reactor (manto de lodos). La conversión de la materia se genera en todas las zonas de reacción (lecho y manto de lodos) y la mezcla del sistema se favorece mediante el flujo ascendente de aguas residuales y burbujas de gas.

- **Reactor anaeróbico de lecho de lodos granulares expandidos (EGSB):** Se asemeja a un reactor anaeróbico de manto de flujo ascendente, con la diferencia en lo que respecta al tipo de lodo y grado de expansión del lecho de lodos. El lodo de tipo granular se retiene en el reactor y se mantienen expandido debido a las altas tasas hidráulicas aplicadas al sistema. Esta condición permite intensificar la mezcla hidráulica en el reactor y produce un mejor contacto entre la masa y el sustrato.

(de Lemos Chernicharo, 2007)

1.1.7. Estudios preliminares

1.1.7.1. Bioaumentación en la digestión anaerobia

La bioaumentación permite mejorar la biodegradación en los digestores a partir de la adición de microorganismos que tienen capacidades metabólicas específicas, esto incrementa la producción de metano en proceso de digestión anaerobia. Este proceso incluye pretratamientos biológicos, como el uso de hongos para descomponer la lignina y celulosa de los residuos vegetales mejorando así su biodegradabilidad. El estiércol se aplica comúnmente en los digestores permitiendo estabilizar la comunidad microbiana y evitando el colapso metanogénico, con prioridad en los sustratos ricos en carbohidratos. La bioaumentación permite agregar microorganismo con características metabólicas definidas al sistema de digestión, lo que ayuda a identificar que microorganismo son los responsables de las reacciones bioquímicas. Por medio de un análisis molecular, se pueden aislar y cultivar estos microorganismos, obteniendo detalles sobre sus necesidades de crecimiento y su potencial para aplicaciones industriales (Aydin, 2017).

1.1.8. Actividad Metanogénica Específica

La actividad metanogénica específica (AME) representa un parámetro crucial para evaluar la capacidad máxima de producción de metano por parte de un consorcio de microorganismos anaerobios, en condiciones controladas de laboratorios. Esta medición permitir conocer cuan

eficientemente los lodos anaerobios convierten sustratos orgánicos en biogás, especialmente metano, lo cual es esencial para la eliminación de Demanda química de Oxígeno (DQO), de aguas residuales. El metano, al ser casi insoluble, se libera fácilmente de la fase líquida, facilitando así el proceso de depuración. De esta forma, el AME es una herramienta importante para monitorear y controlar la eficiencia de la biomasa metanogénica en reactores anaerobios. conocer esta capacidad permite determinar la máxima carga admisible sin comprometer la estabilidad del sistema. Así, se optimiza la operación del reactor, asegurando un tratamiento eficiente de los efluente (Aquino et al., 2007).

1.2.Objetivos

1.2.1. Objetivo general

Determinar el efecto de productos enzimáticos en el tratamiento de lodos PTAR Ambato y residuos verdes para la producción de biogás a escala de laboratorio.

1.2.2. Objetivos específicos

- Seleccionar el producto enzimático con mayor producción de metano mediante el método de desplazamiento de líquido comparando tres productos comerciales EFIBACT, BIOMOG y EM-1®.
- Caracterizar periódicamente los parámetros fisicoquímicos del licor de digestión generado en los biodigestores, tanto antes como durante la aplicación del producto enzimático seleccionado en el primer objetivo.
- Determinar la producción de biogás generado en los biodigestores con adición del producto enzimáticos seleccionado a partir del método de desplazamiento de líquido.

CAPITULO II.- METODOLOGÍA

2.1. Materiales

Los equipos de laboratorio, instrumentos, reactivos e insumos de que utilizaron durante todo el transcurso del proyecto se detallan a continuación.

2.1.1. Equipos de laboratorio

En la siguiente tabla se muestra los equipos de laboratorio utilizados durante la elaboración del proyecto.

Tabla 1.

Equipos de laboratorio

Nombre	Cantidad
Medidor de pH FISHER SCIENTIFIC	1
Balanza analítica RADWAG	1
Baño María	1
Equipo Horno Microondas para digestión ETHOS UP	1
Equipo de absorción atómica con horno de grafito y lámparas para detección de metales	1
Fotómetro multiparamétrico Hanna 839899	1
Reactor Hanna HI 839800	1
Campana extractora	1
Mufla de cerámica BIOBASE	1
Estufa BINDER	1
Plato de calentamiento con agitador magnético CORNING	1
Medidor multiparamétrico Hanna	1

2.1.2. Instrumentos de laboratorio

En la siguiente tabla se detallan los instrumentos de laboratorio utilizados durante la elaboración del proyecto.

Tabla 2.*Instrumentos de laboratorio*

Nombre	Cantidad
Vaso de precipitación 50 mL	2
Vaso de precipitación 100 mL	2
Probeta 50 ml	2
Balón de aforo 100 mL	3
Balón de aforo 25 mL	4
Micropipeta 100-1000 μ L	1
Tubo de ensayo	9
Matraz Erlenmeyer 250 mL	3
Vial 10 ml	6
Cubeta 10 ml	6
Capsulas de porcelana	9
Embudo	1
Varilla de agitación	8
Espátula	1
Papel filtro de membrana 0,4 μ m	1
Puntas de pipeta 100-1000 μ L	100
Desecador	1
Papel filtro	48 unidades

2.1.3. Reactivos de laboratorio

En la siguiente tabla se detalla los reactivos de laboratorio y la cantidad utilizada durante la elaboración del proyecto.

Tabla 3.*Reactivos de laboratorio*

Nombre	Cantidad
Cloruro de amonio	280 mg
Fosfato mono potásico	250 mg
Cloruro de magnesio hexahidratado	82,49 mg

Cloruro de calcio	10 mg
Bicarbonato de sodio	3000 mg
Extracto de levadura	10 mg
Acetato de sodio anhidro	3204,53 mg
Ácido bórico	0,05 mg
Cloruro ferroso tetrahidratado	2 mg
Cloruro de zinc	0,05 mg
Dicloruro de manganeso	0,032 mg
Molibdato de amonio tetrahidratado	0,05 mg
Sulfatos de aluminio hidratado	0,14 mg
Hexahidratado de cloruro cobaltoso	2 mg
Nitrato de níquel hexahidratado	0,06 mg
Sulfato cúprico pentahidratado	0,04 mg
Selenito de sodio pentahidratado	0,1 mg
Ácido clorhídrico	0,001 mg
Nitrato de plata	63 mL
Oxalato de N, N-dimetil-p-fenildiamina (DMP)	2,5 mL
Ácido sulfúrico	63 mL
Dicromato de potasio 0.25 N	27 mL
Cloruro de zinc (2%)	90 mL
Sulfato de amonio	6 unidades
Sulfato de hierro III	6 unidades
Reactivo sulfato HI93751-0	18 unidades
Reactivo fosfato A HI93717A-0	25 mL
Reactivo fosfato B HI93717B-0	18 unidades
Reactivo hierro HI 93721-0	18 unidades
Reactivo A magnesio HI 93752A-Mg	18 unidades
Reactivo B magnesio o HI 93752B-Mg	180 mL
Murexida	15 mg
Reactivo A de amonio	8 mL
Reactivo B de amonio	8 mL
Reactivo nitrato	18 unidades
Hidróxido de sodio	2400 mL

Tabla 4.*Descripción de los productos enzimáticos comerciales.*

Producto comercial	Composición	Uso
BIOMOG	24×10^2 UFC/mL <i>Thermus thermophilus</i>	- Aplicación directa al suelo sobre la materia orgánica - Descomposición incorporada en cultivos estables - Compost - descomposición de materia orgánica cruda - inhibidor de amoníaco y malos olores
EFIBACT	$7,2 \times 10^3$ UFC/mL <i>Sacharomyces spp</i> 8×10^7 UFC/mL <i>Lactobacillus spp</i>	- Eliminación de malos olores (por presencia de materia orgánica en descomposición, aguas servidas y heces fecales. - Tratamiento de fosas sépticas, trampas de grasas, efluentes domésticos e industriales - Tratamiento de desechos orgánicos, fermentación de excretas y elaboración de abonos.
EM-1®	$2,4 \times 10^5$ UFC/mL <i>Saccharomyces cerevisiae</i> $1,3 \times 10^7$ UFC/mL <i>Lactobacillus casei</i>	- Acelera la descomposición de la materia orgánica y promueve la generación de sustancias bioactivas, lo cual favorece el desarrollo y crecimiento de los cultivos. Su efecto sobre la materia orgánica permite el tratamiento de aguas residuales y su aplicación en biorremediación ambiental

2.1.4. Insumos de laboratorio

En la siguiente tabla se detalla los insumos de laboratorio y la cantidad utilizada durante la elaboración del proyecto.

Tabla 5.

Insumos de laboratorio.

Nombre	Cantidad
Cuaderno	1 unidad
Esferos y lápiz	2 unidades
Rotulador	2 unidades
Papel absorbente	9 rollos
Papel aluminio	2 rollos
Alcohol antiséptico	1 galón
Cuantes de nitrilo	2 paquetes
Canasta plástica	1 unidad

2.2. Metodología

2.2.1. Selección del producto enzimático con mayor producción de metano

Recolección de lodos de la centrifuga de la PTAR-Ambato

Los lodos fueron recolectados de la EP-Empresa Municipal de Agua Potable y Alcantarillado de Ambato (EMAPA), específicamente de la centrifugadora de la PTAR. Se utilizaron recipientes de polietileno de boca ancha para almacenar las muestras, las cuales fueron etiquetadas según el tipo de muestra, el lugar de donde proviene la muestra, las características físicas. El permiso de muestre se observa en el (**Anexo 68**).

En cuanto a su almacenamiento y transporte se utilizaron funda Ziploc y se colocaron en un *cooler* a 4°C hasta llegar al Laboratorio de la UODIDE de la Universidad Técnica de Ambato donde posteriormente se conservaron en refrigeración a 4°C para evitar cualquier tipo de contaminación (INEN, 2014).

Recolección de los residuos verdes

Los residuos verdes procedentes de los mercados de la ciudad de Ambato se recolectaron y colocaron en fundas plásticas para ser transportadas al Laboratorio de la UODIDE. Luego, en el laboratorio fueron triturados y preparados en las porciones adecuadas antes de ser introducidas en los biodigestores.

Preparación del medio basal

Para la preparación del medio basal se utilizó la metodología realizada por (Garzón et al., 2015). A continuación, se detallan los componentes y cantidades requeridas para la elaboración del medio basal. El medio debe tener un pH ajustado de entre 7 a 8 con la finalidad de promover la actividad metanogénica de los microorganismos.

Tabla 6.

Componentes del medio basal

Componentes	Nomenclatura	Cantidad requerida (mg/L)
Cloruro de amonio	NH ₄ Cl	280
Fosfato mono potásico	KH ₂ PO ₄	250
Cloruro de magnesio hexahidratado	MgCl ₂ * 6H ₂ O	82,49
Cloruro de calcio	CaCl ₂	10
Bicarbonato de sodio	NaHCO ₃	3000
Extracto de levadura		10
Acetato de sodio anhidro	C ₂ H ₃ NaO ₂	3204,53
Elementos traza		
Ácido bórico	H ₃ BO ₃	0,05

Cloruro ferroso tetrahidratado	$\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	2
Cloruro de zinc	ZnCl_2	0,05
Dicloruro de manganeso	MnCl_2	0,032
Molibdato de amonio tetrahidratado	$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0,05
Sulfato de aluminio hidratado	$\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$	0,14
Hexahidrato de cloruro cobaltoso	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	2
Nitrato de níquel hexahidratado	$\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,06
Sulfato cúprico pentahidratado	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,04
Selenito de sodio pentahidratado	$\text{Na}_2\text{SeO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,1
	EDTA	1
Ácido clorhídrico	HCl	0,001

Fuente: (Garzón et al., 2015).

Aplicación de productos enzimáticos microbianos

Se emplearon 3 productos enzimáticos microbianos comerciales para evaluar su capacidad de generar metano mediante el ensayo de Actividad Metanogénica Específica (AME). Los productos analizados fueron: BIOMOG, EFIBACT y EM-1®.

Instalación y operación del sistema para los ensayos de actividad metanogénica específica

El sistema se diseñó en base a un soporte de embudos. Para la operación se aplicó la metodología de Garzón, Ochoa-Herrera & Peñafiel (2015) pero con ciertas modificaciones.

Los ensayos AME se realizaron mediante el método de desplazamiento de líquido. En una botella ámbar de 250 mL se añadió 90 mL de medio basal (tabla 5) a un pH ajustado entre 7,1-7,3, también se añadió 15 mL del inóculo (lodo del biodigestor) previamente caracterizado, por último, se agregó 45 mL de residuos verdes licuados (residuos de mercado) previamente caracterizado. La modificación de este ensayo con la adición de los residuos verdes, así como también con la adición de los productos a analizar () y se selló con un corcho de caucho. En una segunda botella se colocó 500 mL NaOH al 2% permitiendo disolver el dióxido de carbono producido. Finalmente se preparó el sistema para los ensayos (Figura 1) esto permite que la botella que contiene el medio basal, el inóculo y los residuos verdes, se conecten mediante una manguera a la botella que contiene la solución de NaOH, la cual tiene una aguja hacia el exterior. Adicionalmente, se colocó un colector para la acumulación de NaOH desplazado por el gas metano producido. Este sistema fue llevado a una incubadora a 30°C (Figura 2). el monitoreo de la producción de gas metano se realizó a través de la relación registrando el peso de la solución de NaOH desplazada por cada día hasta culminar el tercer día. Con estos datos se obtuvo una tasa de producción de gas metano que finalmente se expresa en unidades de actividad metanogénica específica: $g\ DQO - CH_4\ gSSV^{-1}d^{-1}$. Los ensayos se realizaron por duplicado (Garzón et al., 2015).

Se analizaron 3 productos enzimáticos presentando un control (sin enzimas) y 3 tratamientos (cada una con un tipo de producto enzimático diferente). Para el primer producto se añadió 150 μL de Efibact, esta cantidad añadida de este producto se debe a las indicaciones realizadas por el producto según el criterio para el cual se aplicó que en este caso fue de “tratamiento de fosas sépticas, trampas de grasas y efluentes” que indica que se debe colocar 1 L de Efibact por cada 1000 L de agua a ser tratada, que en este caso fue de 150 ml para los ensayos AME, del mismo modo se agregó 750 μL de Biomog, para este producto las indicaciones sugieren que se debe agregar 5 cc/ L agua a ser tratada, el criterio fue “inhibidor de amoníaco y malos olores” y por último se colocó 7,5 mL de EM-1® para este producto las indicaciones mencionaban que inicialmente se debe activar a los microorganismos para lo cual se agregó un 5% de EM-1 y 5% de melaza y completarlo hasta la cantidad que se deseaba utilizarlo, del producto activado según el criterio para “olores y tratamiento de aguas residuales” se aplicó el 5% de EM-1 activado.

Para el cálculo de la AME se realizó a partir de la gráfica de producción de metano de los ensayos AME donde se calculó la regresión lineal para cada ensayo obteniendo la ecuación de la recta y a partir de ella se obtiene la pendiente que representa la tasa de producción de metano por unidad de tiempo y luego dividirla por la biomasa, obteniendo la actividad metanogénica específica en g DQO- CH₄ /g SV*d

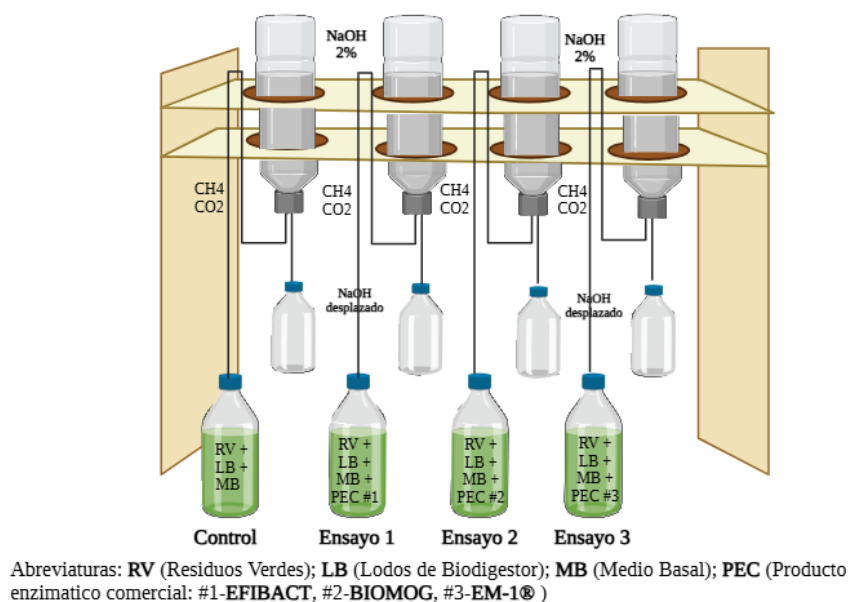


Figura 1. Sistema para los ensayos de Actividad Metanogénica Específica

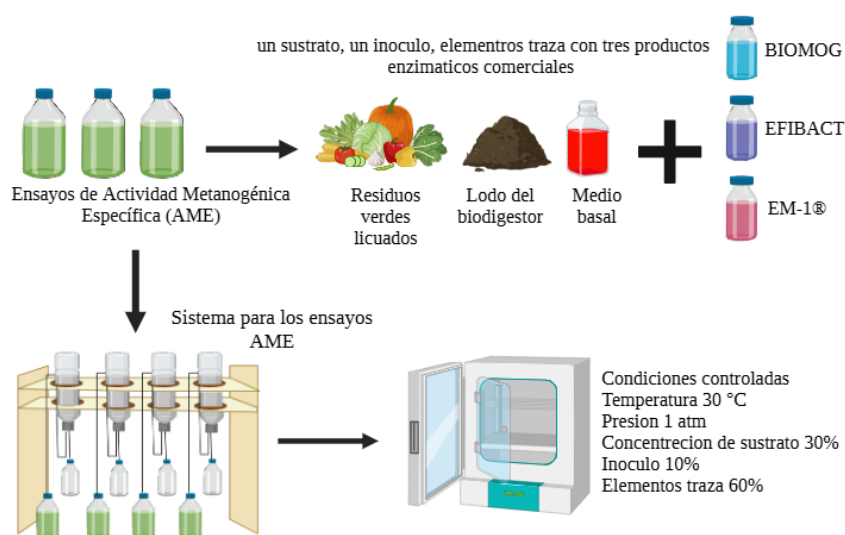


Figura 2. Esquematización de los ensayos para la Actividad Metanogénica Específica aplicando productos enzimáticos microbianos.

Cuantificación de biogás por el método de desplazamiento de líquido

El biogás al transcurrir por la solución NaOH reaccionó producto del pH alto, generando una separación del CH_4 del CO_2 , ya que el CO_2 al reaccionar con la solución alcalina se convirtió en H_2CO_3 . No obstante, el gas desplazó un volumen del líquido hacia otro envase, el cual fue proporcional al volumen de gas metano que ingresó a la botella. Con estos datos se obtuvo una tasa de producción de gas metano que finalmente se expresó en unidades de actividad metanogénica específica (Gigi & Merly, 2022).

2.2.2. Análisis fisicoquímico de los parámetros del licor de biodigestión

Implementación de biodigestores

Los biorreactores (biodigestores) se elaboraron en 4 recipientes con tapas plásticas de 4,74 L, además se realizó una perforación en los recipientes por la parte frontal, allí se instalaron llaves de plástico al recipiente que permitió extraer muestras semanales para los análisis fisicoquímicos. También se realizó dos perforaciones en las tapas para instalar dos mangueras, por un lado, la primera manguera sirvió para la alimentación, por otro lado, la segunda manguera permitió desplazar el metano generado en los biorreactores hacia una botella con la solución de NaOH al 2%. Finalmente, para asegurarse de no haber fugas por las perforaciones se sellaron con silicona líquida todos los espacios vacíos que hubiera, con esto se mantuvieron condiciones herméticas en los sistemas.

Una nueva manguera se conectó mediante una aguja desde una botella ámbar vacía a la solución de NaOH al 2%. Esta botella de NaOH está invertida con el objetivo de desplazar dicha solución hacia la nueva botella producto de la presión generada por el gas metano producido por los sistemas (Figura 3). El Anexo 1 muestra los biorreactores instalados a escala de laboratorio.

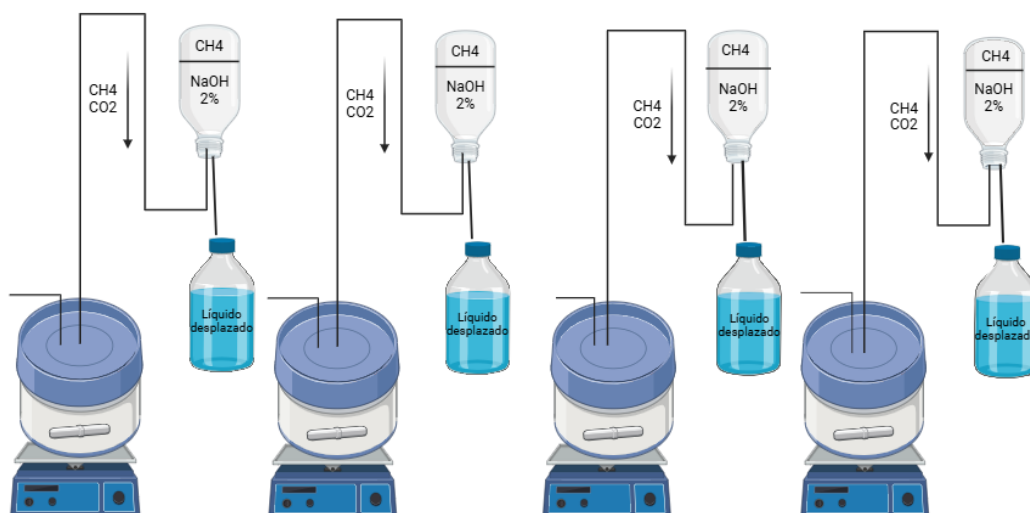


Figura 3. *Diseño de los biorreactores a utilizarse.*

Operación de los biodigestores

Los sistemas se depositaron sobre placas de calentamiento con agitadores magnéticos en su interior y se agitaron por 30 min/día (**Castelo et al., 2014**). Los 4 biodigestores durante las dos primeras semanas los sistemas se operaron en las mismas proporciones, es decir: 30% residuos verdes licuados (1200 mL); 60% medio basal (2400 mL); y 10% lodos del biodigestor (LB) (400 mL). Dichas cantidades proporcionadas están sujetas a la capacidad del recipiente 4000 mL (4 L). A partir, de la tercera hasta la quinta semana se inició con la alimentación de forma periódica y la relación estuvo acorde con la cantidad de muestra extraída semanalmente 190 mL del licor de biodigestión extraído, así mismo se realizó un cambio en las configuraciones para los tratamientos 1 y 2, los cuales fueron el tipo de lodo, en este caso, durante la alimentación de la tercera semana se utilizó lodos centrifugados (LC), pero en la misma proporción que en los lodos del biodigestor 10% (400 mL). A continuación, al cabo de la sexta semana en adelante hasta culminar la experimentación, se realizó una nueva alimentación, para lo cual las configuración de los tratamientos 1,2 y el control 2 se modificaron, su modificación se basó en la adición del producto enzimático seleccionado durante el ensayo de actividad metanogénica específica (AME) y a igual que en los ensayos AME, la cantidad de producto enzimático añadido fue acorde al mismo criterio, con la diferencia del volumen de muestra para los sistemas (biorreactores). No obstante, el realizó un cambio en la composición del tratamiento 2, se eliminó el medio basal por tanto las proporciones para los residuos verdes

licuados y lodos centrifugados fueron 75- 25%, es decir, 142,5 mL-47,5 mL. La configuración de los biorreactores de forma esquematizada se observa en la figura 3.

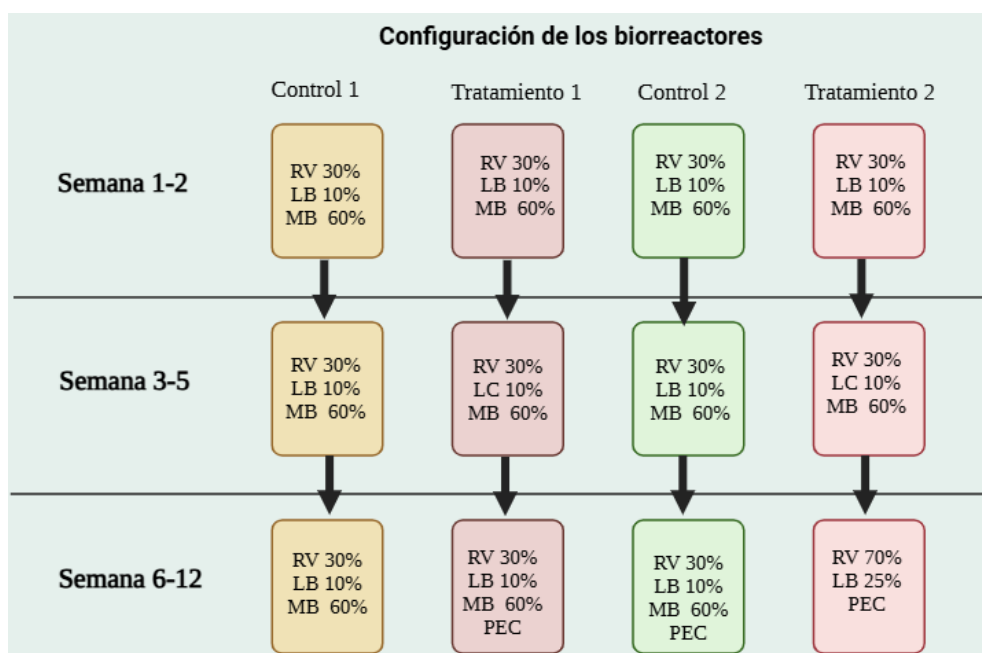


Figura 4. Configuración de los sistemas para las 12 semanas de operación.

Caracterización inicial de los componentes sólidos de la mezcla (residuos verdes, inóculo y lodos centrifugados)

La caracterización de los componentes sólidos se realizó antes de dar inicio a los biorreactores a escala de laboratorio como a los ensayos AME.

Determinación de humedad de la materia

Se esterilizó las cápsulas de porcelana en el horno a 105 °C por 24 horas, y se colocó en el desecador hasta que estas se enfríen. Seguidamente, las cápsulas de porcelana fueron pesadas y se les agregó 5 g de la muestra. Después se secaron las cápsulas en el horno a 105°C durante 24 horas y fueron llevadas nuevamente al desecador para que se enfríen. Finalmente, las cápsulas fueron pesadas (APHA, 2023). Para determinar el % de humedad se utilizó la siguiente metodología:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{(m_{cap} + m_{muestra\ húmeda}) - (m_{cap} - m_{muestra\ seca})}{m_{muestra\ húmeda}} \times 100$$

Donde:

m_{cap} : peso de la capsula vacía.

$m_{muestra\ húmeda}$: peso inicial de la muestra.

$m_{muestra\ seca}$: peso de la muestra seca.

Determinación del pH

Los electrodos del medidor multiparamétrico se calibraron previamente para llevar a cabo la medición. La muestra se vertió en un vaso de precipitación limpio, y el electrodo fue enjuagado con una pequeña cantidad de esta misma muestra. Luego, el electrodo se sumergió a una profundidad de 3 cm en la muestra, asegurándose de que la unión del electrodo quedara completamente cubierta. Durante el proceso, se agitó suavemente la muestra. Una vez que la lectura se estabilizó, se registró el valor. Al finalizar, los sensores se limpiaron con agua destilada y se secaron utilizando papel secante (HANNA Instruments, 2019).

Determinación de sólidos totales (ST)

Se eliminaron las partículas gruesas flotantes y los aglomerados de material extraño presentes en la muestra. Posteriormente, las cápsulas fueron secadas en un horno precalentado a una temperatura de entre 103 y 105 °C durante 2 horas, y luego se dejaron enfriar en un desecador. Una vez enfriadas, las cápsulas se pesaron, y posteriormente se añadieron 200 mg de muestra. Inmediatamente después, se colocaron en un baño maría con agua ultrapura tipo II. Cuando se observó que la muestra se había evaporado, se trasladaron al horno a una temperatura de 103 a 105 °C durante 1 hora para completar el secado. Finalmente, tras ese tiempo, las cápsulas se enfriaron nuevamente en el desecador y se procedió a realizar la pesada final (APHA, 2023). Para determinar los sólidos totales se utilizó la siguiente formula:

$$ST \left(\frac{mg}{L} \right) = \frac{(A - B)}{V (mL)} \times 1000 \times 1000$$

Donde:

A: Peso final de la capsula con la muestra seca, en g

B: Peso inicial de la capsula tarada, en g

V: Volumen de muestra aplicada, en mL

1000: Factor de conversión de gramo a miligramo

1000: Factor de conversión de mililitro a litro

Determinación de sólidos suspendidos totales (SST)

Se realizó el pesaje de los crisoles y del papel filtro (B), el cual había sido previamente lavado y secado durante 2 horas a 105 °C. A continuación, se instaló el equipo de filtración al vacío. El papel filtro se colocó sobre el embudo, donde se vertieron 50 mL de muestra, y se encendió la bomba para iniciar el proceso de filtración. Al finalizar la filtración, se retiró el papel filtro y se colocaron los crisoles para ser pesados. Posteriormente, se introdujeron en la estufa durante 2 horas a 105 °C. Finalmente, se enfriaron en el desecador y se realizó un nuevo pesaje (A) (APHA, 2023). Para determinar los sólidos totales se utilizó la siguiente formula:

$$SST \left(\frac{mg}{L} \right) = \frac{(A - B)}{V (mL)} \times 1000 \times 1000$$

Donde:

A: peso del crisol mg + filtro en mg + residuos secos, en gr.

