



TESIS DOCTORAL

Optimización y escalado de la digestión anaerobia de microalgas y aguas residuales urbanas. Una alternativa a las depuradoras tradicionales.

Esteban Serrano León

Universidad de Cádiz

Escuela Internacional de Doctorado en Estudios del Mar (EIDEMAR)

2020

**Optimización y escalado de la digestión anaerobia de
microalgas y aguas residuales urbanas. Una alternativa
a las depuradoras tradicionales.**

Memoria presentada por Esteban Serrano León para optar al Grado de
Doctor en Ciencias y Tecnologías Marina por la Universidad de Cádiz.



Fdo. Esteban Serrano León

ANEXO I

SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN PARA EL DEPÓSITO DE LA TESIS DOCTORAL (REAL DECRETO 99/2011, DE 28 DE ENERO)

D. **Esteban Serrano León**, investigador en formación del programa de doctorado **8205 Ciencias y Tecnologías Marinas**, regulado por el Real Decreto 99/2011, de 28 de enero, *por el que se regulan las enseñanzas oficiales de doctorado*, una vez completada su formación doctoral y habiendo superado la evaluación definitiva de su plan de investigación, solicita a la Comisión Académica del programa de doctorado arriba citado autorización para proceder al depósito, en la Secretaría General de esta Universidad, de la tesis doctoral titulada **Optimización y escalado de la digestión anaerobia de microalgas y aguas residuales urbanas. Una alternativa a las depuradoras tradicionales**, dirigida por los Drs. D. **José Antonio Perales Vargas-Machuca** y D. **Maikel Fernández Boizán**.

En Cádiz, a 1 de Septiembre de 2020



Fdo.: Esteban Serrano León

Informe administrativo de la Oficina de Posgrado

Revisado el expediente de doctorado de D. **Esteban Serrano León**, la Oficina de Posgrado, considerando el cumplimiento necesario de los requisitos administrativos establecidos, informa que el interesado se encuentra en disposición de hacer el depósito de su tesis doctoral en la Secretaría General de la Universidad.

(Sello de la Oficina)

En Cádiz, a de de 20

Fdo.: _____

Sr. Presidente de la Comisión Académica del Programa de Doctorado _____

ANEXO II

MODELO DE INFORME FAVORABLE DEL DIRECTOR(ES) DE LA TESIS PARA EL DEPÓSITO DE TESIS DOCTORALES DESARROLLADAS DE ACUERDO CON EL REAL DECRETO 99/2011, DE 28 DE ENERO

D. José Antonio Perales Vargas-Machuca y D. Maikel Fernández Boizán, directores de la tesis doctoral de D. **Esteban Serrano León**, alumno/a del programa de doctorado **8205 Ciencias y Tecnologías Marinas**, regulado por el Real Decreto 99/2011, de 28 de enero, por el que se regulan las enseñanzas oficiales de doctorado, informa(n) favorablemente la solicitud de autorización para el depósito de la tesis doctoral de D. **Esteban Serrano León**, titulada **Optimización y escalado de la digestión anaerobia de microalgas y aguas residuales urbanas. Una alternativa a las depuradoras tradicionales**, y desarrollada de acuerdo con los requisitos de control de calidad para las tesis doctorales recogidos en la memoria del programa de doctorado de referencia.

En Cádiz, a 1 de Septiembre de 2020



Fdo.: José Antonio Perales Vargas-Machuca



Fdo.: Maikel Fernández Boizán

NOTA

El Informe deberá venir acompañado de un pronunciamiento expreso del director (o directores) de la investigación acerca de la adecuación del resultado de la investigación (la tesis) al proyecto presentado en su momento, el correcto desarrollo del proceso de formación doctoral del doctorando y la validez y la oportunidad de los resultados de la investigación plasmados en la tesis.

Sr. Presidente de la Comisión Académica del Programa de Doctorado _____

APOYO INSTITUCIONAL

Esta tesis doctoral se ha realizado gracias al apoyo de Aqualia, que ha puesto a disposición de su cometido los medios técnicos y humanos necesarios para la obtención de todos los datos en ella presentados; permitiendo ampliar el ámbito del estudio de la tesis a un proyecto novedoso como lo es el proyecto [All-Gas](#), financiado por el Séptimo Programa Marco (FP7) de la Comunidad Europea y de la Directiva de Energías Renovables 2009/28 (ENERGY.2010.3.4-1, n_268208).

Igualmente, el apoyo e impulso del consistorio de Chiclana de la Frontera y la empresa pública Chiclana Natural S. A., han permitido pasar del sueño, al diseño y, finalmente, a la realidad, propiciando a su vez el avance de la tesis en sus distintas escalas.



AGRADECIMIENTOS

Lograr la consecución de una tesis es en la mayoría de los casos es un proceso largo en el que se pone a prueba en todos los ámbitos imaginables a la persona que en ella se embarca. Se trata de una carrera de fondo donde el que sube al podio lo hace gracias al equipo que le ha apoyado. Por eso es de justicia dejar constancia de todos los miembros del equipo, porque este manuscrito es también de ellos.

El marco de desarrollo de esta tesis ha sido posible en primer lugar gracias a Frank Rogalla, que confió en uno de los tantos expatriados que tuvimos que salir al extranjero para continuar con nuestra vocación investigadora. Gracias por traerme de vuelta, por confiarme la participación en un proyecto tan bonito (All-gas) y por permitirme la integración en el departamento de Innovación y Tecnología de Aqualia, donde tanto he aprendido y tanta gente he conocido. En segundo lugar a mis directores de tesis, José Antonio y Maikel, que aceptaron el reto de encuadrarme y sin los cuales esta tesis no sería más que una sombra borrosa. Muchas gracias por no tirar la toalla conmigo.

Los compañeros de trabajo han sido numerosos a los largos de los años y en mayor o menor medida han contribuido a la consecución de los objetivos de la tesis. Comienzo por los gatos, que desde las Tablas han prestado un apoyo menos visible que otros, pero sin el cual no estaríamos en este momento. Marcos, Eva, Beatriz, María, Pedro, Esther y mis dos frikis vitalistas favoritas, Gracia e Irene, que con su paciencia y consejos me han ayudado en tantas ocasiones, tanto en lo profesional como en lo personal. De tierras de genios europeístas y donde el Betis transforma las torres en oro, Pilar, Enrique y José Ramón han aportado sus conocimientos y experiencia para lograr la consecución de los objetivos del All-gas, e indirectamente al nacimiento de este manuscrito. Muchas gracias a tod@s.

Un punto y aparte he de hacer con un grupo concreto de compañeros que durante todos estos años me han acompañado en la EDAR del Torno, que han sufrido mis ocurrencias, con los que he pasado jornadas maratónicas de analíticas y, sobre todo, de los que he aprendido. Maikel, Almudena, José Antonio, Arbib; Personal de la EDAR (José, Pere, Alfonso, Paco, Miguel, José Maria, Ramón, Juan Carlos, Noelia y Loren), todos habéis participado de una forma u otra desde el principio hasta el final, solucionando problemas, colaborando en la toma de muestras, siendo los serenos que velan por el buen curso de los experimentos y enseñándome tantas cosas que ya se pierden en la memoria. Muchas Gracias.

Además de los anteriores, otros compañeros han dejado su huella tanto en la tesis como en quien la presenta, de todos ellos he aprendido algo y por ello también quiero agradecerles su granito o montaña de arena. Ana, Raúl, Juan José, Nacho, Maria de los Ángeles, Ricardo, Rubén, Carlos, Rebeca, Miguel, Jesús y Joséma. Gracias!

A mi familia. Mama, Papa, lo he logrado, largo ha sido el camino pero gracias a vuestro apoyo, cariño, libertad y consejos, este momento ha llegado. Es más vuestro que mío. Isabel, Juan Pedro, Dani, José María, Ana y Lucia (bienvenida). Todos me habéis apoyado en estos años y sabéis como nadie de mis altibajos. Al resto de mi familia la nombro más genéricamente o necesitaría otras dos páginas: Abuelito, Abuela, tit@s, prim@s y bisprim@s, muchas gracias por vuestro apoyo. Y a las que no han podido ver el final de la tesis (Pilar, Abuelita y Maricarmen), mi recuerdo va por vosotras.

Termino ya con los amigos que han sido auténticas válvulas de presión y a los que debo mi afecto: Jose Maria, Miguel, Óscar, Simone, Antonio, Rafa y Zibi, auténticos senderistas y apasionados de la vida. Irene y Manu, nadie mejor para irse de cena. José Antonio, Marta, Sonia, Hugo y Gonzalo, compañeros desde la infancia y que siguen ahí. Chari, Macarena, Montse y Sonia, mis niñas de biología, “*life has killed the dream we dreamed*” pero otros muchos han nacido o están a punto, y espero verlos crecer juntos. Muchas gracias a tod@s.

Este ha sido un trabajo de equipo del que no podría estar más orgulloso y agradecido. Gracias por todo y espero que este sea un capítulo más de otros tantos juntos.

TRUGAREZ!!!

*Hasta la persona más pequeña
puede cambiar el curso del futuro.
Sólo tú puedes decidir qué hacer
con el tiempo que se te ha dado.*

(La comunidad del anillo)

J. R. R. Tolkien

ÍNDICE

ABREVIATURAS	8
RESUMEN	9
ABSTRACT	10
INTRODUCCIÓN	11
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	14
ESTRUCTURA DE LA TESIS	16
 CAPÍTULO 1	
Digestión anaerobia de agua residual urbana bajo condiciones psicrófilas	19
 <i>ANTECEDENTES</i>	20
<i>MATERIAL Y MÉTODOS</i>	23
Diseño de los digestores UASB y estrategia de operación.....	23
Agua residual.....	24
(A) Inoculación UASB y selección de las condiciones psicrófilas.	25
(B) Primera condición psicrófila (19 °C):	25
(C) Segunda condición psicrófila (17 °C):	26
Métodos de análisis.....	26
Balance de DQO e Hidrólisis.....	27
Selección del TRH idóneo	29
<i>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</i>	30
Agua residual de entrada	30
Fase A: adaptación (23 °C)	31
Fase B (19 °C)	31
Fase C (17 °C)	34
Balance de DQO	37
Selección del TRH	40
<i>CONCLUSIONES</i>	42
<i>BIBLIOGRAFÍA</i>	43

CAPÍTULO 2

Variaciones estacionales de la producción de biogás en la depuración de aguas residuales urbanas mediante reactores UASB a escala piloto.45

<i>ANTECEDENTES</i>	46
<i>MATERIAL Y MÉTODOS</i>	48
Reactores UASB.....	48
Estrategias de alimentación.	49
Sistema de recuperación de metano disuelto.	52
Analíticas	55
<i>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</i>	56
Agua residual de alimentación	56
Resultados de los periodos	57
Recuperación del metano disuelto	71
<i>CONCLUSIONES</i>	77
<i>BIBLIOGRAFÍA</i>	78

CAPÍTULO 3

Digestión anaerobia de biomasa microalgal producida con agua residual urbana: Ensayos a escala de laboratorio.80

<i>ANTECEDENTES</i>	81
<i>MATERIAL Y MÉTODOS</i>	84
Reactores de laboratorio CSTR.....	84
Inóculo.....	86
Alimentación	86
Diseño experimental	87
Técnicas Analíticas.....	87
<i>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</i>	88
Biomasa microalga.	88
Producción de Biogás	91
Estabilidad de los reactores anaerobios	97
Eliminación de materia orgánica.....	107
<i>CONCLUSIONES</i>	110
<i>BIBLIOGRAFÍA</i>	111

CAPÍTULO 4

Digestión anaerobia de biomasa microalgal producida con agua residual urbana: Ensayos a escala piloto bajo tres estrategias térmicas. 114

<i>ANTECEDENTES</i>	115
<i>MATERIAL Y MÉTODOS</i>	118
Reactores piloto CSTR	118
Inóculo.....	119
Alimentación	119
Diseño experimental	121
Técnicas Analíticas.....	121
<i>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</i>	123
Biomasa microalgal	123
Producción de Biogás	129
Estabilidad de los digestores anaerobios	135
Eliminación de materia orgánica.....	143
<i>CONCLUSIONES</i>	147
<i>BIBLIOGRAFÍA</i>	149

CAPÍTULO 5

Combinando biotecnología de microalgas y procesos anaerobios para la depuración de aguas residuales urbanas: Análisis energético de diferentes estrategias. 152

<i>ANTECEDENTES</i>	153
<i>MATERIAL Y MÉTODOS</i>	156
Escenarios analizados.....	156
Balance de materia.....	161
Balance de energía	161
<i>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</i>	164
Balance de materia.....	164
Balance de energía	179
Visión Global.....	185
<i>CONCLUSIONES</i>	186
<i>BIBLIOGRAFÍA</i>	187

CONCLUSIONES GLOBALES..... 189

ANEXOS 192

ÍNDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Digestión anaerobia de agua residual urbana bajo condiciones psicrófilas.....	19
Figura 1: Dispositivo experimental a) Sección vertical del reactor UASB termostatzado b) Sección horizontal del separador trifásico c) Sección horizontal del reactor UASB.	24
Figura 2: Condiciones experimentales (TRH y temperatura) en los tres reactores UASB.	26
Figura 3: Capacidad de eliminación de la DQO (CE) a diferentes TRH, índice volumétrico de lodo (IVL) y foto del lodo granular generado.	34
Figura 4: Estabilidad en la producción de biogás bajo distintos TRH a 17 °C.....	37
Figura 5: Balance de DQO a 19 y 17 °C a distintos TRH.....	40

CAPÍTULO 2

Variaciones estacionales de la producción de biogás en la depuración de aguas residuales urbanas mediante reactores UASB a escala piloto.	45
Figura 1: (A) Reactor anaerobio UASB, (B) tanque receptor de agua tamizada, y bombas de alimentación y (C) gasómetros de cúpula flotante.	49
Figura 2: Sistema PUSH de los reactores UASB (figura adaptada de la patente número EP3009408B1).	50
Figura 3: Representación de los períodos de experimentación junto con las variaciones térmicas estacionales de cada período.....	51
Figura 4: Lodo anaerobio empleado para la inoculación de los reactores UASB	51
Figura 5: A) Esquema de diseño del sistema de recuperación de metano disuelto. B) Fotografías de los dos prototipos empleados (p45 y p166).....	54
Figura 6: Evolución de los rendimientos de eliminación de sólidos, DQO soluble y sulfatos en los reactores UASB 1 (■) y 2 (●), tras su inoculación.....	60
Figura 7: Pluviometría acumulada entre los meses de septiembre de 2015 y Agosto de 2016.	61
Figura 8: Porcentajes de eliminación de sólidos totales, DQO total y sulfatos en los reactores UASB 1 y 2, durante los periodos 1 y 2.	62
Figura 9: Porcentajes de eliminación de sólidos totales, DQO total y sulfatos en los reactores UASB 1 y 2, durante los periodos 2 y 3a.	65
Figura 10: Porcentajes de eliminación de sólidos totales, DQO total y sulfatos en los reactores UASB 1 y 2, durante los periodos 2, 3a y 3b.	67
Figura 11: Porcentajes de eliminación de sólidos totales, DQO total y sulfatos en los reactores UASB 1 y 2, durante los periodos 3b, 4a y 4b.	70
Figura 12: CH ₄ disuelto en efluentes de aguas residuales tratadas por tecnología UASB.....	73
Figura 13: Metano recuperado en función de la presión de vacío y temperatura.....	74
Figura 14: Metano recuperado en función de la productividad de biogás.....	75

CAPÍTULO 3

Digestión anaerobia de biomasa microalgal producida con agua residual urbana: Ensayos a escala de laboratorio.80

Figura 1: Esquema de los reactores de mezcla completa. 85

Figura 2: (A) Fotografía de los HRAP donde se produjo la biomasa microalgal (B) Fotografía del sistema de concentración por aire disuelto. 86

Figura 3: Variación de las relaciones de SV:ST y $DQO_{total}:ST$ en la alimentación y parámetros climáticos. 91

Figura 4: Evolución del rendimiento de metano en los reactores termófilos a lo largo de la semana con la alimentación semicontinua. 92

Figura 5: Evolución del rendimiento de metano. 93

Figura 6: Principales parámetros de control de la estabilidad en los reactores anaerobios mesófilos y termófilos. 104

Figura 7: Eliminación de DQO_{total} en los reactores mesófilos y termófilos. 109

CAPÍTULO 4

Digestión anaerobia de biomasa microalgal producida con agua residual urbana: Ensayos a escala piloto bajo tres estrategias térmicas. 114

Figura 1: Esquema y fotografías de los a) HRAP de microalgas, b) sistema de cosechado y c) reactores anaerobios con los gasómetros. 120

Figura 2: Evolución de los TRH durante las distintas fases de experimentación. 121

Figura 3: Fotografía de *Coelastrum* sp. de la biomasa microalgal alimentada 124

Figura 4: Variación de las relaciones de SV:ST y $DQO_{total}:ST$ en la alimentación, parámetros climáticos. y variación de la T^a media dentro del digestor a temperatura ambiente 127

Figura 5: Principales parámetros de control de la estabilidad en los reactores anaerobios a temperatura ambiente, mesófilos y termófilos. 141

CAPÍTULO 5

Combinando biotecnología de microalgas y procesos anaerobios para la depuración de aguas residuales urbanas: Análisis energético de diferentes estrategias. 152

Figura 1: Esquema general de una EDAR convencional. 158

Figura 2: Esquema del Escenario 1 considerado para los balances de masa y energía con las principales corrientes. 159

Figura 3: Esquema del Escenario 2 considerado para los balances de masa y energía con las principales corrientes. 160

Figura 4: Producciones de lodo en cada uno de los escenarios. 177

Figura 5: Producciones de metano en cada uno de los escenarios 178

Figura 6: Balances energéticos de los distintos escenarios 184

ÍNDICE DE TABLAS

CAPÍTULO 1

Digestión anaerobia de agua residual urbana bajo condiciones psicrófilas.....	19
Tabla 1: Características del agua residual durante los experimentos a 17 y 19 °C	30
Tabla 2: Resultados de los UASB a 19 °C.	33
Tabla 3: Resultados de los UASB a 17 °C	36
Tabla 4: Parámetros de selección del TRH.....	41

CAPÍTULO 2

Variaciones estacionales de la producción de biogás en la depuración de aguas residuales urbanas mediante reactores UASB a escala piloto.	45
Tabla 1: Principales características de los pilotos de recuperación de metano	53
Tabla 2: Características del agua residual durante los periodos de experimentación	56
Tabla 3: Metano disuelto y recuperado en el efluente de reactores UASB.	72
Tabla 4: Composición del biogás recuperado en el prototipo p166.....	75

CAPÍTULO 3

Digestión anaerobia de biomasa microalgal producida con agua residual urbana: Ensayos a escala de laboratorio.	80
Tabla 1: Parámetros de operación de los digestores.....	87
Tabla 2: Caracterizaciones del efluente de los reactores UASB y de la biomasa microalgal cosechada por el sistema DAF.....	90
Tabla 3: Composición del biogás a lo largo de las distintas fases de experimentación.....	94
Tabla 4: Medias de los parámetros de control de la estabilidad en los reactores mesófilos y termófilos.....	106