B: peso del crisol + filtro, en gr.

V: volumen de muestra aplicada, en mL.

1000: Factor de conversión de gramo a miligramo.

1000: Factor de conversión de mililitro a litro.

Determinación de sólidos volátiles (SV)

Las muestras fueron colocadas en un recipiente de porcelana y selladas con papel film para ser secadas en una estufa a 40 °C, hasta obtener entre 200 y 500 g de muestra seca. De esta cantidad, se pesaron 20 g (P1), los cuales fueron secados a 105 °C hasta alcanzar una masa constante (P2), y luego se colocaron en un desecador. Una vez enfriadas, las muestras fueron transferidas a una mufla de cerámica BIOBASE, donde la temperatura se incrementó gradualmente hasta alcanzar los 550 °C. Esta temperatura se mantuvo constante durante 2 horas. Posteriormente, la temperatura se redujo lentamente hasta llegar a 200 °C. Finalmente, las muestras se colocaron nuevamente en el desecador para enfriarse y se realizó un último pesaje (P3) (APHA, 2023). Para determinar los sólidos totales se utilizó la siguiente formula:

$$SV (\%) = \frac{a - b}{m} \times 1000$$

Donde:

a: masa de la muestra y recipiente antes de la calcinación, en gr (P2).

b: masa de la muestra y recipiente después de la calcinación, en gr (P3).

m: masa del lodo solidificado, en gr (P1).

Determinación de nitrógeno total

Se empleó el método del ácido crómico, cuyas especificaciones incluyen un rango de medición de 0 a 150 mg/L (como N), una resolución de 1 mg/L, una precisión de ± 3 mg/L o $\pm 4\%$ de la lectura a 25 °C. Los reactivos utilizados fueron: HI 93767B-B (vial de digestión para nitrógeno total, rango alto), PERSULFATE/N (reactivo de persulfato de potasio), BISULFATE/N (reactivo de metabisulfito de sodio), HI 93767-0 (reactivo de nitrógeno total) y HI 93766V-OHR (vial de digestión para nitrógeno total, rango alto). Para llevar a cabo la medición, las muestras previamente solubilizadas se prepararon en dos viales de digestión, a los cuales se añadió un paquete del reactivo PERSULFATE/N. En el primer vial (blanco) se incorporaron 0,5 mL de agua desionizada, mientras que en el segundo vial (muestra) se añadieron 0,5 mL de la muestra. A continuación, los viales se calentaron durante 2 horas a 105 °C para completar el proceso de digestión. Una vez finalizado, se añadió el contenido del paquete BISULFITE/N a los viales digestados y se agitó suavemente.

Posteriormente, se añadió el reactivo HI 93767-0 a cada vial y se agitó durante 15 segundos. Luego, se transfirieron 2 mL de la muestra digerida a un vial HI 93766V-0HR, repitiendo el mismo procedimiento con el blanco digerido, invirtiendo ambos viales 10 veces. Finalmente, el vial blanco se colocó en el soporte para calibrar el instrumento, seguido del vial de la muestra, y se realizó la medición. El resultado se obtuvo en mg/L de nitrógeno (N) (**HANNA Instruments, 2019**).

Determinación de fósforo total

La medición se realizó siguiendo una metodología adaptada de "*The Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th edition*, 4500-P C, vanadomolybdophosphoric acid method". Esta técnica cuenta con las siguientes especificaciones: un rango de medición de 0,00 a 32,0 mg/L (como P), una resolución de 0,1 mg/L, una precisión de $\pm 0,5$ mg/L o $\pm 4\%$ de la lectura a 25 °C, y utiliza una fuente de luz LED con un filtro de interferencia de banda estrecha de 420 nm. Los reactivos empleados fueron HI 93763A-0 (vial de digestión para fósforo total, rango alto) y DEIONIZED 120 (agua desionizada). Para el procedimiento, se

utilizaron dos viales HI 93763A-0. En el primer vial (blanco) se añadieron 5 mL de agua desionizada, mientras que en el segundo vial se agregaron 5 mL de muestra. El vial blanco se colocó en el soporte del equipo para calibrar el instrumento de medición. Posteriormente, se introdujo el vial con la muestra en el equipo, donde se midió la concentración de fósforo en mg/L (HANNA Instruments, 2019).

Caracterización semanal del licor de biodigestión

El control de los parámetros fisicoquímicos se llevó a cabo de forma semanal con la finalidad de analizar las condiciones internas del biodigestor.

Determinación de conductividad y pH

Los electrodos del medidor multiparámetro fueron ajustados y calibrados para medir de manera independiente ambos parámetros físicos. A continuación, la muestra se vertió en un vaso de precipitación limpio y seco, y el electrodo se enjuagó utilizando una pequeña cantidad de la misma muestra. Luego, el electrodo fue sumergido en la muestra a una profundidad de 3 cm, agitándose de forma suave para garantizar que la unión del electrodo estuviera completamente cubierta. Una vez que la lectura se estabilizó, se registró el resultado. Tras finalizar la medición, los sensores fueron enjuagados con agua destilada y secados cuidadosamente con papel absorbente (HANNA Instruments, 2019).

Medición de ORP

El potencial de oxidación-reducción (ORP) se determinó empleando un equipo multiparamétrico. La medición fue realizada por el electrodo de referencia, el cual evaluó la transferencia de electrones, ya sea por captura o liberación. Los datos obtenidos se utilizaron para analizar el nivel de saneamiento de las muestras (Thermo Fisher Scientific, 2012).

Determinación de la Demanda Química de Oxígeno (DQO)

Se tomaron 2,5 mL de muestra en tubos de ensayo con tapa, a los cuales se les añadieron 1,5 mL de solución de digestión y 3,5 mL de ácido sulfúrico. Los estándares, el blanco y las muestras fueron colocados en un horno a 150°C durante 2 horas para llevar a cabo el proceso de digestión. Una vez finalizada esta etapa, los estándares y las muestras fueron analizados

mediante espectrofotometría a una longitud de onda de 610 nm. Para preparar 1 litro de la solución de digestión empleada en este análisis, se colocaron 500 mL de agua destilada en un balón aforado de 1000 mL. Posteriormente, se añadieron 10,22 g de $K_2Cr_2O_7$, 167 mL de H_2SO_4 concentrado y se completó el volumen a 1000 mL con agua destilada (APHA, 2023). Se elaboraron curvas de calibración antes de iniciar con los análisis, para la curva se utilizaron una solución estándar de 1000 mg O₂/L de KHP, con concentraciones que variaron entre 0, 20, 50, 100, 250, 300, 500, 750, 900 y 1000 mg O₂/L de KHP.

Determinación de sólidos totales (ST)

Se eliminaron las partículas gruesas flotantes y los aglomerados de material extraño presentes en la muestra. Posteriormente, las cápsulas fueron secadas en un horno precalentado a una temperatura de entre 103 y 105 °C durante 2 horas, y luego se dejaron enfriar en un desecador. Una vez enfriadas, las cápsulas se pesaron, y posteriormente se añadieron 200 mg de muestra. Inmediatamente después, se colocaron en un baño maría con agua ultrapura tipo II. Cuando se observó que la muestra se había evaporado, se trasladaron al horno a una temperatura de 103 a 105 °C durante 1 hora para completar el secado. Finalmente, tras ese tiempo, las cápsulas se enfriaron nuevamente en el desecador y se procedió a realizar la pesada final (APHA, 2023). Para determinar los sólidos totales se utilizó la siguiente formula:

$$ST \left(\frac{mg}{L} \right) = \frac{(A - B)}{V (mL)} \times 1000 \times 1000$$

Donde:

A: Peso final de la capsula con la muestra seca, en g

B: Peso inicial de la capsula tarada, en g

V: Volumen de muestra aplicada, en mL

1000: Factor de conversión de gramo a miligramo

1000: Factor de conversión de mililitro a litro

Determinación de sólidos suspendidos totales (SST)

Se realizó el pesaje de los crisoles y del papel filtro (B), el cual había sido previamente lavado y secado durante 2 horas a 105 °C. A continuación, se instaló el equipo de filtración al vacío. El papel filtro se colocó sobre el embudo, donde se vertieron 50 mL de muestra, y se encendió la bomba para iniciar el proceso de filtración. Al finalizar la filtración, se retiró el papel filtro y se colocaron los crisoles para ser pesados. Posteriormente, se introdujeron en la estufa durante

2 horas a 105 °C. Finalmente, se enfriaron en el desecador y se realizó un nuevo pesaje (A) (APHA, 2023). Para determinar los sólidos totales se utilizó la siguiente formula:

$$SST \left(\frac{mg}{L} \right) = \frac{(A - B)}{V (mL)} \times 1000 \times 1000$$

Donde:

A: peso del crisol mg + filtro en mg + residuos secos, en gr.

B: peso del crisol + filtro, en gr.

V: volumen de muestra aplicada, en mL.

1000: Factor de conversión de gramo a miligramo.

1000: Factor de conversión de mililitro a litro.

Determinación de sólidos volátiles (SV)

Las muestras fueron colocadas en un recipiente de porcelana y selladas con papel film para ser secadas en una estufa a 40 °C, hasta obtener entre 200 y 500 g de muestra seca. De esta cantidad, se pesaron 20 g (P1), los cuales fueron secados a 105 °C hasta alcanzar una masa constante (P2), y luego se colocaron en un desecador. Una vez enfriadas, las muestras fueron transferidas a una mufla de cerámica BIOBASE, donde la temperatura se incrementó gradualmente hasta alcanzar los 550 °C. Esta temperatura se mantuvo constante durante 2 horas. Posteriormente, la temperatura se redujo lentamente hasta llegar a 200 °C. Finalmente, las muestras se colocaron nuevamente en el desecador para enfriarse y se realizó un último pesaje (P3) (APHA, 2023). Para determinar los sólidos totales se utilizó la siguiente formula:

$$SV (\%) = \frac{a - b}{m} \times 1000$$

Donde:

a: masa de la muestra y recipiente antes de la calcinación, en gr (P2).

b: masa de la muestra y recipiente después de la calcinación, en gr (P3).

m: masa del lodo solidificado, en gr (P1).

Medición de sulfuro

En un matraz volumétrico de 25 mL, se añadieron 10 mL de muestra, 5 mL de solución de cloruro de zinc y agua destilada hasta alcanzar el 75% de la capacidad del matraz, con el fin de disolver el cloruro de zinc. Posteriormente, se incorporaron 2,5 mL de solución de DMP y

0,125 mL de solución de sulfato de amonio y hierro (III). Finalmente, se midió la absorbancia de las muestras a una longitud de onda de 670 nm y se determinó la concentración utilizando la curva de calibración (**López et al., 2019**). Se prepararon soluciones de calibración con concentraciones de sulfuro que oscilaron entre 0 (blanco) y 1 mg/L. Se midió su absorbancia a 670 nm y se generó la curva de calibración correspondiente.

Medición de sulfatos

El procedimiento empleado se basa en la precipitación de sulfato mediante el uso de cristales de cloruro de bario, con las siguientes características: un rango de medición de 0 a 150 mg/L (como SO_4^{2-}), una resolución de 1 mg/L, una precisión de ± 5 mg/L o $\pm 3\%$ de la lectura a 25°C, y una fuente de luz LED equipada con un filtro de interferencia de banda estrecha de 466 nm. El reactivo utilizado fue el HI 93751-0 (reactivo para sulfato). Primero, se llenó una cubeta con 10 mL de muestra y se colocó en el soporte del equipo para realizar la calibración. Tras completar este paso, se añadió el reactivo HI 93751-0 y se mezcló la solución durante un minuto. Posteriormente, la cubeta se introdujo nuevamente en el equipo para llevar a cabo la medición. Finalmente, se registró la lectura de los resultados en mg/L de sulfato SO_4^{2-} (**HANNA Instruments, 2019**).

Medición de fosfatos

La medición fue realizada utilizando el método descrito en los *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 18th edition, Amino Acid Method*, con las siguientes características: un rango de detección de 0,0 a 30,0 mg/L (como PO_4^{3-}), una resolución de 0,1 mg/L, una precisión de $\pm 1,0$ mg/L o $\pm 4\%$ de la lectura a 25°C, y una fuente de luz LED equipada con un filtro de interferencia de banda estrecha de 525 nm. Los reactivos empleados fueron HI 93717A-0 (reactivo para fosfato de rango alto A) y HI 93717B-0 (reactivo para fosfato de rango alto B). Para realizar la medición, se llenó una cubeta con 10 mL de muestra y se colocó en el equipo para llevar a cabo la calibración. A continuación, se añadieron 10 gotas del reactivo HI 93717A-0, seguidas de la incorporación del reactivo HI 93717B-0. Luego, se realizaron 30 inversiones para mezclar adecuadamente la solución. Finalmente, la cubeta se introdujo nuevamente en el equipo para iniciar la medición, obteniendo los resultados en mg/L de fosfato PO_4^{3-} (**HANNA Instruments, 2019**).

Medición de hierro (Fe)

La medición de este parámetro se llevó a cabo utilizando un método adaptado del EPA Phenanthroline Method 315B, para aguas naturales y tratadas, el cual presenta las siguientes características: un rango de detección de 0,00 a 5,00 mg/L (como Fe), una resolución de 0,01 mg/L, una precisión de $\pm 0,04$ mg/L o $\pm 2\%$ de la lectura a 25°C, y una fuente de luz LED equipada con un filtro de interferencia de banda estrecha de 525 nm. El reactivo utilizado fue el HI 93721-0 (reactivo para hierro de rango alto). Para comenzar la medición, se vertieron 10 mL de muestra en una cubeta, la cual se colocó en el soporte del equipo para realizar la calibración. Posteriormente, se añadió el reactivo HI 93721-0 y se agitó hasta que se disolviera completamente. Una vez finalizado el tiempo establecido por el temporizador del equipo, se midió la concentración, obteniendo los resultados en mg/L de hierro (Fe) (HANNA Instruments, 2019).

Medición de magnesio (Mg)

La metodología utilizada fue una adaptación del Calmagite Method, el cual cuenta con las siguientes características: un rango de 0 a 150 mg/L (como Mg^{2+}), una resolución de 1 mg/L, una precisión de ± 5 mg/L o $\pm 3\%$ de la lectura a 25°C, y una fuente de luz LED equipada con un filtro de interferencia de banda estrecha de 466 nm. Los reactivos empleados fueron HI 93752A-Mg (reactivo magnesio A) y HI 93752B-Mg (reactivo magnesio B). Para el procedimiento, se añadieron 1 mL del reactivo HI 93752A-Mg y 10 mL del reactivo HI 93752B-Mg en una cubeta, la cual se colocó en el equipo para realizar la calibración. Luego, se incorporaron 0,5 mL de muestra y se mezcló la solución para proceder con la medición. Los resultados obtenidos se expresaron en mg/L de magnesio Mg^{2+} (HANNA Instruments, 2019).

Medición de amonio (NH_4^+)

Para esta medición, se utilizó un método adaptado del “ASTM Manual of Water and Environmental Technology, D1426, Nessler Method”, el cual presenta las siguientes especificaciones: un rango de 0,00 a 100,0 mg/L (como NH_4^+), una resolución de 0,1 mg/L, una precisión de $\pm 0,5$ mg/L o $\pm 5\%$ de la lectura a 25°C, y emplea una fuente de luz LED con un filtro de interferencia de banda estrecha de 420 nm. Los reactivos utilizados fueron HI

93733A-0 (reactivo para amoníaco, rango alto A) y HI 93733B-0 (reactivo para amoníaco, rango alto B). Para calibrar el equipo, se añadió 1 mL de muestra en una cubeta, la cual se completó hasta los 10 mL con el reactivo HI 93733B-0 y se colocó en el dispositivo. Posteriormente, se agregaron 4 gotas del reactivo HI 93715A-0 y se procedió con la medición. Los resultados obtenidos se expresaron en mg/L de amoníaco (NH_3) y posteriormente se convirtieron a mg/L de amonio NH_4^+ (HANNA Instruments, 2019).

Medición de cromo VI

Se utilizó un método adaptado del “ASTM Manual of Water and Environmental Technology, D1687-92, Diphenyl carbohydrazide Method”, el cual cuenta con las siguientes características: un rango de 0 a 1000 $\mu\text{g/L}$ (como Cr^{6+}), una resolución de 1 $\mu\text{g/L}$, una precisión de $\pm 5 \mu\text{g/L}$ o $\pm 4\%$ de la lectura a 25°C , y emplea una fuente de luz LED con un filtro de interferencia de banda estrecha de 525 nm. El reactivo utilizado fue el HI 93723-0 (reactivo para cromo VI, rango alto). Para esta medición, se tomaron 10 mL de muestra, los cuales se usaron para calibrar el equipo. Posteriormente, se añadió el reactivo HI 93723-0 y se colocó nuevamente en el dispositivo para realizar la medición. Los resultados obtenidos se expresaron como concentración en $\mu\text{g/L}$ de cromo Cr^{6+} (HANNA Instruments, 2019).

Medición de cromo y cadmio

Para la cuantificación de estos metales, se utilizó la metodología modificada por APHA, (2023) sección 3030 D, un espectrómetro de absorción atómica equipado con un horno de grafito. Para el análisis de metales, fue imprescindible someter la muestra a un proceso de digestión. Para ello, se pesaron 5 g de la muestra y se colocaron en un crisol. Posteriormente, las muestras fueron llevadas a una estufa a 105°C durante 24 horas. Una vez transcurrido este periodo, la muestra fue triturada y se pesaron 0,5 g utilizando una balanza analítica. Estos 0,5 g se transfirieron a tubos digestores, donde se añadieron 5 mL de ácido nítrico (HNO_3) y 1 mL de peróxido de hidrógeno al 30 % (v/v). La digestión se realizó mediante un sistema de microondas durante 1 hora; al finalizar este tiempo, se dejó reposar la mezcla por 10 minutos. Finalmente, la muestra digerida se llevó a un volumen final de 100 mL y se almacenó a 5°C .

2.2.3. Cuantificación de la producción de biogás

La medición diaria del biogás se llevó a cabo a lo largo de las 12 semanas que abarcó la duración del proyecto.

Medición del gas metano

El biogás al transcurrir por la solución NaOH reaccionó producto del pH alto, generando una separación del CH_4 del CO_2 , ya que el CO_2 al reaccionar con la solución alcalina se convirtió en H_2CO_3 . No obstante, el gas desplazó un volumen del líquido hacia otro envase, el cual fue proporcional al volumen de gas metano que ingresó a la botella. Con estos datos se obtuvo una tasa de producción de gas metano que finalmente se expresó en unidades de actividad metanogénica específica (Gigi & Merly, 2022).

2.3. Método estadístico

Ensayos de Actividad Metanogénica específica (AME) para los productos enzimáticos

Para la presente investigación se utilizaron 2 diseños experimentales, para la primera fase de los ensayos AME se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA), con 2 repeticiones, donde los tratamientos fueron el factor de estudio, producción de metano. Se recurrió al Análisis de Varianza para determinar diferencias estadísticas entre las fuentes de variación y para las que resultaron significativas se aplicó la prueba de Tukey al 5% para la comparación de las medias.

Operación de los biodigestores

Para la segunda fase se implementó un diseño de bloques completos al azar (DBCA) con el objetivo de evaluar el efecto del producto enzimático seleccionado sobre la producción de metano, los parámetros fisicoquímicos del licor de digestión y las configuraciones para cada biodigestor. Se consideraron como bloques dos periodos de evaluación: semana 3 a 5 y semana 6 a 12, permitiendo analizar el comportamiento del sistema a lo largo del tiempo bajo condiciones de tratamiento. Esta distribución permitió estudiar de forma comparativa el efecto de la aplicación enzimática y las modificaciones en la alimentación sobre la eficiencia del proceso anaerobio. El análisis estadístico se realizó utilizando el software InfoStat,

CAPITULO III.- RESULTDOS Y DISCUSIÓN

La presente investigación se realizó en 2 etapas previas, en la primera etapa se realizaron ensayos preliminares para seleccionar el producto enzimático con mejor rendimiento de metano, permitiendo aplicar en los biodigestores.

3.1. Selección del producto enzimático con mejor rendimiento de metano

3.1.1. Ensayos de Actividad Metanogénica Especifica AME por desplazamiento de liquido

En la primera etapa del estudio, se comparó el rendimiento de distintos productos enzimáticos Efibact, Biomog y EM-1 en términos de producción de metano a través de ensayos de actividad metanogénica especifica modificada, con el propósito, por un lado, de cuantificar la capacidad de producción de metano generada por un grupo de microorganismos presentes en los lodos anaerobios, a partir de dos sustratos y en condiciones controladas en un periodo aproximado de 3 días (Hussain & Dubey, 2017). Y por el otro, con la adicción del producto enzimático mejorar la tasa de hidrolisis durante la digestión anaerobia, resultando en un mayor rendimiento de metano (Bhatnagar et al., 2020).

En la **Figura 5** se muestra el monitoreo diario de gas metano producido al cabo de los 3 días en los que se ejecutó el ensayo, evidenciando una respuesta significativa entre los 3 productos aplicados. Para corroborar esto, se aplicó un diseño experimental DCA en el cual se evaluó el efecto del producto enzimático sobre la producción de metano generado en los 3 días. Los resultados obtenidos del análisis de varianza ANOVA (**Anexo 4**) indican que el efecto de las enzimas sobre la producción de metano es estadísticamente significativo con un $p = 0,0006$,

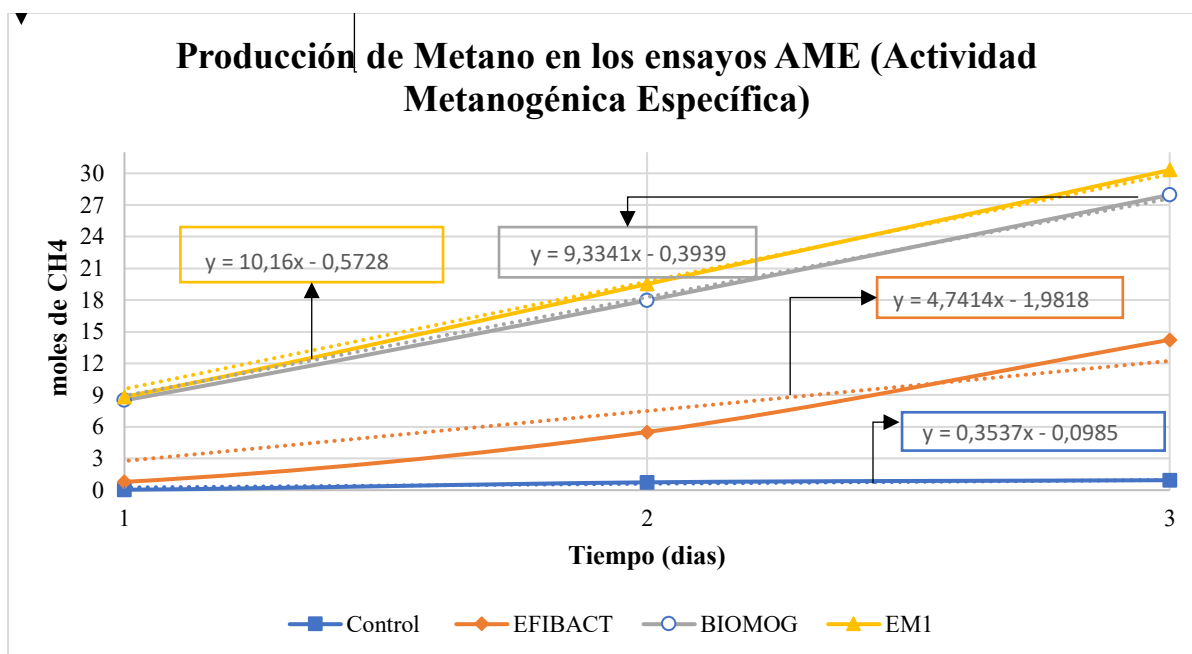


Figura 5: Monitoreo diario de la Actividad metanogénica específica y su regresión lineal.

No obstante, para identificar qué tratamientos generan mayor producción de metano se realizó una prueba de Tukey, esta prueba permitió determinar que productos enzimáticos evaluados tuvo mejor rendimiento. Los resultados mostrados en el **Anexo 5** indican que aun nivel de significancia $\alpha = 0,05$ los productos EM-1 y Biomog no presentan diferencias significativas entre ellos, por lo tanto, sus efectos en cuanto a rendimiento son similares entre sí. Pero si presentan diferencias significativas entre Efibact y el control.

A partir de los resultados obtenidos de la prueba de Tukey y de la **Figura 5** se evidenció que el mejor producto con mayor rendimiento es el EM-1. Sin embargo, al considerar el costo y la facilidad de uso **Tabla 7**, Efibact se destacó como opción más viable. Aunque EM1 presento la mayor producción de metano ($887,04 \text{ g DQO} - \text{CH}_4 / \text{g SV} \cdot \text{d}$), su costo por ensayo (8 USD) fue considerablemente más alto y su eficiencia económica ($110,88 \text{ g DQO} - \text{CH}_4 / \text{USD}$) la más baja. Por el contrario, Efibact generó $414,08 \text{ g DQO} - \text{CH}_4 / \text{g SV} \cdot \text{d}$ con un costo de apenas 0,01 USD alcanzando una relacion de $39,18 \text{ g DQO} - \text{CH}_4$ por dólar invertido, lo que lo convierte en el product mas rentable. En términos de aplicaciones industriales, la simplicidad en el uso de equipos, materiales, reactivos, materia prima y costo se traduce en una disminución de los costos operativos (**Udeh, 2020**). Además, los métodos de aplicación más simples pueden asegurar una aplicación más efectiva y los resultados ser más consistentes (**Anacleto et al., 2024**).

Además, la **Tabla 7** presenta los resultados del ensayo de actividad metanogénica específica (AME), el cual fue modificado en este estudio mediante la adición de residuos verdes y productos enzimáticos al sistema. Los resultados muestran un aumento claro en la actividad metanogénica en los tratamientos en comparación con el control, así como en estudios realizados. En el control, sin carga enzimática, se obtuvo una AME de 30,7 g DQO-CH₄/ g SV*d, un valor ya significativamente alto al rango típico de 0,01 a 0,04 g DQO-CH₄ / g SV*d, observado en digestores convencionales, lo que demuestra que el sistema base es fuerte y proporciona buena capacidad metanogénica.

Se ha observado que, al aplicar distintos tipos de productos enzimáticos, existe un incremento notable en la AME. Estos resultados están correlacionados con estudios recientes que demuestran como el pretratamiento enzimático con residuos (esencialmente lipasas, amilasas o proteasas) ayudan a mejorar la producción de metano alrededor de un 22% y 61% (**Liew et al., 2020**). De igual forma se han reportado incrementos del 22,7% al 60,9% al probar amilasas, lipasas y proteínas K en residuos sólidos mixtos (**Jiang et al., 2023**).

También, se ha encontrado que al utilizar ácidos grasos volátiles como sustrato, se pueden alcanzar valores de hasta 0,85 g DQO-CH₄/ g SV*d. así como también otros estudios centrados específicamente en el uso de acetato han reportado una actividad metanogénica de aproximadamente 0,66 g DQO-CH₄/ g SV*d (**Hussain & Dubey, 2014**).

Sin embargo, otros estudios donde se evaluaron mezclas enzimáticas comerciales sobre residuos de tomate, indicaron que obtuvieron más del 90% de potencial biometano superando al control en 80-90% de producción de metano (**Martínez et al., 2025**). Esto implica que los tratamientos aplicados en este estudio no solo superaron ampliamente los rangos típicos de digestores convencionales, lo que demuestra el efecto positivo que puede tener la combinación del inoculo con residuos verdes y productos enzimáticos sobre la producción de metano.

Tabla 7.

Determinación de la Actividad Metanogénica Específica aplicando productos enzimáticos

Ensayos	AME (<i>g DQO</i> – CH_4 /g SV*d)	Costo por ensayo (USD)	Relación AME/ Costo (<i>g DQO</i> – CH_4 /USD)
Control	30,72	0	0
Efibact	414,08	0,01	39,18
Biomog	814,72	1,80	452,62
EM1	887,04	8,00	110,88

3.2. Cuantificación de biogás en los biodigestores

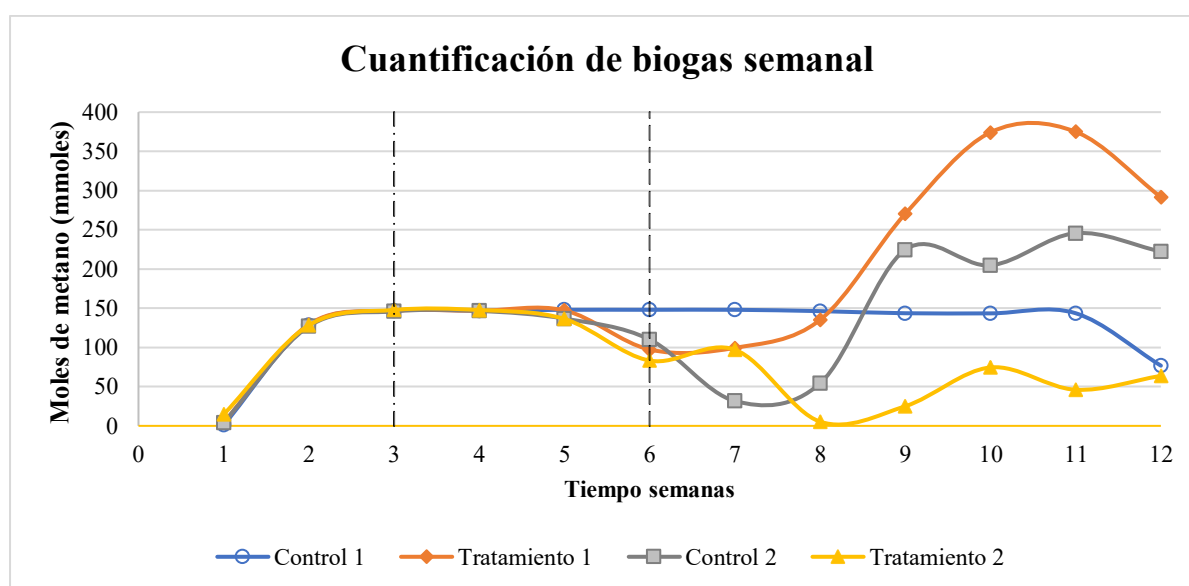


Figura 6: *Cuantificación de biogás semanal.*

La producción semanal y acumulada de metano generado muestra una diferencia significativa entre los tratamientos, es especial a partir de la semana 6, momento en el que se adiciono el coctel enzimático. El tratamiento 1 evidenció un aumento notorio en la producción semanal de metano, logrando alcanzar un pico de alrededor de 374,96 mmol CH_4 para la semana 11 **Figura 6**, lo que se traduce en la mayor producción acumulada de metano con $4,36 \times 10^4$ mmol CH_4 **Figura 7**. Esto indica que el coctel enzimático tuvo un impacto positivo en la etapa hidrolítica, probablemente facilitando la degradación de los componentes vegetales, así como de las moléculas fácilmente degradables por lo microorganismo hidrolíticos, como lo indica **Wan et al., (2022)** estudios indica que enfoques enzimáticos mejoran significativamente la eficiencia de la digestión anaeróbica de lodos al reducir la energía de activación de las reacciones de desintegración (**Wan et al., 2022**).