CAPÍTULO 4

Digestión anaerobia de biomasa microalgal producida con agua residual urbana: Ensayos a escala piloto bajo tres estrategias térmicas.	114
Tabla 1: Denominación de los digestores anaerobios.	119
Tabla 2: Parámetros de operación de los digestores.....	121
Tabla 3: Caracterización del influente de los reactores HRAP y de la biomasa cosechada mediante el sistema DAF en cada periodo.	128
Tabla 4: Composición del biogás y rendimientos de metano	134
Tabla 5: Valores medios registrados en los reactores Da, Dm y Dt a distintos TRH.....	142

CAPÍTULO 5

Combinando biotecnología de microalgas y procesos anaerobios para la depuración de aguas residuales urbanas: Análisis energético de diferentes estrategias.152

Tabla 1: Elementos considerados en el balance energético de los distintos supuestos	162
Tabla 2: Referencias bibliográficas empleadas en los cálculos de los escenarios 1 y 2.....	164
Tabla 3: Balance de materia para la línea de agua del escenario 1	167
Tabla 4: Balance de materia para la línea de lodos del escenario 1 (35 °C)	168
Tabla 5: Balance de materia para la línea de lodos del escenario 1 (55 °C)	169
Tabla 6: Balance de materia para la línea de gas del escenario 1 (35 °C)	171
Tabla 7: Balance de materia para la línea de gas del escenario 1 (55 °C)	171
Tabla 8: Balance de materia para la línea de agua del escenario 2	173
Tabla 9: Balance de materia para la línea de lodos del escenario 2 (35 °C)	175
Tabla 10: Balance de materia para la línea de lodos del escenario 2 (55 °C)	176
Tabla 11: Balance de materia para la línea de gas del escenario 2 (35 y 55 °C).....	178
Tabla 12: Balance energético para una EDAR convencional (15.000 m ³ / día)	180
Tabla 13: Balance energético para el Escenario 1 a 35 y 55 °C (15.000 m ³ / día).....	181
Tabla 14: Balance energético para el Escenario 2 a 35 y 55°C (15.000 m ³ / día)	183
Tabla 15: Matriz comparativa de los distintos escenarios.....	185

ABREVIATURAS

AGV	Ácidos grasos volátiles	HRAP	Reactor de alta carga para el cultivo de microalgas (High Rate Algal Pond)
AI	Alcalinidad intermedia		
AME	Actividad metanogénica específica	IC	Intervalo de confianza
AP	Alcalinidad parcial	IVL	Índice volumétrico de lodos
AT	Alcalinidad total	LEAR	Low Energy Algae Reactor
BMP	Potencial bioquímico de metano	n	Número
CAPEX	Costes de Inversión (Capital Expenditure)	NTK	Nitrógeno total Kjeldahl
CE	Capacidad de eliminación	OPEX	Costes de operación (Operational Expenditures)
CO	Carga orgánica	PAX-18	Policloruro de Aluminio
CSTR	Reactor Agitado de mezcla completa (Continuous Stirred-Tank Reactor)	PVC	Policloruro de Vinilo
CV	Coeficiente de variación	RM	Rendimiento de metano
Da	Digestor a temperatura ambiente	SST	Sólidos Suspendidos Totales
DAF	Flotación con aire disuelto	SST	Sólidos Suspendidos Volátiles
DBO₅	Demanda Biológica de Oxígeno	ST	Sólidos Totales
Dm	Digestor mesófilo	SV	Sólidos Volátiles
DQO	Demanda Química de Oxígeno	TRH	Tiempo de Retención Hidráulico
Dt	Digestor termófilo	TRS	Tiempo de retención de sólidos
EDAR(s)	Estación(es) Depuradora(s) de Aguas Residuales	UASB	Reactores Anaerobios de manto de lodo de Flujo Ascendente (Upflow Anaerobic Sludge Blanket)
h-e	Habitante equivalente	VCO	Velocidad de carga orgánica

RESUMEN

El modelo actual de depuración de aguas residuales urbanas supone una carga económica y un balance deficitario de energía que asciende a los $0,3 - 2,1 \text{ kWh} / \text{m}^3_{\text{agua tratada}}$ en países europeos. En el marco de esta problemática, el presente estudio explora alternativas tecnológicas no convencionales de depuración, para aprovechar parte del potencial energético contenido en el agua residual mediante la combinación de procesos de digestión anaerobia y reactores de microalgas tipo HRAP. La hipótesis defendida es que un modelo autosostenible energéticamente y que cumpla con los estándares actuales de depuración (Directiva 91/271/CEE), es posible. Para comprobar este supuesto se han optimizado los rendimientos energéticos de dos procesos biológicos anaerobios para el tratamiento del agua residual y la estabilización del lodo (UASB y CSTR) bajo distintos regímenes térmicos (psicrófilo, ambiental, mesófilo y termófilo), a escala de laboratorio y piloto. Ambos procesos están enmarcados en un sistema de tratamiento de aguas residuales basado en el uso de cultivos mixotróficos microalgas – bacterias, como alternativa a los procesos de eliminación de nutrientes de las EDARs convencionales (precipitación de fosfatos + nitrificación-desnitrificación), y un sistema de cosechado de la biomasa energéticamente eficiente (DAF). Los resultados obtenidos mostraron los límites de viabilidad de la tecnología UASB en climas templados ($16 - 27 \text{ }^{\circ}\text{C}$) con rendimientos medios anuales de $0,12 \text{ m}^3 \text{ CH}_4 / \text{kg DQO}_{\text{eliminada}}$, así como las mejoras del 75 y 65% en la eliminación de sólidos y DQO, al aplicar un novedoso sistema de alimentación pulsada. En la digestión anaerobia de la biomasa microalgal los mejores rendimientos de metano se obtuvieron en reactores CSTR termófilos digiriendo biomasa generada en reactores HRAP alimentados con agua pretratada. El balance de materia y energía sobre una EDAR para 50.000 habitantes, apuntó al escenario HRAP+DAF+CSTR (termófilo) como el más eficiente desde el punto de vista energético, cumpliendo el efluente con los límites en sólidos en suspensión, materia orgánica nitrógeno y fósforo exigido por la normativa.

ABSTRACT

The current model of urban wastewater treatment involves an economic pressure and a negative energy balance ($0.3 - 2.1 \text{ kWh} / \text{m}^3_{\text{wastewater treated}}$) in European countries. Regarding these problems, the present study explores non-conventional alternatives, to take advantage of the wastewater internal energy potential, combining anaerobic processes and microalgal reactors (HRAP). The supported hypothesis claims for the feasibility of an energy self-sufficient model that meets the European requirements regarding urban wastewater treatment (Directive 91/271/CEE). To verify this assumption, the energy yields of two anaerobic biological processes for wastewater treatment (UASB) and sludge stabilization (CSTR) have been optimized under different temperatures (psychrophilic, room temperature, mesophilic and thermophilic), at laboratory and pilot scale. Both processes are framed in a wastewater treatment model based on the use of mixotrophic microalgae - bacteria cultures and an energy efficient biomass harvesting system (DAF), as an alternative to the nutrient removal processes of conventional WWTPs (phosphate precipitation and nitrification-denitrification). The results showed the viability limits of the UASB technology under temperate weather ($16 - 27 \text{ }^\circ\text{C}$) where an average annual methane yield of $0.12 \text{ m}^3 \text{ CH}_4 / \text{kg COD}_{\text{removed}}$ was obtained. An increase of 75 and 65% in the solids and COD removal rate, respectively, was also observed by applying a new pulsed feeding system. The anaerobic digestion of the microalgal biomass grown in HRAP reactors, which were fed with pretreated wastewater, showed the best methane yields in the thermophilic CSTR reactors. The energy and mass balance studied in a 50,000 inhabitants WWTP pointed out the HRAP + DAF + CSTR (thermophilic) scenario as the most efficient from the energy point of view, as well as to meet with the effluent limits on suspended solids, organic matter, nitrogen and phosphorus required by the European regulation.

INTRODUCCIÓN

La depuración de aguas residuales se ha convertido en un proceso obligado en nuestro modelo de desarrollo y no sólo por razones de carácter ambiental. Existen estudios que demuestran el impacto que tienen sobre la cadena trófica los contaminantes arrastrados por los cursos de agua y el perjuicio que para nosotros mismos representan (Sorensen et al., 2014, Weber et al., 2005). Dado que esta depuración supone una carga económica deficitaria, la idea de generar energía a partir de los desechos orgánicos y así obtener un beneficio o al menos un balance neutro, se presenta como un gran desafío. Entre los distintos procesos que operan en una EDAR convencional, el de aireación de los reactores biológicos es la etapa más costosa energéticamente, llegando a suponer el 60% de las necesidades de consumo de la planta, por lo que la optimización de esta etapa puede contribuir a la autosuficiencia energética del proceso (Passos et al., 2017). La energía usada por estos sistemas suele ser aportada en forma de electricidad, gas natural u otros tipos de combustibles fósiles (Stillwell et al., 2010, Ahmed et al., 2015), a pesar de que en la actualidad se conoce el potencial energético del agua residual (Ahmed et al., 2015), estimándose en $3,61 - 7,97 \text{ kWh / kg DQO}_{\text{eliminada}}$ (Heidrich et al., 2011). El aprovechamiento de este contenido de energía se ha planteado desde distintas perspectivas, entre las que está el uso de las microalgas como alternativa de tratamiento a los procesos de lodos activos. Así, las microalgas son consideradas una solución atractiva para el tratamiento de las aguas residuales por su metabolismo flexible, que les permite realizar procesos fotoautotróficos, mixotróficos o heterotróficos, confiriéndoles una alta capacidad de crecimiento en aguas residuales urbanas e industriales (Wollmann et al., 2019). El crecimiento de microalgas en reactores de alta carga (HRAP), al mismo tiempo que producen oxígeno, asimilan CO_2 , nitrógeno y fósforo, estableciendo una simbiosis con las bacterias que consumen el oxígeno y degradan la materia orgánica,

dando como resultado un efluente de alta calidad con bajos niveles de contaminación, todo ello con muy bajos costes energéticos (De Godos et al., 2016), estimados en 0,02 kWh / m³ (Passos et al., 2017). Además del uso de microalgas, a lo largo de la historia se han empleado distintos sistemas de producción de energía basados en el proceso de digestión anaerobia de las aguas residuales y lodos, mediante el cual se produce biogás como fuente de energía renovable (Tasneem et al., 2012). Los procesos anaerobios en el campo del tratamiento de las aguas residuales se han desarrollado principalmente para corrientes de alta carga, donde los contaminantes están fundamentalmente en forma disuelta, siendo los digestores de flujo ascendente con manto de lodos (UASB) uno de los diseños más empleados en este ámbito (Chernicharo et al., 2015). Su uso es frecuente en el tratamiento de aguas residuales urbanas en países con condiciones climáticas favorables, como Brasil, México y Colombia, donde se han logrado eficiencias de eliminación de DBO₅, DQO y Sólidos en torno al 70 – 90 % (Salazar-Larrosa et al., 2019). Sin embargo, el empleo de los reactores anaerobios UASB en zonas con variaciones climáticas en las que las temperaturas durante los meses fríos descienden de los 18 °C y presentan corrientes de baja carga (Lettinga et al., 2001), como lo son las aguas residuales urbanas, presenta limitaciones de rendimiento y los efluentes resultantes suelen requerir post-tratamientos para poder alcanzar efluentes que cumplan con los estándares de vertido (Vassalle et al., 2020). Debido a estas limitaciones, el empleo de los reactores UASB en aguas residuales de climas templados continua siendo un reto (Chernicharo et al., 2015), por lo que diversos autores han explorado el uso de sistemas mixtos de UASB seguidos de un post-tratamiento mediante HRAP como alternativas para la eliminación de nutrientes (nitrógeno y fósforo) y oxigenación del efluente (de Godos et al., 2016), desinfección (Gutiérrez-Alfaro et al., 2018) o eliminación de contaminantes prioritarios

(Vassalle et al., 2020) y emergentes (Villar-Navarro et al., 2018), en la búsqueda de alternativas viables para el empleo de estas tecnologías.

Complementariamente, otro de los tratamientos anaerobios desarrollados, son los digestores agitados de mezcla completa (CSTR) para la estabilización de lodos. Esta tecnología representa un punto de interés debido a su gran plasticidad en el tratamiento de distintos sustratos orgánicos, al mismo tiempo que produce energía renovable (Cavinato et al., 2017), siendo defendida por algunos autores como la ruta más favorable y rentable para la obtención de bicomcombustibles a partir de biomasa microalgal (Santos-Ballardo et al., 2016). La digestión anaerobia mesófila (35 °C) es la opción más extendida en el tratamiento de cualquier tipo de biomasa debido a que la estabilidad del proceso es mayor que la termófila (55 °C) (Cavinato et al., 2017). Sin embargo, muy pocos datos existen sobre la digestibilidad de las microalgas y la producción de metano a escala real empleando cultivos mixtos (Cea-Barcia et al., 2015, Jankowska et al., 2017), y menos aún en regímenes de temperatura termófila (Thorin et al., 2018), siendo numerosas las publicaciones sobre pretratamientos para incrementar la digestibilidad de las microalgas (Ward et al., 2014) o ensayos de co-digestión (Thorin et al., 2018, Cavinato et al., 2017).

Dado que existen algunas evidencias de que el tratamiento anaerobio de las aguas residuales urbanas, empleando reactores UASB, podría obtener reducciones entre el 20 y 50% de los costes de inversión (CAPEX) y superiores al 50 % de los costes de operación (OPEX) de una EDAR convencional (Chernicharo et al., 2015): El empleo de esta tecnología, combinada con los sistemas de cultivo microalga-bacteria en HRAP, y la digestión de esta biomasa mediante digestores CSTR, constituye una concepción novedosa capaz de contribuir a cambiar el paradigma de la depuración, trasformando las depuradoras en centros donde se pudiera alcanzar la autosuficiencia energética.

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

Las aguas residuales urbanas contienen un potencial energético suficiente como para abastecer a los procesos empleados para su depuración. El aprovechamiento de esta energía mediante sistemas que combinen procesos anaerobios de tratamiento de aguas residuales mediante tecnología UASB junto con reactores HRAP de cultivo mixotrófico microalgas – bacterias así como una digestión anaerobia de la biomasa generada, podría generar suficiente energía en forma de biogás como para autoabastecer una parte importante de los requerimientos energéticos de una EDAR.

Para explorar esta hipótesis se han planteado los siguientes objetivos específicos:

- 1) Determinar los límites del tratamiento anaerobio de aguas residuales reales mediante UASB, identificando el TRH más idóneo bajo condiciones climáticas invernales (17 y 19 °C).
- 2) Determinar las mejores condiciones de operación ante los cambios estacionales de temperatura y composición de las aguas residuales urbanas, sobre los rendimientos de metano en reactores UASB a escala piloto (20 m³).
- 3) Comparar el efecto de distintas técnicas de alimentación (continua o pulsada) sobre el rendimiento de reactores UASB a escala piloto.
- 4) Determinar el contenido en metano disuelto perdido en el efluente de los reactores UASB piloto y diseñar un sistema de recuperación.
- 5) Analizar los rendimientos de metano, eliminación de DQO y sólidos, para determinar la estrategia térmica (35 y 55 °C) más ventajosa, en reactores CSTR a escala laboratorio (4,5 l) y bajo distintos TRH, de la digestión de biomasa microalgal generada a partir de agua residual real tratada mediante digestores UASB.

- 6) Optimizar los rendimientos de producción de metano, eliminación de DQO y sólidos para tres estrategias térmicas (T^a Ambiente, 35 y 55 °C), en la digestión de biomasa microalgal a escala piloto (0,6 y 1,2 m³).
- 7) Utilizando los datos experimentales obtenidos realizar un balance de materia y energía a los distintos escenarios considerados para determinar el más ventajoso, en comparación con una EDAR convencional.

ESTRUCTURA DE LA TESIS

Esta tesis está organizada en cinco capítulos donde se pretende obtener una visión completa de los rendimientos potenciales de la energía contenida en las aguas residuales que llegan a las depuradoras, con el objetivo principal de evaluar la hipótesis del autoabastecimiento energético gracias a la transformación de esta energía interna en biogás. Para ello cada uno de los capítulos pretende dar respuesta a objetivos particulares con los que complementar la visión de conjunto, enfocándose los Capítulos 1 y 2 en el tratamiento anaerobio del agua residual mediante reactores UASB, el 3 y 4 en la digestión de la biomasa microalgal procedente de los reactores de cultivo de microalgas tipo HRAP alimentados con agua residual, para finalmente determinar en el capítulo 5 los balances de materia y energía de los distintos escenarios planteados, todos ellos desarrollados como sigue :

C1: En este primer capítulo el trabajo se centró en uno de los mayores retos en la operación de los digestores anaerobios UASB, que es el estudio de los límites de operación bajo temperaturas invernales en zonas geográficas con fluctuaciones estacionales marcadas. Para comprender mejor la problemática subyacente se planteó un ensayo a escala laboratorio, con 3 digestores UASB de 11 l, en el que se les sometieron a temperaturas invernales medias propias de la región mediterránea (17 y 19 °C) y TRH (36, 24, 18, 14, 10, 8 y 6 h), estudiándose las capacidades de eliminación de nutrientes y los rendimientos de metano en cada condición. El balance de la distribución y destino de la DQO alimentada se empleó como herramienta para determinar los límites de operación.

C2: Una vez determinados los límites de operación a escala de laboratorio, en este capítulo se estudió la influencia de los cambios de temperatura estacional sobre los rendimientos en la producción de metano de reactores UASB a escala piloto (20 m^3), analizando los efectos sobre la mezcla interna del reactor y sus rendimientos ante una variación en el sistema de alimentación de los digestores de una estrategia continua a pulsada. Este enfoque buscó la mejora de los rendimientos ante situaciones de altos TRH (36 y 24 h) donde la creación de caminos preferenciales puede disminuir la eficacia de tratamiento del digestor. Con el fin de abordar otra de las problemáticas de los digestores UASB como lo es la alta proporción de metano disuelto en el efluente de los reactores (estimada entre un 20-60 % de la producción teórica de metano), se realizó un experimento de recuperación de metano disuelto empleando una columna de desorción bajo diferentes presiones de operación, desde la atmosférica hasta -40 mbar, calculándose las producciones de metano disueltas.

C3: En este capítulo se abordó el estudio a escala laboratorio (4,5 l), la digestión anaerobia en reactores CSTR de la biomasa microalgal generada en reactores HRAP (32 m^2 ; TRH = 7 días) alimentados con el agua residual proveniente de un pre-tratamiento anaerobio mediante reactores UASB pilotos (20 m^3). La digestibilidad de la biomasa microalgal bajo condiciones mesofílicas (35°C) y termofílicas (55°C), así como la influencia sobre el rendimiento de producción de metano de distintos TRH (28, 21 y 14 días) y las variaciones estacionales de la composición de la biomasa a lo largo de un año.

- C4:** En este cuarto capítulo se realiza un estudio de la variabilidad de los rendimientos de la digestión anaerobia, a escala piloto (0,6 y 1,2 m³) bajo condiciones de temperatura ambiente, mesófila (35 °C) y termófila (55 °C), de la biomasa microalgal generada en reactores HRAP (500 m², TRH = 3,5 días), alimentados con agua residual urbana real.
- C5:** Finalmente a modo de conclusión global del trabajo, en el capítulo 5 se plantean diversos escenarios posibles y se les realiza un balance de materia y energía para una instalación de tratamiento de aguas residuales que diese servicio a 50.000 habitantes. Para ello se emplearon los mejores resultados obtenidos en los capítulos anteriores y se compararon con los de una EDAR convencional en términos energéticos, de producción de lodos, de calidad de biogás y del efluente generado.

CAPÍTULO 1

Digestión anaerobia de agua residual urbana bajo condiciones psicrófilas

El presente capítulo se basa en el artículo publicado bajo el título “*Anaerobic digestion of municipal sewage under psychrophilic conditions*” publicado en Julio de 2018 en el Journal of Cleaner Production (DOI: [10.1016/j.jclepro.2018.07.060](https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.07.060))

ANTECEDENTES.

Actualmente, las plantas depuradoras de aguas residuales urbanas consumen entre 0,69 – 3,01 kWh/kg DQO_{eliminada}, en función de los habitantes equivalentes. Entre los países más eficientes en el tratamiento de las aguas residuales se encuentran España, Alemania e Italia, donde los consumos medios son 0,97, 0,95 y 0,85 kWh/kg DQO_{eliminada}, respectivamente (Longo et al. (2016)). Sin embargo, se estima que la energía química contenida en el agua residual comprende entre los 3,61 –7,97 kWh/kg DQO_{eliminada} (Heidrich et al. (2011)). Este potencial energético debería ser, por tanto, suficiente para satisfacer el consumo de energía del proceso de depuración. Los procesos biológicos anaerobios suponen una alternativa capaz de recuperar una importante parte de ésta energía contenida en las aguas residuales, sin embargo tradicionalmente ha sido usada sólo para aguas residuales con alta carga orgánica, generalmente de origen industrial (Lew et al., 2004). Tal y como menciona Chernicharo et al. (2015), el empleo de la tecnología anaerobia en el tratamiento del agua residual representa hasta el 90 % del ahorro en los costes de operación, pudiendo generar entorno a los 3,5 kWh/kg DQO_{eliminada} de energía eléctrica, en comparación con los procesos aerobios que requieren 1 kWh/kg DQO_{eliminada} (Castells et al., 2012).

Hasta el 70% de las instalaciones de tratamiento anaerobio de aguas residuales en el mundo se basan en reactores anaerobios de flujo ascendente (UASB) (Bodkhe, 2009). Se trata de una tecnología bien consolidada (Chernicharo et al., 2015) donde el bajo consumo de energía y costes de inversión representan una importante ventaja sobre los procesos aerobios (Jules B. et al., 2012, Abdelgadir et al., 2014, Chernicharo et al., 2015, Uemura y Harada, 2000). Además, si los reactores UASB se combinan con otros sistemas como filtros anaerobios, UASB-digestor, UASB-fosa séptica o sistemas de UASB en dos etapas (Lew et al., 2004, Álvarez et al., 2008, Chong et al., 2012), la eliminación de DQO total

y sólidos suspendidos es posible usando la energía química del agua residual. Lim y Kim (2014) compararon los costes de inversión (CAPEX) y operación (OPEX) del UASB y los procesos de lodos activados, no encontrándose grandes diferencias entre un sistema y otro, en el caso del CAPEX, mientras que en el de los OPEX los reactores UASB mostraron ahorros entorno al 22 %. Estos resultados fueron igualmente presentados en Sato et al. (2007), aumentando la diferencia en los OPEX de un UASB hasta un 60 % con respecto a los lodos activos.

La tecnología UASB ha sido usada principalmente para el tratamiento de agua residual industrial (Lettinga y Hulshoff Pol, 1991). Sin embargo, en la última década, los reactores UASB han sido utilizados para el tratamiento de agua residual urbana en países con climas templados en América Latina y Asia. En Europa, donde el clima mediterráneo es uno de los más extendidos (temperatura del agua residual entorno a los 18 °C en invierno), abarcando a una población estimada de 106 millones de habitantes, el tratamiento mediante UASB es aún un reto (Chernicharo et al., 2015), a pesar de que en áreas de climas moderados, donde el agua residual se mantiene por encima de los 15 °C todo el año, la tecnología UASB puede resultar prometedora (Lettinga et al., 2001). Una búsqueda realizada en la “Web of Science” utilizando como palabra de búsqueda “UASB”, devolvió unas 3348 publicaciones entre 1900 y julio del 2017, disminuyendo los resultados al añadir términos como “UASB+sewage” y “UASB+low temperature” a 666 y 146 publicaciones, respectivamente; y únicamente 92 resultados, correspondientes al criterio de búsqueda “UASB+sewage+low temperature”, lo cual representó solo el 2,7 % de los trabajos publicados sobre UASB. Por lo tanto, a pesar del elevado potencial descrito por diversos autores, el uso de los reactores UASB para tratar aguas residuales urbanas bajo condiciones de temperaturas psicrófilas, es aún un campo por desarrollar, a pesar de que algunos autores han descrito las condiciones óptimas para el tratamiento

anaerobio de agua residual a temperaturas psicrófilas (Uemura y Harada, 2000, Kashyap et al., 2003, Elmitwalli y Otterpohl, 2011).

El principal objetivo de este capítulo es el de seleccionar un tiempo de retención hidráulico óptimo para reactores UASB alimentados con aguas residuales urbanas de forma pulsante, bajo condiciones psicrófilas (19 y 17 °C), basándose en la capacidad de eliminación de la DQO, el rendimiento de producción de metano, la acumulación de sólidos dentro del reactor y la estabilidad del reactor.

MATERIAL Y MÉTODOS.

Diseño de los digestores UASB y estrategia de operación.

Se instalaron tres reactores UASB a escala de laboratorio (11 l cada uno), en la estación depuradora de aguas residuales (EDAR) de “El Torno” (36° 25’38.0’’ N – 6° 09’22.0’’ W), localizada en el municipio de Chiclana de la Frontera (Cádiz), España.

La **Figura 1** presenta los distintos elementos de los reactores UASB. Estos se aislaron térmicamente y su temperatura fue controlada mediante una unidad de refrigeración consistente en un circuito de recirculación de agua fría por una conducción de cobre situada dentro de cada reactor.

Se empleó un depósito de 0,1 m³ para almacenar el agua residual de entrada a la EDAR y aclimatarla a la temperatura deseada antes de alimentar los digestores.

Cada reactor se alimentó en modo semi-continuo mediante pulsos periódicos con una bomba peristáltica programable (Lead Fluid®, mod. BT100L). Los pulsos alcanzaron una velocidad de flujo ascendente de 0,8 m/h para compensar la pobre agitación dentro del reactor debido a las bajas tasas de producción de biogás. El biogás producido se recogió diariamente en una bolsa Tedlar® conectada a la salida del separador trifásico situado en la parte superior del digestor.

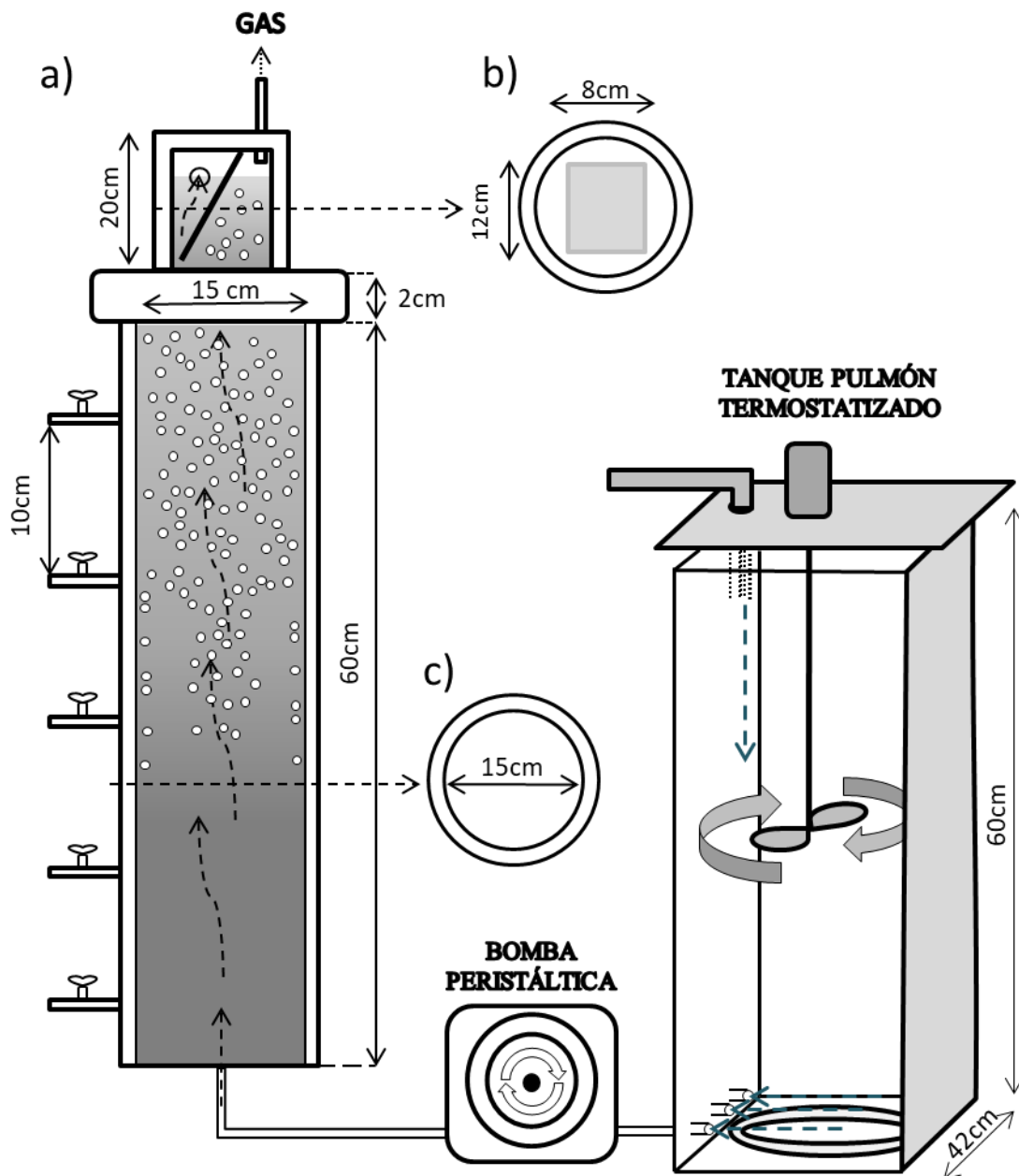


Figura 1: Dispositivo experimental a) Sección vertical del reactor UASB termostatzado b) Sección horizontal del separador trifásico c) Sección horizontal del reactor UASB.

Agua residual.

La EDAR de "El Torno" presenta un caudal de diseño de aproximadamente 11.472 m³/día, pero hoy en día sólo se tratan algo más de 9.000 m³/día (Chiclaná-Natural, 2004).

Las aguas residuales utilizadas para alimentar a los UASB se tomaron del sistema de pretratamiento de la EDAR (después de ser sometidas a desbaste, desarenado y desengrasado). Como tratamiento previo adicional se instaló un tamiz rotativo de 1 mm para evitar la acumulación de partículas de elevado tamaño dentro del reactor con el fin

de proteger los reactores de la entrada de alimentación de elevada salinidad, consecuencia de las intrusiones ocasionales de agua de mar en la EDAR en días con elevado coeficiente de marea. Se instaló un medidor de conductividad para asegurar que el agua alimentada nunca superase los 3 mS/cm, deteniéndose el bombeo al tanque pulmón durante el episodio de aumento de conductividad.

(A) Inoculación UASB y selección de las condiciones psicrófilas.

Los reactores UASB se inocularon con lodo floculento recolectado de un reactor UASB de 20 m³ localizado en la EDAR de "El Torno". La temperatura normal de trabajo de este reactor fluctuó entre los 18 y 27°C. La concentración total de sólidos y DQO del inóculo fue de 25,3 y 31,0 g/l, respectivamente. Cada reactor se inoculó con 4 l de este fango y se arrancó a un TRH de 36 h, a 20-23 °C (condiciones mesofílicas) durante 30 días (**Figura 2**, Fase A).

Las temperaturas psicrófilas utilizadas (17 y 19 °C) se seleccionaron considerando la temperatura de las aguas residuales de entrada en invierno, que fluctúan entre los 17 y 20 °C. Se realizó un diseño experimental en el que se fueron modificando los TRH de operación a estas dos temperaturas, tal y como a continuación se describe y puede observarse en la **Figura 2**:

(B) Primera condición psicrófila (19 °C):

Fase B1: durante 100 días, se operaron a un TRH inferior (24 h) los reactores R2 y R3, mientras que el reactor R1 se mantuvo en el TRH original (36 h).

Fase B2: seguidamente el TRH se redujo aún más, siendo operados a 18, 14 y 10 horas los reactores R1, R2 y R3 respectivamente, durante un periodo de 100 días.

Fase B3: finalmente, se redujo el TRH de los reactores UASB R2 y R3 a 8 y 6 h respectivamente, mientras que R1 se mantuvo como en el periodo anterior a un TRH de 18 h.

(C) Segunda condición psicrófila (17 °C):

Fase C1: adaptación a la nueva temperatura (17 °C) mantenida durante 17 días a un THR de 24 h en los tres reactores.

Fase C2: Durante 98 días se operaron los reactores R1, R2 y R3 a THR de 18, 14 y 10 h, respectivamente.

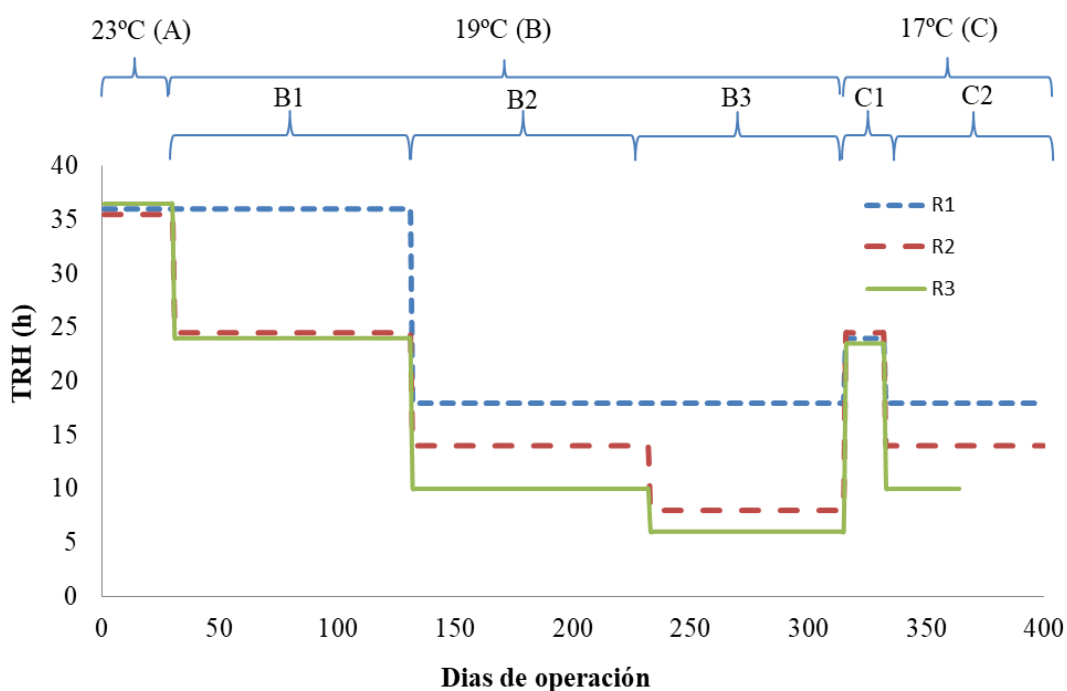


Figura 2: Condiciones experimentales (TRH y temperatura) en los tres reactores UASB: (A) Arranque, (B) Primeras condiciones psicrófilas (19 °C), (B1, B2 y B3) Reducción secuencial en los TRH, (C) Segunda condición psicrófilas (17 °C), (C1) Paso 1- Adaptación, (C2) Paso 2 – Reducción secuencial en los TRH.

Métodos de análisis

Se tomaron muestras compuestas de agua residual tanto de la alimentación como del efluente mediante una bomba peristáltica automatizada dos veces por semana. Los parámetros de caracterización fueron: DQO (métodos estándar 5220 C y 5220 D), Sólidos en suspensión, totales (SST) y volátiles (SSV) (método estándar 2540 D), Sulfato (método

estándar 4500-SO₄⁻² E), Amonio (método estándar 4500-NH₃ D), Fósforo (método estándar 4500-PC) y alcalinidad (método estándar 2320 B) (APHA, 2005).

El biogás producido se almacenó en bolsas Tedlar® determinándose diariamente el volumen y composición del mismo (CH₄, CO₂, O₂ y H₂S), utilizando un analizador de gases portátil COMBIMASS® GA-m. Una muestra de gas estándar (65 % de CH₄ y 35 % de CO₂) suministrada por la empresa Air liquide, fue usada como patrón para comprobar el correcto funcionamiento del analizador de gases una vez al mes.

Balance de DQO e Hidrólisis

La medición de la DQO nos permitió establecer un balance de masa para los diferentes procesos de consumo de materia orgánica dentro de los reactores UASB. El cálculo del consumo de DQO en los reactores UASB se basó en las ecuaciones (Lobato et al., 2012).

El balance de los flujos másicos de DQO en el reactor responden a la ecuación:

$$\dot{m}DQO_S = \dot{m}DQO_{t_{Inf}} - (\dot{m}DQO_{CH_4} + \dot{m}DQO_{Dis\ CH_4} + \dot{m}DQO_{SO_4^{2-}} + \dot{m}DQO_{t_{Ef}})$$

Donde:

$\dot{m}DQO_S$ = flujo másico de DQO soluble acumulada dentro del reactor (g DQO / día).

$\dot{m}DQO_{t_{Inf}}$ = flujo másico de DQO total del influente (g DQO / día).

$\dot{m}DQO_{CH_4}$ = flujo másico de la DQO transformada en CH₄ (g DQO / día).

$\dot{m}DQO_{Dis\ CH_4}$ = flujo másico de DQO transformada en CH₄ disuelto en el efluente (g DQO / día).

$\dot{m}DQO_{SO_4^{2-}}$ = flujo másico de DQO utilizada para reducir el SO₄⁻² a H₂S (g DQO / día).

$\dot{m}DQO_{t_{Ef}}$ = flujo másico de DQO del efluente (g DQO / día).

La DQO total del influente y efluente se usó para calcular el balance completo en los reactores UASB.

$$\dot{m}DQO_{Inf} = \frac{[DQOt_{Inf}] \cdot Q}{1000}$$

$$\dot{m}DQO_{Ef} = \frac{[DQOt_{Ef}] \cdot Q}{1000}$$

Donde:

$[DQOt_{Inf}]$ = concentración de DQO total en el influente (mg DQO / l).

$[DQOt_{Ef}]$ = concentración de DQO total en el efluente (mg DQO / l).

Q = caudal de agua residual (l / día).

La estimación de la DQO utilizada en la producción de CH₄ proviene de la producción teórica volumétrica de CH₄:

$$\dot{m}DQO_{CH_4} = \frac{CH_4 \text{ Medido}}{F_{350}}$$

Donde:

CH₄ Medido = producción diaria de CH₄ (ml / día).

F₃₅₀ = producción volumétrica teórica de CH₄ = 350 (ml CH₄/ gDQO) (Uemura y Harada, 2000).