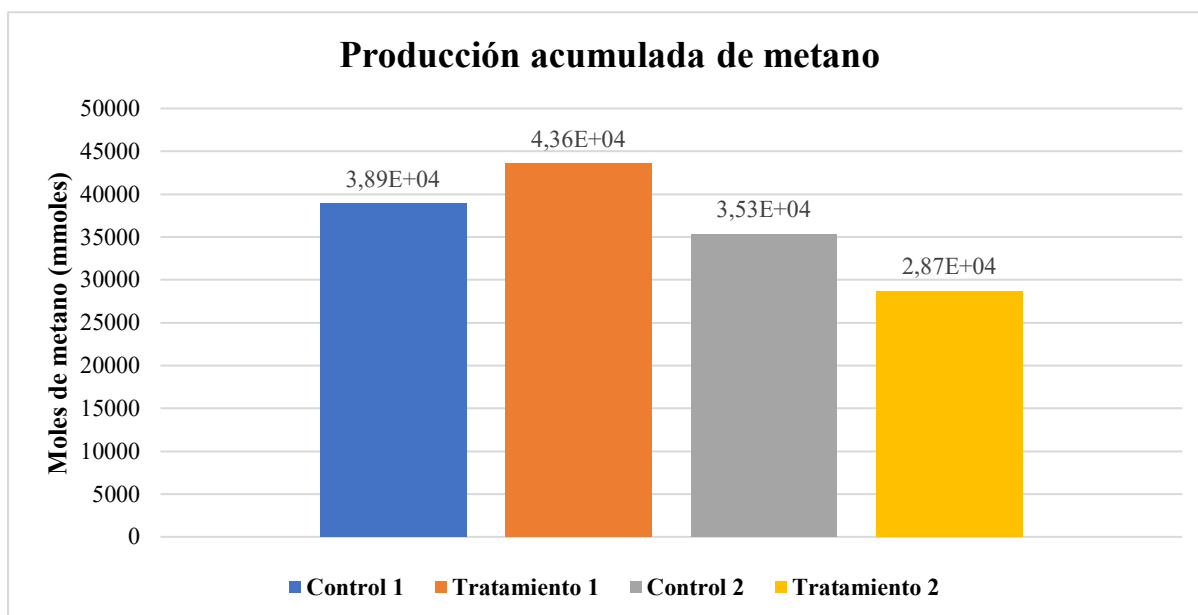


Figura 7: *Producción acumulada de metano.*

En cambio, el tratamiento 2 presentó una disminución sostenida en la producción de metano a lo largo del tiempo, siendo el tratamiento con menor producción acumulada $2,87 \times 10^4$ mmol CH_4 , produciendo un 51,91% menos que el tratamiento 1 **Tabla 8**. Esta disminución puede estar relacionada a la sobrecarga de sustrato o la acumulación de productos inhibidores, como lo han mencionado en investigaciones (**Wellinger et al., 2013**). Además, el control 1 y control 2 mostraron una producción de moderada, siendo el control 1 con una producción del 10,20 % más que el control 2 **Tabla 8** lo que indica que sin la adición del coctel enzimático o con una dosificación desequilibrada, la eficiencia del proceso puede mantener constante, pero sin alcanzar un pico de producción elevado (**Jiang et al., 2022**).

Finalmente, estos resultados muestran consistencia con lo reportado por (**Tongco et al., 2020**), quienes observaron que a partir de la adición de productos enzimáticos se puede mejorar la etapa hidrolítica, facilitando la disponibilidad de nutrientes para las fases posteriores del proceso anaeróbico. Sin embargo, también mencionan que una dosis o combinación inadecuada puede alterar el equilibrio microbiológico (**Speda et al., 2017**). Por tanto, la formulación y dosificación del coctel enzimático se vuelve clave para maximizar la producción de biogás sin generar efectos adversos en el sistema biológico del digestor.

Tabla 8.*Comparación entre los tratamientos y control respecto a la producción de metano*

Comparación	Grupo 1	Grupo 2	Diferencia (mmoles CH ₄)	Variación porcentual (%)
Tratamiento 1	4,36x10 ⁴	2,87x10 ⁴	14,9x10 ⁴	51,91
vs				
Tratamiento 2				
Control 1 vs	3,89x10 ⁴	3,53x10 ⁴	3,6x10 ⁴	10,20
Control 2				
Tratamiento 1	4,36x10 ⁴	3,89x10 ⁴	4,7x10 ⁴	12,08
vs Control 1				
Tratamiento 2	2,87x10 ⁴	3,53x10 ⁴	6,6x10 ⁴	-18,70
vs Control 2				

3.3. Caracterización de los componentes de la mezcla y análisis de los parámetros fisicoquímicos del digestato

La cantidad y la composición de biogás a producir a partir de lodos varía enormemente dependiendo de los parámetros como temperatura, contenido orgánico, relación microorganismos/nutrientes, pH, comunidad microbiana, etc. (Azarmanesh et al., 2020). Por lo tanto, la caracterización de la materia prima (lodos, residuos verdes) es un paso esencial para determinar la capacidad de los componentes para ser utilizados como potencial sustrato de biogás. Por tal motivo dependiendo de las propiedades fisicoquímicas de la materia prima, se pueden requerir ciertos mecanismos de pretratamiento adicionales (Moura et al., 2024). En base a lo mencionado anteriormente se realizó una caracterización de los componentes a ser utilizados para la producción de biogás **Tabla 8**.

Tabla 9.*Caracterización inicial de los componentes de la mezcla*

Componentes Parámetros	Lodos de biodigestor (inóculo) mg/L	Lodos centrifugados g/kg	Residuos verdes g/kg
pH	7,35 ± 0,003	7,3 ± 0,003	5,20 ± 0,01
Sólidos totales (ST) %	16,3 ± 0,01	18,6 ± 0,4	5,9 ± 0,2
Sólidos volátiles (SV) %	38,9 ± 2,2	68,5 ± 0,98	81,5 ± 0,23
Humedad %	-	81,4 ± 0,04	94,1 ± 0,2
Nitrógeno total %	975 ± 2,5	2,2 ± 0,58	0,27 ± 0,07
Fósforo total %	1095 ± 0,91	1,1 ± 0,20	0,83 ± 0,09
Sulfuro	1,11 ± 0,21	1,30 ± 0,01	-
Sulfato	217 ± 0,67	0,15 ± 0,62	-
Fosfato	512 ± 4,41	1,20 ± 3,3	-
Hierro	195 ± 1,33	2,3 ± 0,13	-
Magnesio	173 ± 4,82	0,67 ± 3,3	-
Amonio	551 ± 1,15	0,26 ± 0,67	-

En la segunda etapa se caracterizaron parámetros que intervienen en la producción de metano en los biodigestores, esto permitió evaluar la calidad de metano producido como la calidad del digestato en los biodigestores.

3.3.1. pH

Al poner en marcha de los biorreactores anaeróbicos el pH inicialmente disminuirá con la producción de ácidos volátiles, pero a medida que las bacterias metanogénicas consuman los ácidos volátiles, el pH aumenta hasta llegar a un punto de estabilización del sistema. En tiempos de retención hidráulica TRH >5 días, las bacterias formadoras de metano comienzan a consumir de forma acelerada los ácidos volátiles (**Gerardi, 2003**). Sin embargo, el rango favorable para una eficiente digestión anaerobia es 6,8-7,2, pero, el requerimiento de los diferentes procesos que abarca la digestión anaerobia es contradictoria. El pH óptimo para la hidrólisis y la acidogénesis va en un rango de 5,5 a 6,5, mientras que para la actividad

metanogénica es de alrededor de 7, pero los microorganismos metanogénicos se inhiben cuando el pH es menor a 6,6 (Mothe & Polisetty, 2020).

Como se puede observar en la **Figura 8** desde la primera semana (pH al inicio: **Control 1= 7,32 Tratamiento 1= 7,2 ; Control 2= 7,14; Tratamiento 2= 7,02**) y en el transcurso hasta la tercera semana se evidencia un decaimiento de en el pH, esto generalmente se deba a la producción de ácidos grasos volátiles AGV, así como altas concentraciones de microorganismos acidogénicos y acetogénicos (Mothe & Polisetty, 2020). Además, muchos de los AGV se producen a diferentes tipos de pH esto puede dar un indicativo del tipo de AGV que predomina ejemplo, la producción de ácido butírico va en un rango de pH de 6-7, mientras que el ácido acético el precursor principal para la generación de metano esta alrededor de pH 5-6,5, así también el propionato con un rango de 4-4,5, no obstante la producción de AGV también dependerá del tipo de sustrato (Lu et al., 2020).

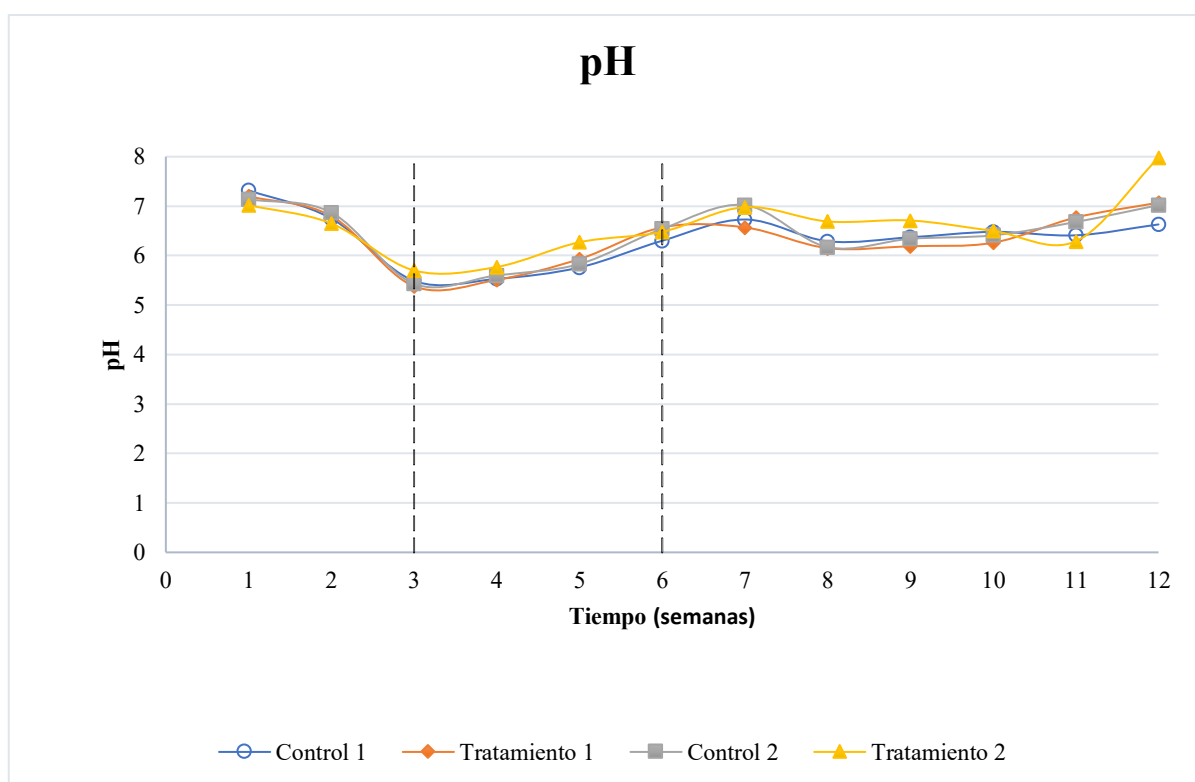


Figura 8: Monitoreo semanal de pH en los biodigestores.

Nota: Las líneas entrecortadas marcan el inicio de alimentaciones realizadas en la tercera y sexta semana en los biodigestores.

Transcurrido la tercera semana se puede observar un aumento de pH en los distintos tipos de biodigestores, esto tiene relación con la capacidad amortiguadora del sistema que generalmente se lo atribuye a la alcalinidad (**Rocamora et al., 2020**), ya que es el resultado de la liberación de grupos amino y la producción de amoníaco a medida que se degradan los desechos proteicos lo que incrementa la alcalinidad (**Gerardi, 2003**). Cabe mencionar que a parte de la capacidad amortiguadora que el sistema anaerobio dispone, existe otras manera de modificar el pH como lo es el añadir bicarbonato, reduciendo el OLR, incrementando en el tiempo de retención hidráulica o alterando la relación inóculo/ sustrato (**Rocamora et al., 2020**).

Todo lo dicho anteriormente se evidencia a partir de la tercera semana que se empezó con la alimentación a los biodigestores (tratamiento 1 y 2), atribuyendo el aumento del pH, a la adición del mismo sustrato (lodos y residuos verdes) en concentraciones idénticas a lo extraído, y a los controles 1 y 2 a su capacidad amortiguadora. Ya en la sexta semana donde se realizó una nueva alimentación aplicando enzimas si bien recae el pH de un 7-6,5 a un 6 aproximadamente, nuevamente retorna a estabilizarse y aumenta. Esto pudo deberse a una cantidad mayor de microorganismos metanogénicos lo que ocasiona que consuman los AGV lo que incrementa el pH, y al no caer abruptamente aún sigue en el rango óptimo para la etapa de metanogénesis la cual es más eficiente a pH 6,4 a 8,2, siendo el pH óptimo de 7 (**Choi et al., 2020**).

3.3.2. Conductividad

La conductividad eléctrica es una propiedad que permite identificar el tipo de flujo eléctrico dentro del reactor (**Madondo et al., 2022**). Su determinación permite revelar la capacidad de los microorganismos para transportar electrones (**Caizán et al., 2020**).

Como se aprecia en la **Figura 9** la conductividad se incrementó con el paso del tiempo (valor inicial y final de la conductividad: **Control 1**= 4104 y 6331 ($\mu\text{S}/\text{cm}$); **Tratamiento 1**= 4794 y 5780 ($\mu\text{S}/\text{cm}$); **Control 2**= 5015 y 5730 ($\mu\text{S}/\text{cm}$); **Tratamiento 2**= 5070 y 7740 ($\mu\text{S}/\text{cm}$)), además, todos los biodigestores se comportan de forma similar, este aumento puede ser debido a la mineralización de las sustancias orgánicas presentes en los sistemas. Sin embargo, al cabo de la semana 6 en adelante, el tratamiento 2 presente un incremento significativo. Esto puede deberse a la nueva alimentación que se implementó con lo cual existe la presencia de más iones en la solución mejorando la capacidad de los microorganismos para transferir electrones. Por lo

tanto la alta conductividad eléctrica afecta significativamente el intercambio electrónico entre macroorganismos, lo que conduce a un mejor rendimiento de la digestión anaerobia mediante la transferencia directa de electrones entre especies (T. Kong & Zhang, 2023).

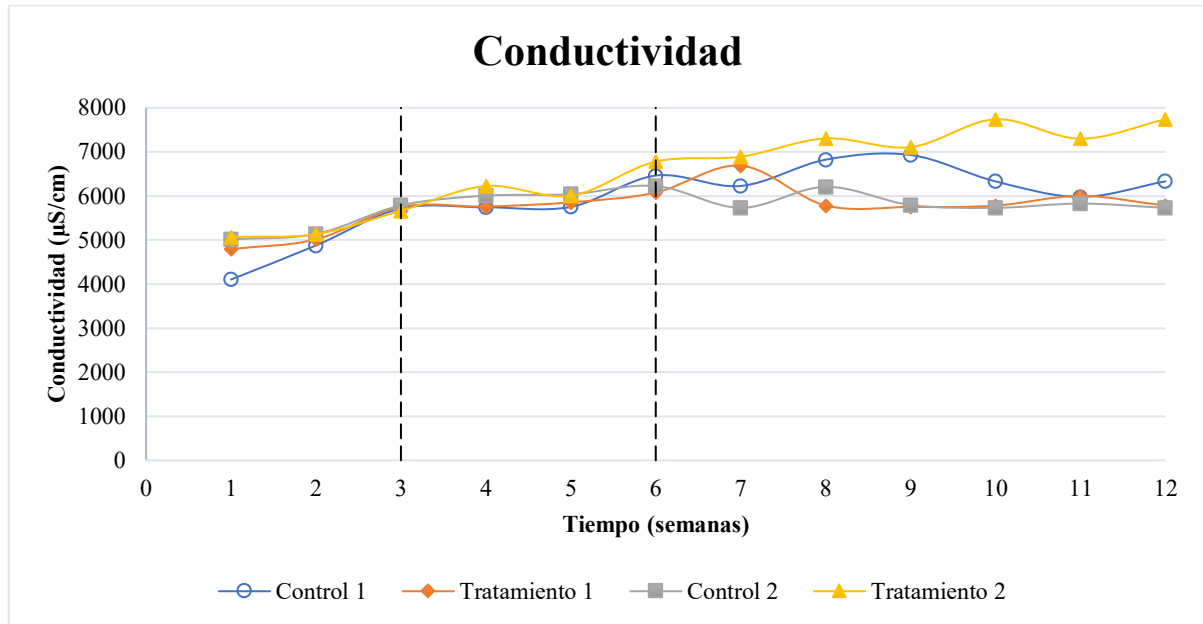


Figura 9: Monitoreo semanal de la conductividad en los biodigestores.

3.3.3. Potencial de óxido-reducción

El ORP es un indicativo importante que refleja la estabilidad del sistema anaerobio, además tiene un gran impacto en el crecimiento, reproducción y supervivencia microbiana. El ORP cambia a medida que se degrada y se transforman los sustratos (Shen et al., 2021). Se informa que la producción de metano se genera a niveles de ORP inferiores a -350, generalmente alrededor -500. Mantener el ORP por encima de -350 a -450 mV evita que la materia orgánica se libere como CH_4 (Tiareti et al., 2025).

Como se observa en la **Figura 10** al cabo de la semana 3 hasta la semana 5 se puede evidenciar un descenso en la conductividad (valor inicial y el final son los siguientes: **Control 1**= 152,1 y -225,6 (mV); **Tratamiento 1**= 140,8 y -235,7 (mV); **Control 2**= 1514 y -215,7 (mV); **Tratamiento 2**= 145,8 y -331,3 (mV)) esto es un indicativo de la degradación que se está generando en los biodigestores, además a partir de la semana 6 mantienen una estabilidad entre los biodigestores (control 1; tratamiento 1; control 2) a comparación del tratamiento 2 que presento un valor de ORP de -331,3 mV. Sin embargo, se ha investigado que las bacterias

formadoras de metano crecen de forma óptima en un ambiente con un ORP menor a -300 mV, aunque los microorganismos facultativos pueden crecer bien con un ORP entre +200 y -200 mV (Gerardi, 2003).

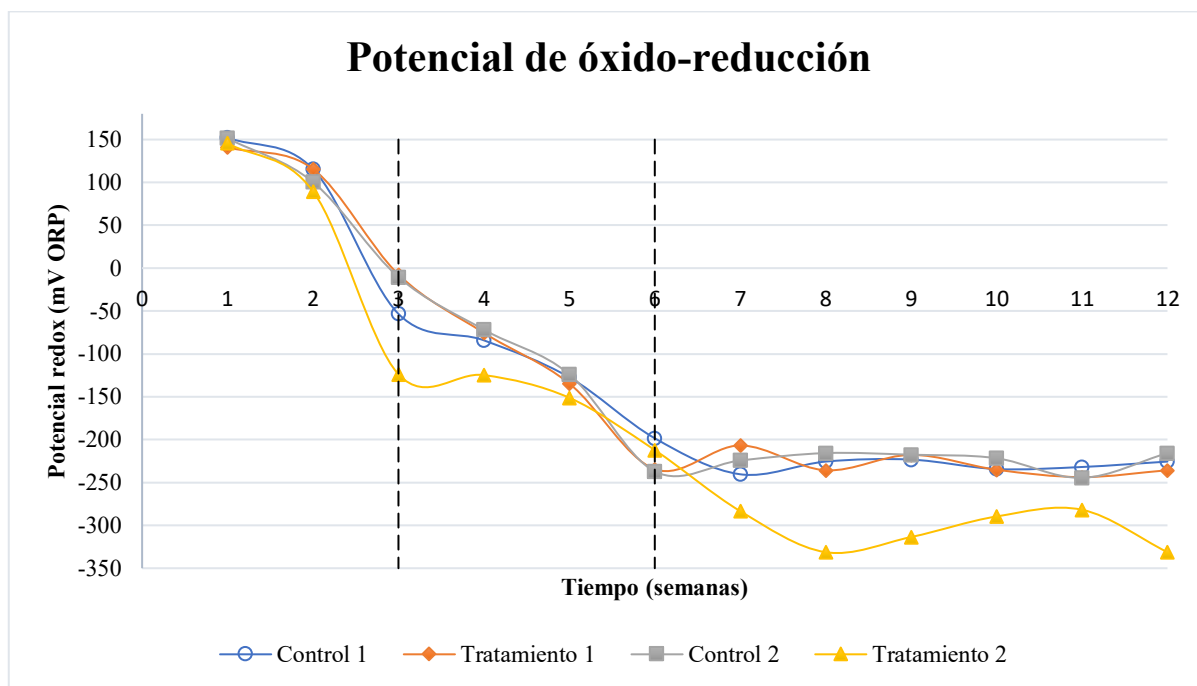


Figura 10: Monitoreo semanal del potencial redox en los biodigestores.

3.3.4. Demanda Química de Oxígeno

La disminución de la DQO puede entenderse por el consumo inicial de la materia orgánica más biodegradable por los microorganismos presentes en los biodigestores. En base a los estudios realizados por (Zhao et al., 2022), durante las primeras etapas de un proceso anaeróbico **Figura 11** (valor inicial y el final: **Control 1**= 12806 y 8150 (mg/L); **Tratamiento 1**= 11466 y 5366 (mg/L); **Control 2**= 12166 y 8716 (mg/L); **Tratamiento 2**= 12096 y 13200 (mg/L)), los microorganismos acidogénicos y acetogénicos metabolizan de forma acelerada los compuestos solubles, reduciendo los niveles de DQO.

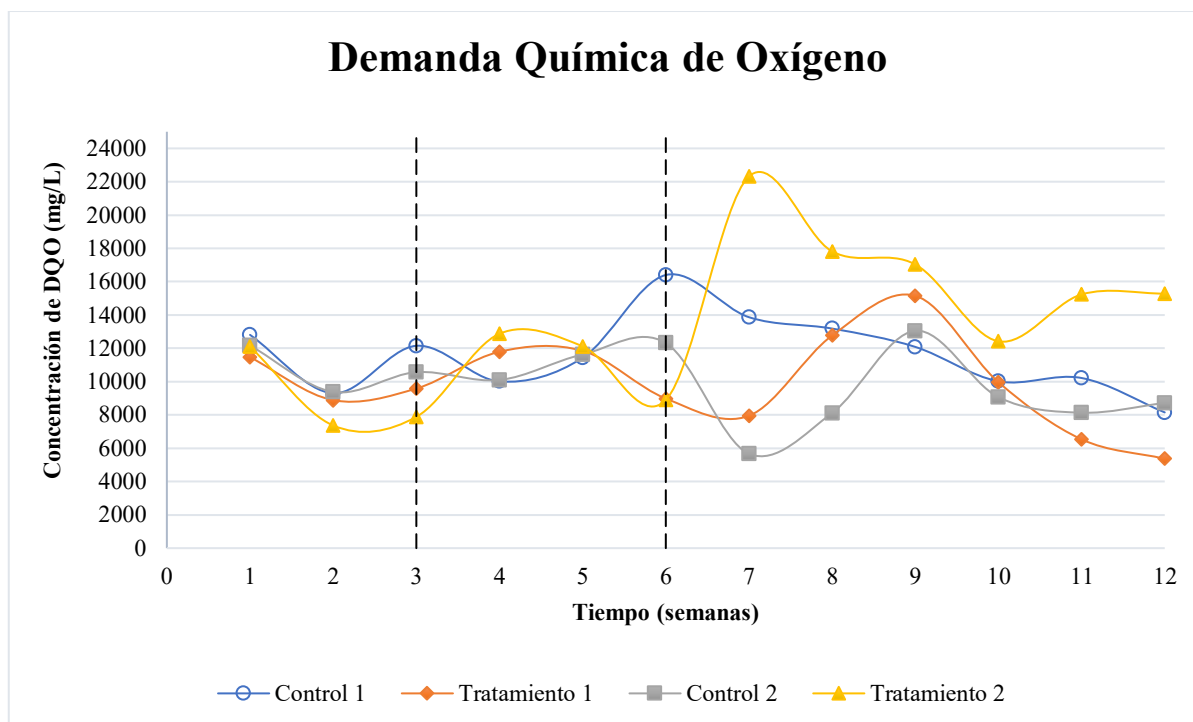


Figura 11: Monitoreo semanal de la Demanda Química de Oxígeno en los biodigestores.

El diseño experimental DBCA que evalúa el efecto de las semanas y los tratamientos sobre la Demanda Química de Oxígeno, indica mediante el ANOVA de DQO **Anexo 6** que a un nivel de confianza del 95%, no existe diferencia significativa en el tratamiento para la semana 3-5, pero si hay diferencia significativa en la semana. Para determinar qué semana obtuvo algún efecto se realizó una prueba de Fisher **Anexo 7**, la cual presenta diferencias significativas entre las semanas 5 y 3 así como en las semanas 4 y 3, con una disminución progresiva. Este comportamiento puede deberse a la estabilización inicial del proceso de degradación de la materia orgánica en los biodigestores.

De igual forma se realizó un ANOVA de DQO para la semana 6-12 **Anexo 31** evidenciando que existe diferencia significativa sobre el tratamiento y también para la semana. Para determinar qué semana y tratamiento tuvieron algún efecto se realizó una prueba de Fisher (**Anexo 32 y 33**). En cuanto al efecto por parte de los tratamientos se evidencia que el tratamiento 2, mostro valores altos de DQO en base a su media, seguido del control 1, tratamiento 1 y finalmente el control 2. Esto pude estar relacionado con la composición del sustrato en el tratamiento 2, que incluye un mayor porcentaje de residuos verdes y del inoculo.

El alto contenido de residuos vegetales en el tratamiento 2 elevó la carga orgánica, dificultando la degradación completa en las semanas finales y provoco a valores altos de DQO. Esto

coincide con estudios previos que señalan que altas proporciones de residuos lignocelulósicos aumentar los niveles de DQO por la baja biodegradabilidad de la lignina (**Zhang et al., 2022**). Esto concuerda con investigaciones adicionales donde muestran que una carga orgánica baja, se logra una remoción de DQO superior al 98%, mientras que cargas altas reducen la producción de biogás y metano (**Musa et al., 2018**).

En la gráfica de producción de metano **Figura 6** se evidencia posible toxicidad por iones sulfuro, amonio o a una menor eficiencia de los microorganismos metanogénicos debido al exceso de carga orgánica. En contraste, el tratamiento 1, con carga constante, en la tasa de carga orgánica demostró alta remoción de DQO, debido al equilibrio entre sustrato y los microorganismos, posiblemente potenciado por el producto enzimático. Además, la reducción marcada en la DQO en la última semana sugiere que tanto el tiempo como el diseño del tratamiento son claves para la eficiencia del proceso (**Gabbanelli et al., 2024**).

3.3.5. Sólidos totales

Los sólidos totales (ST) representan la suma de los sólidos disueltos y suspendidos presentes en el sustrato de un sistema de digestión anaeróbica. Estos son indicadores clave para determinar la carga orgánica inicial y la capacidad del sistema para manejar los desechos. Según **Wang et al. (2020)**, el contenido de ST afecta directamente la eficiencia del sistema, ya que influye en la biodisponibilidad de nutrientes y en la actividad microbiana (**Jeppu et al., 2022**). Un alto contenido de ST incrementa la carga orgánica, lo que puede favorecer la producción de biogás si se controla adecuadamente. Sin embargo, una carga excesiva puede generar acumulación de ácidos grasos volátiles (AGV) y bajar el pH, afectando la actividad de los microorganismos metanogénicos (**Takashima & Yaguchi, 2021**).