La DQO consumida en el proceso de reducción de SO₄²⁻ (mg / l) a H₂S, puede ser estimada:

$$\dot{m}DQO_{SO_4^{2-}} = \frac{[SO_4^{2-} inf] - [SO_4^{2-} Ef]}{1000} \cdot Q \cdot F_{667}$$

Donde:

$[SO_4^{2-} inf]$ = Concentración de SO₄²⁻ en el influente (mg / l)

$[SO_4^{2-} Ef]$ = Concentración de SO₄²⁻ en el efluente (mg / l)

F₆₆₇ = DQO consumida en la reducción del SO₄²⁻ a H₂S = 0,667 (kg DQO SO₄²⁻ / kg SO₄²⁻) (Velasco et al., 2008)

La DQO consumida para producir el metano disuelto en el efluente, fue calculado como:

$$\dot{m}DQO_{Dis CH_4} = \frac{CH_4 \text{ disuelto}}{F_{350}}$$

Donde:

CH_4 disuelto = determinado experimentalmente mediante el método salting-out (l / l)

Daelman et al. (2012).

El grado de hidrólisis (H) fue determinado utilizando una modificación de las ecuaciones de Elmitwalli et al. (2002) en las que se incluyeron el sulfato y metano disueltos:

$$H (\%) = 100 \cdot \frac{\dot{m}\text{DQO}_{\text{CH}_4} + \dot{m}\text{DQO}_{\text{Dis CH}_4} + \dot{m}\text{DQO}_{\text{SO}_4^{-2}} + \dot{m}\text{DQO}_{\text{Ef}} - \dot{m}\text{DQO}_{\text{Inf}}}{\dot{m}\text{DQO}_{\text{t Inf}} - \dot{m}\text{DQO}_{\text{d Inf}}}$$
$$\dot{m}\text{DQO}_{\text{d Inf}} = \frac{[\text{DQO}_{\text{d Inf}}] \cdot Q}{1000}$$

Donde:

$[\text{DQO}_{\text{d Inf}}]$ = concentración de la DQO disuelta en el influente (mg DQO / l).

$\dot{m}\text{DQO}_{\text{d Inf}}$ = flujo de masa de la DQO disuelta en el influente (g DQO / día).

Selección del TRH idóneo

Los criterios utilizados para seleccionar el TRH más adecuado incluyeron el porcentaje de eliminación de DQO, los rendimientos de producción de metano (ml CH_4 / g DQO eliminada) y la acumulación de DQO. Este último ilustra el grado de acumulación de sólidos dentro de los reactores UASB.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Agua residual de entrada

De acuerdo con las concentraciones de los contaminantes analizados (**Tabla 1**), el agua residual de la alimentación puede ser clasificada como de “carga contaminante media – alta” según Metcalf et al. (2002). Solamente la concentración de sulfatos excede los valores de esta clasificación.

Tabla 1: Características del agua residual durante los experimentos a 17 y 19 °C

Parámetros (mg/L)	$\bar{X}$	CV (%)	I.C.	Medio - Alto ⁽¹⁾
DQO	637	9	10.08	430 - 800
SST	221	17	6.99	210 - 400
SSV	187	16	5.59	160 - 315
SO ₄ ⁻²	83	4	0.62	30 - 50
NH ₄ ⁺	43	9	0.72	25 - 45
PO ₄ ⁻³	7	1	0.01	5 - 10

n= 114, $\alpha = 0.05$, DQO/SO₄⁻²relación (7,7), CV (Coeficiente de variación), I.C. (Intervalo de confianza)

⁽¹⁾“Carga contaminante del agua residual” (Metcalf et al., 2002)

Las altas concentraciones de SO₄⁻² fueron el resultado de intrusiones de agua marina en la EDAR, pudiéndose inhibir la metanogénesis (Subtil et al., 2012). Salinidades relativamente altas (1000 mg SO₄⁻²/l), así como relaciones de DQO / SO₄⁻² por debajo de 8, pueden afectar no sólo a la producción de metano sino también inhibir el crecimiento de la comunidad microbiana psicrófila y provocar un lavado del reactor (Erdirencelebi et al., 2007). Por lo tanto, cuando la conductividad de la alimentación fue superior a 3 mS / cm, se detuvo el suministro de agua residual al sistema. No obstante, la existencia del tanque agitado termostatzado empleado para almacenar el agua residual alimentada (**Figura 1**), actuó como tanque de regulación y permitió que estos sucesos no interrumpiesen la alimentación de los reactores durante horas.

Fase A: adaptación (23 °C)

Los tres reactores UASB (R1, R2 y R3) se operaron durante 30 días para aclimatar el lodo antes de comenzar los experimentos bajo condiciones psicrofílas. Al final de este período las producciones de metano fueron 136 ± 46 , 130 ± 42 y 150 ± 39 ml CH₄/ g DQO_{teliminada} (I.C., n=11, $\alpha=0.05$) para los reactores R1, R2 y R3, respectivamente.

La eficiencia de eliminación de SST estuvo entre el 74,2 – 75,8 % en los tres reactores. Las producciones de metano fueron superiores a las obtenidas por Singh y Viraraghavan (2004) durante su fase de arranque, trabajando con agua sintética a 20 °C, donde los volúmenes de biogás producidos oscilaron entre 40 – 140 ml/día, con concentraciones de metano entorno al 65 – 70 % (0,06 ml CH₄/ g DQO_{teliminada}). El acondicionamiento de los lodos utilizados, podría ser la razón de este rendimiento superior (Abdelgadir et al., 2014), debido a que el inóculo se tomó de un reactor que operaba con la misma agua y bajo condiciones similares.

Fase B (19 °C)

- Rendimientos.

Los resultados de la caracterización del efluente, bajo condiciones psicrofílas (19 °C), se presentan en la **Tabla 2**. La composición del biogás fue relativamente estable durante todo el experimento (TRH = 36 a 6 h). La proporción de metano en el biogás permaneció en torno al 80 ± 1 %, en contraste con la variación del 66 al 86 % obtenida por Singh y Viraraghavan (2004). Esta estabilidad pudo deberse a una rápida estabilización del inóculo empleado al proceder de un reactor UASB en funcionamiento, trabajando con el mismo tipo de agua residual. Al reducir el TRH de 36 a 6 h, el rendimiento de producción de metano disminuyó de 148 a 120 ml CH₄/ g DQO_{teliminada}. Para el TRH de 6 h, si sumamos la proporción de metano disuelto calculada (+37 %) a la producción diaria de metano gas, obtenemos un valor (164 ml CH₄/ g DQO_{teliminada}) similar al encontrado por

Singh y Viraraghavan (2004) ($167 \text{ ml CH}_4 / \text{g COD}_{\text{eliminada}}$) y Uemura y Harada (2000) ($180 \text{ ml CH}_4 / \text{g COD}_{\text{eliminada}}$), respectivamente. Los mejores rendimientos de producción de metano se obtuvieron a TRH de 18 y 14 h donde los rendimientos de eliminación de DQO y sulfato fueron del 73 y 87 %, respectivamente. Como se puede ver en la **Tabla 2**, al pasar de TRH de 14 a 10 h, existe una reducción del 16, 18 y 24 % en los parámetros $\text{DQO}_{\text{eliminada}}$, SO_4^{2-} eliminada e hidrólisis, respectivamente. Por último, al bajar de 10 a 8 h de TRH, se observó una reducción del 14 % en los rendimientos de producción de metano. Elmitwalli y Otterpohl (2011) presentaron el intervalo de TRH = 14 y 10 h, como el adecuado para el tratamiento de aguas residuales a 19 °C mediante reactores UASB. En sus experimentos utilizaron agua residual de baja carga en nutrientes y patógenos, por lo que la acumulación dentro del reactor pudo haber sido más baja que en nuestros experimentos, en los que se utilizó agua residual urbana pretratada. Como se puede ver en la **Tabla 2**, cuando el TRH decrece de 10 a 8 h, tiene lugar un 50 % de reducción en la hidrólisis. El TRH es uno de los factores que directamente afecta a la capacidad hidrolítica de las bacterias, que a su vez está relacionada con la acumulación de sólidos que afectan a la producción de metano (Daud et al., 2018).

La concentración de sulfato es otro factor que puede desequilibrar la población de bacterias como explicó Madden et al. (2014), donde una proporción de $\text{DQO}:\text{SO}_4^{2-} \leq 1:2$ aparece como el límite en el que la producción de metano se ve drásticamente afectada. En este estudio, dicha proporción se mantuvo sobre 2,6:1 durante casi todo el experimento, por lo que se podría considerar que la principal variación en la productividad de metano no se debió a la variación en la concentración de sulfatos, sino a cambios en los TRH.

Tabla 2: Resultados de los UASB a 19 °C.

Reactor (R)	1	2 y 3	1	2	3	2	3
TRH (h)	36	24	18	14	10	8	6
DQO _t eliminada (%)	68 (9)	64 (8)	73 (15)	73 (3)	64 (5)	65 (11)	61 (11)
DQO _s eliminada (%)	60 (13)	49 (20)	59 (20)	60 (10)	50 (16)	48 (31)	54 (18)
SO ₄ ²⁻ eliminada (%)	82 (10)	79 (10)	87 (5)	87 (5)	71 (8)	76 (10)	64 (5)
CH ₄ (%)	81 (5)	81 (5)	80 (5)	80 (1)	79 (1)	79 (1)	78 (1)
CO ₂ (%)	4 (25)	4 (25)	6 (33)	5 (20)	5 (20)	8 (62)	8 (62)
N ₂ (%)	15 (27)	16 (19)	14 (7)	14 (7)	16 (12)	18 (5)	19 (5)
Hidrólisis (%)	39 (56)	38 (3)	42 (29)	49 (12)	43 (20)	21 (57)	21 (48)
P _{CH₄V}	42 (24)	58 (26)	121 (25)	136 (6)	154 (16)	140 (19)	174 (17)
RM	148 (21)	143 (20)	141 (12)	136 (9)	129 (11)	117 (20)	120 (8)
n	29	58	53	29	29	24	24
IVL	7,7	7,3	7,9	6,3	4,6	4,2	3,6

*Valores medios y coeficientes de variación entre paréntesis.

*P_{CH₄V} = Producción de metano (mL CH₄/L/d).

*RM = Rendimiento de metano = mL CH₄/g DQO_teliminada.

*Todos los valores de O₂ fueron 0 %.

*n = número de muestras

*Índice Volumétrico de Lodo (IVL).

- Índice volumétrico de lodos (IVL)

En la gráfica de la **Figura 3** se representa la evolución del IVL en las diferentes fases experimentales a 19 °C. Se puede observar una reducción en el IVL cuando el TRH se redujo de 36 a 6 h. Esto podría deberse al aumento en el flujo ascendente cuando se disminuyó el TRH, induciendo un proceso de agregación bacteriana como estrategia para evitar el arrastre por la corriente ascendente. Varios autores han señalado que el aumento de esta velocidad puede iniciar el proceso de granulación del lodo (Lim y Kim, 2014). De hecho, la granulación del lodo se observó por primera vez a un TRH de 6 h durante la estrategia de alimentación pulsada en la que la velocidad de flujo ascendente durante el pulso era de 0,85 m/h. Este valor se encuentra dentro del rango de velocidad de flujo ascendente recomendado por Lettinga y Hulshoff Pol (1991) (0,5 - 1 m/h) para estimular el proceso de granulación en sistemas de reactores UASB. Esta estrategia operativa de alimentación por pulsos podría ser adecuada para acelerar la granulación de lodos mediante la reducción secuencial del TRH (Hulshoff Pol et al., 2004). Además, evitaría

el lavado de la biomasa durante la puesta en marcha con un lodo anaerobio con alto IVL, gracias a la sedimentación estática entre las fases de pulsos. En la **Figura 3** se puede observar también un incremento de la capacidad de eliminación de DQO (CE) con la disminución en el TRH. Puede apreciarse como esta velocidad alcanza un valor estable de 1,2 gDQO / l día para TRH de 10 y 8 h que aumenta a 1,46 gDQO / l día, cuando el TRH se redujo a 6 h. El aumento de la CE coincide con el cambio morfológico de floculento a granular observado en los flocúlos al pasar a TRH de 6 h. Este cambio sugiere que tras la granulación del lodo, el reactor UASB podría funcionar a un TRH inferior a las 6 h, debido a su mejor capacidad de eliminación de la DQO (Hulshoff Pol et al., 2004). Este nuevo lodo granular se utilizó para comparar su rendimiento con el del lodo floculento a 17 °C. El lodo granular se caracterizó y se mantuvo en el mismo reactor (R3) donde se produjo para preservar su estructura granular.

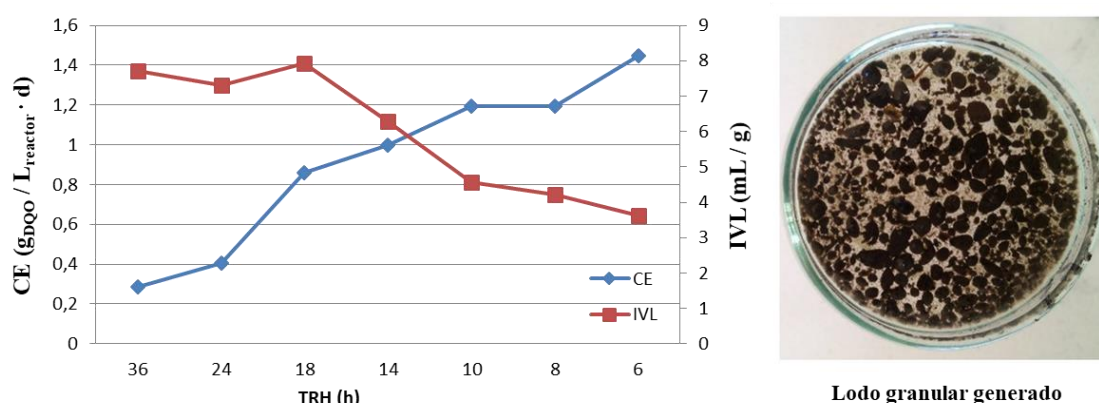


Figura 3: Capacidad de eliminación de la DQO (CE) a diferentes TRH, índice volumétrico de lodo (IVL) y foto del lodo granular generado.

Fase C (17 °C)

Adaptación 17 °C (Fase C1)

En este segundo período de adaptación de los 19 a 17 °C, se operaron los tres reactores UASB a un TRH de 24 h. No se encontraron diferencias significativas en la producción de metano entre los tres reactores ($R1 = 88 \pm 13,7$; $R2 = 82 \pm 19,5$ y $R3 = 85 \pm 20,4$ ml CH_4 / g DQO_{eliminada}; (I.C., $n=3$, $\alpha=0,05$)). En comparación con la producción media

obtenida a 19 °C y 24 h de TRH (143 ml CH₄ / g DQO_{eliminada}), a 17 °C fueron un 40 % inferiores. Esta disminución parece deberse únicamente al efecto de la disminución de la temperatura en la tasa de crecimiento de los microorganismos metanogénicos (Lettinga et al., 2001). No se observaron diferencias significativas en el reactor de lodo granular (R3) presumiblemente porque las ventajas estructurales de los lodos granulares pueden representar una mejora en el rendimiento del metano, principalmente a bajos TRH.

- *Rendimiento de los UASB a 17 °C.*

La composición del biogás se mantuvo estable bajo los diferentes TRH probados a 17 °C (**Tabla 3**) y similar a la composición observada a 19 °C. El descenso en el TRH de 18 a 14 h no produjo diferencias en los porcentajes de DQO_{eliminada}, SO₄⁻²_{eliminado} e hidrólisis. Se apreció un incremento en la velocidad de producción de metano (P_{CH4V}), como resultado del aumento de la Velocidad de Carga Orgánica (VCO).

Como puede observarse en la **Tabla 3**, el rendimiento de metano obtenido a las 10 h de TRH (R3) (126 ml CH₄ / g DQO_{eliminada}) fue similar a la obtenida para un TRH de 18 h (R1) (124 ml CH₄ / g DQO_{eliminada}). El rendimiento semejante de metano en ambos TRH puede explicarse por una mayor actividad metanogénica del lodo granular (R3), en comparación con el lodo floculento (R1), incluso a temperaturas más bajas (Lim y Kim, 2014). La estructura de lodo granular es más resistente a las variaciones ambientales como la temperatura, la falta de nutrientes y el pH, en comparación con el floculento (Liu y Tay, 2002). Este tipo de lodo también tiene mejores características de sedimentación, previniendo lavados debidos a disminuciones del TRH (Karadag et al., 2015). Comparando los resultados obtenidos entre los 19 y 17 °C, se aprecia una de reducción en el rendimiento de producción de metano similar para TRH de operación de 14 y 18 h (14 y 12 %, respectivamente) lo que viene a indicar que el rendimiento en la producción de metano está más influenciado por las temperaturas que por los TRH de operación

utilizados. La proporción de biomasa hidrolizada en los reactores UASB a 19 °C, trabajando al mismo TRH (14 y 10 h) que los UASB a 17 °C fue un 16 % superior para ambos TRH (**Tablas 2 y 3**). Esto indica la posibilidad de un proceso de acumulación de sólidos dentro del digestor correlacionado con la temperatura como influencia sobre el rendimiento de la comunidad bacteriana.

Tabla 3: Resultados de los UASB a 17 °C

Reactor (R)	1	2	3
TRH (h)	18	14	10
DQO _t eliminada (%)	74 (8)	72 (6)	60 (21)
DQO _s eliminada (%)	54 (24)	55 (18)	35 (30)
SO ₄ ⁻² eliminada (%)	88 (6)	88 (5)	63 (15)
CH ₄ (%)	80 (3)	80 (3)	81 (3)
CO ₂ (%)	5 (15)	5 (19)	5 (10)
N ₂ (%)	15 (17)	15 (19)	16 (25)
Hidrólisis (%)	43 (44)	42 (49)	37 (32)
P _{CH4V}	93 (18)	106 (18)	130 (23)
RM	124 (23)	117 (21)	126 (22)
n	28	28	9

*Valores medios y coeficientes de variación entre paréntesis.

*P_{CH4V} = velocidad de producción de metano (mL CH₄/L/d).

*RM = Rendimiento de producción de metano = mL CH₄/g DQO_teliminada.

*Todos los valores de O₂ fueron 0 %.

*n = número de muestras

La  No se encuentra el origen de la referencia. ilustra la velocidad de producción de biogás en los reactores UASB trabajando a 17 °C bajo distintos TRH. Una disminución irreversible en la producción de biogás se produjo en el reactor operado al TRH de 10 h. Este fallo se atribuye a la posible presencia de compuestos inhibidores en el agua residual de la depuradora. Al mismo tiempo que se produjo este suceso, se apreció un olor inusual similar a cebolla podrida (olor aliáceo) causado por el etanotiol o etilmercaptano, el cual puede inhibir el proceso de metanogénesis (van Leerdam et al., 2006), pudiendo proceder de algún vertido incontrolado a la red de saneamiento. Existen evidencias de que en las aguas residuales pueden aparecer compuestos inhibitorios que afectan a la digestión anaeróbica, como lo son los iones metálicos ligeros o los compuestos orgánicos tóxicos

(Chen et al., 2008). El resultado de este suceso fue totalmente inesperado ya que el reactor operado con lodo granular fue el más dañado a pesar de suponerse el más resistente a las variaciones físico-químicas. Es probable que esta disminución en los rendimientos, apreciada en los tres reactores y atribuida a una descarga puntual de componentes tóxicos, afectó proporcionalmente a los reactores en función de su TRH. Este incidente puede interpretarse como una razón suplementaria a la hora de elegir un TRH mínimo de operación, presentando entre los TRH probados en este estudio a las 14 h como el más adecuado cuando se trabaja con agua residual urbana a bajas temperaturas, incluso cuando se emplea lodo granular.

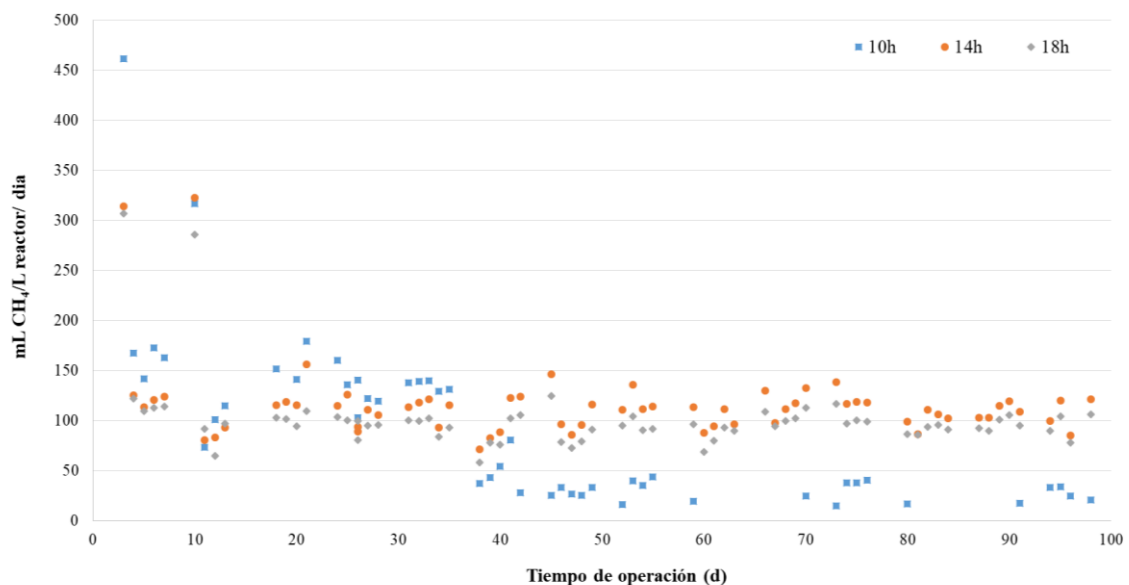


Figura 4: Estabilidad en la producción de biogás bajo distintos TRH a 17 °C

Balance de DQO

La distribución de las proporciones de DQO y sus correspondientes rendimientos de metano a los distintos TRH se presentan en la **Figura 5** (eje de la izquierda), indicándose como “remanente” la fracción de DQO que no se hidroliza y se acumula dentro del reactor, de acuerdo con Elmitwalli y Otterpohl (2011).

La fracción remanente se mantiene estable sobre el 19 % para los TRH de 36 a 10 h para ambas temperaturas (17 y 19 °C), presentando valores entorno a un 10-15 % superiores en el caso de los 17 °C para los TRH de 18, 11 y 10 h. Para los TRH de 8 y 6 h a 19 °C se produjeron incrementos de casi el 100 % con respecto al TRH de 10 h para la misma temperatura. El incremento en la fracción remanente está correlacionada con un descenso significativo en el rendimiento de producción de metano y la capacidad de hidrólisis para TRH inferiores a 10 h, descrito en la sección anterior en la **Tabla 2**. Esta relación directa entre el TRH y el descenso en la metanización también fue descrito por Uemura y Harada (2000) y Elmitwalli y Otterpohl (2011). Con respecto a la fracción de DQO atribuida al metano disuelto en el efluente, se mantuvo estable en torno al 6 % de la DQO total alimentada para todos los TRH y temperaturas experimentadas. El mantenimiento de esta proporción se debió a la solubilidad del metano en el agua, la cual está fomentada por los descensos de temperatura, pudiéndose apreciar un leve incremento en los UASB trabajando a 17 °C para TRH de 10 y 14 h, con respecto a los reactores trabajando a los mismos TRH pero a 19 °C (**Figura 5**).

Atendiendo a los resultados obtenidos en ambas temperaturas (17 y 19 °C), 14 h de TRH es el que mejor rendimiento de metano y capacidad de hidrólisis presenta a 17°C, tratando la mayor cantidad de agua (**Tabla 3**), mientras que a los 19 °C esta recomendación podría ser extendida hasta las 10 h de TRH, al presentar % de hidrólisis y rendimientos de metanos similares a los valores de 14 h de TRH (**Tabla 2**). Dada la necesidad de establecer parámetros de operación estables para la operación de EDARs reales, las 14 h de TRH pueden ser seleccionadas como el valor de TRH común más idóneo para trabajar bajo condiciones invernales.

A los 19 °C y TRH de 6 h se observó la granulación del lodo en el R3, que fue posteriormente operado durante el periodo de 17 °C a TRH de 10 h. Incluso con estas

diferencias morfológicas de lodos entre los reactores R1 y R2 (floculentos) con respecto a R3 (granular), se observa una distribución similar de la DQO tanto a 19 °C (R2) como a 17 °C (R3) para un TRH de 10 h. Aunque el descenso en el TRH mostró una mayor sensibilidad ante la posible entrada de tóxicos en el influente, como fue el caso del R3 a 17 °C y TRH = 10 h. El aumento de la acumulación de sólidos en los digestores trabajando durante largos periodos en condiciones invernales, puede ser motivo de un mal funcionamiento del digestor. De acuerdo con Chernicharo et al. (2015) la implementación de una estrategia adecuada de eliminación de lodos en exceso es uno de los puntos más importantes en la rutina operativa de reactores UASB. Este punto es aún más relevante a bajas temperaturas (alrededor de 18 °C), donde hay una mayor acumulación de lodo que afecta negativamente a la actividad hidrolítica y metanogénica, lo que eventualmente conduce al fallo del reactor. Algunos autores como Mahmoud et al. (2003) proponen la combinación de digestores de lodos con los reactores UASB para tratar la acumulación de sólidos y evitar esta situación.

El balance de DQO entre los reactores operados a 6 y 8 h de TRH a 19 °C no mostró diferencias significativas. De acuerdo a los resultados de la **Tabla 2** en lo referente a los rendimientos de metano, estos son muy similares, representando una mejora en el balance de DQO debida a la granulación del lodo que permite trabajar a TRH inferiores que el lodo floculento, tratando mayores volúmenes de agua con las mismas dimensiones de reactor.

El límite de operación anteriormente mencionado en el TRH de 14 h podría reducirse si se usan velocidades ascensionales que fomenten la granulación del lodo. Sin embargo, atendiendo a los resultados obtenidos, el descenso de TRH de 10 a 8 y 6 h a 19 °C (**Tabla 2**) mostró descensos del 50 % en la capacidad hidrolítica de los reactores, descenso que se mostró en menor medida (12 %) al cambiar de las 14 a las 10 h de TRH para 17°C

(Tabla 3). Esto podría llevar a un proceso de colmatación del digestor, por lo que el seguimiento del porcentaje de hidrólisis así como el balance de DQO pueden ser empleados como herramientas de seguimiento y control de la correcta operación del reactor, indicando tendencias hacia escenarios futuros que orienten la toma de decisiones. En base a los resultados obtenidos, la operación de digestores anaerobios UASB bajo temperaturas de 17 °C y TRH iguales o inferiores a 10 h, presenta limitaciones por acumulación de DQO, por lo que estrategias complementarias de purga de lodos pueden ser necesarias para mantener los niveles de sólidos en el efluente del digestor.

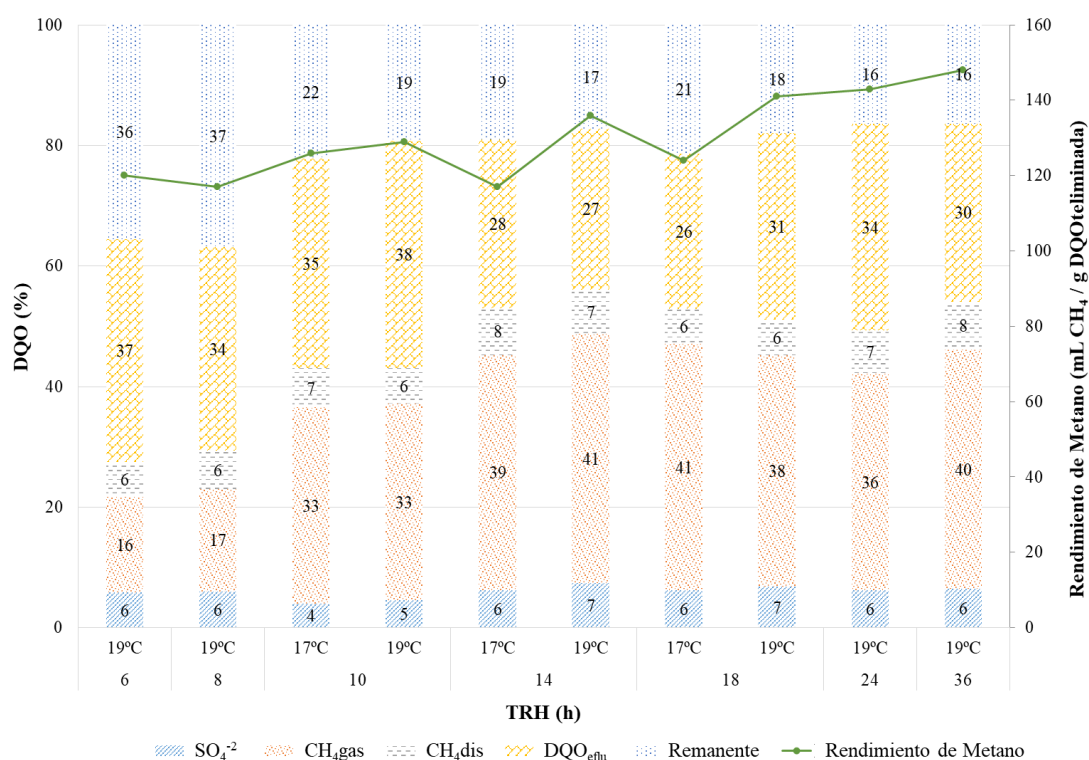


Figura 5: Balance de DQO a 19 y 17 °C a distintos TRH

Selección del TRH

Se evaluaron distintos parámetros para determinar, entre los TRH estudiados, el mejor TRH de operación utilizando agua residual urbana. El balance de DQO (Figura 5) mostró un incremento en la fracción remanente dentro de los reactores cuando los TRH descendieron de 14 y 10 h, para las dos temperaturas estudiadas. La proporción de sólidos atrapados en el interior de los reactores aumentó al mismo tiempo que disminuían la

DQO_{eliminada} y el rendimiento de metano (ml CH₄/g DQO_{eliminada}), mostrando un descenso en los rendimiento de los reactores UASB. Un resumen de los parámetros evaluados se presenta en la **Tabla 4**, mostrando los mejores resultados obtenidos en cada una de las temperaturas ensayadas.

Tabla 4: Parámetros de selección del TRH

T ^a (°C)	19		17	
TRH (h)	14	10	14	10
DQO _{eliminada} (%)	73	64	72	60
RM	136	129	117	126
Remanente (%)	17	19	19	22

*Las celdas sombreadas en verde indican los valores mejores valores dentro de la comparación realizada

*RM = Rendimiento de metano = mL CH₄/g DQO_{eliminada}.

*Remanente % = fracción de DQO acumulada en el reactor y no hidroliza.

Teniendo en cuenta todos los resultados anteriores (balance de DQO, rendimiento de metano, DQO_{eliminada} (%) y fracción remanente), el TRH de 14 h parece ser el más adecuado para ambas temperaturas estudiadas. Este TRH evita la acumulación excesiva de sólidos no hidrolizados dentro del reactor UASB y permite un tiempo de recuperación más corto en caso de vertidos tóxicos.

CONCLUSIONES

1. La granulación del lodo puede ser propiciada utilizando un sistema de pulsos a bajos tiempos de retención hidráulica (6 h), lo que permite trabajar a TRH inferiores que cuando se opera con lodos floculentos, tratando mayores volúmenes de agua con las mismas dimensiones de reactor.
2. La capacidad hidrolítica y la producción de metano se vieron afectados por las variaciones en la temperatura, TRH y composición del agua residual, identificándose el TRH de 14 h como el más apropiado, bajo las condiciones de estudio, para tratar el agua residual municipal, debido a que se observó una acumulación excesiva de sólidos sin digerir en el reactor cuando se operó con TRH inferiores a este valor.
3. A TRH de 14 h se obtuvieron los mejores rendimiento de metano ($136 \text{ ml CH}_4 / \text{g DQO}_{\text{eliminada}}$) para los reactores trabajando a 19°C , mientras que en el caso de los de 17°C , el TRH de 10 h fue el que presentó los mejores rendimientos ($126 \text{ ml CH}_4 / \text{g DQO}_{\text{eliminada}}$).
4. El tratamiento anaerobio de agua municipal en climas templados puede ser factible utilizando la herramienta de balance de DQO, incrementando la expansión geográfica de esta tecnología.

BIBLIOGRAFÍA

- ABDELGADIR, A., CHEN, X., LIU, J., XIE, X., ZHANG, J., ZHANG, K., WANG, H. & LIU, N. 2014. Characteristics, Process Parameters, and Inner Components of Anaerobic Bioreactors. *BioMed Research International*, 2014, 10.
- ÁLVAREZ, J. A., ARMSTRONG, E., GÓMEZ, M. & SOTO, M. 2008. Anaerobic treatment of low-strength municipal wastewater by a two-stage pilot plant under psychrophilic conditions. *Bioresource Technology*, 99, 7051-7062.
- APHA 2005. Standard methods for the examination of water and wastewater. 18th ed. New York.
- BODKHE, S. Y. 2009. A modified anaerobic baffled reactor for municipal wastewater treatment. *Journal of Environmental Management*, 90, 2488-2493.
- CASTELLS, X. E., RIPOLL, X. F. & POZUELO, E. C. 2012. *Procesos biológicos. La digestión anaerobia y el compostaje: Tratamiento y valorización energética de residuos*, Editorial Díaz de Santos, S.A.
- CHEN, Y., CHENG, J. J. & CREAMER, K. S. 2008. Inhibition of anaerobic digestion process: A review. *Bioresource Technology*, 99, 4044-4064.
- CHERNICHARO, C. A. L., VAN LIER, J. B., NOYOLA, A. & BRESSANI RIBEIRO, T. 2015. Anaerobic sewage treatment: state of the art, constraints and challenges. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 14, 649-679.
- CHICLANA-NATURAL 2004. Diagnóstico Ambiental de Chiclana de la Frontera. *Chiclana Natural* S.A., Environmental diagnostic.
- CHONG, S., SEN, T. K., KAYAALP, A. & ANG, H. M. 2012. The performance enhancements of upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors for domestic sludge treatment - A State-of-the-art review. *Water Research*, 46, 3434-3470.
- DAELMAN, M. R. J., VAN VOORTHUIZEN, E. M., VAN DONGEN, U. G. J. M., VOLCKE, E. I. P. & VAN LOOSDRECHT, M. C. M. 2012. Methane emission during municipal wastewater treatment. *Water Research*, 46, 3657-3670.
- DAUD, M. K., RIZVI, H., AKRAM, M. F., ALI, S., RIZWAN, M., NAFEES, M. & JIN, Z. S. 2018. Review of upflow anaerobic sludge blanket reactor technology: Effect of different parameters and developments for domestic wastewater treatment. *Journal of Chemistry*, 2018.
- ELMITWALLI, T. & OTTERPOHL, R. 2011. Grey water treatment in upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor at different temperatures. *Water Sci Technol*, 64, 610-7.
- ELMITWALLI, T. A., SKLYAR, V., ZEEMAN, G. & LETTINGA, G. 2002. Low temperature pre-treatment of domestic sewage in an anaerobic hybrid or an anaerobic filter reactor. *Bioresource Technology*, 82, 233-239.
- ERDIRENCELEBI, D., OZTURK, I. & UBAY COKGOR, E. 2007. System Performance in UASB Reactors Receiving Increasing Levels of Sulfate. *CLEAN – Soil, Air, Water*, 35, 275-281.
- HEIDRICH, E. S., CURTIS, T. P. & DOLFING, J. 2011. Determination of the Internal Chemical Energy of Wastewater. *Environmental Science & Technology*, 45, 827-832.
- HULSHOFF POL, L. W., DE CASTRO LOPES, S. I., LETTINGA, G. & LENS, P. N. 2004. Anaerobic sludge granulation. *Water Res*, 38, 1376-89.
- JULES B., V. L., ANAND, V., JEROEN, V. D. L. & BARRY, H. 2012. Anaerobic Sewage Treatment using UASB Reactors: Engineering and Operational Aspects. *Environmental Anaerobic Technology*. IMPERIAL COLLEGE PRESS.
- KARADAG, D., KOROGLU, O. E., OZKAYA, B., CAKMAKCI, M., HEAVEN, S., BANKS, C. & SERNA-MAZA, A. 2015. Anaerobic granular reactors for the treatment of dairy wastewater: A review. *International Journal of Dairy Technology*, 68, 459-470.
- KASHYAP, D. R., DADHICH, K. S. & SHARMA, S. K. 2003. Biomethanation under psychrophilic conditions: a review. *Bioresour Technol*, 87, 147-53.
- LETTINGA, G. & HULSHOFF POL, L. W. UASB Process design for various types of wastewaters. Proc. IAWPRC Int. Specialized Workshop, Valladolid, 1990. *Water Sci. Technol.* 24,8 (1991) 87-109., 1991.
- LETTINGA, G., REBAC, S. & ZEEMAN, G. 2001. Challenge of psychrophilic anaerobic wastewater treatment. *Trends in Biotechnology*, 19, 363-370.
- LEW, B., TARRE, S., BELAVSKI, M. & GREEN, M. 2004. UASB reactor for domestic wastewater treatment at low temperatures: a comparison between a classical UASB and hybrid UASB-filter reactor. *Water Sci Technol*, 49, 295-301.
- LIM, S. J. & KIM, T.-H. 2014. Applicability and trends of anaerobic granular sludge treatment processes. *Biomass and Bioenergy*, 60, 189-202.