Como se puede observar en la **Figura 12** el cambio en el tipo de lodo afecta significativamente el rendimiento de la digestión anaerobia (concentración de sólidos totales al inicio y el final: **Control 1**= 10,15 y 8,01 (g/L); **Tratamiento 1**= 10,80 y 9,74 (g/L); **Control 2**= 11,04 y 6,91 (g/L); **Tratamiento 2**= 10,89 y 11,21 (g/L)). Por lo tanto, se realizó un ANOVA para los ST (Anexo 8) en donde a un nivel de confianza del 95%, no existieron diferencia significativa sobre los tratamientos ni las semanas (semana 3-5), pero a partir del ANOVA para la semana 6-12 (Anexo 35) si hay diferencia significativa para los tratamientos. La prueba de Fisher muestra un incremento en los sólidos para el tratamiento 2 **Anexo 36** esto puede deberse al

cambio en el tipo de lodo y al cambio en las concentraciones durante la nueva alimentación al cabo de la sexta semana. Esto afecta significativamente el rendimiento de la digestión anaerobia, debido a las diferencias en la composición de los sólidos y la materia orgánica disponible (M. Wang et al., 2023). Así como a una mayor carga orgánica al cabo de la semana 6 y con la adición del producto enzimáticos esta pudo liberar productos intermedios como sólidos disueltos durante la descomposición enzimática (Saini et al., 2022).

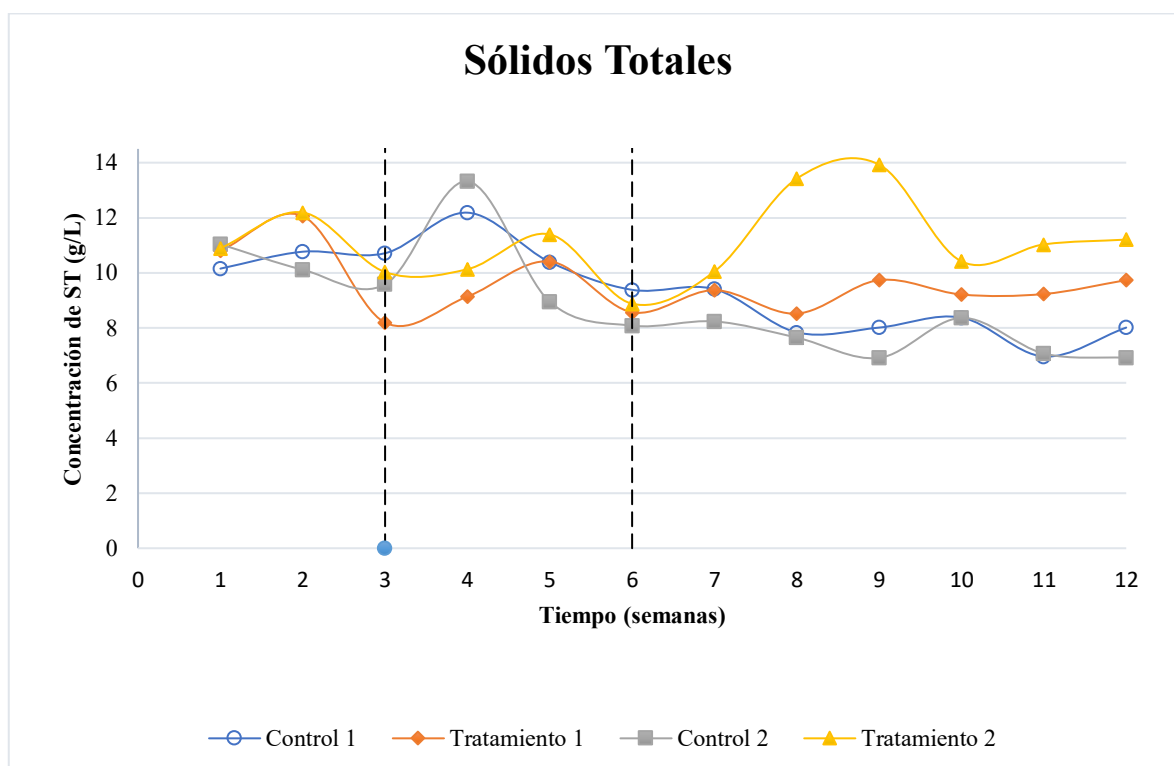


Figura 12: Monitoreo semanal de sólidos totales en los biodigestores.

3.3.6. Sólidos suspendidos totales

Aunque los SST son una fuente clave de biogás, su degradación incompleta puede resultar en una menor conversión a metano y una mayor acumulación de sólidos residuales. Los SST proporcionan material particulado que las bacterias hidrolíticas descomponen en compuestos más simples como azúcares y aminoácidos. Estos productos intermedios son luego utilizados por otros grupos microbianos para producir metano (H. Yang & Deng, 2020).

En la **Figura 13** se puede observar que todos los biorreactores tienen a disminuir las concentraciones de SST entre 3,80 a 0,8 (g/L), lo que indica una disminución rápida de los SST en las etapas iniciales de proceso. A partir del ANOVA **Anexo 9** existe diferencia

significativas entre las semanas 3 y 4 (Anexo 10) esta disminución pudo deberse a la actividad hidrolítica que convierte el material particulado en compuestos solubles, lo cual es consistente con estudios de estabilización inicial en sistemas anaeróbicos (Z. Kong et al., 2020).

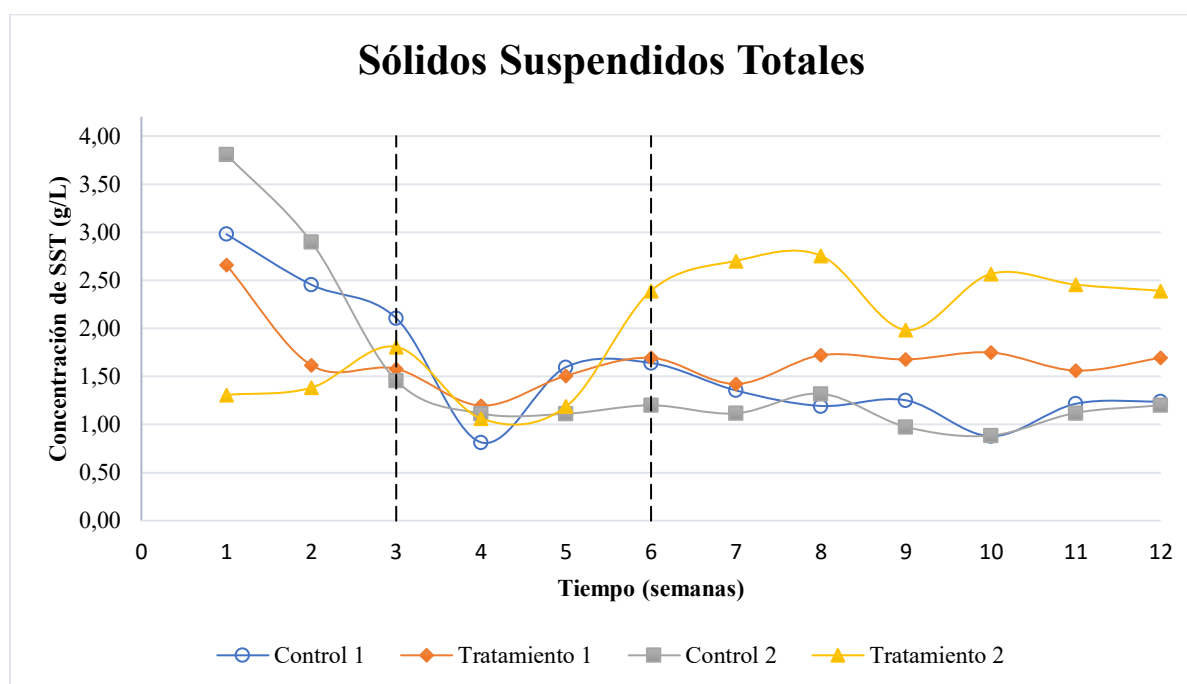


Figura 13: Monitoreo semanal de solidos suspendidos totales en los biodigestores.

Los efectos sobre los tratamientos según la prueba de Fisher muestran un incrementaron significativamente **Anexo 38** en el Tratamiento 2, alcanzando el valor más alto (~2,46 g/L), mientras que los controles mostraron valores más bajos y estables (~1,12-1,25 g/L). Esto sugiere un efecto del PEC (coctel enzimático microbiano), que favoreció la descomposición parcial de sólidos suspendidos en el Tratamiento 2 (Huang et al., 2024).

3.3.7. Sólidos Volátiles

La cantidad de solidos volátiles es crucial para determinar el potencial de producción de biogás y la eficiencia del proceso anaeróbico ya que un contenido elevado de SV garantiza un suministro adecuado de materia orgánica que sirve como sustrato para los microorganismos anaeróbicos (Issah & Kabera, 2020). La degradación de SV es el principal proceso que impulsa la producción de biogás. Una mayor proporción de SV generalmente resulta en un mayor volumen de metano generado por unidad de sustrato agregado (Lee, 2020).

A través del análisis de varianza para los sólidos volátiles para (semana 3-6) existe una diferencia significativa **Anexo 11** tanto para los tratamientos como para las semanas **Anexo 40**, por lo tanto, se realizó una prueba de Fisher para evaluar el efecto en cada tratamiento y en las semanas, evidenciando que el Control 1 **Anexo 12** tuvo un mayor contenido de SV debido a la ausencia de carga adicional que pudiera sobrecargar el sistema, mientras que el Tratamiento 2, con mayor carga orgánica, experimentó una disminución en SV debido a un procesamiento más intenso **Figura 14**. Esto concuerda con estudios que resaltan que altos niveles de carga pueden reducir los SV disponibles a través de una degradación más activa (**Netshivhumbe et al., 2024**).

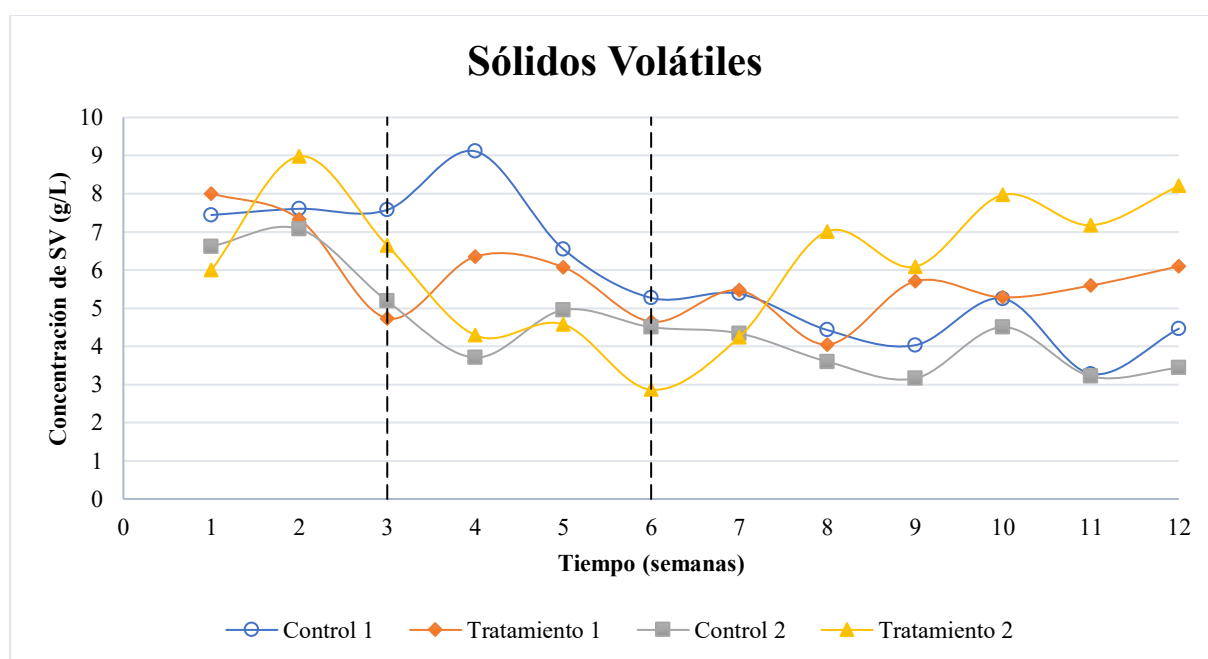


Figura 14: Monitoreo semanal de los sólidos volátiles en los biodigestores.

El efecto en los tratamientos **Anexo 41** y a las semanas **Anexo 42**, es debido a que, la adición del coctel enzimático microbiano (PEC) en el Tratamiento 2 favoreció la liberación de compuestos orgánicos biodegradables, aumentando los SV en las primeras semanas (6-8). Sin embargo, hacia el final (semanas 10-12), la concentración de SV se estabilizó debido a la adaptación microbiana y la reducción progresiva de la carga orgánica (**Issah & Kabera, 2020**). Aunque hubo diferencias entre semanas, los valores más altos se observaron en las semanas 10 y 12. Esto sugiere que la degradación de SV fue progresiva, alcanzando un punto de equilibrio al final del experimento, (concentración de sólidos volátiles al inicio y el final: **Control 1**= 7,44 (g/L) y 4,46 (g/L); **Tratamiento 1**= 8,01 (g/L) y 6,10 (g/L); **Control 2**= 6,62 (g/L) y 3,44 (g/L); **Tratamiento 2**= 6,00 (g/L) y 8,21 (g/L)).

3.3.8. Sulfato

La presencia de iones sulfato en los lodos incrementa la complejidad de las rutas de biodegradación. En presencia de sulfato, las bacterias acidogénicas, acetogénicas y metanogénicas compiten con las Bacterias Reductores de Sulfato SRB por los sustratos disponibles. Esto genera una competencia importante, ya que determinará en qué medida se producirá sulfuro y metano (**Fernández & García, 2006**). Además, el impacto de los iones sulfato durante la digestión anaerobia se ha evidenciado en un progreso deteriorado en la etapa metanogénica debido a la toxicidad del sulfuro, lo que resulta en una producción escasa de metano (**Madden et al., 2014**).

Al realizar un ANOVA para los sulfatos **Anexo 16**, se evidencia que no existe diferencia significativa en cuanto a los tratamientos durante las semanas 3-5, pero al realizar una prueba de Fisher **Anexo 17** estadísticamente, se observa que existen diferencias en la concentración de sulfato entre los tratamientos y los controles durante las semanas 3 a 5, lo que indica que los tratamientos tienen un efecto sobre el sulfato en comparación con los controles. Además, otro ANOVA realizado para las semanas 6-12 **Anexo 46** indican que existe diferencia significativa en las semanas, pero no en los tratamientos, sin embargo, al igual que, durante las semanas 3-5 se realizó una prueba de Fisher tanto para las semanas (**Anexo 48**) como para los tratamientos (**Anexo 47**), en la cual se observa que si existe diferencias entre los tratamientos.

Como se puede observar en la **Figura 15** se inició con una concentración de SO_4^{2-} de 106-103 mg/L, pero a medida que han transcurrido las semanas específicamente entre la 4 y 5 se puede apreciar una disminución en la concentración de sulfato para los tratamientos 2 con una concentración de sulfato de 23,33 mg/L. Esto pudo deberse a la presencia de SRB las cuales transforman el sulfato en sulfuros gaseosos o iónicos como (H_2S , HS^- y S^{2-}) (**Ho et al., 2023**). Sin embargo, a concentraciones de 90-3000 mg/L de sulfuro de hidrogeno genera una grave inhibición en el proceso de gasificación (**S. Nair et al., 2018**). Por el contrario, a partir de la semana 6 a 12 se puede observar una cierta estabilidad en la concentración de sulfato, teniendo en cuenta que se adiciono el coctel enzimático.

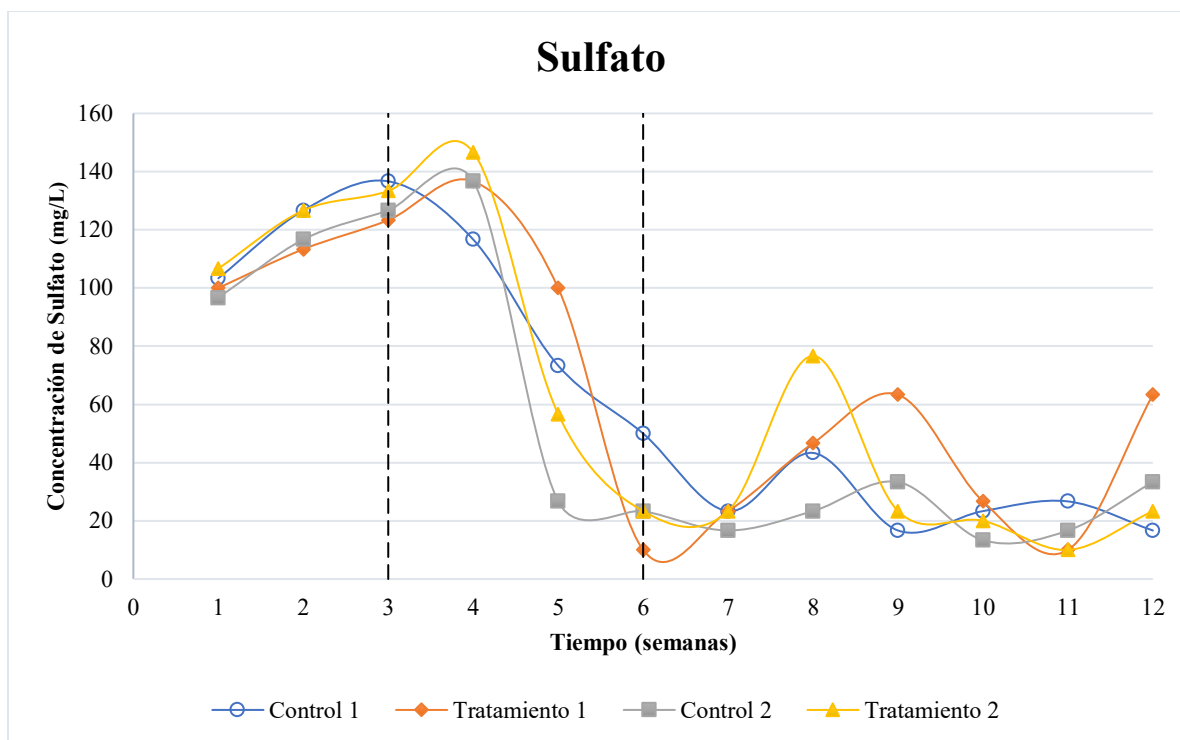


Figura 15: Monitoreo semanal de sulfato en los biodigestores.

Se han informado que, cuando la concentración de sulfato supera los 500 mg/L, la producción de gas se reduce, en tanto, resultados similares también indican que concentración de sulfato de 300 mg/L son tóxicas para la digestión anaeróbica debido a la reducción a sulfuros durante la digestión, para lo cual según los datos obtenidos se mantiene dentro del rango óptimo. Así mismo, se han reportado que el sulfato a 50, 100 y 400 mg/L pueden aportar a la producción de metano, ya que aceleran la degradación del sustrato a partir de las SRB que actúan como acetógenos (Zan & Hao, 2019).

3.3.9. Sulfuro

El azufre es un macroelemento de las células bacterianas y desempeñan un papel importante en la síntesis celular (Deng et al., 2020). La concentración de azufre recomendada para la digestión anaerobia es de 1-25 mg/L. Durante la digestión anaerobia, la degradación de proteínas y aminoácidos (cisteína y metionina) da como resultado la formación de azufre y el azufre mineralizado se convierte en sulfuro de hidrógeno (Sürmeli et al., 2017).

Al realizar el ANOVA de las semanas 3 a 5 Anexo 16 para el sulfuro se observa el efecto que tienen los tratamientos y las semanas en la concentración de sulfuro, además, al realizar una

prueba de Fisher **Anexo 14** se puede evidenciar que el tratamiento 2 ha tenido un incrementado en la concentración. Sin embargo, este incremento se hace más notorio durante la 5 semana **Anexo 15** en donde existe evidencia estadística de que hay un efecto en el incremento en la concentración, que puede deberse a la reducción del sulfato en sulfuro.

Si bien el sulfuro es la principal fuente de azufre para las bacterias formadoras de metano y que se requiere en concentraciones relativamente altas, estas concentraciones también presentan dos problemas importantes para el funcionamiento exitoso del digestor. Por un lado, precipita trazas de metales o micronutrientes y por el otro causa toxicidad en altas concentraciones (**Gerardi, 2003**). Por ejemplo, durante la metanogénesis los sulfuros por encima de 80 mg/L inhibirán en el proceso de metanogénesis y entre 150-200 mg/L causaran una inhibición radical (**Deng et al., 2020**).

Como se observa en la **Figura 16** el incremento del sulfuro al cabo de la quinta semana paso de 21,82 mg/L a 42,90 mg/L, lo cual, según lo anterior, se encuentra dentro de los rangos aceptables. Pero estudios previos indican que concentraciones de sulfuro superiores a 50 mg/L penetran la membrana celular e inhiben aún más la actividad metabólicas bacteriana (**Xie et al., 2022**) No obstante, para las semanas 6 a 12 **Anexo 43** se muestra que existe efectos tanto en los tratamientos como en las semanas siendo el más significativo la semana 11 **Anexo 45** con una concentración elevada de sulfuro en el tratamiento 2 de 139,42 mg/L, aunque su producción final fue de 110,07 mg/L, causando toxicidad y evidenciándose en la producción de metano **Figura 6**.

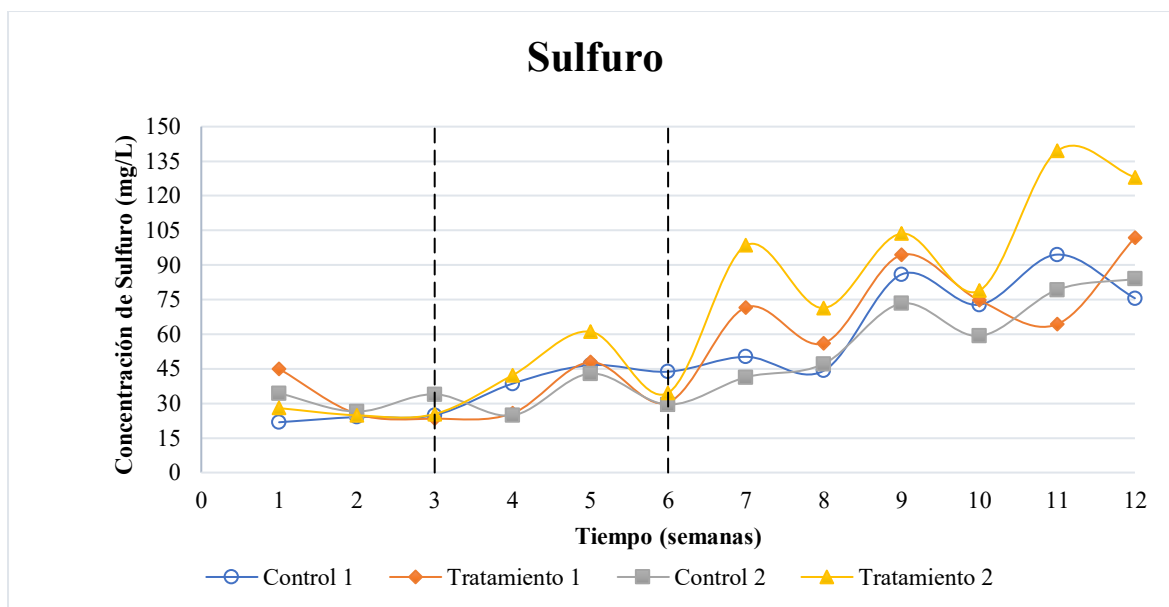


Figura 16: Monitoreo semanal de Sulfuro en los biodigestores.

Este aumento puede estar relacionada con el pH, ya que este influye en la formación de sulfuro y su toxicidad se ha demostrado que solo la molécula neutra de sulfuro de hidrógeno no disociado puede atravesar la membrana celular (**Bassin et al., 2018**). Por tanto a medida que el pH disminuye por debajo de 7, la concentración de sulfuro baja y la concentración de sulfuro de hidrogeno aumenta (**Gerardi, 2016**). Sin embargo, parte del sulfuro disuelto puede pasar a fase gaseosa como H_2S , o permanecen en el líquido y precipitan como sulfuro metálico dependiendo de las condiciones del sistema (**Xie et al., 2022**).

3.3.10. Fosfato

El uso de lodos de los sistemas de plantas de tratamientos de aguas residuales como fertilizante es mínimo debido a patógenos, metales y compuestos organismos, sin embargo, el balance de masas de las plantas de tratamientos han identificado que los lodos contenían el 94% del fosforo entrante a las PTAR (**Photiou & Vyrides, 2021**). Por tanto, se considera una fuente potencial de fosforo y se están desarrollando diversos métodos para recuperarlo, de acuerdo con los principios de la economía circular (**Kwiatkowska & Nosek, 2020**).

El ANOVA realizado para el fosfato **Anexo 19** en las semanas 3-5, muestra estadísticamente un efecto en las semanas, específicamente durante la quinta semana como se puede apreciar en la **Figura 17** y **Anexo 20**, donde se aprecia aumento en la concentración de fosfato de 223,33 mg/L en el tratamiento 1 a pasar en la semana 5 a 406,67 mg/L.

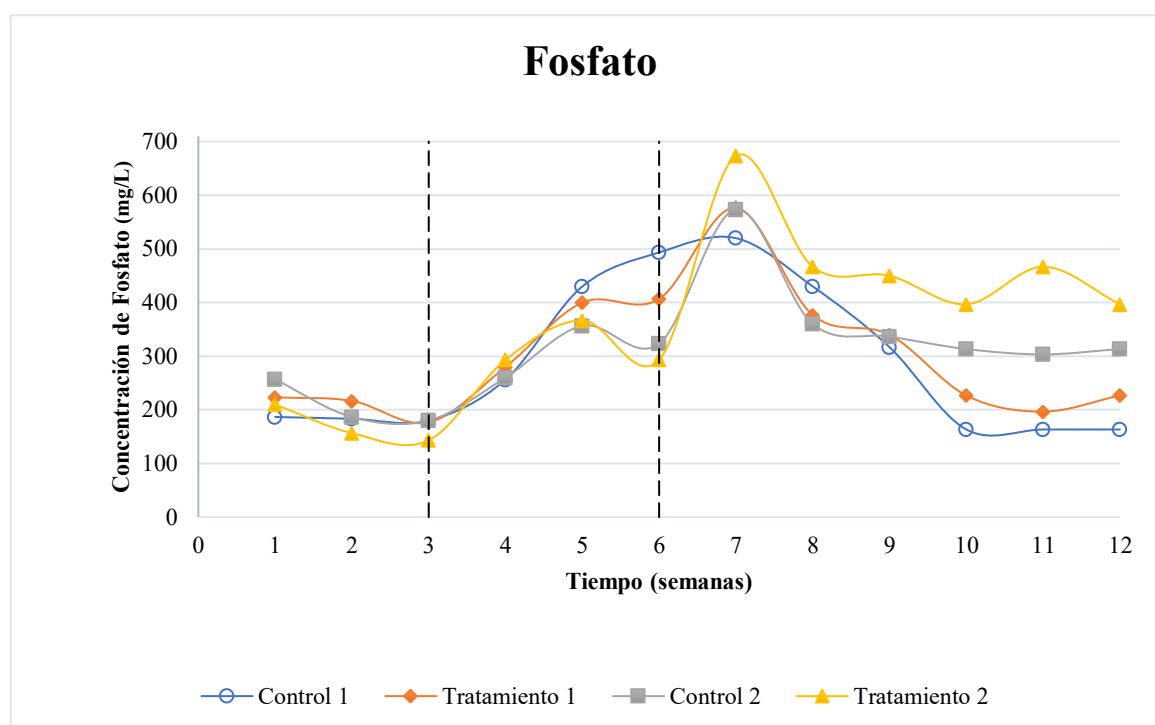


Figura 17: Monitoreo semanal de Fosfato en los biodigestores.

Este aumento puede relacionarse con la acumulación biológica de fósforo en la biomasa de los lodos llevada a cabo principalmente por organismos acumuladores de fósforo (PAO), estos microorganismos (PAO) almacenan el P en forma de polifosfatos degradan la biomasa microbiana y liberan ortofosfatos al ambiente (Kwiatkowska & Nosek, 2020). Por tanto, las especies de fósforo presentes en los lodos determinan significativamente la eficiencia de la liberación de fósforo (Yao et al., 2024).

Sin embargo, durante las semanas 6-12 se puede observar efectos tanto para los tratamientos como en las semanas **Anexo 49**, siendo la semana 7 con mayor producción de fosfato de 673,33 mg/L, pero cayó al cabo de la semana 12 y en cuanto al tratamiento **Anexo 50**, el tratamiento 2 presento una alta concentración 396,67 mg/L, aunque menor respecto de la semana 7 como se ve en la tabla 15.

Se ha investigado que la liberación biológica de fósforo del lodo aumentó más de 100 veces después de la suplementación con acetato 270 mg/L, lo que resultó en la liberación de hasta el 23% del P total de la biomasa (Kwiatkowska & Nosek, 2020). Sin embargo, estudios indican que operar el digestor a un pH <6,0 permitió solubilizar hasta el 80 % del P total como

PO_4^{3-} , frente al 20 % con un pH estándar de 7,2 en el digestor. Sin embargo, esto redujo la producción de metano, lo que afectó especialmente a la hidrólisis y la metanogénesis (**Latif et al., 2018**). Lo que explica el aumento y su disminución al final de experimento.

No obstante, toda la polifosfato presente en los lodos digeridos se degrada a ortofosfato, así como gran parte del fósforo orgánico presente en los lodos orgánicos. Parte del fosfato liberado puede formar complejos con iones metálicos como el Mg^{2+} precipitando con PO_4^{3-} dando lugar a $Mg_2(PO_4)_3$, de igual forma si hay NH_4^- se forma $MgNH_4PO_4$ (estruvita) (**van Haandel & van der Lubbe, 2012**). Disminuyendo la concentración de fosfato soluble. Sin embargo, la recuperación de P como estruvita puede no ser un método apropiado debido a las complejas condiciones de operación y la baja eficiencia de recuperación (**Yao et al., 2024; Zhang et al., 2022**).

3.3.11. Hierro

El ANOVA realizado para las semanas 3-5 en Hierro **Anexo 21** muestra que estadísticamente existe un efecto en las semanas **Anexo 22**, siendo la semana 5 con mayor concentración de hierro. Pero al cabo de a sexta semana **Anexo 52** se puede apreciar un incremento mayor en los tratamientos **Anexo 53** siendo el tratamiento 2 con mayor contenido de hierro, pero siendo la semana 10 **Anexo 54** en donde hubo una mayor producción.

El aumento en la concentración de hierro observado en los biodigestores **Figura 18** (concentración de hierro al inicio y el final: **Control 1**= 16,67 y 15,33 (mg/L); **Tratamiento 1**= 9,33 y 26,08 (mg/L); **Control 2**= 7,67 y 19,50 (mg/L); **Tratamiento 2**= 5,33 y 27,00 (mg/L)) puede atribuirse, particularmente a la liberación de hierro como los óxidos de hierro, los minerales que contienen hierro y las sales de hierro, que liberan Fe(II)/Fe(III) a los sistemas anaeróbicos durante la descomposición de la materia orgánica (**H. Wang et al., 2025**). Diferentes informes indica que varios compuestos de hierro se disuelven generando Fe(II) y Fe(III), y sirven como nutrientes para la actividad microbiana o transportadores de electrones para reacciones redox para facilitar la conversión de materia orgánica a metano (**Baek et al., 2019**).

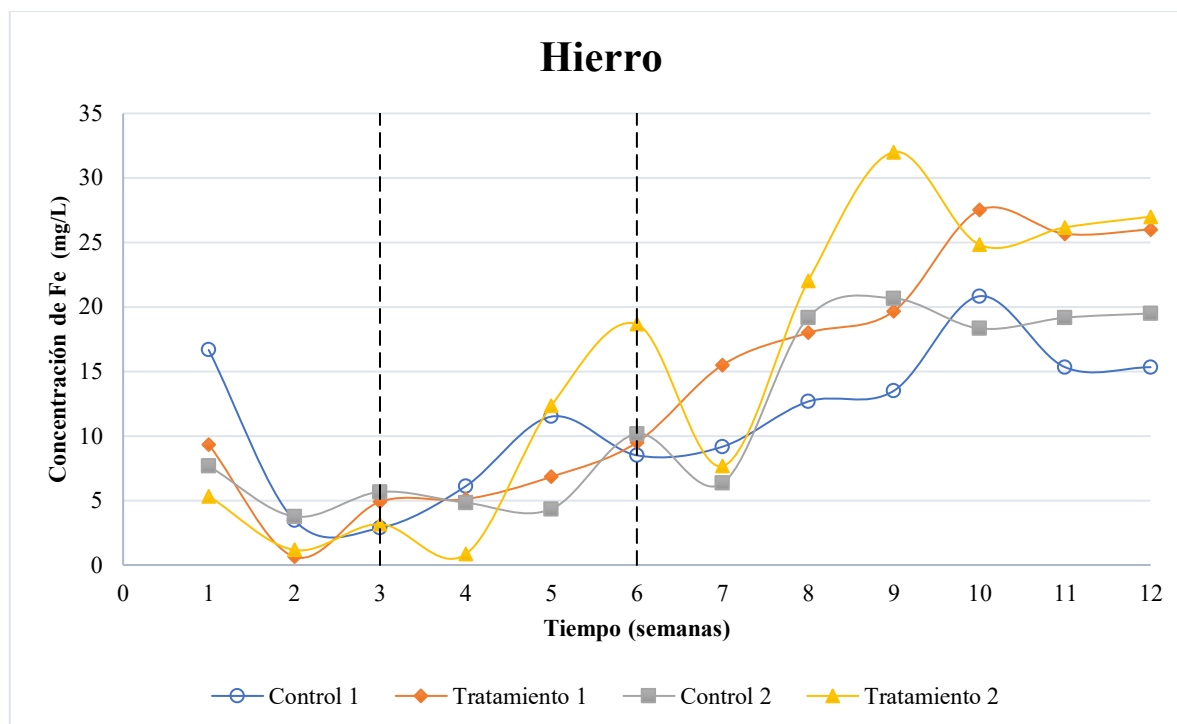


Figura 18: Monitoreo semanal de Hierro en los biodigestores.

Además, el Fe (III) como aceptor de electrones acelera la descomposición de la materia orgánica a través de la reducción de hierro disimilatorio microbiano (Wang et al., 2024). Esto para evitar la acumulación de ácidos grasos volátiles (AGV) a altas tasas de carga orgánica y para recuperar las condiciones de acidificación durante el proceso de digestión anaerobia, manteniendo la estabilidad del sistema (Karimirad et al., 2024).

No obstante, se han investigado una forma eficaz de mejorar la producción de hidrogeno y metano y es añadiendo Fe (II) y hierro de valencia cero. Pero, se han realizado estudios y han explorado los efectos de Fe con diferentes estados de valencia (cero, Fe(II) y Fe(III)) en la producción de hidrogeno y los resultados muestran que el Fe (II) es el mejor (Ma et al., 2015). Ya que el hierro disuelto que se encuentra en su estado Fe(II) puede ser fácilmente absorbido y utilizado como micronutriente por los microorganismos, sin embargo, diferentes especies y compuestos de hierro pueden influir en la metanogénesis de maneras significativamente diferentes, tanto positivas como negativas, según sus propiedades fisicoquímicas (Baek et al., 2019).

3.3.12. Magnesio

El ion magnesio Mg^{+2} se ha identificado como un elemento clave, ya que puede estimular e inhibir la actividad microbiana anaeróbica (**Romero-Güiza et al., 2016**). Además, el ion magnesio, un elemento importante en los microorganismos, es uno de los componentes de las paredes y membranas celulares (**Amiri et al., 2015**).

El ANOVA realizado para las semanas 3-5 en Magnesio **Anexo 23** muestra que estadísticamente existe un efecto en los tratamientos **Anexo 24**, siendo el control 2 con mayor concentración de magnesio. Sin embargo, al cabo de las semanas 6-12 se puede observar **Anexo 55** un cambio significativo en la concentración de magnesio **Anexo 56** aun cuando se puede ver cierta estabilidad para lo cual, el tratamiento 2 paso a tener una concentración de Mg^{+2} de 306,67 mg/L.

Se han investigado que el nivel adecuado de Mg^{+2} para el crecimiento óptimo de microbios anaeróbicos se encuentra en un rango de 300 a 720 mg/L, aunque se cree que el umbral de inhibición se sitúa alrededor de los 1900 mg/L (**Cheng, 2018**). Sin embargo, se ha observado que el Mg^{+2} inhibe la metanogénesis cuando alcanza los 720 mg/L, inhibiendo la conversión de acetato (**Romero et al., 2021**).

Como se ve en la **Figura 19** el tratamiento 2 está dentro del rango optimo, no obstante, esto pudo deberse a las condiciones del biodigestor pues contiene mayor contenido de lodos, en cambios los demás biodigestores sus concentraciones por debajo del umbral puede estar relacionado con que el fosfato podía precipitarse con Mg formando sales de fosfato insolubles (como el fosfato de magnesio). Por lo tanto, el contenido de PO_4^{-3} disminuyó notablemente en presencia de Mg^{+2} (**C. C. Liu et al., 2017**). Además de que puede precipitar con amonio y sulfato disminuyendo así el contenido de iones magnesio en los biodigestores.

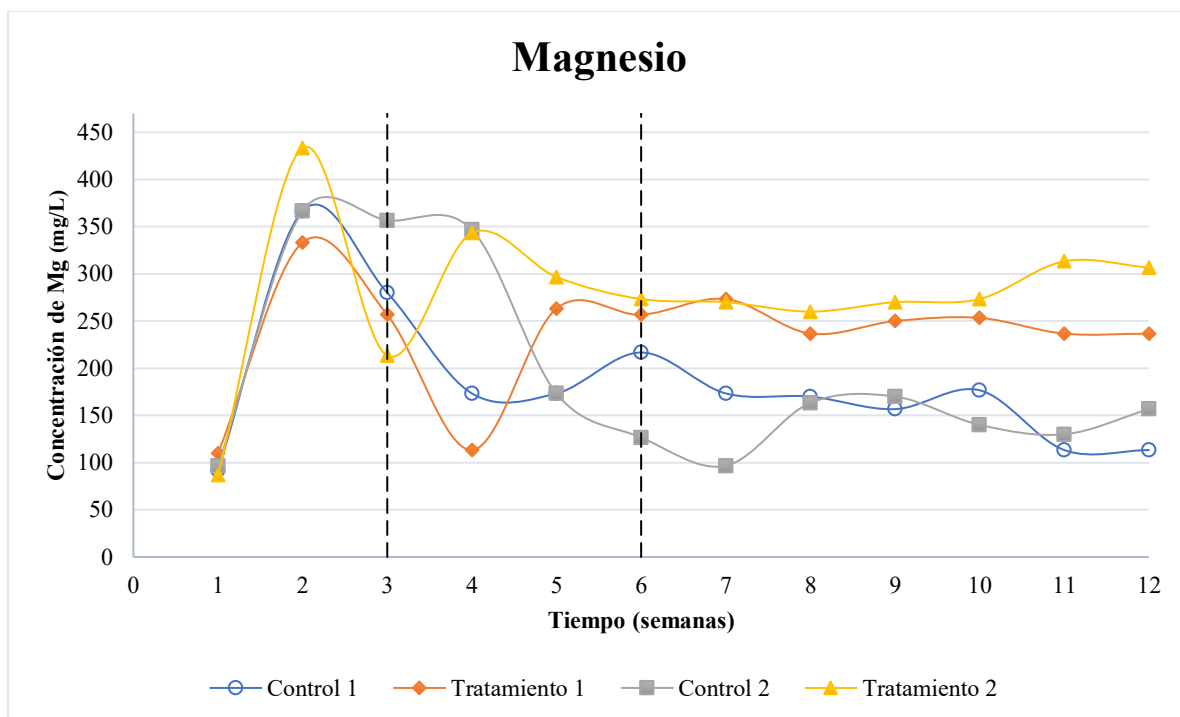


Figura 19: Monitoreo semanal de Magnesio en los biodigestores.

3.3.13. Amonio

Un problema crítico es la formación de amonio NH_4^+ que se genera durante la degradación de proteínas, ácidos nucleicos y urea y no puede degradarse más en condiciones anaeróbicas (Theuerl et al., 2020). Investigaciones sugieren que operar un digestor anaeróbico a un pH de 7 permite la tasa óptima de producción de amonio (Gonde et al., 2023).

El ANOVA realizado para las semanas 3-5 en amonio **Anexo 25** muestra que estadísticamente existe un efecto en los tratamientos **Anexo 26**, siendo el tratamiento 2 con mayor concentración de amonio (concentración de amonio al inicio y el final: **Control 1**= 489,33 y 260,00 (mg/L); **Tratamiento 1**= 267,00 y 235,00 (mg/L); **Control 2**= 268,33 y 395,67 (mg/L); **Tratamiento 2**= 320,67 y 412,00 (mg/L)). Sin embargo, para las semanas 6-12 mediante un ANOVA **Anexo 57** se puede identificar que hay efecto tanto en los tratamientos **Anexo 58** como en el transcurso de las semanas **Anexo 59** siendo así que la semana 6 presento mayor producción de amonio **Figura 20**.

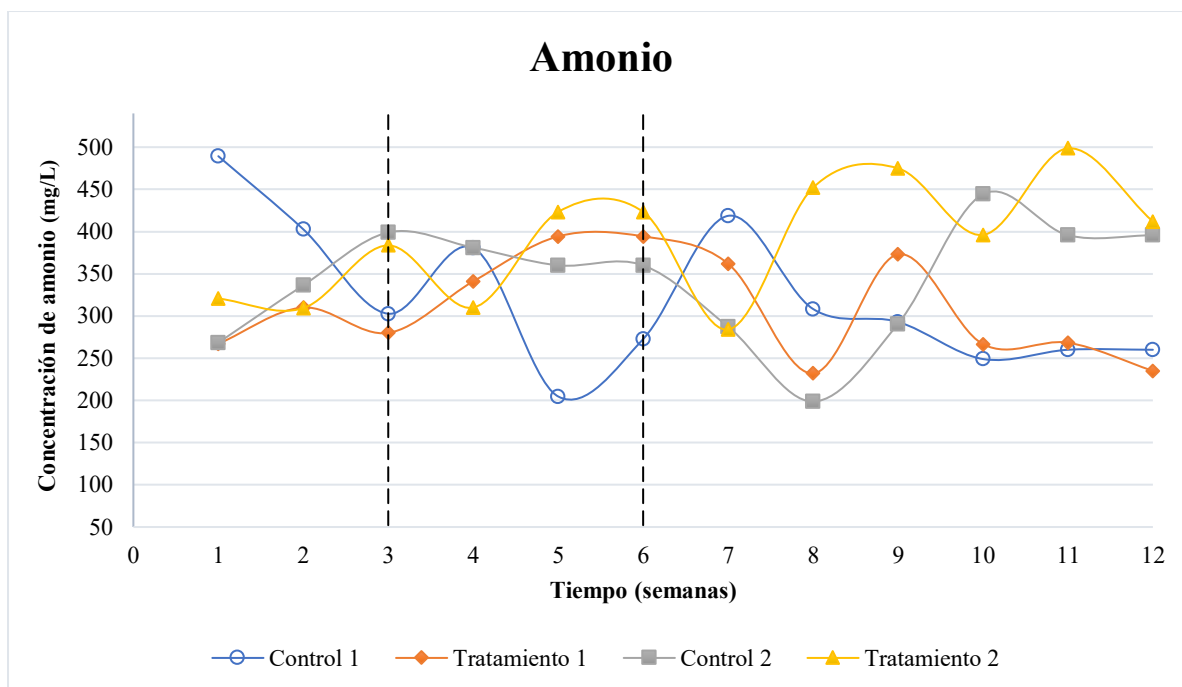


Figura 20: Monitoreo semanal de Amonio en los biodigestores.

Además otros estudian indican que, el amonio, es tóxico para los microorganismos metanogénicos mesófilos en concentraciones superiores a 3000 mg/L y pH superior a 7,4 (Korres & Nizami, 2013). El mecanismo de la toxicidad del amoníaco radica en que altas concentraciones de amoníaco extracelular pueden difundirse hacia las células bacterianas metanogénicas y producir iones de amonio, lo que provoca un aumento de protones y un desequilibrio del pH (Tawfik et al., 2023)..

No obstante, el pH juega un papel crucial en el aumento en la proporción de amoníaco. Si el sustrato digerido está compuesto principalmente de proteínas, el pH del reactor de digestión suele ser alto, provocando así la acumulación de ácidos grasos volátiles (J. Yang et al., 2024). Sin embargo, la **Figura 20** evidencia que el tratamiento 2 sometido a una mayor carga orgánica presentó un incremento en la concentración de amonio, superando los 500 mg/L hacia las semanas finales. Aunque el pH se mantuvo entre 6-8 este último valor favorece la formación de amoníaco libre, muy toxico para las metanogénicas. Esto sugiere que una sobrecarga orgánica puede afectar la producción de metano comprometiendo la eficiencia del sistema (Polizzi et al., 2018).

3.3.14. Cromo VI

El cromo es uno de los metales más importantes actualmente, pues se utiliza ampliamente en procesos de fundición, metalúrgica, la ingeniería farmacéutica, el cuero etc. Este metal se puede presentar en forma de Cr(VI) y Cr(III), y su toxicidad, biodisponibilidad y solubilidad dependen en gran medida de su forma química (Cao et al., 2024). Sin embargo, el Cr (VI) se encuentra en forma de óxidos fuertes y dicromatos. Además, el Cr (VI) es altamente soluble y potencialmente peligroso para todas las formas de vida debido a su capacidad para alterar o desnaturalizar las proteínas (Durán et al., 2018).

Como se observa en la **Figura 21**, el Cr (VI) en las semanas de estabilización tiene a disminuir su concentración (concentración de cromo VI al inicio y el final: **Control 1**= 1846,67 y 0,00 ($\mu\text{g/L}$); **Tratamiento 1**= 900,00 y 0,00 ($\mu\text{g/L}$); **Control 2**= 603,33 y 0,00 ($\mu\text{g/L}$); **Tratamiento 2**= 686,67 y 0,00 ($\mu\text{g/L}$).), esto puede deberse a que la digestión anaerobia de lodos es una forma altamente eficaz, de bajo costo, sostenible y respetuoso con el medio ambiente para la reducción y tratamiento de Cr (VI) a Cr (III).

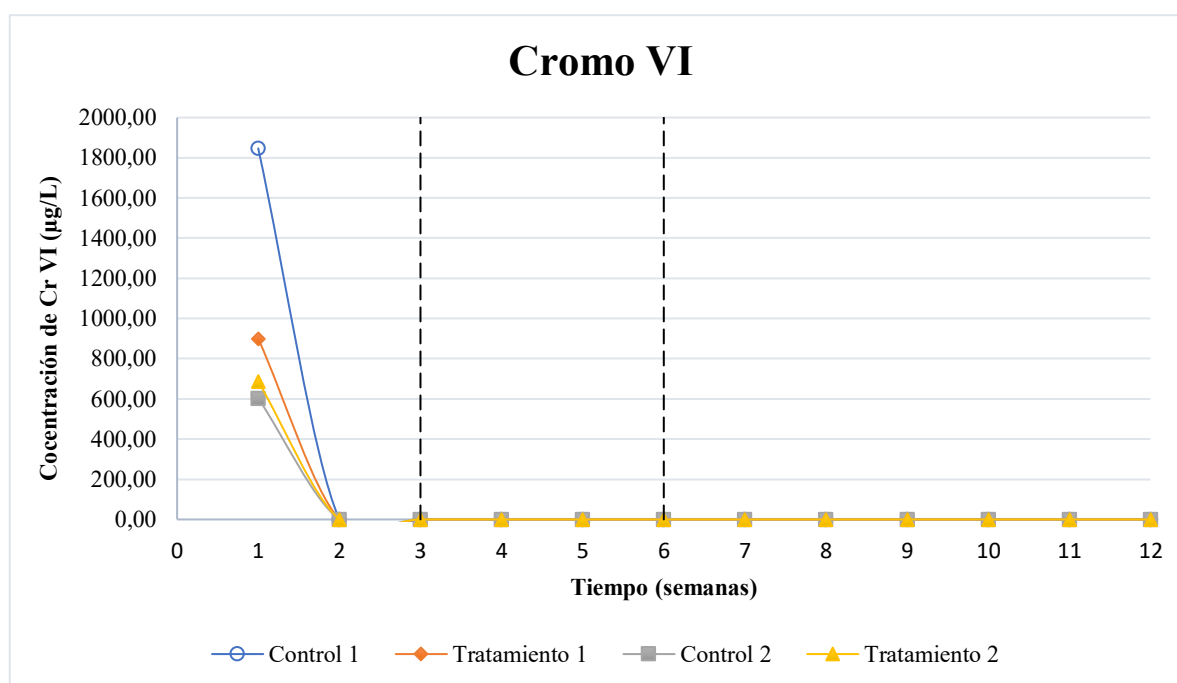


Figura 21: Monitoreo semanal de Cromo VI en los biodigestores

Por tanto, a partir de la segunda semana el Cr (VI) se redujo a Cr (III) y esto concuerda con estudios donde han encontrado que el lodo anaeróbico podría eliminar eficazmente Cr (VI) después de la aclimatación microbiana, esto debido a que las sustancias poliméricas extracelulares (EPS) desempeñan un rol imprescindible como barrera protectora en la

conversión y eliminación de Cr (VI) (Shao et al., 2025). Además de que el cromo hexavalente se reduce a Cr (III) en presencia de cualquier agente reductor como: materia orgánica, sulfuro de hidrógeno, nitrato de amonio, azufre, sulfuro de hierro y nitratos (Abou et al., 2018). Y el Cr(III) formado por reducción se precipita o adsorbe fácilmente en la biopelícula en forma de $Cr(OH)_3$ (Cao et al., 2024).

Además, la digestión anaerobia es una vía viable para la biotecnología anaeróbica en el tratamiento de Cr ya que, estudios han demostrado que la materia orgánica y sus metabolitos (ácidos volátiles e hidrógeno) actúan como donadores de electrones en la reducción biológica anaeróbica de Cr(VI) (Zheng et al., 2019). No obstante, se han informado que, a una concentración de 5 mg/L de Cr (VI), el reactor anaeróbico funciona con mayor eficiencia. Sin embargo esto puede variar enormemente entre estudios, debido a condiciones experimentales, concentración de cromo, la especiación del cromo, el consorcio microbiano, la aclimatación y las condiciones iniciales (Vaipoulou & Gikas, 2012).

3.3.15. Cromo total

En la fase inicial del experimento (semanas 3-5), se observaron diferencias significativas en la concentración de cromo total entre los tratamientos y semanas evaluadas. Los resultados del análisis estadístico indicaron que el tratamiento 1 presentó la menor concentración promedio (405,37 $\mu g/L$), mientras que el control 1 registró la concentración más elevada (615,14 $\mu g/L$) **Figura 22**. Estos resultados evidencian que la composición del sustrato influyó directamente en la disponibilidad y movilidad del cromo total en los sistemas evaluados. La disminución progresiva observada en esta etapa sugiere una posible retención o transformación inicial del metal (concentración de cromo total al inicio y el final: **Control 1**= 637,59 y 374,48 ($\mu g/L$); **Tratamiento 1**= 1225,23 y 705,48 ($\mu g/L$); **Control 2**= 1753,47 y 491,72 ($\mu g/L$); **Tratamiento 2**= 629,99 y 1271,18 ($\mu g/L$)).

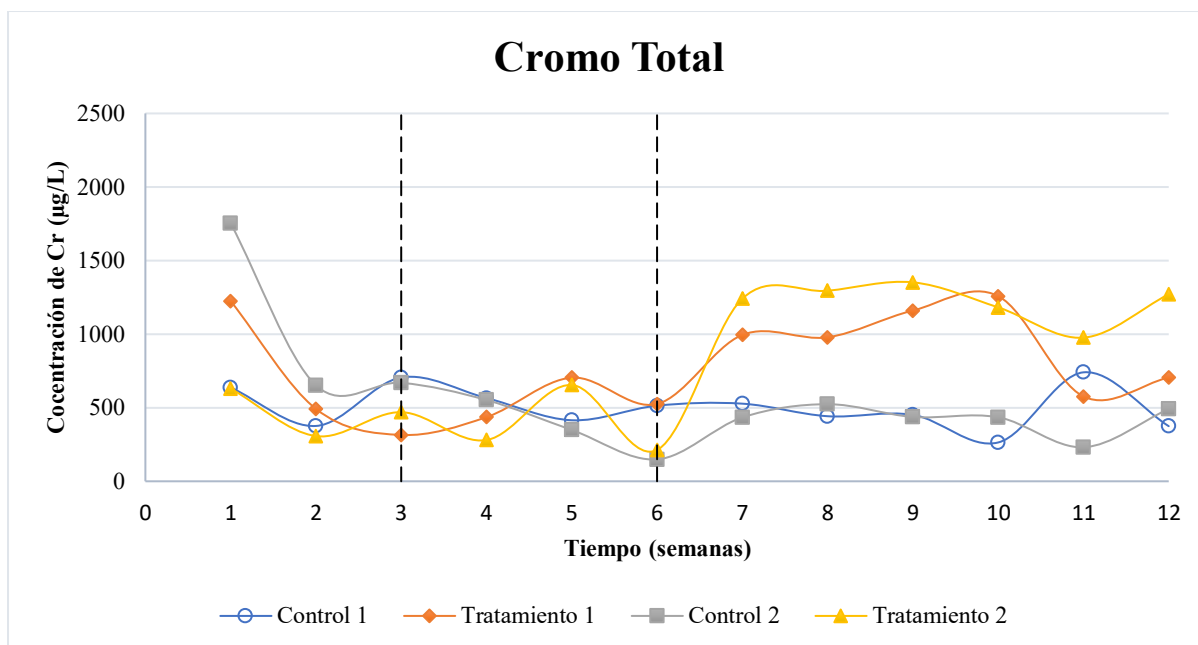


Figura 22: Monitoreo semanal de cromo total en los biodigestores.

Además, al cabo de la segunda etapa (semanas 6-12), posterior a la adición del cóctel enzimático, se registró un comportamiento diferenciado en la concentración de cromo total. Los tratamientos 1 y 2, que recibieron la adición enzimática, mostraron un aumento en sus concentraciones que los controles, destacándose el tratamiento 1 con la concentración más baja (491,72 µg/L). La prueba ANOVA evidenció que tanto los tratamientos como el tiempo influyeron significativamente en la dinámica del cromo total. Esto confirma que la adición enzimática favoreció la movilización o transformación del cromo en los biodigestores.

La movilización del cromo puede atribuirse a la acción de las enzimas que degradan la materia orgánica, liberando metales pesados asociados. Investigaciones recientes han demostrado que ciertos pretratamientos enzimáticos aumentan la degradabilidad de residuos que contienen cromo, reduciendo la fase de latencia en la producción de biogás y sugiriendo una mayor disponibilidad de cromo en el proceso anaerobio (**Gomes et al., 2020**). Además, se ha observado que la actividad enzimática en la codigestión anaerobia puede influir en la transformación y movilidad de metales pesados, afectando su especiación y biodisponibilidad (**Wolejko et al., 2025**).

Es crucial considerar que la liberación de cromo durante la digestión anaerobia puede tener implicaciones ambientales significativas. Estudios han señalado que la presencia de metales

pesados como el cromo puede inhibir la actividad microbiana y afectar la eficiencia del proceso de digestión anaerobia (**Mudhoo & Kumar, 2013**).

3.3.16. Cadmio

El cadmio (Cd) tiene un amplio campo de aplicación como a baterías, pigmentos, recubrimientos metálicos, productos químicos e ingresa a las PTAR con el líquido residual y terminaría en el lodo (**Zhang et al., 2024**). Además, se han encontrado que las concentraciones totales de Cd en lodos de depuradora son >2 mg/g de lodo seco en algunas PTAR (**Liu et al., 2023**).

En la **Figura 23** se observa un incremento paulatino en la concentración de Cd (concentración de cadmio al inicio y el final: **Control 1**= 14,81 y 36,08 ($\mu\text{g/L}$); **Tratamiento 1**= 24,43 y 96,95 ($\mu\text{g/L}$); **Control 2**= 109,32 y 39,02 ($\mu\text{g/L}$); **Tratamiento 2**= 73,86 y 120,95 ($\mu\text{g/L}$.) a partir de la semana 6, especialmente en el tratamiento 2, que alcanzó los valores más altos. El (ANOVA) mostró diferencias estadísticamente significativas tanto entre tratamientos como entre semanas. Los tratamientos con cóctel enzimático (tratamientos 1 y 2) presentaron mayores niveles de cadmio total en comparación con los controles, sugiriendo una posible movilización del metal asociada a la actividad enzimática. La prueba de Fisher confirmó estas diferencias, destacando el impacto del tratamiento en la dinámica del cadmio durante la digestión anaerobia.

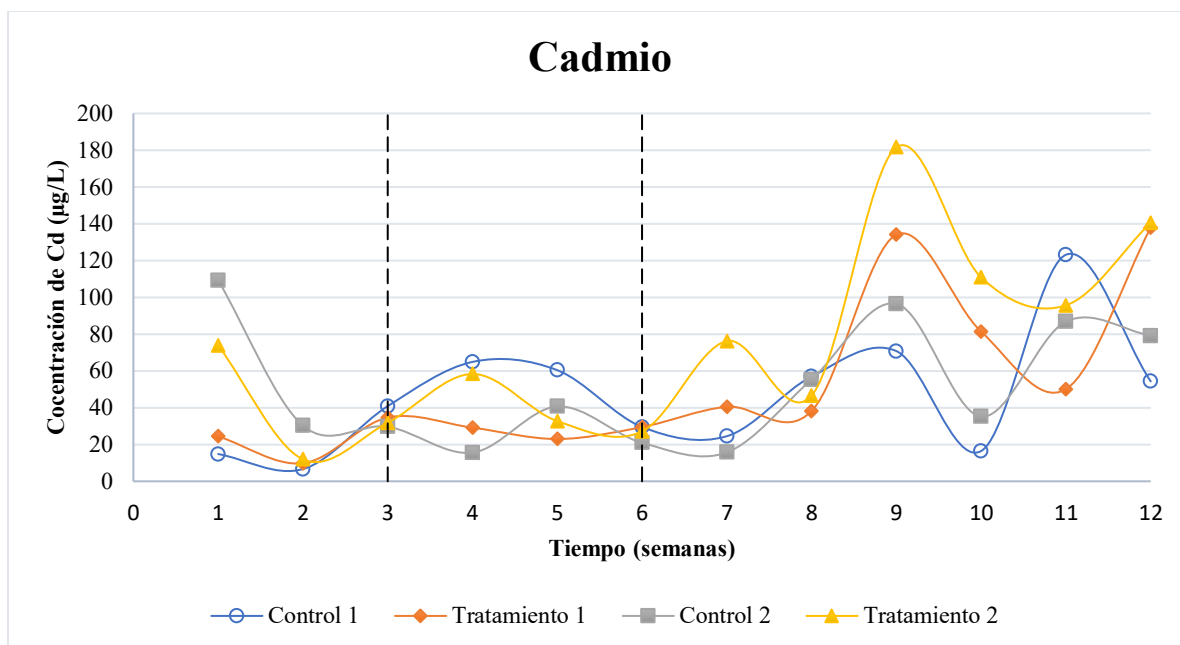


Figura 23: Monitoreo semanal de cromo cadmio en los biodigestores.