- LIU, Y. & TAY, J. H. 2002. The essential role of hydrodynamic shear force in the formation of biofilm and granular sludge. *Water Res*, 36, 1653-65.
- LOBATO, L. C. S., CHERNICHARO, C. A. L. & SOUZA, C. L. 2012. Estimates of methane loss and energy recovery potential in anaerobic reactors treating domestic wastewater. *Water Science & Technology*, 66, 2745-2753.
- LONGO, S., D'ANTONI, B. M., BONGARDS, M., CHAPARRO, A., CRONRATH, A., FATONE, F., LEMA, J. M., MAURICIO-IGLESIAS, M., SOARES, A. & HOSPIDO, A. 2016. Monitoring and diagnosis of energy consumption in wastewater treatment plants. A state of the art and proposals for improvement. *Applied Energy*, 179, 1251-1268.
- MADDEN, P., AL-RAEI, A., ENRIGHT, A.-M., CHINALIA, F. A., DE BEER, D., O'FLAHERTY, V. & COLLINS, G. 2014. Effect of sulphate on low-temperature anaerobic digestion. *Frontiers in Microbiology*, 5.
- MAHMOUD, N., ZEEMAN, G., GIJZEN, H. & LETTINGA, G. 2003. Solids removal in upflow anaerobic reactors, a review. *Bioresource Technology*, 90, 1-9.
- METCALF, EDDY, I., TCHOBANOGLOUS, G., BURTON, F. & STENSEL, H. D. 2002. *Wastewater Engineering: Treatment and Reuse*, McGraw-Hill Education.
- SATO, N., OKUBO, T., ONODERA, T., AGRAWAL, L. K., OHASHI, A. & HARADA, H. 2007. Economic evaluation of sewage treatment processes in India. *Journal of Environmental Management*, 84, 447-460.
- SINGH, K. S. & VIRARAGHAVAN, T. 2004. Municipal wastewater treatment by UASB process: start-up at 20 degrees C and operation at low temperatures. *Environ Technol*, 25, 621-34.
- SUBTIL, E. L., CASSINI, S. T. A. & GONÇALVES, R. F. 2012. Sulfate and dissolved sulfide variation under low COD/Sulfate ratio in Up-flow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) treating domestic wastewater. *Revista Ambiente & Água*, 7, 130-139.
- UEMURA, S. & HARADA, H. 2000. Treatment of sewage by a UASB reactor under moderate to low temperature conditions. *Bioresource Technology*, 72, 275-282.
- VAN LEERDAM, R. C., DE BOK, F. A. M., LOMANS, B. P., STAMS, A. J. M., LENS, P. N. L. & JANSSEN, A. J. H. 2006. Volatile organic sulfur compounds in anaerobic sludge and sediments: Biodegradation and toxicity. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 25, 3101-3109.
- VELASCO, A., RAMIREZ, M., VOLKE-SEPULVEDA, T., GONZALEZ-SANCHEZ, A. & REVAH, S. 2008. Evaluation of feed COD/sulfate ratio as a control criterion for the biological hydrogen sulfide production and lead precipitation. *J Hazard Mater*, 151, 407-13.

CAPÍTULO 2

Variaciones estacionales de la producción de biogás en la depuración de aguas residuales urbanas mediante reactores UASB a escala piloto.

El presente capítulo está pendiente de ser enviado a la revista Bioresource Technology.

ANTECEDENTES

El tratamiento de las aguas residuales urbanas ha sido tradicionalmente abordado desde el punto de vista de tratamientos aerobios. Sin embargo, las tendencias actuales sobre ahorro de energía y reducción en las producciones de lodos han llevado a considerar las tecnologías de tratamiento anaerobio como una alternativa apropiada (Dutta et al., 2018). Los procesos biológicos anaerobios para el tratamiento de las aguas residuales presenta una serie de inconvenientes, que incluyen: la sensibilidad del rendimiento del proceso a la temperatura, los rendimientos de eliminación de DQO, sólidos y nutrientes, la generación de malos olores, la eliminación de patógenos y la emisión de gases de efecto invernadero (Chernicharo et al., 2015, Crone et al., 2016). Sin embargo, se han hecho grandes avances como la introducción de reactores de alta carga donde el tiempo de retención de sólidos y líquidos están desacoplados, llevando a procesos más estables en los que se mejora la etapa de hidrólisis (Daud et al., 2018). Desde que en 1980 se introdujo la tecnología de reactores anaerobios de flujo ascendente (UASB), el 60 % de la tecnología anaerobia aplicada a efluentes de industria (agroalimentaria, cervecerías, destilerías, etc.) consiste en este tipo de reactores, siendo Japón, Alemania, Holanda, EEUU e India los países con mayor número de instalaciones (Chernicharo et al., 2015). Asimismo es frecuente su uso en el tratamiento de aguas residuales urbanas en países con condiciones climáticas favorables, como Brasil, México y Colombia, donde se han logrado eficiencias de eliminación de DBO₅, DQO y Sólidos en torno al 70 – 90 % (Salazar-Larrotta et al., 2019). Sin embargo, su uso en países con climas fríos o de elevada estacionalidad no ha tenido tanto éxito, particularmente en aquellos en los que las temperaturas del agua residual desciende por debajo de 18 °C, siendo necesario un nuevo enfoque para su aplicabilidad a bajas temperaturas (Chernicharo et al., 2015). Aunque el tratamiento de las aguas residuales únicamente por medio de los UASB no llega a

alcanzar los límites de vertido generalmente demandados por la legislación (Vassalle et al., 2020, de Godos et al., 2016), su combinación con otras tecnologías en plantas mixtas con pos-tratamiento, permite alcanzar reducciones de los costes de inversión (CAPEX) de entre el 20 – 50 % y de los costes de operación (OPEX) superiores al 50 %, en comparación con estaciones depuradoras convencionales basadas en la tecnología de lodos activados (Chernicharo et al., 2019).

Por otra parte, el aumento de la solubilidad del CH₄ al disminuir la temperatura del agua residual, no solo supone una pérdida de parte de la energía producida sino que incrementa las emisiones de gases de efecto invernadero (Crone et al., 2016). Estos escapes de metano pueden representar entre un 20 y un 70 % de la producción teórica de metano (Daud et al., 2018) en reactores anaerobios. Para intentar disminuir estos riesgos y lograr el máximo aprovechamiento del potencial energético de este biogás se han propuesto sistemas de recuperación con los que se han conseguido recuperaciones de hasta el 92,6 % del metano disuelto (Crone et al., 2016).

La operación de reactores anaerobios en regiones con cambios estacionales marcados supone un reto debido a la influencia negativa del descenso de temperatura sobre la capacidad hidrolítica de la materia particulada, lo que lleva a tener que aumentar los TRH y/o un descenso en el rendimiento de los reactores anaerobios (Chernicharo et al., 2015, Daud et al., 2018). Asimismo, variaciones en la composición del agua residual, como por ejemplo en la concentración de sulfatos, puede determinar la estabilidad de los procesos metanogénicos en su competición con otros tipos de microorganismos, como son las bacterias sulfato-reductoras (Subtil et al., 2012).

MATERIAL Y MÉTODOS

Reactores UASB

Constan de dos reactores UASB de 20 m³ de 4,3 m de altura y 2,5 m de diámetro (**Figura 1A**), los cuales se alimentaron con agua residual urbana de la EDAR “El Torno” (36° 25’38.0’’ N – 6° 09’22.0’’ W), localizada en Chiclana de la Frontera y diseñada para una población de 53.000 habitantes equivalentes. Estos reactores fueron construidos en fibra de vidrio y cuentan con un separador trifásico interno (agua, sólidos y gas) en la parte superior (**Figura 2**). Cada reactor contó con un sistema de recirculación externa para medir en continuo el pH y la temperatura mediante una sonda HACH CRI5303.99 y potencial redox mediante un electrodo modelo 5362.

La alimentación a los reactores se realizó desde un tanque de alimentación (**Figura 1 B**) de 1 m³, alimentado con el agua residual de la salida de pretratamiento de la EDAR (desbaste + desarenado-desengrasado), previo tamizado con un rototamiz de 1 mm. El flujo de agua residual hacia el tanque de alimentación se produjo en continuo (TRH = 6 min) contando con un rebosadero por el que el agua residual no consumida retronó a cabecera de la EDAR. En este tanque de alimentación contó con una sonda de conductividad para detener la alimentación de los reactores UASB cuando ésta superaba los 3 mS/cm, situación que acontecía en días con elevado coeficiente de pleamar por intrusión de agua marina en la red de saneamiento de la ciudad.

La alimentación de los reactores se realizó desde el tanque receptor mediante 2 bombas mono (Mono® Noy C23K, Q=0-3 m³/h) (**Figura 1B**). Los caudales alimentados empleados fluctuaron entre 0,4 – 2,5 m³/h en función de los TRH operacionales fijados durante la experimentación.

El biogás producido se almacenó y midió mediante dos gasómetros de cúpula flotante de 0,2 m³ cada uno. El vaciado de dichos gasómetros se hizo de forma automática, mediante el uso de sensores ópticos de proximidad que controlaron la apertura y cierre de las válvulas neumáticas de vaciado de los gasómetro, al llegar a las alturas fijadas como niveles máximo y mínimo (**Figura 1C**).



Figura 1: (A) Reactor anaerobio UASB, (B) tanque receptor de agua tamizada, y bombas de alimentación y (C) gasómetros de cúpula flotante.

Estrategias de alimentación.

La alimentación de los reactores UASB se realizó tanto en continuo como mediante un sistema de pulsos (PUSH) patentado por Aqualia (EP3009408B1) (**Figura 2**). El sistema de alimentación por pulsos consistió en la instalación de un depósito de 200 l en la parte superior del reactor, donde se almacenó el agua residual hasta llegar a un nivel máximo controlado por boyas. Una vez alcanzado este nivel, se descargaron los 200 l de agua en la parte inferior del reactor en uno de los 4 puntos de descarga, alternándose entre pulsos.

Este modo de alimentación permitió alcanzar velocidades ascensionales puntuales de hasta 8,6 m/h en cada pulso, incrementando la agitación del reactor y logrando, por tanto, un mejor contacto entre las bacterias anaerobias presentes en el manto de lodo y la materia orgánica presente en el agua residual

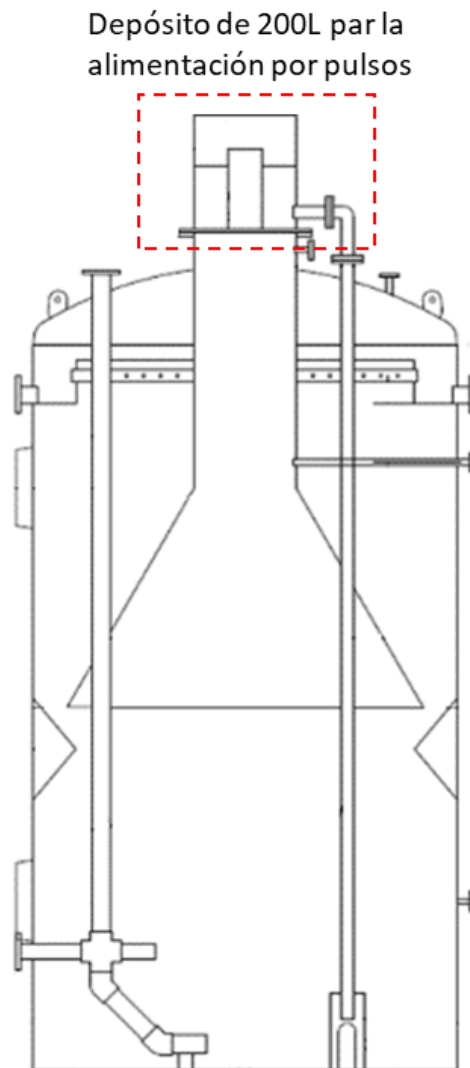


Figura 2: Sistema PUSH de los reactores UASB (figura adaptada de la patente número EP3009408B1).

Durante el tiempo de experimentación (340 días) se pueden diferenciar cuatro fases en las que se modificaron las condiciones experimentales (**Figura 3**)

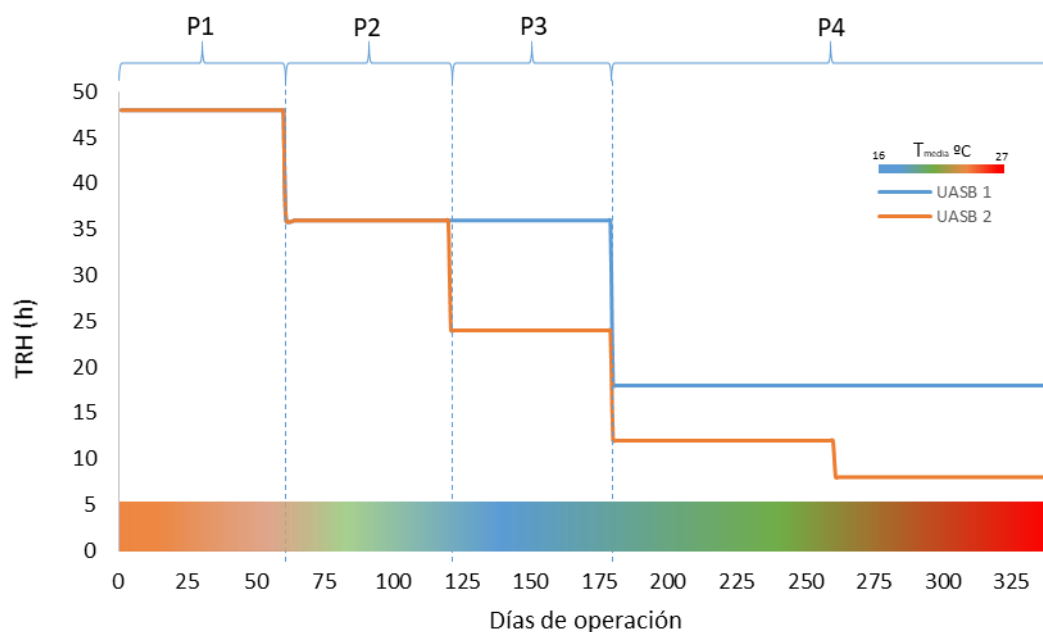


Figura 3: Representación de los períodos de experimentación junto con las variaciones térmicas estacionales de cada período.

P1: Inoculación, arranque y estabilización (60 días, TRH = 48 h): A finales de agosto se inocularon los UASB, utilizando 10 m³ por reactor de un lodo anaerobio procedente de los reactores anaerobios de lodos de la EDAR de Guadalete, en Jerez de la Frontera (**Figura 4**). Caracterizado en sólidos suspendidos volátiles (SSV = 15,67 g/l), actividad metanogénica específica (AME = 0,043 g DQO/g SSV) e índice volumétrico de lodo (IVL = 69,2 ml/g SST). La alimentación se estableció en régimen continuo.



Figura 4: Lodo anaerobio empleado para la inoculación de los reactores UASB

P2: Descenso en el TRH (60 días, TRH = 36 h): Este período comprendido entre octubre y noviembre, en el que se disminuyeron los TRH de ambos reactores UASB a 36 h.

P3: Diferencias entre alimentación en continuo o con pulsos (60 días, 36 y 24 h TRH):

Durante este período se mantuvo el TRH del UASB 1 en 36 h, mientras que se descendió el del UASB 2 a 24 h. Este cambio se mantuvo durante 60 días distinguiéndose dos condiciones:

- **P3a:** 30 días con un régimen de alimentación en continuo de ambos reactores.
- **P3b:** 30 días de alimentación por pulsos de ambos UASB.

P4: Operación a bajos TRH (160 días, 18, 12 y 8 h de TRH): En este período se redujeron los TRH de operación de los UASB en dos etapas, manteniendo la estrategia de alimentación mediante pulsos:

P4a: Se descendieron los TRH en ambos reactores UASB, pasando el UASB 1 de 36 a 18 h y el UASB 2 de 24 a 12 h (80 días).

P4b: Se mantuvo el TRH del UASB 1 en 18 h y se redujo el del UASB 2 de 12 a 8 h (80 días).

Sistema de recuperación de metano disuelto.

Para la determinación de las cantidades de metano disueltas en el efluente de los reactores UASB se diseñaron dos prototipos de diferentes volúmenes (**Figura 5**). Estos prototipos se operaron dentro del periodo P4a, usando el efluente del UASB 1 a 18 h de TRH. Los prototipos contaron con volúmenes de 45 l (p45) y 166 l (p166). El sistema de recuperación de metano empleado se basó en la descompresión de la corriente de salida del reactor UASB, fomentada por la caída por gravedad desde 2 m de altura dentro de un reactor cerrado, en el que al entrar el agua por el espacio en cabeza e impactar contra la pared interna del reactor, se incrementó la turbulencia, provocando que parte del CH₄ disuelto se liberase como consecuencia del incremento de la superficie del agua en contacto con el aire del espacio en cabeza, junto con otros gases como el N₂, CO₂ y H₂S. El agua desgasificada salió de manera constante por

un tubo en U en la base del reactor para evitar el escape de las burbujas de gas generadas en la parte superior del mismo. El gas liberado en el espacio en cabeza se almacenó y cuantificó en un gasómetro de cúpula flotante de 0,12 m³ equipado con sistema de vaciado automático y conteo de pulsos de llenado, a través de un controlador lógico programable (PLC).

P45 operó bajo la presión generada por el gas liberado durante la desgasificación (12 mBar) y p166 fue sometido a un control de la presión regulado por una bomba peristáltica de succión Albin pump II 3 G, conectada al espacio en cabeza del prototipo y al gasómetro. El control de la bomba peristáltica se realizó mediante una sonda de presión Sensovant SHP-P conectada a un PLC de control, en el que se fijaron las presiones deseadas (-50 a 12 mbar) para comprobar el rendimiento del sistema bajo distintas condiciones. Las características de ambos prototipos se presentan en la **Tabla 1**.

Tabla 1: Principales características de los pilotos de recuperación de metano

	p45	p166
Volumen Total (l)	45	166
Caudal entrada (m³/h)	0,93	4,11
HRT (min)	2,1	1,3
Presión de vacío (mbar)*	12	(-50) - 12
T_{H2O} (°C)	18, 24	18,5 - 22,2
<i>* La presión de 12 mbar es la presión mínima ejercida por el gasómetro de cúpula flotante</i>		

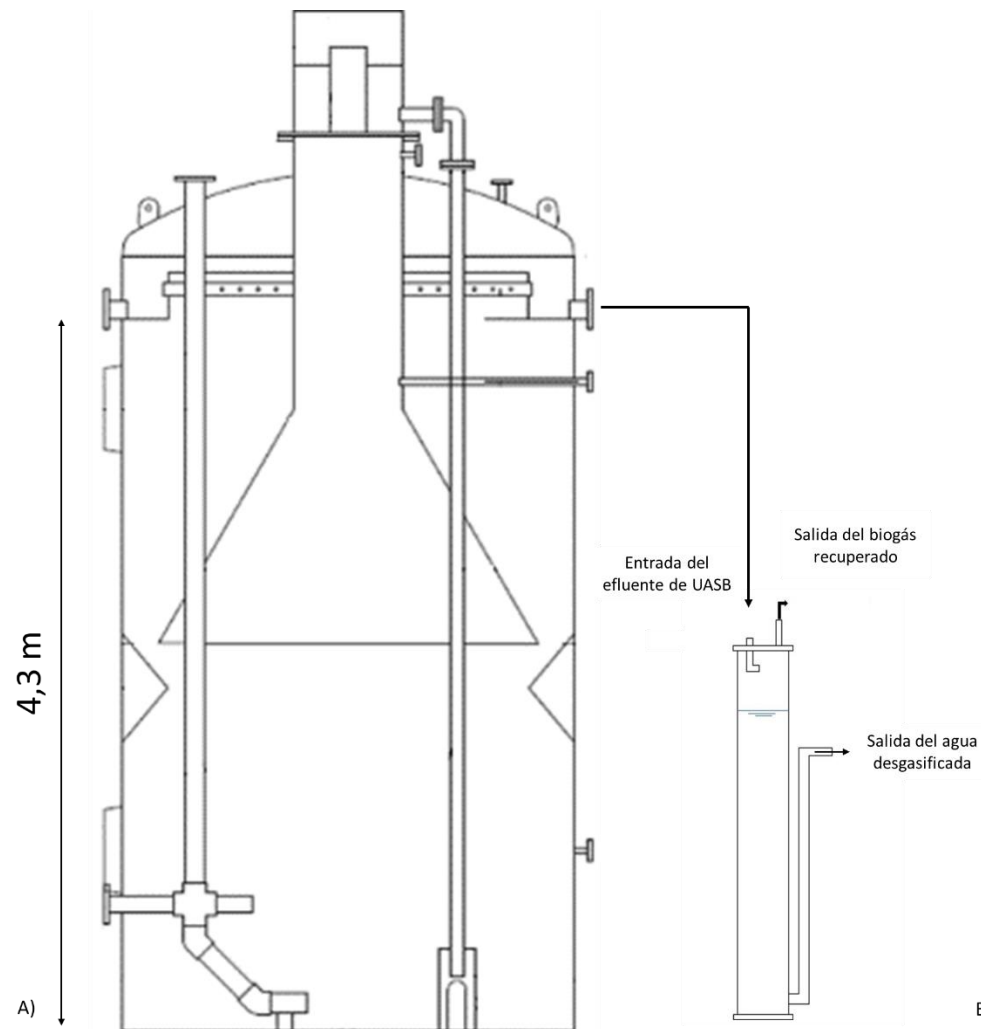


Figura 5: A) Esquema de diseño del sistema de recuperación de metano disuelto. B) Fotografías de los dos prototipos empleados (p45 y p166).