Estos resultados muestran que la adición de enzimas pudo haber facilitado la liberación de cadmio una vez inmovilizado en la matriz del lodo, generando un incremento en su concentración en la fase líquida del digestor. No obstante se ha demostrado que ciertos tratamientos como la adición de poliacrilamida aniónica (APAM), pueden mitigar la toxicidad del cadmio en la digestión anaerobia al adsorber y retener el metal, reduciendo su biodisponibilidad (Zhang et al., 2024).

Aunque, si se lograra completamente mitigar la toxicidad el Cd al ser altamente soluble puede transportarse a las células y destruir la estructura y función de las proteínas e incluso dañar su caché de ADN (Xu et al., 2017). Por ejemplo, se ha encontrado que el Cd es uno de los metales más tóxicos para los organismos que degradan AGV (Mudhoo & Kumar, 2013). Sin embargo, en ausencia de agentes quelantes o adsorbentes específicos, la actividad enzimática podría incrementar la solubilización del cadmio, elevando su concentración en el digestato.

CAPITULO IV.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. Conclusiones

- Se logro determinar el efecto de los productos enzimáticos en el tratamiento de lodos de la PTAR de Ambato y residuos verdes, evidenciando un mejor rendimiento en la producción de metano a escala de laboratorio. Donde el tratamiento 1 tuvo un incremento significativo en comparación con los controles, destacando la capacidad de los productos enzimáticos para acelerar la hidrólisis y mejorar la biodisponibilidad de los sustratos. Estos resultados muestran un recurso potencial al aplicar enzimas como estrategia biotecnológica para optimizar la digestión anaerobia de residuos orgánicos.
- Mediante el método de desplazamiento de líquido, se logró seleccionar el producto más eficiente en términos de producción de metano, al comparar tres formulaciones comerciales, los resultados demostraron que EM-1 se identificó como el producto con mayor rendimiento metanogénico durante el ensayo AME con $887,04 \text{ g DQO} - \text{CH}_4 / \text{g SV} \cdot \text{d}$, evidenciando su capacidad para potenciar la etapa hidrolítica del proceso anaerobio. No obstante, la selección del producto enzimático aplicado a la investigación se basó en un criterio económico, por lo cual se aplicó Efibact con una eficiencia de $39,18 \text{ g DQO} - \text{CH}_4 / \text{USD}$ a comparación de EM1 con $110,88 \text{ g DQO} - \text{CH}_4 / \text{USD}$ abriendo una puerta hacia procesos más sostenibles, económicos y rentables. Destacando que el producto enzimático seleccionado no fue el de mayor rendimiento en las pruebas preliminares, su elección respondió a un análisis estratégico que priorizo la viabilidad económica y el uso eficiente de recursos. Esta decisión permitió sugerir que no siempre se requiere el producto más costoso para alcanzar resultados sólidos y consistentes, demostrado que incluso con un producto de menor eficiencia técnica, es posible obtener resultados favorables en términos de producción de metano cuando se prioriza la sostenibilidad del proceso.
- La caracterización del licor de digestión permitió comprender el comportamiento del sistema antes y durante la aplicación del producto enzimático seleccionado. Este monitoreo permitió detectar variaciones en indicadores como pH, DQO, sólidos, sulfatos, sulfuros y metales pesados al momento en que se realizaron las modificaciones en los sistemas (semanas 3 y 6) reflejando el impacto de los tratamientos sobre la

estabilidad y eficiencia del proceso, evidenciando un papel crítico en las modificaciones hacia los sistemas como el aumento en la carga orgánica, el uso de un solo tipo específico de inóculo y el efecto de aplicar productos enzimáticos. Además, con la caracterización se pudo identificar de forma clara y continua las consecuencias de los cambios por estas configuraciones evidenciando efectos como toxicidad e inhibición por el aumento considerable de sulfuro, el incremento en la DQO en el tratamiento 2. Pero se evidencia mejoras en la biodegradabilidad en el tratamiento 1 como baja DQO menos toxicidad por parte de sulfuro y amonio. Por tanto, estos resultados aportan información valiosa para optimizar condiciones de operación y garantizar la eficiencia y sostenibilidad del proceso de digestión.

- La producción de metano fue determinada exitosamente mediante el método de desplazamiento de líquido, lo que permitió cuantificar de forma precisa el rendimiento del sistema. Los resultados demostraron que la aplicación del producto enzimático generó un incremento en la producción acumulada de metano como en el caso del tratamiento 1 respecto al control con un 12,08% validado su efecto positivo sobre la actividad microbiana metanogénica. Esta mejora refleja la evidencia que el uso de aditivos enzimáticos puede ser una estrategia clave para optimizar la valoración energética de residuos orgánicos bajo condiciones controladas, por el contrario, el tratamiento 2 presentó un 18,70% menos que su control, evidenciando la importancia en las configuraciones como lo son el aumento de carga orgánica o el uso de un solo tipo de inóculo puede alterar o modificar el rendimiento de la producción de metano.

4.2. Recomendaciones

- Es fundamental realizar una caracterización microbiológica detallada de la materia prima utilizada, es decir, identificar y cuantificar las comunidades microbianas presentes en los lodos y residuos orgánicos empleados en el proceso de digestión anaerobia. Conocer la diversidad y abundancia relativa de microorganismos. Esta información es clave para planificar estrategias más eficientes, como el uso dirigido de enzimas, bioaugmentación o ajustes en las condiciones operativas.

- Se recomienda dar continuidad a este estudio mediante investigaciones complementarias que permitan identificar el potencial para la revalorización del digestato, tanto como biofertilizante como fuente para la recuperación de nutrientes. Para ello, se sugiere analizar parámetros como la biodisponibilidad de nutrientes, la estabilidad microbiológica del digestato, y su impacto en suelos agrícolas. Esta línea de investigación contribuirá a cerrar el ciclo de aprovechamiento de residuos orgánicos, promoviendo una economía circular y sostenible, al convertir un residuo potencialmente contaminante en un insumo útil y de valor agregado para el sector agropecuario.

MATERIAL DE REFERENCIA

- Abou, S., Fawzy, M., El-Sorogy, M., & Abo-El-Enein, S. (2018). Bio-immobilization of Cr (VI) and its Impact on the Performance of a Pilot Scale Anaerobic Sludge Reactor Treating Municipal Wastewater. *Egyptian Journal of Chemistry*, 61(4), 629–637. <https://doi.org/10.21608/ejchem.2018.3849.1333>
- Aggarangsi, P., Koonaphapdeelert, S., Nitayavardhana, S., & Moran, J. (2023). Biogas Technology in Southeast Asia. In *Biogas Technology in Southeast Asia* (pp. 17–36). <https://doi.org/10.1007/978-981-19-8887-5>
- Agrawal, R. (2024). Industrially Important Secondary Metabolites. In *Textbook of Industrial Microbiology* (pp. 151–164). https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-981-97-9582-6_8
- Amiri, H., Karimi, K., Bankar, S., & Granstrom, T. (2015). Biobutanol from Lignocellulosic Waste. *Springer*, 1, 328. <http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-14033-9>
- Anacleto, G., Martínez, W., Pozzan, R., Puche, Y., Ocán, D., Fonseca, P., Rodrigues, C., Lima, J., Scapini, T., Karp, S., & Soccol, C. (2024). Comprehensive Review of Microbial Inoculants : Agricultural Applications , Technology Trends in Patents , and Regulatory Frameworks. *Sustainability*, 16(8720), 2–33. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/su16198720>
- APHA. (2023). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (24th ed.).
- Aquino, S., Chernicharo, C., Foresti, E., Florencio Dos Santos, M. de L., & Monteggia, L. (2007). Methodologies for determinig the Specific Methanogenic Actvity (SMA) in anaerobic sludge. *Journal of Chemistry*, 12(2), 868–876. <https://doi.org/10.2478/s11532-014-0542-2>
- Aransiola, S., Joseph, F., Oyedele, O., & Maddela, N. (2022). Ecological Interplays in Microbial Enzymology: An Introduction. In *Ecological Interplays in Microbial Enzymology* (pp. 3–15). https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-981-19-0155-3_1
- Aydin, S. (2017). Anaerobic Digestion. In *Waste Biomass Management – A Holistic Approach* (pp. 1–14). https://doi.org/DOI 10.1007/978-3-319-49595-8_1
- Azarmanesh, R., Zonoozi, M. H., & Ghiasinejad, H. (2020). Biomass and Bioenergy Characterization of food waste and sewage sludge mesophilic anaerobic co-digestion under different mixing ratios of primary sludge , secondary sludge and food waste. *Biomass and Bioenergy*, 139, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2020.105610>
- Baek, G., Kim, J., & Lee, C. (2019). A review of the effects of iron compounds on

- methanogenesis in anaerobic environments. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 113(109282), 2–14. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2019.109282>
- Barasa, M., & Olanrewaju, O. (2022). Biogas Production and Applications in the Sustainable Energy Transition. *Journal of Energy*, 2022, 43. <https://doi.org/10.1155/2022/8750221>
- Bassin, J., Dezotti, M., & Rosado, A. (2018). Advanced Biological Processes for Wastewater Treatment. *Molecular Biology Techniques Applied to the Study of Microbial Diversity of Wastewater Treatment Systems*. https://doi.org/10.1007/978-3-319-58835-3_6
- Beschkov, V. (2021). Biogas Production: Evaluation and Possible Applications. In *Biogas - Basics, Integrated Approaches, and Case Studies* (pp. 11–22). <https://doi.org/10.5772/intechopen.101544>
- Bhatnagar, N., Ryan, D., Murphy, R., & Enright, A. M. (2020). Trace element supplementation and enzyme addition to enhance biogas production by anaerobic digestion of chicken litter. *Energies*, 13(13). <https://doi.org/10.3390/en1313477>
- Caizán, L., ter Heijne, A., Weijma, J., Yntema, D., Suárez, D., & Buisman, C. J. N. (2020). Screening for electrical conductivity in anaerobic granular sludge from full-scale wastewater treatment reactors. *Biochemical Engineering Journal*, 159(107575), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2020.107575>
- Cao, G., Gao, J., Song, J., Jia, X., Liu, Y., Niu, J., Yuan, X., & Zhao, Y. (2024). Performance and mechanism of chromium reduction in denitrification biofilm system with different carbon sources. *Science of the Total Environment*, 906(135), 167191. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.167191>
- Castelo, P., Peñafiel, R., & Ochoa, V. (2014). Anaerobic digestion of fruit and vegetable waste in semi-continuous reactors from a municipal market in Tumbaco, Ecuador. *ACI Avances En Ciencias e Ingenierías*, 6(2). <https://doi.org/10.18272/aci.v6i2.185>
- Chandra, M., Yadav, P., Bramhachari, P., & Golla, N. (2021). Influence of Significant Parameters on Cellulase Production by Solid-State Fermentation. In *Bioenergy Research: Basic and Advanced Concepts* (pp. 73–86). [https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-981-33-4611-6_3_2](https://doi.org/10.1007/978-981-33-4611-6_3_2)
- Chen, Y., Zhu, R., Jiang, Q., Sun, T., Li, M., Shi, J., Chai, H., Gu, L., Ai, H., & He, Q. (2019). Science of the Total Environment Effects of green waste participation on the co-digestion of residual sludge and kitchen waste: A preliminary study. *Science of the Total Environment*, 671, 838–849. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.03.339>
- Cheng, J. (2018). Anaerobic Digestion for Biogas Production. In *Biomass to Renewable Energy Processes* (2da ed., pp. 143–169).

- Choi, Y., Ryu, J., & Lee, S. R. (2020). Influence of carbon type and carbon to nitrogen ratio on the biochemical methane potential, pH, and ammonia nitrogen in anaerobic digestion. *Journal of Animal Science and Technology*, 62(1), 74–83. <https://doi.org/10.5187/JAST.2020.62.1.74>
- Dasari, D., Manyapu, V., & Mandpe, A. (2024). Advancements in Biomass Degradation: The Role of Cross-linked Endocellulase in Agroindustrial Waste Processing. In *Environmental Engineering and Waste Management* (pp. 499–526). https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-3-031-58441-1_18
- de Lemos Chernicharo, C. (2007). Principles of anaerobic digestion. In *Anaerobic Reactors* (pp. 5–23).
- Deng, L., Liu, Y., & Wang, W. (2020). Biogas Technology. *Anaerobic Digestion Microorganisms*. <https://doi.org/10.1007/978-981-15-4940-3>
- Díaz, A. I., Oulego, P., González, J. M., Laca, A., & Díaz, M. (2020). Physico-chemical pre-treatments of anaerobic digestion liquor for aerobic treatment. *Journal of Environmental Management*, 274, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.111189>
- Durán, U., Coronado, K. G., Meza, E. R., Ulloa, G., & Serrano, D. (2018). Two combined mechanisms responsible to hexavalent chromium removal on active anaerobic granular consortium. *Chemosphere*, 198, 191–197. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.01.024>
- Fernández, M., & García, P. (2006). Advanced Biological Treatment Processes for Industrial Wastewaters. *Application of Biological Treatment Systems for Sulfate-Rich Wastewaters*, 213–217. http://scioteca.caf.com/bitstream/handle/123456789/1091/RED2017-Eng-8ene.pdf?sequence=12&isAllowed=y%0Ahttp://dx.doi.org/10.1016/j.regsciurbeco.2008.06.005%0Ahttps://www.researchgate.net/publication/305320484_SISTEM_PEMBETU_NGAN_TERPUSAT_STRATEGI_MELESTARI
- Garzón, P., Ochoa-Herrera, V. de L., & Peñafiel, R. (2015). Estudio de la generación de gas metano a partir del agua residual del proceso de extracción de aceite crudo de palma en biodigestores experimentales. *ACI Avances En Ciencias e Ingenierías*, 7(2). <https://doi.org/10.18272/aci.v7i2.274>
- Gerardi, M. (2003). *The Microbiology of Anaerobic Digesters*.
- Gerardi, M. (2016). Toxicity. In *Wastewater Bacteria* (pp. 4334-). <https://doi.org/10.1109/TLA.2016.7786313>
- Gigi, G., & Merly, R. (2022). Biogás a apartir de banano de rechazo maduro (Cavendish Valery) en un reactor anaerobico de mezcla completa CSTR en flujo continuo. In

- Universidad de Guayaquil. <https://repositorio.ug.edu.ec/items/fae1067d-2e26-43b7-9bb9-eac74d3c2ff8>
- Gomes, C. S., Repke, J. U., & Meyer, M. (2020). Investigation of different pre-treatments of chromium leather shavings to improve biogas production. *Journal of Leather Science and Engineering*, 2(1). <https://doi.org/10.1186/s42825-020-00028-x>
- Gonde, L., Wickham, T., Brink, H., & Nicol, W. (2023). pH-Based Control of Anaerobic Digestion to Maximise Ammonium Production in Liquid Digestate. *Water*, 15(3). <https://doi.org/10.3390/w15030417>
- Gunjal, A., Patil, N., & Shinde, S. (2020). Hemicellulase in Degradation of Lignocellulosic Wastes. In *Enzymes in Degradation of the Lignocellulosic Wastes* (pp. 41–51). https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-3-030-44671-0_3 41
- HANNA Instruments. (2019). *Instruction manual HI83399 Multiparameter Photometer COD*.
- Ho, Q. N., Anam, G., Kim, J., Park, S., Lee, T., Jeon, J., Choi, Y., Ahn, Y., & Lee, B. J. (2023). Fate of Sulfate in Municipal Wastewater Treatment Plants and Its Effect on Sludge Recycling as a Fuel Source. *Sustainability*, 1–14.
- Hussain, A., & Dubey, S. (2014). Specific methanogenic activity test for anaerobic treatment of phenolic wastewater. *Desalination and Water Treatment*, 52(37–39), 7015–7025. <https://doi.org/10.1080/19443994.2013.823116>
- Hussain, A., & Dubey, S. K. (2017). Specific methanogenic activity test for anaerobic degradation of influents. *Applied Water Science*, 7(2), 535–542. <https://doi.org/10.1007/s13201-015-0305-z>
- INEN. (2014). *CALIDAD DEL AGUA. MUESTREO. PARTE 1: GUÍA PARA EL DISEÑO DE LOS PROGRAMAS DE MUESTREO Y TÉCNICAS DE MUESTREO (ISO 5667-1:2006, IDT)*. Servicio Ecuatoriano de Normalización INEN.
- Issah, A., & Kabera, T. (2020). *Impact of volatile fatty acids to alkalinity ratio and volatile solids on biogas production under thermophilic conditions*. 1–8. <https://doi.org/10.1177/0734242X20957395>
- Jameel, M. K., Mustafa, M. A., Ahmed, H. S., Mohammed, A. jassim, Ghazy, H., Shakir, M. N., Lawas, A. M., Mohammed, S. khudhur, Idan, A. H., Mahmoud, Z. H., Sayadi, H., & Kianfar, E. (2024). Biogas: Production, properties, applications, economic and challenges: A review. *Results in Chemistry*, 7(May), 101549. <https://doi.org/10.1016/j.rechem.2024.101549>
- Jeppu, G. P., Janardhan, J., Kaup, S., Janardhanan, A., Mohammed, S., & Acharya, S. (2022). Effect of feed slurry dilution and total solids on specific biogas production by anaerobic

- digestion in batch and semi-batch reactors. *Journal of Material Cycles and Waste Management*, 24(1), 97–110. <https://doi.org/10.1007/s10163-021-01298-1>
- Jiang, X., Bi, D., Cheng, Y., Wang, S., Peng, B., Shen, H., Zhang, T., Xia, X., Shen, Z., & Zhang, Y. (2023). Enzyme pretreatments for anaerobic co-digestion of food waste blended with bioplastics: Effects on methane production and microbial community structure. *New Journal of Chemistry*, 47. <https://doi.org/10.1039/D3NJ02505E>
- Jiang, X., Lyu, Q., Bi, L., Liu, Y., Xie, Y., Ji, G., Huan, C., Xu, L., & Yan, Z. (2022). Improvement of sewage sludge anaerobic digestion through synergistic effect combined trace elements enhancer with enzyme pretreatment and microbial community response. *Chemosphere*, 286(P1), 131356. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131356>
- Karimirad, R., Luo, L., & Wong, J. W. C. (2024). Enhancing methane production in anaerobic co - digestion of food wastes and sewage sludge : roles of different types of iron amendments. *Waste Disposal & Sustainable Energy*, 6(4), 553–564. <https://doi.org/10.1007/s42768-024-00207-0>
- Kobe, J., Shafiq, M., Alkarimiah, R., Yaser, A., Shukor, H., & Zaini, M. (2023). Overview of Sludge in Waste Treatment Plant. In *Microbial Fuel Cell (MFC) Applications for Sludge Valorization* (pp. 1–19). <https://doi.org/10.1007/978-981-99-1083-0>
- Kong, T., & Zhang, W. (2023). Enhanced Anaerobic Digestion Using Conductive Materials through Mediation of Direct Microbial Interspecies Electron Transfer: A Review. *Fermentation*, 9(10). <https://doi.org/10.3390/fermentation9100884>
- Kong, Z., Wu, J., Rong, C., Wang, T., Li, L., Luo, Z., Ji, J., Hanaoka, T., Sakemi, S., Ito, M., Kobayashi, S., Kobayashi, M., Qin, Y., & Li, Y. (2020). Science of the Total Environment Sludge yield and degradation of suspended solids by a large pilot-scale anaerobic membrane bioreactor for the treatment of real municipal wastewater at 25 ° C. *Science of the Total Environment*. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143526>
- Korbag, I., Saleh, S., Boghazala, H., & Aboubakr, A. (2021). Recent Advances of Biogas Production and Future Perspective. In *Biogas Recent Advances and Integrated Approaches* Edited (pp. 1–27). <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.87961>
- Korres, N., & Nizami, A. (2013). Variation in anaerobic digestion: need for process monitoring NICHOLAS. In *Bioenergy Anaerobic by Digestion and wastes: Using agricultural biomass and organic wastes* (pp. 194–215). https://books.google.com.my/books/about/Bioenergy_Production_by_Anaerobic_Digest.html?id=zpniXwAACAAJ&redir_esc=y

- Kwiatkowska, A. C., & Nosek, D. (2020). Biological release of phosphorus is more efficient from activated than from aerobic granular sludge. *Scientific Reports*, 1–7. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-67896-5>
- Lee, J. (2020). *Anaerobic Digestion Enhancement: Impact on the Volatile Solids Reduction and Biogas Production Within Municipal Anaerobic Digestion Systems Via Routine Bioaugmentation with a Biocatalytic Microbial and Enzyme Consortium*.
- Li, Y., Alaimo, C. P., Kim, M., Kado, N. Y., Peppers, J., Xue, J., Wan, C., Green, P. G., Zhang, R., Jenkins, B. M., Vogel, C. F. A., Wuertz, S., Young, T. M., & Kleeman, M. J. (2019). Composition and Toxicity of Biogas Produced from Different Feedstocks in California [Research-article]. *Environmental Science and Technology*, 53, 11569–11579. <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b03003>
- Liew, Y. X., Chan, Y. J., Manickam, S., Chong, M. F., Chong, S., Tiong, T. J., Lim, J. W., & Pan, G. T. (2020). Enzymatic pretreatment to enhance anaerobic bioconversion of high strength wastewater to biogas: A review. *Science of the Total Environment*, 713, 136373. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.136373>
- Liu, C. C., Huang, C., Sun, X. Y., Li, R., Li, J., Shen, J., Han, W., & Wang, L. (2017). The effect of Mg²⁺ on digestion performance and microbial community structures in sludge digestion systems. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(21), 17474–17484. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9320-y>
- Liu, X., Xie, Y., & Sheng, H. (2023a). Green waste characteristics and sustainable recycling options. *Resources, Environment and Sustainability*, 11, 100098. <https://doi.org/10.1016/j.resenv.2022.100098>
- Liu, X., Xie, Y., & Sheng, H. (2023b). Resources , Environment and Sustainability Green waste characteristics and sustainable recycling options. *Resources, Environment and Sustainability*, 11, 100098. <https://doi.org/10.1016/j.resenv.2022.100098>
- López, C., Menéndez, C., & Fall, C. (2019). *Métodos experimentales para el tratamiento de aguas residuales*. <https://doi.org/10.2166/9781780409252>
- Lu, Y., Zhang, Q., Wang, X., Zhou, X., & Zhu, J. (2020). Effect of pH on volatile fatty acid production from anaerobic digestion of potato peel waste. *Bioresource Technology*, 316(123851), 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123851>
- Ma, W., Xin, H., Zhong, D., Qian, F., Han, H., & Yuan, Y. (2015). Effects of different states of Fe on Anaerobic Digestion: A review. *Journal of Harbin Institute of Technology*, 22(6). <https://doi.org/10.11916/j.issn.1005-9113.2015.06.010>
- Madden, P., Al-raei, A. M., Enright, A. M., Chinalia, F. A., & Beer, D. De. (2014). Effect of

- sulfate on low-temperature anaerobic digestion. *Frontiers in Microbiology*, 5(376), 1–15. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00376>
- Madondo, N. I., Tetteh, E., Rathilal, S., & Bakare, B. (2022). Effect of an Electromagnetic Field on Anaerobic Digestion: Comparing an Electromagnetic System (ES), a Microbial Electrolysis System (MEC), and a Control with No External Force. *Molecules*, 27(11), 2–17. <https://doi.org/10.3390/molecules27113372>
- Mariani, R. (2018). A current review on the application of enzymes in anaerobic digestion. In *Anaerobic Digestion Processes Applications and Effluent Treatment* (pp. 55–76). https://doi.org/10.1007/978-981-10-8129-3_1
- Martínez, M. E., Restovic, F., Urrego, F., Fuentes, D., & Ramos, C. (2025). Evaluation of enzymatic pretreatment strategies to enhance anaerobic digestion of tomato waste. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 1–13. <https://doi.org/10.1002/bbb.2767>
- Meghari, A., & Omar, R. K. (2017). Physicochemical Characterization of Sewage Sludge of Gaza Wastewater Treatment Plant for Agricultural Utilization. *IUG Journal of Natural Studies*, 25(2), 72–78.
- Mothe, S., & Polisetty, V. (2020). Review on anaerobic digestion of rice straw for biogas production. *Environmental Science and Pollution Research*, 1–14. <https://doi.org/10.26555/chemica.v3i1.4308>
- Moura, E., Machado, V., Hocevar, L., Pereira, J. dos S., Torres, F., & Alves, C. (2024). Characterization of Sludge for Biogas Production Using Anaerobic Digestion: A Literature Review Approach. *Journal of Bioengineering Technologies and Health*, 80–85. <https://doi.org/10.34178/jbth.v7i1.372>
- Mu, L., Zhang, L., Zhu, K., Ma, J., Ifran, M., & Li, A. (2019). Anaerobic co-digestion of sewage sludge, food waste and yard waste: Synergistic enhancement on process stability and biogas production. *Science of the Total Environment*, 135429. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135429>
- Mudhoo, A., & Kumar, S. (2013). Effects of heavy metals as stress factors on anaerobic digestion processes and biogas production from biomass. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 10(6), 1383–1398. <https://doi.org/10.1007/s13762-012-0167-y>
- Musa, M. A., Idrus, S., Hasfalina, C. M., & Daud, N. N. N. (2018). Effect of organic loading rate on anaerobic digestion performance of mesophilic (UASB) reactor using cattle slaughterhouse wastewater as substrate. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15(10). <https://doi.org/10.3390/ijerph15102220>

- Nabaterega, R., Kumar, V., Khoei, S., & Eskicioglu, C. (2021). A review on two-stage anaerobic digestion options for optimizing municipal wastewater sludge treatment process. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9, 2–19. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.105502>
- Nair, L., Agrawal, R., & Verma, P. (2023). The role of microbes and enzymes for bioelectricity generation: a belief to- ward global sustainability. In *Biotechnology of Microbial Enzymes* (pp. 1051–1076). <https://doi.org/10.1016/c2021-0-03359-9>
- Nair, S., Suresh, A., & Jayanthi, A. (2018). Current Advancements, Prospects and Challenges in Biomethanation. *Recent Advancements in Biofuels and Bioenergy Utilization*, 125–140.
- Netshivhumbe, R., Faloye, F., Tolessa, A., Görgens, J., & Goosen, N. (2024). Anaerobic Co - Digestion of Fish Sludge Originating from a Recirculating Aquaculture System. *Waste and Biomass Valorization*, 15, 1–17. <https://doi.org/10.1007/s12649-024-02569-2>
- Nugraha, W. D., Wafiroh, H., Syafrudin, Junaidi, Budihardjo, M. A., & Safitri, R. P. (2021). The effect of amylase and cellulase enzymes on biogas production from rice husk waste using solid-state anaerobic digestion (SS-AD) method. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 623(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/623/1/012018>
- Photiou, P., & Vyrides, I. (2021). Recovery of phosphate from dewatered anaerobic sludge and wastewater by thermally treated P. oceanica residues and its potential application as a fertilizer. *Journal of Environmental Management*.
- Polizzi, C., Alatrisme, F., & Munz, G. (2018). The role of organic load and ammonia inhibition in anaerobic digestion of tannery fleshing. *Water Resources and Industry*, 19, 25–34. <https://doi.org/10.1016/j.wri.2017.12.001>
- Rathore, T. (2023). Emerging Microbial Enzymes for Future Industrialization. In *Microbial products for future industrialization* (pp. 130–139). https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-981-99-1737-2_7
- Rocamora, I., Wagland, S., Villa, R., Simpson, E., Fernández, O., & Bajón-Fernández, Y. (2020). Dry anaerobic digestion of organic waste: A review of operational parameters and their impact on process performance. *Bioresource Technology*, 299(122681), 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122681>
- Romero-Güiza, M. S., Mata-Alvarez, J., Chimenos, J. M., & Astals, S. (2016). The effect of magnesium as activator and inhibitor of anaerobic digestion. *Waste Management*, 56, 137–142. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2016.06.037>
- Romero, L., Álvarez, C., & Fernández, L. (2021). *Anaerobic Co-Digestion of Lignocellulosic Waste*. <https://doi.org/10.3390/books978-3-0365-1143-6>

- Rorat, A., Courtois, P., Vandenbulcke, F., & Lemiére, S. (2019). Sanitary and environmental aspects of sewage sludge management. In *Industrial and Municipal Sludge: Emerging Concerns and Scope for Resource Recovery* (pp. 155–180). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815907-1.00008-8>
- Saltos, F. (2023). *Propuesta para el aprovechamiento energético de lodos de la planta de tratamiento de aguas residuales del cantón Naranjito*.
- Sánchez, S., Gonçalves, F., Jiménez, J., Mier-Alba, E., Kumar, A., dos Santos, J., Balagurusamy, N., da Silva, S., & Chandel, A. (2020). Technological routes for biogas production: Current status and future perspectives. In *Biogas Production* (pp. 3–13). https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-3-030-58827-4_1
- Shen, R., Jing, Y., Feng, J., Zhao, L., Yao, Z., Yu, J., Chen, J., & Chen, R. (2021). Simultaneous carbon dioxide reduction and enhancement of methane production in biogas via anaerobic digestion of cornstalk in continuous stirred-tank reactors: The influences of biochar, environmental parameters, and microorganisms. *Bioresource Technology*, 319(12), 2–9. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124146>
- Singh, P., Singh, Y., Singh, S., Raha, P., Singh, H., & Singh, S. (2023). Physio-chemical characterization of sewage sludge generated from sewage treatment plant at Varanasi , in relation to nutrients and heavy metals for agriculture use. *Ecology, Environment and Conservation*, 40(25), 306–312. <https://doi.org/http://doi.org/10.53550/EEC.2023.v29i02s.050> Physio-chemical
- Speda, J., Johansson, M. A., Odnell, A., & Karlsson, M. (2017). Enhanced biomethane production rate and yield from lignocellulosic ensiled forage ley by in situ anaerobic digestion treatment with endogenous cellulolytic enzymes. *Biotechnology for Biofuels*, 10(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/s13068-017-0814-0>
- Sürmeli, R. Ö., Bayrakdar, A., Molaey, R., & Çalli, B. (2017). Synergistic Effect of Sulfide and Ammonia on Anaerobic Digestion of Chicken Manure. *Waste and Biomass Valorization*. <https://doi.org/10.1007/s12649-017-0090-z>
- Takashima, M., & Yaguchi, J. (2021). High-solids thermophilic anaerobic digestion of sewage sludge: effect of ammonia concentration. *Journal of Material Cycles and Waste Management*, 23(1), 205–213. <https://doi.org/10.1007/s10163-020-01117-z>
- Tawfik, A., Eraky, M., Osman, A. I., Ai, P., Zhou, Z., Meng, F., & Rooney, D. W. (2023). Bioenergy production from chicken manure: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 21(5), 2707–2727. <https://doi.org/10.1007/s10311-023-01618-x>
- Thermo Fisher Scientific. (2012). *Manual de instrucciones medidores de sobremesa*

accumet® Basic (AB) de Fisher Scientific.