Analíticas

La muestra de agua residual de entrada se recolectó dos veces por semana mediante una bomba peristáltica automática mp2-r – 4 l/h 230 VAC, conectada al tanque de alimentación de agua filtrada, obteniendo una muestra compuesta refrigerada de 24 h. La muestra del efluente de los reactores UASB se recolectó dos veces a la semana de forma puntual. Los parámetros de análisis fueron: DQO (métodos estándar 5220 C y 5220 D), SST y SSV (método estándar 2540 D), Sulfato (método estándar 4500-SO₄²⁻ E), Amonio (método estándar 4500-NH₃ D), Fósforo (método estándar 4500-PC), alcalinidad (método estándar 2320 B) (APHA, 2005).

La composición del biogás producido (CH₄, CO₂, O₂ y H₂S) se determinó utilizando un analizador de gases portátil COMBIMASS® GA-m. Una muestra de gas estándar (65 % de CH₄ y 35 % de CO₂) suministrada por la empresa Air liquide, fue usada como patrón para comprobar el correcto funcionamiento del analizador de gases una vez al mes.

El análisis de la concentración del metano disuelto en el efluente se realizó mediante el método empleado por (Daelman et al., 2012), dicho método se basa en el efecto salting-out, en el cual se añade sal a una solución acuosa en una concentración suficientemente alta para desplazar los gases disueltos del líquido. Si esto se hace en un recipiente cerrado, los gases disueltos se acumulan en el espacio en cabeza donde se puede analizar la composición del gas y por tanto es posible determinar la cantidad de gas disuelto en el líquido. La determinación de la concentración de metano liberado se realizó mediante el uso de un cromatógrafo de gases (450-GC, Bruker – Spain), equipado con un detector de conductividad térmica (TCD).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Agua residual de alimentación

Las composiciones promedio del agua residual de entrada en los diferentes periodos experimentales se presentan en la **Tabla 2**. En general, tal y como se discutió en el capítulo anterior, este agua puede ser clasificada como de “carga contaminante media – alta según la clasificación propuesta por Metcalf et al. (2002). Sin embargo, los sulfatos presentaron valores por encima de los fijados para esta clasificación debido a las intrusiones de agua de mar en la EDAR, haciendo fluctuar los ratios DQO/SO₄⁻² entre 3,75 (P3a) y 9,5 (P4b). Cuando los valores de conductividad superaron los 3 mS/cm, la alimentación a los reactores UASB se detuvo para prevenir la inhibición de las bacterias anaerobias por choque osmótico (Madden et al., 2014, Hu et al., 2015).

Tabla 2: Características del agua residual durante los periodos de experimentación

PERIODOS	días d	DQOt mg O ₂ /l	SST mg/l	SSV mg/l	SO ₄ ⁻² mg/l	NH ₄ ⁺ mg/l	PO ₄ mg/l	DQOt : SO ₄ ⁻² -	T ^a °C	
P1	60	629±161	233±100	191±68	122±36	36±5	6±1	6±2	22-26	
P2	60	577±87	187±34	158±29	97±16	56±11	7±1	6±1	19-24	
P3	A	30	424±97	128±25	110±21	113±30	47±8	6±1	4±2	16-19
	B	30	556±100	171±50	149±42	89±16	46±2	3±4	5±2	16-20
P4	A	80	666±114	247±55	212±44	78±10	45±6	7±1	9±2	19-24
	B	80	714±108	244±74	203±65	75±9	44±7	7±0,4	10±2	21-27
Media - Alta ⁽¹⁾	-	430 - 800	210 - 400	160 - 315	30 - 50	25 - 45	5 - 10	-	-	

⁽¹⁾“Agua residual de carga contaminante media-alta (Metcalf et al., 2002)

Durante los distintos períodos de experimentación la temperatura del agua fluctuó acorde con las estaciones (otoño (P1 y P2), invierno (P2 y P3), primavera (P4a y P4b) y verano (P4b)), así como los niveles de fósforo. Las variaciones estacionales en las concentraciones de DQO, sólidos y fosfatos, se ven reforzadas por los episodios de lluvias en los que parte de las aguas pluviales llegan a la EAR a través de la red de saneamiento unitaria. Este efecto de dilución no ocurre en el periodo estival donde se aprecian

aumentos del 40 y 47 % en las concentraciones de DQO y sólidos, respectivamente, en comparación con los valores mínimos alcanzados durante el invierno. Esta variación estacional no se aprecia tan claramente en el caso del amonio, donde se mantienen niveles en torno a los 46 mg NH₄/l. En el caso del fósforo, los valores en la mayoría de los periodos rondaron los 7 mg/l. La proporción entre las concentraciones de DQO y Sulfatos es determinante para el buen funcionamiento de los reactores anaerobios, inhibiéndose la metanogénesis cuando este es inferior a 8 y promoviéndose a partir de 10 (Subtil et al., 2012). Como puede observarse en la **Tabla 2**, la relación DQO:sulfatos es inferior a 8 en tres de los cuatro periodos experimentales, por lo que para P1, P2 y P3 los resultados pudieron estar influenciados por ésta característica del agua de alimentación.

Resultados de los periodos

P1: Inoculación, arranque y estabilización

El proceso de arranque de los reactores UASB es complicado y está influenciado por muchos factores entre los que se encuentran las características del agua, el inóculo, pH, nutrientes, presencia de compuestos tóxicos, TRH, velocidad ascensional, mezcla interna del reactor, así como las condiciones climáticas (Rizvi et al., 2015). Los dos reactores UASB se operaron durante 60 días tras su inoculación bajo un régimen de alimentación continua a un TRH de 48 horas. Los rendimientos observados tras la inoculación (**Figura 6**) no sufrieron grandes cambios desde el inicio del proceso de estabilización con respecto a la eliminación de sólidos totales y la DQO soluble, mientras que la capacidad de eliminación de sulfatos sí mostró una evolución incrementándose alrededor del 20 % respecto a los rendimientos iniciales. Estos resultados para la DQO soluble, son inferiores a los citados por la literatura, donde en la mayoría de los casos se alcanzan eficiencias de eliminación es de más del 60 % empleando distintos tipos de aguas residuales (Hamza et al., 2016), siendo el valor medio obtenido de 50 % $\pm$ 5,47 (n=25, $\alpha=0.05$). En un estudio similar

a escala laboratorio Singh y Viraraghavan (1998) obtuvieron, tras 60 días de arranque, eficiencias de eliminación de DQO del orden de 80 – 85 % para reactores operados a 20 °C. Esta diferencia puede atribuirse a varios factores. Uno podría ser el diseño del reactor, ya que Daud et al. (2018) ha descrito que para relaciones altura/diámetro pequeñas, pueden experimentarse formaciones de canales preferentes, afectando a la correcta mezcla del sustrato con la biomasa. Hamza et al. (2016) presentaron valores de las relaciones altura/diámetro recogidos en la literatura, incidiendo en la elevada variabilidad en el diseño de estos reactores, fluctuando esta relación entre 7 y 20, estando en nuestro caso en 1,7. Otra posible causa de la baja eficacia registrada puede ser la procedencia del lodo usado para la inoculación. El uso de un lodo más estabilizado, en nuestro caso se utilizó lodo procedente de un digestor trabajando bajo temperatura mesófila (35 °C) y alimentado con lodo de depuradora, a las condiciones operacionales impuestas, podría haber disminuido el tiempo de arranque y haber conseguido unos rendimientos mayores (Abdelgadir et al., 2014). Por otro lado, las variaciones en los niveles de sulfatos pueden correlacionarse con aquellas observadas en el agua residual alimentada, que pudo verse influenciada por los episodios de lluvias registrados (**Figura 7**), en los que se observaron algunos de los valores pluviométricos más elevados de toda la fase experimental con volúmenes acumulados de 92,4 l/m² para el mes Octubre de 2015. Como consecuencia de estas lluvias, los aportes del río aumentaron y al coincidir con las subidas de marea introdujeron agua marina en el sistema de alcantarillado que conduce a la EDAR.

Durante este período experimental, la temperatura del agua residual de alimentación fluctuó entre los 22 y 26 °C. Estas temperaturas son consideradas como moderadas y propician los procesos de hidrólisis y el crecimiento bacteriano (Daud et al., 2018), condiciones favorables para la adaptación de la biomasa bacteriana a su nuevo medio, por

lo que es posible descartar la temperatura como uno de los factores que puedan haber causado los bajos rendimientos de eliminación de DQO y sólidos.

Las producciones de metano registradas fueron de $0,15 \pm 0,03$ y $0,12 \pm 0,02$ m³ CH₄/kg DQO_{eliminada}, para el UASB 1 y 2 respectivamente. Estos rendimientos son próximos a los registrados por Singh y Viraraghavan (1998) en UASB alimentados con agua residual urbana, a 20 ± 1 °C y a un TRH de a 20 h ($0,15$ m³ CH₄/kg DQO_{eliminada}).

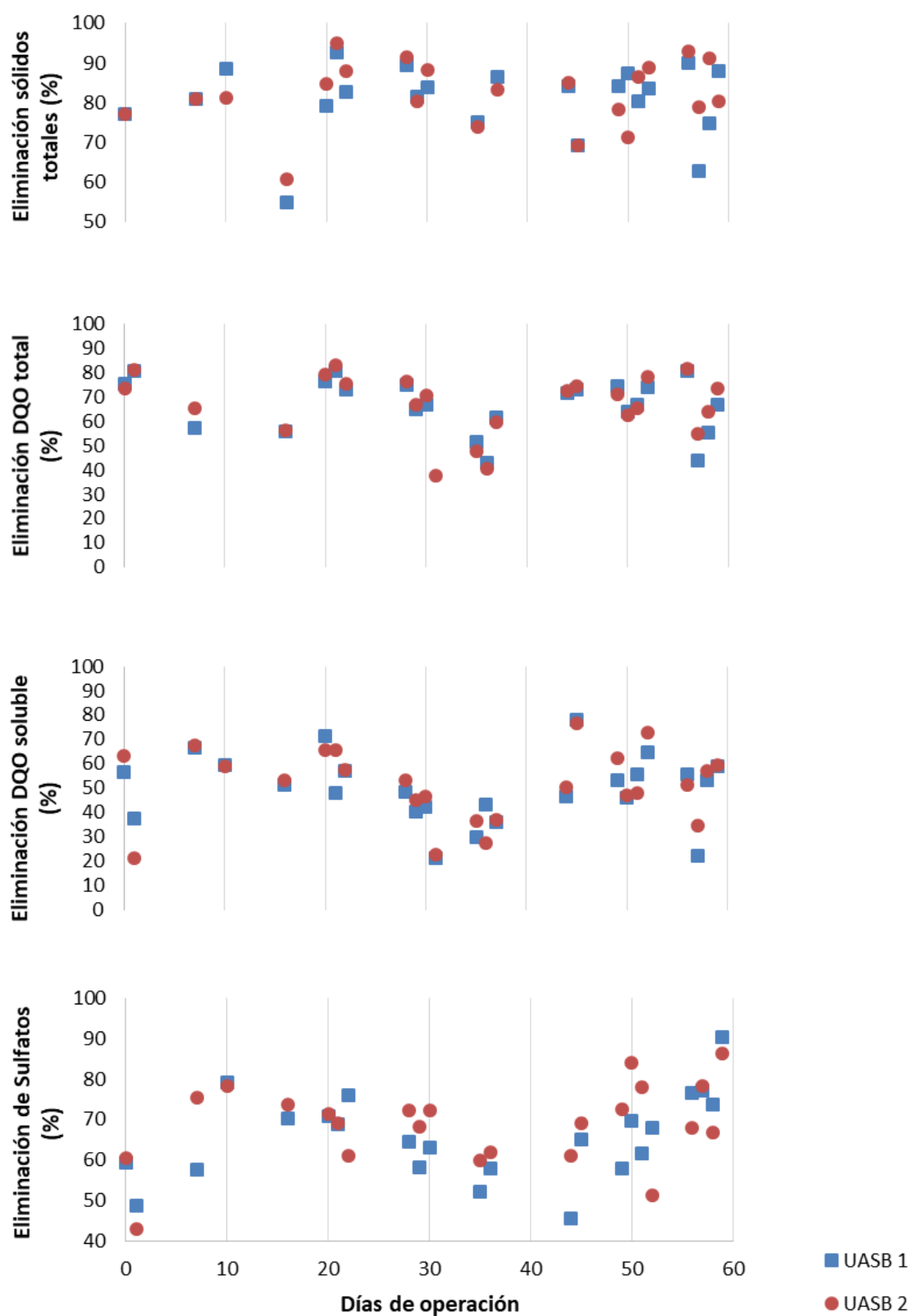


Figura 6: Evolución de los rendimientos de eliminación de sólidos, DQO soluble y sulfatos en los reactores UASB 1 (■) y 2 (●), tras su inoculación.

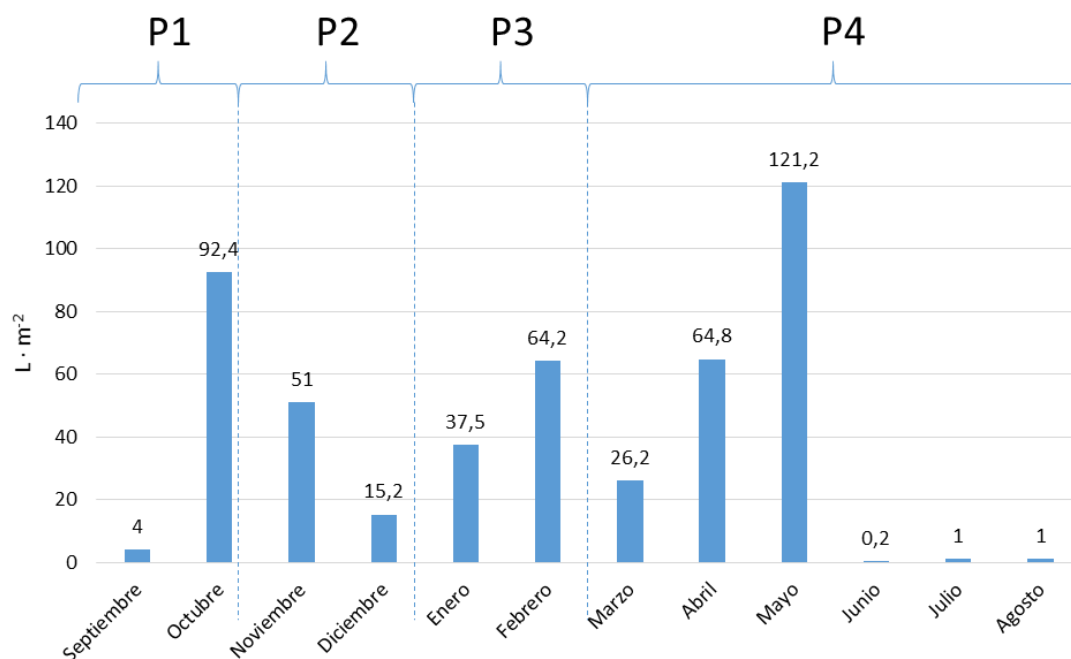


Figura 7: Pluviometría acumulada entre los meses de septiembre de 2015 y Agosto de 2016 (Conil, 2016).

P2: Descenso del TRH (60 días, 36 h TRH).

Tras el periodo anterior, se redujeron los TRH de ambos reactores UASB a 36 h durante 60 días. En este período la temperatura osciló entre los 24 – 19 °C, acercándose a rangos psicrófilos (Daud et al., 2018). Durante este período se mantuvo la estrategia de alimentación en continuo, manteniendo el agua de entrada una composición similar a la del periodo anterior, pero observándose un cierto descenso en las concentraciones de la DQO del 8 %, mientras que en la concentración de sólidos y sulfatos estos valores descendieron hasta un 20 % respecto al período anterior (**Tabla 2**). Por otra parte, las concentraciones de nutrientes experimentaron un aumento con respecto a la anterior fase del 55 % para el amonio y del 16 % para el fósforo. La disminución en las concentraciones medias de DQO, sólidos y sulfatos se entienden como resultado de la dilución asociada a los episodios de lluvias que continuaron durante esta etapa con aportes mensuales, muy inferiores a los registrados en el mes anterior, de 51 y 15,2 l/mes para los meses de Noviembre y Diciembre de 2015, respectivamente (**Figura 7**). En este caso, los aportes

puntuales no influenciaron significativamente sobre los resultados analíticos, manteniendo los valores extremos más próximos a la media.

Los rendimientos de ambos reactores se mantuvieron similares a los valores registrados en el periodo anterior (P1), donde las capacidades de eliminación de sólidos y DQO total, en ambos reactores, se mantuvieron alrededor del 80 % y 67 %, respectivamente (**Figura 8**). En el caso de los sulfatos se observaron diferencias entre períodos, registrándose mejoras de eliminación del 15 % en el UASB 1 y 17 % en el UASB 2. Esta mejora en el rendimiento puede deberse a una mayor adaptación de las bacterias sulfato-reductoras a las condiciones de operación bajo altas concentraciones de sulfatos (Singh y Viraraghavan, 1998), así como estar influenciado por el descenso en las concentraciones de sulfatos registradas en este periodo (97 mg $\text{SO}_4^{-2}/\text{l}$), un 20 % inferiores a las concentraciones del período anterior (122 mg $\text{SO}_4^{-2}/\text{l}$).