- Theuerl, S., Klang, J., & Prochnow, A. (2020). Process Disturbances in Agricultural Biogas Production—Causes, Mechanisms and Effects on the Biogas Microbiome: A Review. In *Biogas: From waste to fuel* (pp. 8–14).
- Tiaret, A. A., Matsumura, M., Hidaka, T., Nishimura, F., Nomura, Y., & Fujiwara, T. (2025). Effect of oxidation reduction potential on methane emission from anaerobic septic systems. *Waste Management Bulletin*, 3(1), 58–65. <https://doi.org/10.1016/j.wmb.2024.12.003>
- Tongco, J. V., Kim, S., Oh, B. R., Heo, S. Y., Lee, J., & Hwang, S. (2020). Enhancement of Hydrolysis and Biogas Production of Primary Sludge by Use of Mixtures of Protease and Lipase. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 25(1), 132–140. <https://doi.org/10.1007/s12257-019-0302-4>
- Udeh, B. (2020). Economic Evaluation Studies. *Chest*, 158(1), S88–S96. <https://doi.org/10.1016/j.chest.2020.03.008>
- Vaiopoulou, E., & Gikas, P. (2012). Effects of chromium on activated sludge and on the performance of wastewater treatment plants: A review. *Water Research*, 46(3), 549–570. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.11.024>
- Volschan, I., de Almeida, R., & Cammarota, M. C. (2021). A review of sludge pretreatment methods and co-digestion to boost biogas production and energy self-sufficiency in wastewater treatment plants. *Journal of Water Process Engineering*, 40(June), 101857. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101857>
- Wang, H., Zhang, W., Xing, W., & Li, R. (2025). Review on Mechanisms of Iron Accelerants and Their Effects on Anaerobic Digestion. *Agriculture*, 15(728).
- Wang, M., Wang, Y., Peng, J., Wang, L., Yang, J., Kou, X., Chai, B., Gao, L., & Han, X. (2023). A comparative study on Mesophilic and thermophilic anaerobic digestion of different total solid content sludges produced in a long sludge-retention-time system. *Results in Engineering*, 19(13), 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.rineng.2023.101228>
- Wellinger, A., Murphy, J., & Baxter, D. (2013). The Biogas Handbook: Science, Production and Applications. In *The Biogas Handbook: Science, Production and Applications*. <https://doi.org/10.1533/9780857097415>
- Wołojko, E., Wydro, U., Szaja, A., Montusiewicz, A., & Lebińska, M. (2025). Enzymatic Activity in the Anaerobic Co-Digestion of Cavitated Coffee Waste and Sewage Sludge. *Energies*, 18(1). <https://doi.org/10.3390/en18010187>
- Xie, J., Xu, J., Zhu, J., Zhu, C., He, R., Wnag, W., & Xie, L. (2022). Roles of Fe-C amendment

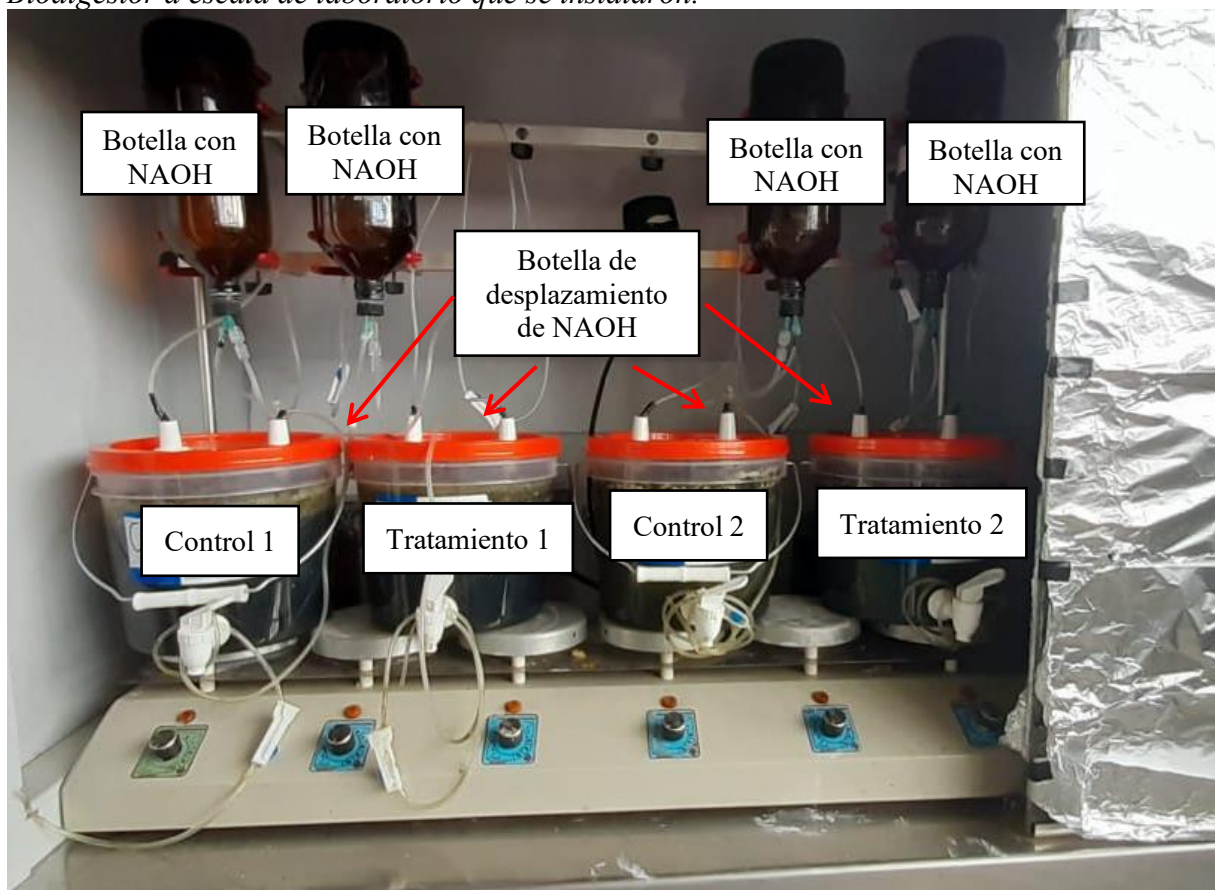
- on sulfate-containing pharmaceutical wastewater anaerobic treatment: microbial community and sulfur metabolism. *Science of the Total Environment*. file:///C:/Users/Getch/Desktop/New Thesis Documents/Updated theis documents_2024/Seminar Journals and research journals/9. Estimation of Calcium Contents and its Bioaccessibility in different calcium tablets.pdf
- Xu, Q., Li, X., Ding, R., Wang, D., Liu, Y., Wang, Q., Zhao, J., Chen, F., Zeng, G., Yang, Q., & Li, H. (2017). Understanding and mitigating the toxicity of cadmium to the anaerobic fermentation of waste activated sludge. *Water Research*. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.07.067>
- Yan, S. B., Subramanian, S., Tyagi, R. D., & Surampalli, R. Y. (2009). Wastewater Sludge Characteristics. In *Sustainable Sludge Management* (pp. 6–26).
- Yang, H., & Deng, L. (2020). Bioresource Technology Using air instead of biogas for mixing and its effect on anaerobic digestion of animal wastewater with high suspended solids. *Bioresource Technology*, 318(124047), 2–8. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124047>
- Yang, J., Zhang, J., Du, X., Gao, T., Cheng, Z., Fu, W., & Wang, S. (2024). Ammonia inhibition in anaerobic digestion of organic waste: a review. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 0123456789. <https://doi.org/10.1007/s13762-024-06029-1>
- Yin, Q., Wu, G., & Wang, Z. (2024). Anaerobic Digestion Under Environmentally Stressed Conditions. In *Anaerobic digestion fundamentals, Modelling, and Applications* (pp. 17–34). https://doi.org/10.1007/978-1-4471-2369-9_3
- Zamri, M. F. M. A., Hasmady, S., Akhiar, A., Ideris, F., Shamsuddin, A. H., Mofijur, M., Fattah, I. M. R., & Mahlia, T. M. I. (2021). A comprehensive review on anaerobic digestion of organic fraction of municipal solid waste. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 137(November 2020), 110637. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2020.110637>
- Zan, F., & Hao, T. (2019). Sulfate in anaerobic co-digester accelerates methane production from food waste and waste activated sludge. *Bioresource Technology*, 1–38. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122536>
- Zhang, B., Tang, X., Xu, Q., Fan, C., Gao, Y., Li, S., Wang, M., & Li, C. (2024). Anionic polyacrylamide alleviates cadmium inhibition on anaerobic digestion of waste activated sludge. *Environmental Science and Ecotechnology*, 17, 100306. <https://doi.org/10.1016/j.esec.2023.100306>
- Zheng, X., Yuan, D., Li, Y., & Liu, C. (2019). Exploration of the reduction mechanism of

Cr(VI) in anaerobic hydrogen fermenter. *Environmental Pollution*, 254, 113042.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113042>

ANEXOS

Anexo 1.

Biodigestor a escala de laboratorio que se instalaron.



Nota: Los biodigestores se colocaron en la Sorbona para liberar el gas producido, evitando cualquier acumulación dentro del laboratorio, igualmente se taparon las ventanas de la Sorbona para evitar el contacto de la luz, dando con los reactores tratando de mantener estrictamente condiciones anaeróbicas.

Anexo 2.

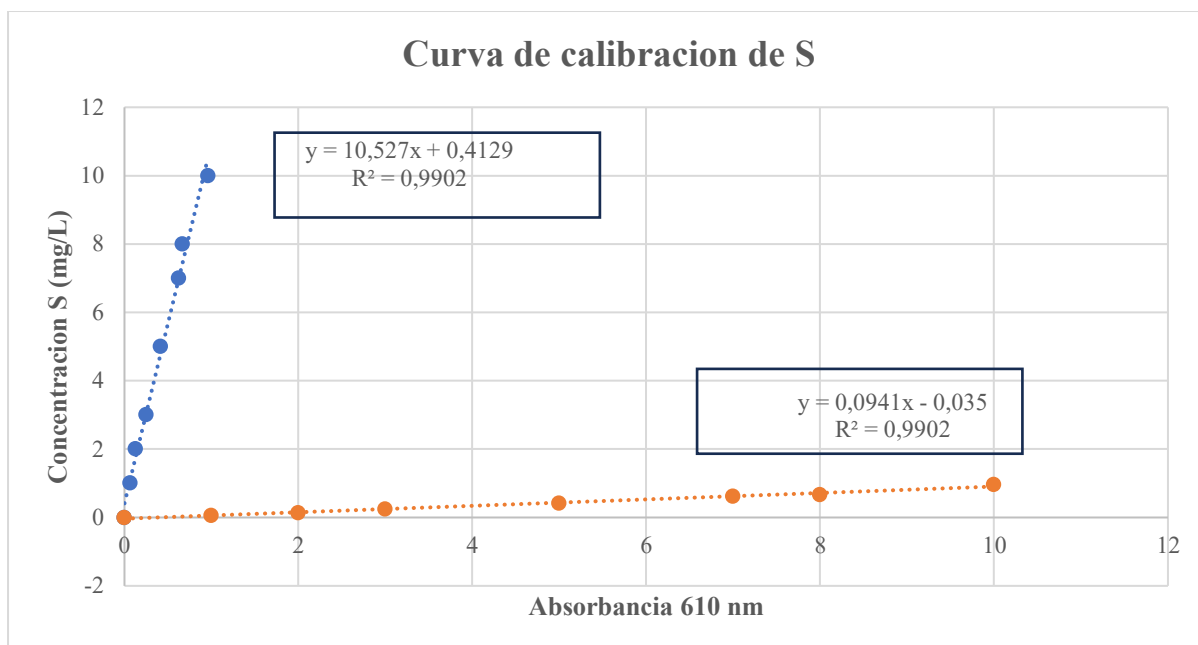
Sistema para los ensayos de Actividad Metanogénica Específica que se instalaron



Nota: Los ensayos para la Actividad metanogénica específica se colocaron en una incubadora, con el objetivo de mantener las condiciones controladas como temperatura y presión, evitando cualquier alteración del medio hacia los ensayos.

Anexo 3.

Curva de calibración de sulfuro.



Anexo 4.

Análisis de la varianza (ANOVA) del ensayo AME para evaluar el efecto de los tratamientos (enzimas) sobre la producción de metano.

Fuente de variación	Suma de Cuadrados (SC)	Grados de Libertad (gl)	Cuadrado Medio (CM)	Valor F	p-valor
Tratamiento	0,0015	3	0,00052	8,87	0,0006
Error	0,0012	20	0,000058		
Total	0,0027	23			

Anexo 5.

Prueba de Tukey aplicada al ensayo de actividad metanogénica específica.

Tratamiento	Medias	n	E.E			
EM-1	0,02	6	0,0041	A		
Biomog	0,02	6	0,0039	A	B	
Efibact	0,01	6	0,0025		B	C
Control	0,00058	6	0,00017			C

Anexo 6.

Análisis de la varianza (ANOVA) de DQO para los efectos de los tratamientos y semana (semana 3-5)

Fuente de variación	Suma de Cuadrados (SC)	Grados de Libertad (gl)	Cuadrado Medio (CM)	Valor F	p-valor
Tratamientos	9475333,33	3	3157777,80	0,20	0,8941
Semana	18202038,89	2	9101019,44	5,83	0,0073

Fuente de variación	Suma de Cuadrados (SC)	Grados de Libertad (gl)	Cuadrado Medio (CM)	Valor F	p-valor
Error	46870516,67	30	1562350,56		
Total	66019888,89	35			

Anexo 7.

Prueba de Fisher de DQO para el efecto de las semanas (semana 3-5).

Semana	Medias	n	E.E.		
5	11756,67	12	360,83	A	
4	11184,17	12	360,83	A	
3	10045,83	12	360,83		B

Anexo 8.

Análisis de la varianza (ANOVA) de sólidos totales para los efectos de los tratamientos y semana (semana 3-5)

Fuente de variación	Suma de Cuadrados (SC)	Grados de Libertad (gl)	Cuadrado Medio (CM)	Valor F	p-valor
Tratamientos	16,84	3	5,61	1,04	0,3890
Semana	14,83	2	7,42	1,37	0,2685
Error	16	30	5,40		
Total	193,60	35			

Anexo 9.

Análisis de la varianza (ANOVA) de sólidos suspendidos totales para los efectos efecto de los tratamientos y semana (semana 3-5)

Fuente de variación	Suma de Cuadrados (SC)	Grados de Libertad (gl)	Cuadrado Medio (CM)	Valor F	p-valor
Tratamientos	0,38	3	0,13	0,49	0,6896
Semana	2,87	2	1,44	5,65	0,0083
Error	7,62	30	0,25		
Total	10,87	35			

Anexo 10.

Prueba de Fisher de sólidos suspendidos totales para el efecto de las semanas (semana 3-5).

Semana	Medias	n	EE		
3	1,74	12	0,15	A	

Semana	Medias	n	EE	A	B
5	1,35	12	0,15	A	B
4	1,05	12	0,15		B

Anexo 11.

Análisis de la varianza (ANOVA) de sólidos volátiles para los efectos de los tratamientos y semana (semana 3-5)

Fuente de variación	Suma de Cuadrados (SC)	Grados de Libertad (gl)	Cuadrado Medio (CM)	Valor F	p-valor
Tratamientos	50,33	3	16,79	2,97	0,0474
Semana	1,52	2	0,76	0,13	0,8750
Error	169,49	30	5,65		
Total	221,38	35			

Anexo 12.

Prueba de Fisher de sólidos volátiles para el efecto de los tratamientos (semana 3-5).

Tratamientos	Medias	n	EE	A	B
Control 1	7,75	9	0,79	A	
Tratamiento 1	5,72	9	0,79	A	B
Tratamiento 2	5,17	9	0,79		B
Control 2	4,62	9	0,79		B

Anexo 13.

Análisis de la varianza (ANOVA) de sulfuro para los efectos de los tratamientos y semana (semana 3-5)

Fuente de variación	Suma de Cuadrados (SC)	Grados de Libertad (gl)	Cuadrado Medio (CM)	Valor F	p-valor
Tratamientos	589,03	3	196,34	6,13	0,0022
Semana	3327,27	2	1663,63	51,96	<0,0001
Error	960,48	30	32,02		
Total	4876,79	35			

Anexo 14.

Prueba de Fisher de sulfuro para el efecto de los Tratamientos (semana 3-5).

Tratamientos	Medias	n	EE	
Tratamiento 2	42,90	9	1,89	A
Control 1	36,68	9	1,89	B
Control 2	33,89	9	1,89	B
Tratamiento 1	32,31	9	1,89	B

Anexo 15.

Prueba de Fisher de sulfuro para el efecto de las semanas (semana 3-5).

Semana	Medias	n	EE	
5	49,61	12	1,63	A
4	32,82	12	1,63	B
3	26,91	12	1,63	C

Anexo 16.

Análisis de la varianza (ANOVA) de sulfato para los efectos de los tratamientos y semana (semana 3-5)

Fuente de variación	Suma de Cuadrados (SC)	Grados de Libertad (gl)	Cuadrado Medio (CM)	Valor F	p-valor
Tratamientos	2544,44	3	848,15	1,98	0,1379
Semana	37005,56	2	18502,78	43,23	<0,0001
Error	12838,89	30	427,96		
Total	52388,89	35			

Anexo 17.

Prueba de Fisher de sulfato para el efecto de los Tratamientos (semana 3-5).

Tratamientos	Medias	n	EE	
Tratamiento 1	120,00	9	6,90	A
Tratamiento 2	112,22	9	6,90	A B
Control 1	108,89	9	6,90	A B
Control 2	96,67	9	6,90	B

Anexo 18.

Prueba de Fisher de sulfato para el efecto de las semanas (semana 3-5).

Semana	Medios de comunicación	n	EE	
4	134,17	12	5,97	A
3	130,00	12	5,97	A
5	64,17	12	5,97	B

Anexo 19.

Análisis de la varianza (ANOVA) de fosfato para los efectos de los tratamientos y semana (semana 3-5)

Fuente de variación	Suma de Cuadrados (SC)	Grados de Libertad (gl)	Cuadrado Medio (CM)	Valor F	p-valor
Tratamientos	3851,19	3	1283,73	1,70	0,1877
Semana	286381,17	2	143190,58	189,85	<0,0001
Error	22626,39	30	754,21		
Total	312858,75	35			

Anexo 20.

Prueba de Fisher de fosfato para el efecto de las semanas (semana 3-5).

Semana	Medias	n	EE		
5	388,33	12	7,93	A	
4	272,42	12	7,93		B
3	170,00	12	7,93		C

Anexo 21.

Análisis de la varianza (ANOVA) de hierro para los efectos de los tratamientos y semana (semana 3-5).

Fuente de variación	Suma de Cuadrados (SC)	Grados de Libertad (gl)	Cuadrado Medio (CM)	Valor F	p-valor
Tratamientos	17,13	3	5,71	0,81	0,5007
Semana	166,86	2	83,43	11,77	0,0002
Error	212,63	30	7,09		
Total	396,62	35			

Anexo 22.

Análisis de la varianza (ANOVA) de hierro para los efectos de las semanas (semana 3-5).

Semana	Medias	n	EE		
5	8,75	12	0,77	A	
4	4,22	12	0,77		B
3	4,15	12	0,77		B

Anexo 23.

Análisis de la varianza (ANOVA) de magnesio para los efectos de los tratamientos y semana (semana 3-5).

Fuente de variación	Suma de Cuadrados (SC)	Grados de Libertad (gl)	Cuadrado Medio (CM)	Valor F	p-valor
Tratamientos	55519,44	3	18506,48	3,77	0,0207
Semana	15450,00	2	7725,00	1,58	0,2236
Error	147105,56	30	4903,52		
Total	218075,00	35			

Anexo 24.

Prueba de Fisher de magnesio para el efecto de los Tratamientos (semana 3-5).

Tratamientos	Medias	n	EE	
Control 2	292,22	9	23,34	A
Tratamiento 2	284,44	9	23,34	A
Tratamiento 1	211,11	9	23,34	B
Control 1	208,89	9	23,34	B

Anexo 25.

Análisis de la varianza (ANOVA) de amonio para los efectos de los tratamientos y semana (semana 3-5).

Fuente de variación	Suma de Cuadrados (SC)	Grados de Libertad (gl)	Cuadrado Medio (CM)	Valor F	p-valor
Tratamientos	39641,42	3	13213,81	4,50	0,0101
Semana	862,39	2	431,19	0,15	0,8640
Error	88025,83	30	2934,19		
Total	128529,64	35			

Anexo 26.

Prueba de Fisher de amonio para el efecto de los Tratamientos (semana 3-5).

Tratamientos	Medias	n	EE	
Control 2	380,00	9	18,06	A
Tratamiento 2	372,33	9	18,06	A

Tratamientos	Medias	n	EE		
Tratamiento 1	338,44	9	18,06	A	B
Control 1	296,00	9	18,06		B

Anexo 27.

Análisis de la varianza (ANOVA) de cromo total para los efectos de los tratamientos y semana (semana 3-5).

Fuente de variación	Suma de Cuadrados (SC)	Grados de Libertad (gl)	Cuadrado Medio (CM)	Valor F	p-valor
Tratamientos	204338,81	3	68112,94	4,92	0,0068
Semana	154618,07	2	77309,04	5,58	<0,0001
Error	415684,45	30	13856,15		
Total	774641,34	35			

Anexo 28.

Prueba de Fisher de cromo total para el efecto de los Tratamientos (semana 3-5).

Tratamientos	Medias	n	EE		
Control 1	615,14	9	39,24	A	
Control 2	534,64	9	39,24	A	B
Tratamiento 2	498,21	9	39,24		B C
Tratamiento 1	405,37	9	39,24		C

Anexo 29.

Prueba de Fisher de cromo total para el efecto de las semanas (semana 3-5).

Semana	Medios de	n	EE		
3	563,83	12	33,98	A	
5	555,41	12	33,98	A	
4	420,78	12	33,98		B

Anexo 30.

Análisis de la varianza (ANOVA) de cadmio para los efectos de los tratamientos y semana (semana 3-5).

Fuente de variación	Suma de Cuadrados (SC)	Grados de Libertad (gl)	Cuadrado Medio (CM)	Valor F	p-valor
Tratamientos	4324,23	3	1441,41	13,86	<0,0001

Fuente de variación	Suma de Cuadrados (SC)	Grados de Libertad (gl)	Cuadrado Medio (CM)	Valor F	p-valor
Semana	368,89	2	184,45	1,77	0,1872
Error	3120,90	30	104,03		
Total	7814,02	35			

Anexo 31.

Prueba de Fisher de cadmio para el efecto de los Tratamientos (semana 3-5).

Tratamientos	Medias	n	EE		
Control 1	55,40	9	3,40	A	
Tratamiento 2	40,98	9	3,40	B	
Tratamiento 1	28,94	9	3,40		C
Control 2	28,64	9	3,40		C

Anexo 32.

Análisis de la varianza (ANOVA) de DQO para los efectos de los tratamientos y semana (semana 6-12)

Fuente de variación	Suma de Cuadrados (SC)	Grados de Libertad (gl)	Cuadrado Medio (CM)	Valor F	p-valor
Tratamientos	490059375,00	3	163533125,00	21,32	<0,0001
Semana	258649047,62	6	43101747,60	5,63	0,0001
Error	566919666,67	74	7662049,55		
Total	1315700089,29	83			

Anexo 33.

Prueba de Fisher de DQO para el efecto de los tratamientos (semana 6-12).

Tratamientos	Medias	n	EE		
Tratamiento 2	152731,81	21	604,04	A	
Control 1	12002,38	21	604,04	B	
Tratamiento 1	9530,95	21	604,04		C
Control 2	9271,43	21	604,04		C

Anexo 34.

Prueba de Fisher de DQO para el efecto de las semanas (semana 6-12).

Semana	Medias	n	EE			
9	14329,17	12	7999,06	A		
8	12970,83	12	7999,06	A	B	
7	12450,00	12	7999,06	A	B	C
6	11650,00	12	7999,06		B	C D
10	10350,00	12	7999,06			C D E

Semana	Medias	n	EE	
11	10029,17	12	7999,06	D E
12	8858,33	12	7999,06	E

Anexo 35.

Análisis de la varianza (ANOVA) de sólidos totales para los efectos de los tratamientos y semana (semana 6-12)

Fuente de variación	Suma de Cuadrados (SC)	Grados de Libertad (gl)	Cuadrado Medio (CM)	Valor F	p-valor
Tratamientos	160,61	3	53,54	26,53	<0,0001
Semana	9,91	6	1,65	0,82	0,5591
Error	149,33	74	2,02		
Total	319,66	83			

Anexo 36.

Prueba de Fisher de sólidos totales para el efecto de los tratamientos (semana 6-12).

Tratamientos	Medias	n	EE	
Tratamiento 2	11,28	21	0,31	A
Tratamiento 1	9,20	21	0,31	B
Control 1	8,28	21	0,31	C
Control 2	7,60	21	0,31	C

Anexo 37.

Análisis de la varianza (ANOVA) de sólidos suspendidos totales para los efectos efecto de los tratamientos y semana (semana 6-12).

Fuente de variación	Suma de Cuadrados (SC)	Grados de Libertad (gl)	Cuadrado Medio (CM)	Valor F	p-valor
Tratamientos	23,08	3	7,69	283,75	<0,0001
Semana	0,75	6	0,12	4,61	0,0005
Error	2,01	74	0,03		
Total	25,84	83			

Anexo 38.

Prueba de Fisher de sólidos suspendidos totales para el efecto de los tratamientos (semana 6-12).

Tratamientos	Medias	n	EE	
Tratamiento 2	2,46	21	0,04	A

Tratamientos	Medias	n	EE	
Tratamiento 1	1,65	21	0,04	B
Control 1	1,25	21	0,04	C
Control 2	1,12	21	0,04	D

Anexo 39.

Prueba de Fisher de sólidos suspendidos totales para el efecto de las semanas (semana 6-12).

Semana	Medios de comunicación	n	EE	
8	1,75	12	0,05	A
6	1,73	12	0,05	A
7	1,65	12	0,05	A B
12	1,63	12	0,05	A B
11	1,59	12	0,05	B C
10	1,52	12	0,05	B C
9	1,47	12	0,05	C

Anexo 40.

Análisis de la varianza (ANOVA) de sólidos volátiles para los efectos de los tratamientos y semana (semana 6-12)

Fuente de variación	Suma de Cuadrados (SC)	Grados de Libertad (gl)	Cuadrado Medio (CM)	Valor F	p-valor
Tratamientos	65,41	3	21,80	10,79	<0,0001
Semana	17,96	6	2,99	1,48	0,1964
Error	149,57	74	2,02		
Total	232,94	83			

Anexo 41.

Prueba de Fisher de sólidos volátiles para el efecto de los tratamientos (semana 6-12).

Tratamientos	Medias	n	EE	
Tratamiento 2	6,22	21	0,31	A
Tratamiento 1	5,26	21	0,31	B
Control 1	4,59	21	0,31	B C
Control 2	3,82	21	0,31	C

Anexo 42.

Prueba de Fisher de sólidos volátiles para el efecto de las semanas (semana 6-12).

Semana	Medias	n	EE	
10	5,75	12	0,41	A
12	5,55	12	0,41	A
7	4,86	12	0,41	A B
8	4,77	12	0,41	A B
9	4,75	12	0,41	A B
6	4,52	12	0,41	B

Anexo 43.

Análisis de la varianza (ANOVA) de sulfuro para los efectos de los tratamientos y semana (semana 6-12)

Fuente de variación	Suma de Cuadrados (SC)	Grados de Libertad (gl)	Cuadrado Medio (CM)	Valor F	p-valor
Tratamientos	22607,79	3	7355,93	26,74	<0,0001
Semana	37271,23	6	6211,87	22,04	<0,0001
Error	20854,21	74	281,81		
Total	80733,23	83			

Anexo 44.

Prueba de Fisher de sulfuro para el efecto de los Tratamientos (semana 6-12)

Tratamientos	Medias	n	EE	
Tratamiento 2	96,94	21	3,66	A
Tratamiento 1	66,16	21	3,66	B
Control 1	63,07	21	3,66	B C
Control 2	53,02	21	3,66	C

Anexo 45.

Prueba de Fisher de sulfuro para el efecto de las semanas (semana 6-12).

Semana	Medias	n	EE	
11	10490,90	12	4,85	A
9	89,29	12	4,85	B
10	71,39	12	4,85	C
12	68,31	12	4,85	C D
7	65,41	12	4,85	C D
8	54,68	12	4,85	D
6	34,57	12	4,85	E

Anexo 46.

Análisis de la varianza (ANOVA) de sulfato para los efectos de los tratamientos y semana (semana 6-12)

Fuente de variación	Suma de Cuadrados (SC)	Grados de Libertad (gl)	Cuadrado Medio (CM)	Valor F	p-valor
Tratamientos	1489,29	3	496,43	1,75	0,1633
Semana	8330,95	6	1388,49	4,91	0,0003
Error	20935,71	74	282,92		
Total	30755,95	83			

Anexo 47.

Prueba de Fisher de sulfato para el efecto de los Tratamientos (semana 6-12).

Tratamientos	Medias	n	EE		
Tratamiento 1	34,76	21	3,67	A	
Tratamiento 2	28,57	21	3,67	A	B
Control 1	28,57	21	3,67	A	B
Control 2	22,86	21	3,67		B

Anexo 48.

Prueba de Fisher de sulfato para el efecto de las semanas (semana 6-12).

Semana	Medias	n	EE		
8	47,50	12	4,86	A	
9	34,17	12	4,86	A	B
12	34,17	12	4,86	A	B
6	26,67	12	4,86		B C
7	21,67	12	4,86		B C
10	20,83	12	4,86		B C
11	15,83	12	4,86		C

Anexo 49.

Análisis de la varianza (ANOVA) de fosfato para los efectos de los tratamientos y semana (semana 6-12)

Fuente de variación	Suma de Cuadrados (SC)	Grados de Libertad (gl)	Cuadrado Medio (CM)	Valor F	p-valor
Tratamientos	206419,05	3	68806,35	11,26	<0,0001
Semana	886200,00	6	147700,00	24,18	<0,0001
Error	452047,62	74	6108,75		
Total	1544666,67	83			

Anexo 50.

Prueba de Fisher de fosfato para el efecto de los tratamientos (semana 6-12).

Tratamientos	Medias	n	EE	
Tratamiento 2	449,05	21	17,06	A
Control 2	360,48	21	17,06	B
Tratamiento 1	335,71	21	17,06	B
Control 1	321,43	21	17,06	B

Anexo 51.

Prueba de Fisher de fosfato para el efecto de las semanas (semana 6-12).

Semana	Medias	n	EE	
7	585,83	12	22,56	A
8	408,33	12	22,56	B
6	379,17	12	22,56	B
9	360,83	12	22,56	B
11	282,50	12	22,56	C
10	275,00	12	22,56	C
12	275,00	12	22,56	C

Anexo 52.

Análisis de la varianza (ANOVA) de hierro para los efectos de los tratamientos y semana (semana 6-12).

Fuente de variación	Suma de Cuadrados (SC)	Grados de Libertad (gl)	Cuadrado Medio (CM)	Valor F	p-valor
Tratamiento	1025,84	3	341,95	33,40	<0
Semana	2078,58	6	346,43	33,84	<0,0001
Error	757,55	74	10,24		
Total	3861,97	83			

Anexo 53.

Prueba de Fisher de hierro para el efecto de los tratamientos (semana 6-12).

Tratamientos	Medias	n	EE	
Tratamiento 2	22,62	21	0,70	A
Tratamiento 1	20,27	21	0,70	B
Control 1	16,19	21	0,70	C
Control 2	13,62	21	0,70	D

Anexo 54.

Prueba de Fisher de hierro para el efecto de las semanas (semana 6-12).

Semana	Medias	n	EE	
10	22,88	12	0,92	A
12	21,98	12	0,92	A

Semana	Medias	n	EE		
11	21,58	12	0,92	A	
9	21,46	12	0,92	A	
8	17,96	12	0,92		B
6	11,71	12	0,92		C
7	9,67	12	0,92		C

Anexo 55.

Análisis de la varianza (ANOVA) de magnesio para los efectos de los tratamientos y semana (semana 6-12).

Fuente de variación	Suma de Cuadrados (SC)	Grados de Libertad (gl)	Cuadrado Medio (CM)	Valor F	p-valor
Tratamientos	291266,67	3	97088,89	105,84	<0,0001
Semana	3173,81	6	528,97	0,58	0,7477
Error	67883,33	74	917,34		
Total	362323,81	83			

Anexo 56.

Prueba de Fisher de magnesio para el efecto de los Tratamientos (semana 6-12).

Tratamientos	Medias	n	EE		
Tratamiento 2	280,95	21	6,61	A	
Tratamiento 1	249,05	21	6,61		B
Control 1	160,00	21	6,61		C
Control 2	140,48	21	6,61		D

Anexo 57.

Análisis de la varianza (ANOVA) de amonio para los efectos de los tratamientos y semana (semana 6-12).

Fuente de variación	Suma de Cuadrados (SC)	Grados de Libertad (gl)	Cuadrado Medio (CM)	Valor F	p-valor
Tratamientos	204816,13	3	68272,04	14,22	<0,0001
Semana	36843,57	6	6140,60	1,28	0,2774
Error	355259,29	74	4800,80		
Total	596918,99	83			

Anexo 58.

Prueba de Fisher de amonio para el efecto de los Tratamientos (semana 6-12).

Tratamientos	Medias	n	EE	
Tratamiento 2	420,14	21	15,12	A
Control 2	338,90	21	15,12	B
Tratamiento 1	304,48	21	15,12	B C
Control 1	294,52	21	15,12	C

Anexo 59.

Prueba de Fisher de amonio para el efecto de las semanas (semana 6-12).

Semana	Medias	n	EE	
6	362,58	12	20,00	A
9	357,92	12	20,00	A
11	355,67	12	20,00	A
10	339,00	12	20,00	A B
7	338,00	12	20,00	A B
12	325,67	12	20,00	A B
8	297,75	12	20,00	B

Anexo 60.

Análisis de la varianza (ANOVA) de cromo total para los efectos de los tratamientos y semana (semana 6-12).

Fuente de variación	Suma de Cuadrados (SC)	Grados de Libertad (gl)	Cuadrado Medio (CM)	Valor F	p-valor
Tratamientos	5679661,72	3	1893220,57	9,24	<0,0001
Semana	4013095,09	6	668489,18	3,26	0,0067
Error	15166262,36	74	204949,49		
Total	24859019,17	83			

Anexo 61.

Prueba de Fisher de cromo total para el efecto de los Tratamientos (semana 6-12).

Tratamientos	Medias	n	EE	
Control 2	1090,51	21	98,79	A
Control 1	948,85	21	98,79	A
Tratamiento 2	561,86	21	98,79	B
Tratamiento 1	465,92	21	98,79	B

Anexo 62.

Prueba de Fisher de cromo total para el efecto de las semanas (semana 6-12).

Semana	Medias	n	EE	
9	1034,16	12	130,69	A
7	1027,13	12	130,69	A

Semana	Medias	n	EE		
8	812,26	12	130,69	A	B
10	798,26	12	130,69	A	B
12	710,72	12	130,69	A	B C
11	631,20	12	130,69		B C
6	353,79	12	130,69		C

Anexo 63.

Análisis de la varianza (ANOVA) de cadmio para los efectos de los tratamientos y semana (semana 6-12).

Fuente de variación	Suma de Cuadrados (SC)	Grados de Libertad (gl)	Cuadrado Medio (CM)	Valor F	p-valor
Tratamientos	26755,63	3	8918,54	15,57	<0,0001
Semana	73601,19	6	12266,87	21,41	<0,0001
Error	42392,00	74	572,86		
Total	142748,82	83			

Anexo 64.

Prueba de Fisher de cadmio para el efecto de los Tratamientos (semana 6-12).

Tratamientos	Medias	n	EE	
Tratamiento 2	94,15	21	5,22	A
Tratamiento 1	67,24	21	5,22	B
Control 1	51,07	21	5,22	C
Control 2	49,94	21	5,22	C

Anexo 65.

Prueba de Fisher de cadmio para el efecto de las semanas (semana 6-12).

Semana	Medias	n	EE		
9	120,74	12	6,91	A	
11	88,95	12	6,91	B	
12	73,25	12	6,91	B	C
10	60,96	12	6,91	C	D
8	49,28	12	6,91		D E
7	39,26	12	6,91		E F
6	26,77	12	6,91		F

Anexo 66.

Resultados completos de los análisis semanales del licor de digestión de los biodigestores.

Semana	Reactor	pH	Conductividad (µs/cm)	ORP (mV)	DQO (mg/L)	ST (g/L)	SST (g/L)	SV (g/L)	Sulfuro (mg/L)
1	Control 1	7,3 2	4104	152.1	12806,67 ± 14.53	10,15 ± 0.08	2,98 ± 0.05	7,44 ± 1.1	21,82 ± 0.27
	Tratamiento 1	7.2	4794	140.8	11466,67 ± 3.33	10,80 ± 0.39	2,66 ± 0.43	8,01 ± 1.07	44,97 ± 2.16
	Control 2	7,1 4	5015	1514	12166,67 ± 21.86	11,04 ± 0.20	3,81 ± 0.33	6,62 ± 0.17	34,38 ± 0.19
	Tratamiento 2	7.0 2	5070	145.8	12096,67 ± 27.28	10,89 ± 0.78	1,31 ± 0.11	6,00 ± 0.11	27,96 ± 1.65
2	Control 1	6.7 5	4876	115.6	9300,00 ± 57.74	9300,00 ± 1.34	10,77 ± 0.006	2,45 ± 2.07	7,60 ± 0.007
	Tratamiento 1	6,8	5014	115,6	8883,33 ± 88.19	12,06 ± 1.48	1,62 ± 0.42	7,33 ± 0.48	25,43 ± 0.007
	Control 2	6,8 7	5137	100,4	9283,33 ± 120.19	10,11 ± 0.69	2,90 ± 0.27	7,07 ± 0.20	26,45 ± 0.11
	Tratamiento 2	6,6 5	5133	89,6	7250,00 ± 104.08	12,19 ± 0.98	1,38 ± 0.09	8,98 ± 1.06	24,83 ± 0.70
3	Control 1	5,4 9	5715	-53,3	12150,00 ± 152.75	10,71 ± 1.88	2,11 ± 0.32	7,58 ± 1.70	24,94 ± 0.19
	Tratamiento 1	5,3 8	5753	-7,4	9583,33 ± 88.19	8,19 ± 0.15	1,58 ± 0.59	4,73 ± 0.70	23,36 ± 0.23
	Control 2	5,4 3	5786	-10,4	10566,67 ± 72.65	9,58 ± 1.28	1,46 ± 0.16	5,19 ± 0.71	33,96 ± 0.13
	Tratamiento 2	5,7	5663	-123,8	7883,33 ± 258.74	10,03 ± 0.99	1,81 ± 0.43	6,64 ± 1.24	25,39 ± 1.48
4	Control 1	5,5 3	5742	-84,2	10003,33 ± 39.30	12,18 ± 1.64	0,81 ± 0.003	9,11 ± 1.93	38,55 ± 1.08
	Tratamiento 1	5,5 1	5760	-75,5	11793,33 ± 8.82	9,14 ± 1.25	1,20 ± 0.003	6,35 ± 2.17	25,71 ± 1.29

	Control 2	5,6	6006	-71,8	10066,67 ±38.44	13,32 ±0.87	1,11 ±0.13	3,71 ±1.12	24,80 ±0.73
	Tratamiento 2	5,7 7	6225	-124,7	12873,33 ±33.83	10,13 ±2.80	1,06 ±0.06	4,29 ±2.57	42,20 ±0.55
5	Control 1	5,7 6	5751	-127,3	11430,00 ±35,12	10,39 ±1,17	1,60 ±0.29	6,55 ±1.16	46,55 ±1.23
	Tratamiento 1	5,9 3	5856	-134,6	11846,67 ±12.02	10,41 ±0.48	1,51 ±0.26	6,08 ±0.21	47,85 ±1.72
	Control 2	5,8 3	6039	-123,7	11630,00 ±26.46	8,95 ±0.23	1,11 ±0.50	4,95 ±0.28	42,90 ±0.67
	Tratamiento 2	6,2 7	6005	-151,2	12120,00 ±15.28	11,40 ±0.68	1,19 ±0.07	4,58 ±0.63	61,12 ±0.58
6	Control 1	6,3	6462	-198,4	16400,00 ±144.34	9,38 ±0.55	1,64 ±0.002	5,27 ±0.56	43,75 ±4.63
	Tratamiento 1	6,5 7	6077	-234,5	8983,33 ±158.99	8,57 ±0.45	1,69 ±0.02	4,65 ±0.43	30,45 ±2.81
	Control 2	6,5 4	6227	-237,1	12316,67 ±218.58	8,08 ±0.22	1,20 ±0.0046	4,50 ±0.49	29,50 ±0.30
	Tratamiento 2	6,4 8	6780	-212,2	8900,00 ±104.08	8,88 ±0.27	2,39 ±0.01	2,86 ±0.22	34,59 ±0.56
7	Control 1	6,7 3	6226	-240,4	13866,67 ±164.15	9,41 ±0.23	1,35 ±0.001	5,38 ±0.002	50,20 ±0.31
	Tratamiento 1	6,5 7	6688	-206,8	7950,00 ±175.59	9,37 ±0.55	1,42 ±0.001	5,47 ±0.39	71,61 ±0.24
	Control 2	7,0 2	5731	-224,3	5666,67 ±109.29	8,24 ±0.04	1,12 ±0.001	4,34 ±0.005	41,36 ±0.19
	Tratamiento 2	6,9 8	6890	-283,4	22316,67 ±175.59	10,05 ±0.79	2,70 ±0.001	4,24 ±0.48	98,49 ±0.19

8	Control 1	6,2 9	6823	-225,6	13183, 33 ±120.1 9	7,84 ±0.48	1,19 ±0.002	4,43 ±0.71	44,16 ±1.56
	Tratament o 1	6,1 5	5783	-235,7	12766, 67 ±148.1 4	8,52 ±0.42	1,72 ±0.01	4,05 ±0.23	56,09 ±0.98
	Control 2	6,1 7	6207	-215,7	8116,6 7 ±120.1 9	7,65 ±0.36	1,32 ±0.01	3,60 ±0.27	47,14 ±1.15
	Tratament o 2	6,6 9	7306	-331,3	17816, 67 ±109.2 9	13,42 ±0.16	2,76 ±0.02	7,01 ±0.42	71,35 ±2.58
9	Control 1	6,3 7	6930	-223,3	12083, 33 ±33.33	8,01 ±0.22	1,25 ±0.001	4,03 ±0.36	85,91 ±1.69
	Tratament o 1	6,1 9	5750	-217,8	15150, 00 ±152.7 5	9,74 ±0.17	1,68 ±0.01	5,70 ±0.20	94,33 ±0.61
	Control 2	6,3 4	5795	-217,6	13050, 00 ±28.87	6,91 ±0.80	0,98 ±0.001	3,16 ±0.59	73,28 ±0.30
	Tratament o 2	6,7 1	7107	-313,6	17033, 33 ±220.4 8	13,93 ±0.68	1,98 ±0.01	6,09 ±1.27	103,63 ±1.67
10	Control 1	6,4 8	6331	-234,3	10116, 67 ±233.3 3	8,38 ±0.17	0,88 ±0.001	5,25 ±0.67	72,75 ±0.30
	Tratament o 1	6,2 6	5780	-235,1	9966,6 7 ±72.65	9,21 ±0.36	1,75 ±0.01	5,28 ±0.19	74,68 ±0.70
	Control 2	6,4 1	5730	-221,7	8900,0 0 ±180.2 8	8,36 ±0.34	0,89 ±0.001	4,50 ±0.31	59,24 ±0.76
	Tratament o 2	6,5	7740	-289,6	12416, 67 ±88.19	10,41 ±2.14	2,57 ±0.01	7,97 ±1.29	78,89 ±2.44
11	Control 1	6,4 1	5978	-231,9	10216, 67 ±174.0 1	6,96 ±0.58	1,22 ±0.01	3,28 ±0.44	94,51 ±2.58
	Tratament o 1	6,7 7	6001	-243,7	6533,3 3	9,23 ±0.88	1,56 ±0.02	5,60 ±0.84	64,33 ±1.22

					± 136.4 2				
	Control 2	6,6 8	5827	-244,6	8133,3 3 ± 164.1 5	7,07 ± 0.21	1,12 ± 0.003	3,21 ± 0.58	79,25 ± 1.15
	Tratamiento 2	6,2 9	7299	-281,8	15233, 33 ± 220.4 8	11,03 ± 0.78	2,45 ± 0.01	7,18 ± 0.91	181.53 ± 4.10
12	Control 1	6,6 3	6331	-225,6	8150,0 0 $\pm$ 57.74	8,01 $\pm$ 0.222	1,24 $\pm$ 0.02	4,46 $\pm$ 0.28	50,20 $\pm$ 0.31
	Tratamiento 1	7,0 7	5780	-235,7	5366,6 7 $\pm$ 44.10	9,74 $\pm$ 0.17	1,69 $\pm$ 0.02	6,10 $\pm$ 0.22	71,61 $\pm$ 0.24
	Control 2	7,0 2	5730	-215,7	8716,6 7 $\pm$ 101.38	6,91 $\pm$ 0.80	1,20 $\pm$ 0.0046	3,44 $\pm$ 0.70	41,36 $\pm$ 0.19
	Tratamiento 2	7,9 8	7740	-331,3	13200, 00 $\pm$ 1589.8 1	11,21 $\pm$ 1.32	2,39 $\pm$ 0.01	8,21 $\pm$ 1.63	110,07 ± 0.19

Anexo 67.

Resultados restantes de los análisis semanales del licor de digestión de los biodigestores (continuación).

Semana	Reactor	Sulfatos (mg/L)	Fosfatos (mg/L)	Hierro (m/L)	Magnesio (mg/L)	Amonio (g/L)	Cromo VI ($\mu g/L$)	Cromo ($\mu g/L$)	Cadmio ($\mu g/L$)
1	Control 1	103,33 $\pm$ 3.33	186,67 $\pm$ 3.33	16,67 $\pm$ 0.67	91,67 $\pm$ 1.67	489.33 $\pm$ 1.67	1846,67 ± 0.030	637,59 $\pm$ 0.0084	14,81 $\pm$ 0.0001
	Tratamiento 1	100,00 $\pm$ 5.77	223,33 $\pm$ 6.67	9,33 $\pm$ 0.88	110,00 $\pm$ 5.77	267.00 $\pm$ 3.46	900,00 $\pm$ 0.07	1225,23 ± 0.0757	24,43 $\pm$ 0.0015
	Control 2	96,67 $\pm$ 8.82	256,67 $\pm$ 3.33	7,67 $\pm$ 0.88	96,67 $\pm$ 6.67	268.33 $\pm$ 1.45	603,33 $\pm$ 0.13	1753,47 ± 0.0146	109,32 $\pm$ 0.0246
	Tratamiento 2	106,67 $\pm$ 18.56	210,00 $\pm$ 15.28	5,33 $\pm$ 2.60	86,67 $\pm$ 12.02	320.67 $\pm$ 2.19	686,67 $\pm$ 0.23	629,99 $\pm$ 0.0015	73,86 $\pm$ 0.0023

2	Control 1	126,67 ±8.82	183,33 ±3.33	3,47 ±0,003	366,67 ±33.33	402,67 ±1.67	0,00	376,18 ±0,0044	6,66 ± 0,0002
	Tratami ento 1	113,33 ±12.02	216,67 ±3.33	0,63 ±0.03	333,33 ±88.19	310,00 ±1.00	0,00	492,11 ± 0,0684	9,83 ± 0,0012
	Control 2	116,67 ±17.64	186,67 ±3.33	3,77 ±0.07	366,67 ±88.19	336,33 ±0.67	0,00	652,65 ± 0,0029	30,29 ± 0,0008
	Tratami ento 2	126,67 ±8.82	156,67 ±6.67	1,17±0.0 07	433,33 ±33.33	309,33 ±0.88	0,00	307,19 ± 0,0023	11,95 ± 0,0039
3	Control 1	136,67 ±6.67	180,00 ±11.55	2,87 ±0.12	280,00 ±10.00	302,67 ±1.45	0,00	705,36 ±0,0019	40,87 ± 0,0088
	Tratami ento 1	123,33 ±6.67	176,67 ±13.33	4,90 ±0.12	256,67 ±8.82	280,00 ±1.53	0,00	314,98 ± 0,0033	34,66 ± 0,0002
	Control 2	126,67 ±8.82	180,00 ±15.28	5,67 ±0.12	356,67 ±12.02	399,00 ±1.53	0,00	669,20 ± 0,1706	29,66 ± 0,0008
	Tratami ento 2	133,33 ±12.02	143,33± 8.82	3,17 ±0.09	213,33 ±8.82	383,67 ±1.20	0,00	469,78 ± 0,0023	31,87 ± 0,0001
4	Control 1	116,67 ±6.67	256,33 ±14.84	6,10 ±0.12	173,33 ±8.82	380,67 ±3.84	0,00	565,76 ± 0,0405	64,91 ± 0,0004
	Tratami ento 1	136,67 ±6.67	280,00 ±17.32	5,10 ±0.00	113,33 ±3.33	341,00 ±3.46	0,00	435,89 ± 0,0018	29,16 ± 0,0003
	Control 2	136,67 ±12.02	260,00 ±17.32	4,83 ±0.19	346,67 ±8.82	381,00 ±2.31	0,00	552,21 ± 0,0069	15,61 ± 0,0004
	Tratami ento 2	146,67 ±8.82	293,33 ±8.82	0,83 ±0.07	343,33 ±8.82	310,00 ±2.52	0,00	280,19 ± 0,0069	58,35 ± 0,0003
5	Control 1	73,33 ±13.33	430,00 ±10.00	11,50 ±0.58	173,33 ±12.02	204,67 ±1.45	0,00	414,86 ± 0,0073	60,43 ± 0,0001
	Tratami ento 1	100,00 ±0.00	400,00 ±5.77	6,83 ±0.73	263,33 ±8.82	394,33 ±1.67	0,00	704,18 ± 0,0015	22,99 ±
	Control 2	26,67 ±3.33	356,67 ±8.82	4,33 ±1.30	173,33 ±12.02	360,00 ±1.15	0,00	348,92 ± 0,0067	40,66 ± 0,0005
	Tratami ento 2	56,67 ±6.67	366,67 ±8.82	12,33 ±1.74	296,67 ±12.02	423,33 ±4.81	0,00	654,52 ± 0,0029	32,73 ± 0,0007
6	Control 1	50,00 ±11.55	493,33 ±94.93	8,50 ±1.15	216,67 ±12.02	272,67 ±2.33	0,00	514,00 ± 0,0065	29,53 ± 0,0008
	Tratami ento 1	10,00 ±0.00	406,67 ±6.67	9,50 ±0.29	256,67 ±8.82	394,33 ±1.67	0,00	525,33 ± 0,1865	29,47 ± 0,0001
	Control 2	23,33 ±13.33	323,33 ±6.67	10,17 ±0.73	126,67 ±14.53	360,00 ±1.15	0,00	149,06 ± 0,0000	20,94 ± 0,0013
	Tratami ento 2	23,33 ±3.33	293,33 ±20.28	18,67 ±1.59	273,33 ±12.02	423,33 ±4.81	0,00	213,13 ± 0,0175	27,14 ± 0,0009
7	Control 1	23,33 ±3.33	520,00 ±36.06	9,17 ±0.44	173,33 ±8.82	418,67 ±1.20	0,00	527,62 ± 0,0062	24,52 ± 0,0000
	Tratami ento 1	23,33 ±6.67	576,67 ±14.53	15,50 ±0.29	273,33 ±8.82	362,00 ±1.53	0,00	1214,87 ± 0,1125	40,51 ± 0,0001
	Control 2	16,67 ±6.67	573,33 ±8.82	6,33 ±0.17	96,67 ±6.67	287,33 ±2.33	0,00	434,03 ±	15,75 ± 0,0007
	Tratami ento 2	23,33 ±3.33	673,33 ±12.02	7,67 ±0.67	270,00 ±11.55	284,00 ±1.73	0,00	2017,39 ± 0,0215	76,26 ± 0,0005

8	Control 1	43,33 ±6.67	430,00 ±10.00	12,67 ±0.44	170,00 ±5.77	308,33 ±1.86	0,00	442,22 ± 0,3341	56,96 ± 0,0000
	Tratami ento 1	46,67 ±3.33	376,67 ±74.24	18,00 ±1.26	236,67 ±8.82	232,00 ±1.73	0,00	978,67 ± 0,0025	38,19 ± 0,0003
	Control 2	23,33 ±3.33	360,00 ±5.77	19,17 ±0.60	163,33 ±12.02	198,67 ±2.03	0,00	523,93 ± 0,0094	55,37 ± 0,0003
	Tratami ento 2	76,67 ±6.67	466,67 ±14.53	22,00 ±0.76	260,00 ±17.32	452,00 ±2.08	0,00	1294,78 ± 0,0132	46,60 ± 0,0005
9	Control 1	16,67 ±3.33	316,67 ±3.33	13,50 ±0.87	156,67 ±12.02	293,00 ±2.52	0,00	451,67 ± 0,016	70,78 ± 0,0002
	Tratami ento 1	63,33 ±14.53	340,00 ±5.77	19,67 ±0.44	250,00 ±11.55	373,00 ±2.31	0,00	1232,70 ± 0,0045	134,08 ± 0,0046
	Control 2	33,33 ±3.33	336,67 ±17.64	20,67 ±0.73	170,00 ±11.55	290,67 ±1.20	0,00	437,20 ± 0,0044	96,51 ± 0,0004
	Tratami ento 2	23,33 ±3.33	450,00 ±15.28	32,00 ±0.76	270,00 ±15.28	475,00 ±2.08	0,00	2202,91 ± 0,0070	181,59 ± 0,0014
10	Control 1	23,33 ±3.33	163,33 ±6.67	20,83 ±0.88	176,67 ±12.02	249,00 ±1.53	0,00	263,85 ± 0,0080	16,47 ± 0,0001
	Tratami ento 1	26,67 ±6.67	226,67 ±8.82	27,50 ±0.76	253,33 ±14.53	266,67 ±1.20	0,00	1575,44 ± 0,0137	81,36 ± 0,0003
	Control 2	13,33 ±3.33	313,33 ±12.02	18,33 ±0.60	140,00 ±15.28	444,33 ±66.86	0,00	435,13 ± 0,0280	35,18 ± 0,0004
	Tratami ento 2	20,00 ±0.00	396,67 ±6.67	24,83 ±0.44	273,33 ±8.82	396,00 ±1.53	0,00	1182,12 ± 0,1310	20,00 ± 0,0008
11	Control 1	26,67 ±3.33	163,33 ±6.67	15,33 ±0.06	113,33 ±12.02	260,00 ±1.73	0,00	740,48 ± 0,0051	26,67 ± 0,0016
	Tratami ento 1	10,00 ±0.00	196,67 ±17.64	25,67 ±0.73	236,67 ±8.82	268,33 ±1.45	0,00	576,63 ± 0,0034	10,00 ± 0,0004
	Control 2	16,67 ±6.67	303,33 ±67.66	19,17 ±0.73	130,00 ±15.28	395,67 ±2.60	0,00	231,52 ± 0,0050	86,82 ± 0,0007
	Tratami ento 2	10,00 ±0.00	466,67 ±12.02	26,17 ±0.17	313,33 ±14.53	498,67 ±1.45	0,00	976,16 ± 0,0034	95,68 ± 0,0006
12	Control 1	16,67 ± 3.33	163,33 ± 6.67	15,33 ± 0.44	113,33 ± 12.02	260,00 ± 1.73	0,00	374,48 ± 0.1481	36,08 ± 0.0016
	Tratami ento 1	63,33 ± 14.53	226,67 ± 8.82	26,08 ± 0.79	236,67 ± 12.01	235,00 ± 2.08	0,00	705,48 ± 0.0143	96,95 ± 0.0004
	Control 2	33,33 ± 3.33	313,33 ± 12.02	19,50 ± 0.87	156,67 ± 8.82	395,67 ± 2.60	0,00	491,72 ± 0.3806	39,02 ± 0.0007
	Tratami ento 2	23,33 ± 3.33	396,67 ± 6.67	27,00 ± 0.29	306,67 ± 14.53	412,00 ± 5.57	0,00	1271,18 ± 0.0179	120,95 ± 0.0006

Anexo 68.

Carta compromiso con EMAP.

OFICIO EP-EMAPA-A GG-0888-2024
Ambato, 13 de agosto de 2024.

Doctor
Rodny Peñafiel
DOCENTE TUTOR PROYECTO DE TITULACIÓN
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA
Presente. -

De mi consideración:

Reciba un cordial saludo a nombre de la Empresa Pública – Empresa Municipal de Agua Potable y Alcantarillado de Ambato, deseándole éxitos en sus funciones, en beneficio de la colectividad ambateña.

En atención al Oficio S/N, mediante el cual se pone en conocimiento la propuesta para el desarrollo del Trabajo de Titulación **"DETERMINACIÓN DEL EFECTO DE PRODUCTOS ENZIMÁTICOS EN EL TRATAMIENTO DE LODOS PTAR AMBATO Y RESIDUOS VERDES PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOGÁS A ESCALA DE LABORATORIO"**; al respecto me permito adjuntar el memorando N.-DOM-3717-2024, suscrito por funcionarios del Departamento de Operación y Mantenimiento.

Esta gerencia autoriza al estudiante Alex Javier Analuisa Morales con C.I.: 1804336979, estudiante de la Carrera de Biotecnología, Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato para que desarrolle el Trabajo de Titulación antes mencionado, no obstante debido a que el estudiante tendrá acceso a información empresarial, previo a realizar la investigación, deberán suscribir el acuerdo de confidencialidad y acogerse a las normas y reglas de seguridad ocupacional emitidas por la autoridad nacional y la EP-EMAPA-A.

Atentamente,



MSc. Byron Marcelo Pinto Guzmán
GERENTE GENERAL EP-EMAPA-A

2024-08-13
Adj.: Lo indicado
Andrea J.
SGD: 2024-3542