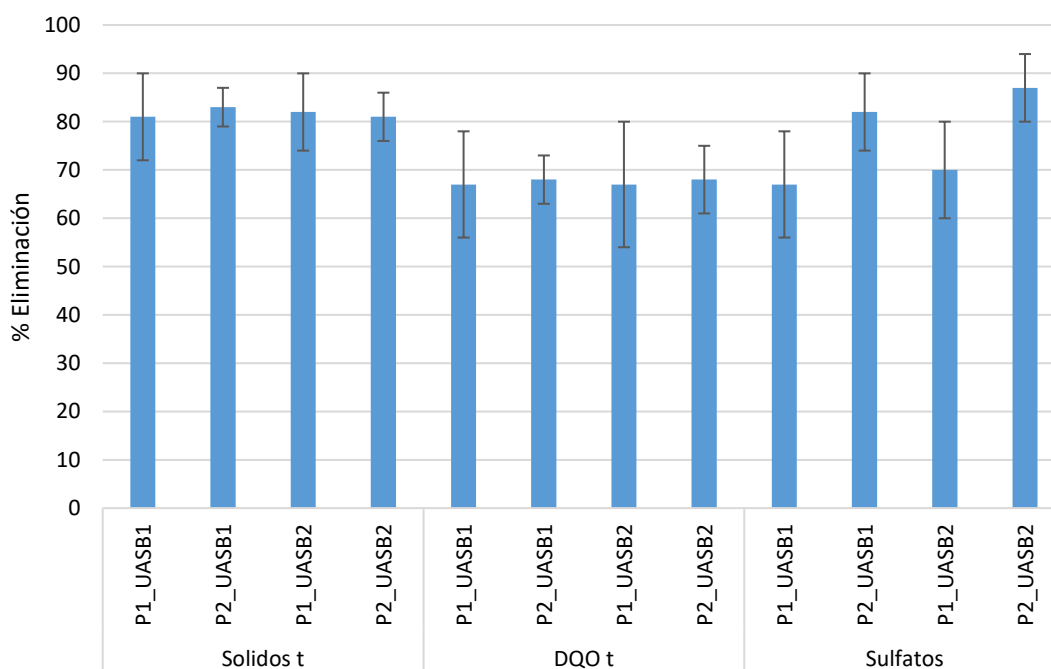


Figura 8: Porcentajes de eliminación de sólidos totales, DQO total y sulfatos en los reactores UASB 1 y 2, durante los periodos 1 y 2.

En el caso de la productividad de metano, en el UASB 1 fueron $0,12 \pm 0,03 \text{ m}^3 \text{ CH}_4/\text{kg DQO}_{\text{eliminada}}$, lo que representa una disminución del 20 % con respecto a la etapa anterior. En el caso del UASB 2, la tendencia fue la opuesta con $0,13 \pm 0,04 \text{ m}^3 \text{ CH}_4/\text{kg DQO}_{\text{eliminada}}$, suponiendo una ligera mejora del 8 %. Esta diferencia con respecto a la etapa anterior no se considera relevante ya que aunque ambos reactores fueron inoculados usando el mismo lodo y operados de forma similar, pueden haber variaciones en el desarrollo de las poblaciones bacterianas, así como en la biomasa activa en el momento de partida en el interior de los reactores. El arranque de los reactores UASB a partir de lodo floculento en lugar de granular, implica desventajas como son mayores tiempos de arranque y posibilidad de lavados de biomasa (Hamza et al., 2016).

P3: Diferencias entre alimentación en continuo o con pulsos (60 días, 36 y 24 h TRH).

En esta fase se mantuvo el TRH en el UASB 1 mientras que se disminuyó el del UASB 2 a 24 h. Las temperaturas durante esta etapa oscilaron entre los 16 y 20 °C. El cambio en el régimen de alimentación subdivide esta etapa en dos fases:

➔ P3a: 30 días – UASB 1 (36 h TRH) y UASB 2 (24 h TRH) – Alimentación continua.

Dado que en el comportamiento de ambos reactores al final de la etapa anterior se consideró estable y similar, con la llegada del invierno se realizó un cambio de TRH en el UASB 2 a 24 h mientras que se mantuvo el del UASB 1 en 36 h. Con este experimento se pretendió comprobar la influencia del descenso en el TRH bajo las condiciones climáticas más adversas del año, fluctuando la temperatura del agua de alimentación en este subperíodo entre los 16 y los 19 °C (**Tabla 2**).

Hay que resaltar que en este periodo las características químicas del agua alimentada a los reactores, experimentaron un nuevo descenso del 30 % en sólidos totales ($128 \pm 25 \text{ mg/l}$) y 26 % en DQO total ($424 \pm 97 \text{ mg O}_2/\text{l}$), mientras que en el resto de parámetros

se mantuvo dentro de los niveles que se venían registrando en la etapa anterior de sulfatos, amonio y fósforo, como se puede ver en la **Tabla 2**.

En este estadio, debido probablemente al efecto de la temperatura sobre la actividad metabólica bacteriana (Chernicharo et al., 2015), se observó una gran disminución en los rendimientos de eliminación de DQO, sólidos y sulfatos, de ambos reactores UASB (**Figura 9**). Concretamente, la eliminación de sólidos totales, DQO total y sulfatos descendieron respecto al periodo anterior en un 43, 53 y 64 %, respectivamente para el UASB 1 (TRH = 36 h). En el caso del UASB 2 (TRH = 24 h), el descenso fue más acusado registrándose para la eliminación de DQO, sólidos y sulfatos descensos del 55, 57 y 62 %, respectivamente. Con respecto a los valores observados, la eliminación de DQO para el UASB 2 (29 ± 8 %) es similar al registrado por Mahmoud (2008), quien observó rendimientos de eliminación de DQO de 32 % en el periodo frío (10 – 15 °C) operando con 10 h de TRH y alimentando con agua residual de alta carga.

Los rendimientos de metano registrados para este periodo en el UASB 1 fueron $0,11 \pm 0,06$ m³ CH₄ / kg DQO_{eliminada}, lo que supone una disminución del 8 % con respecto a la etapa anterior. En el caso del UASB 2, con $0,10 \pm 0,04$ m³ CH₄ / kg DQO_{eliminada}, el descenso fue más acusado, suponiendo un 23 % como resultado de la influencia combinada del cambio en la temperatura y de la disminución del TRH a 24 h. Asimismo Elmitwalli y Otterpohl (2011) encontró rendimientos de eliminación de DQO del 41 % trabajando a temperaturas de 14 - 25 °C, TRH de 20 horas y empleando como alimentación agua residual urbana.

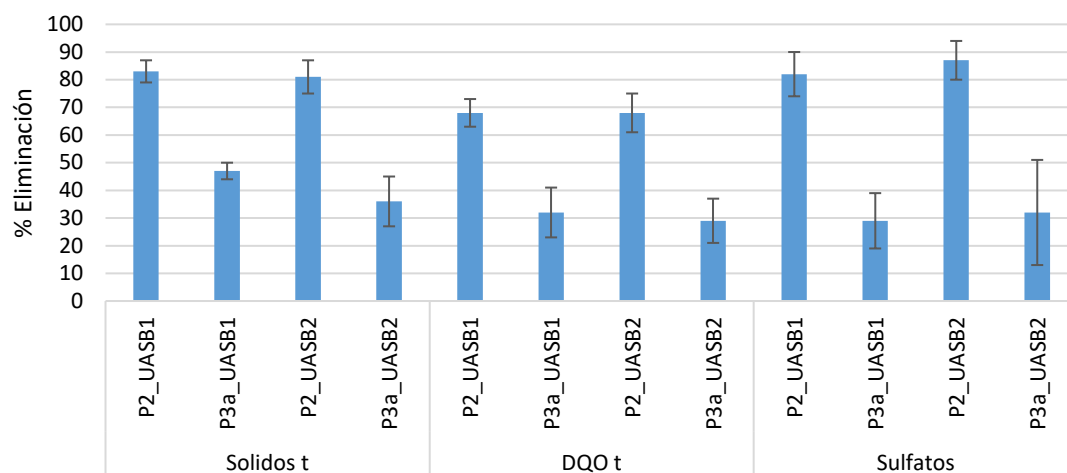


Figura 9: Porcentajes de eliminación de sólidos totales, DQO total y sulfatos en los reactores UASB 1 y 2, durante los periodos 2 y 3a.

➔ **P3b: 30 d – UASB 1 (36 h TRH) y UASB 2 (24 h TRH) – Alimentación pulsada.**

En la literatura hay múltiples referencias (Dutta et al., 2018, Hamza et al., 2016, Chernicharo et al., 2015) a las limitaciones y problemas causados por las bajas temperaturas en los reactores UASB, donde la capacidad de hidrólisis de los sólidos se limita, acumulándose dentro del reactor, y disminuyendo la disponibilidad de DQO y la capacidad metanógena del sistema. Con el descenso de la temperatura y los distintos indicadores de rendimientos de los dos reactores UASB, se decidió probar un sistema de pulsos. En la alimentación por pulsos, el número de estos por hora dependerá del volumen del depósito de almacenamiento y del TRH fijado para el reactor, siendo más frecuentes los pulsos para reactores con menores TRH, lo que permite una mayor agitación del manto de lodo y por tanto un mejor contactos entre las bacterias y la materia orgánica a degradar. Durante un periodo de 30 días, ambos reactores fueron alimentados mediante la modalidad pulsante, manteniendo los TRH del periodo anterior (UASB 1 – 36 h y UASB 2 – 24 h). La composición del agua residual en este periodo experimental (**Tabla 2**) presentó, respecto a la etapa anterior, un incremento en sólidos totales (33 %) y DQO total (31 %) y un descenso de los niveles de sulfatos (21 %), aumentando la relación de

DQO:Sulfatos de 4 a 5. La temperatura fluctuó entre los 16 – 20 °C, de forma similar al periodo anterior.

Los rendimientos en los reactores UASB con la aplicación del método de alimentación pulsada manifestó mejoras en todos los indicadores de eliminación: sólidos totales, DQO total y sulfatos (**Figura 10**), a pesar del aumento de sólidos y DQO en el agua residual de alimentación. La eliminación de sólidos mejoró en un 50 % en el caso del UASB 1 y un 100 % en el del UASB 2. Mejoras similares se observaron con respecto a la eliminación de DQO total, donde se registró un 84 % para el UASB 1 y un 44 % para el UASB 2. Estos valores, a pesar de representar una mejora frente a los resultados obtenidos sin el sistema de pulsos, son inferiores a los presentados por Singh y Viraraghavan (2003), donde reactores UASB trabajando a 20 °C y 7 h de TRH, lograron rendimientos del 84 % en la eliminación de DQO. Esta diferencia pueden deberse al diseño de los reactores con respecto a la relación entre altura:diámetro (h:d). Este factor ha sido referenciado por autores como Daud et al. (2018) donde se indica que reactores con diámetros muy grandes, pueden propiciar la formación de caminos preferenciales en el manto de lodos, afectándose la correcta mezcla del sustrato con la biomasa. En el caso de Singh y Viraraghavan (2003) esta relación fue de 10, mientras que en el caso del reactor UASB piloto de este estudio fue 1,7. Esta hipótesis se ve reforzada cuando se comparan los resultados obtenidos con los reactores de laboratorio (Capítulo 1), donde la relación h:d fue de 4 y los porcentajes de eliminación de DQO_{total} trabajando a 36 y 24 h de TRH y una T^a de 19 °C, fueron superiores (68 y 64 %, respectivamente) a los observados en los UASB piloto.

En el caso de los sulfatos, se obtuvo el mayor incremento en los % de eliminación, por encima del 150 % en ambos reactores en comparación con la operación con alimentación continua. Esto, indica que hubo un incremento notable en la actividad de las bacterias

sulfato-reductoras al mejorar la mezcla del reactor con la alimentación por pulsos, lo que trae aparejado una disminución de la actividad metanogénica ya que las bacterias metanogénicas y las sulfato-reductoras compiten por los mismos sustratos orgánicos e inorgánicos.

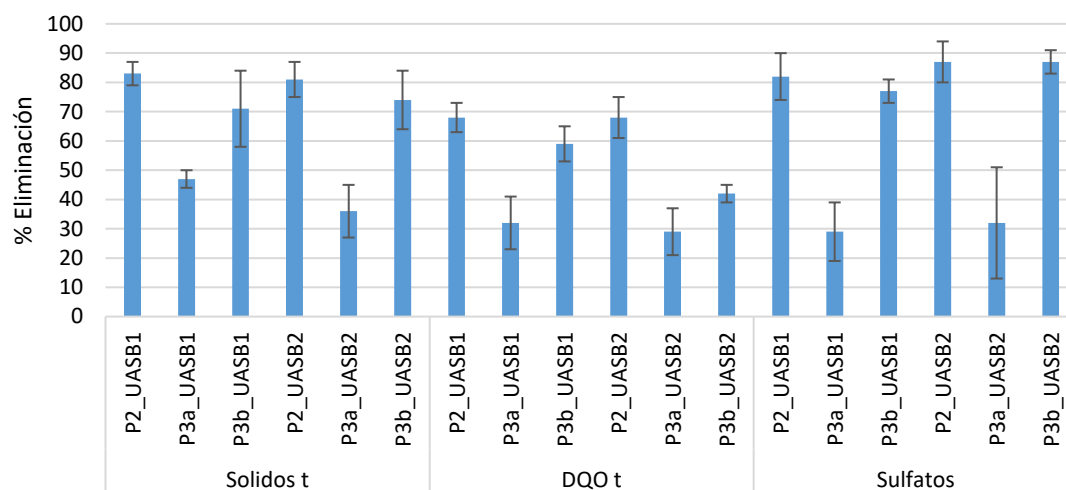


Figura 10: Porcentajes de eliminación de sólidos totales, DQO total y sulfatos en los reactores UASB 1 y 2, durante los periodos 2, 3a y 3b.

Respecto a los rendimientos de metano registrados, los valores no se vieron incrementados significativamente, disminuyendo hasta los $0,08 \text{ m}^3 \text{ CH}_4 / \text{kg DQO}_{\text{eliminada}}$ en el UASB 1 e incrementando hasta en $0,11 \text{ m}^3 \text{ CH}_4 / \text{kg DQO}_{\text{eliminada}}$ en el UASB 2, donde la mejora sólo representó el 10 % respecto a la alimentación en continuo. Las mejoras en los parámetros de eliminación no con llevaron un incremento en el rendimiento de metano, atribuyéndose este fenómeno a un crecimiento de las poblaciones de bacterias sulfato-reductoras, que compitieron con las bacterias metanogénicas por los nutrientes (Bertolino et al., 2015). Esta observación puede verse reflejada en el incremento de la eliminación de sulfatos resultante del 62 y 63 % en el UASB 1 y 2, respectivamente, con respecto al periodo anterior.

P4: Operación a bajos TRH (160 días, 18, 12 y 8 h de TRH).

Durante este periodo y ante las mejoras observadas mediante el sistema de pulsos, se mantuvo este sistema de alimentación al mismo tiempo que se disminuyó el TRH hasta 8 h, dividiéndose en dos etapas:

→ P4a: 80 días – UASB 1 (18 h TRH) y UASB 2 (12 h TRH) – Alimentación pulsada.

En esta etapa la temperatura del agua residual de entrada osciló entre 19 – 24 °C, en cuanto a su composición media las concentraciones de DQO total, sólidos totales y fosfatos subieron respecto al periodo anterior hasta los 666 ± 114 mg O₂ / l, 247 ± 55 mg / l y 7 ± 1 mg/l, respectivamente, mientras que los sulfatos descendieron hasta los 78 ± 10 mg / l (Tabla 2), propiciando la mejor relación de DQO:Sulfatos de todo el periodo experimental.

El cambio en el TRH del UASB 1 a 18 h y el del UASB 2 a 12 h, manteniendo en ambos reactores la alimentación pulsada, se realizó teniendo en cuenta una visión más conservadora de la estimada por Chernicharo et al. (2015), donde se proponen TRHs de 6 y 8 h para reactores que tratan aguas residuales a temperaturas mayores de 25 °C y 18 – 21 °C, respectivamente.

En este periodo, el incremento en las concentraciones de sólidos y DQO en la alimentación, junto con los descensos en los TRH y la mejora de la relación de DQO:Sulfatos a 9 tuvieron como consecuencia que en el UASB 1, se registraran valores de 74 ± 12 y 60 ± 8 % de eliminación de sólidos y DQO total, mientras que los valores de eliminación de sulfatos no experimentaron gran variación con respecto a la etapa anterior, siendo de 79 ± 9 %. El UASB 2 presentó valores inferiores, 66 ± 12 y 52 ± 9 %, de eliminación de sólidos y DQO_{total}, y superiores, 84 ± 6 %, de eliminación de sulfatos. Estos resultados son inferiores a los aportados por Rizvi et al. (2015), donde se presentan

eficiencias de eliminación de DQO total en torno al 80 % para reactores de laboratorio operados a 20 °C y 12 h de TRH, si bien es cierto que estos no estaban sujetos a las variaciones diarias de temperatura y composición del agua residual.

El aumento de la temperatura es uno de los factores que favorece la actividad metanógena de los reactores anaerobios (Chernicharo et al., 2015), por lo que el descenso en los TRH se vio compensado por el aumento de la temperatura ambiente en este periodo, dando rendimientos de metano de $0,1 \pm 0,01 \text{ m}^3 \text{ CH}_4 / \text{kg DQO}_{\text{eliminada}}$ en el UASB 1 y $0,8 \pm 0,03 \text{ m}^3 \text{ CH}_4 / \text{kg DQO}_{\text{eliminada}}$ en el UASB 2. Estos resultados, comparados con los obtenidos anteriormente en el P3, supusieron una mejora del 25 % en el UASB 1, mientras que en el UASB 2 supuso un descenso del 27 %, principalmente relacionado con un descenso en la capacidad de eliminación de sólidos ante la disminución del TRH. (**Figura 11**)

P4b: 80 días – UASB 1 (18 h TRH) y UASB 2 (8 h TRH) – Alimentación pulsada.

En esta etapa la temperatura del agua residual de entrada presentó los valores máximos, entre los 21 – 27 °C, asimismo también lo hizo la concentración media en la alimentación de la DQO total hasta los $714 \pm 108 \text{ mg O}_2 / \text{l}$, mientras que los valores de sólidos totales y sulfatos se mantuvieron en los $244 \pm 74 \text{ mg / l}$ y $75 \pm 9 \text{ mg / l}$, respectivamente. La relación en DQO:Sulfatos aumentó hasta 10, condiciones propicias para la actividad metanógena (**Tabla 2**).

Al inicio de los 80 días en los que transcurrió esta etapa, manteniéndose la alimentación pulsada, se disminuyó el TRH del UASB 2 a 8 h. El TRH del UASB 1 se mantuvo invariable en 18 h con respecto al periodo anterior, para analizar la influencia del aumento en las temperaturas.

En el caso del UASB 1, las capacidades de eliminación de sólidos totales, DQO total y sulfatos se mantuvieron en niveles similares a los observados en la fase anterior (**Figura**

11), destacando una mejora en el rendimiento de metano, que se incrementó hasta los $0,12 \pm 0,02 \text{ m}^3\text{CH}_4 / \text{kg DQO}_{\text{eliminada}}$, lo cual supuso un incremento del 20 % sobre la etapa anterior. Esta mejora se atribuye al cambio en las condiciones climáticas y la relación de DQO:Sulfatos, por las que las bacterias metanogénicas se ven favorecidas, pudiendo aumentar su competitividad por los nutrientes (Dutta et al., 2018) frente a otras bacterias como las sulfato-reductoras (Bertolino 2015).

Respecto al UASB 2, el descenso en el TRH a 8 h, no supuso un gran cambio sobre el rendimiento del reactor con respecto a la eliminación de sólidos totales y sulfatos, dando como resultados 64 ± 16 y 85 ± 4 % (**Figura 11**), respectivamente. En el caso de la eliminación de DQO total el 59 ± 6 % registrado supuso una mejora del 13 % con respecto al periodo anterior. Estos resultados de DQO del UASB 2 se muestran dentro del intervalo recogido en otros estudios (55 – 65 %) (Von Sperling, 2007), siendo próximo al 55 % mencionado por Vassalle et al. (2020), pero con eliminaciones de sólidos inferiores a los obtenidos en este estudio (82 %).

Sin embargo, se observó una mejora del 13 % en el rendimiento de la producción de metano de la etapa anterior, dando valores de $0,09 \pm 0,02 \text{ m}^3\text{CH}_4 / \text{kg DQO}_{\text{eliminada}}$.

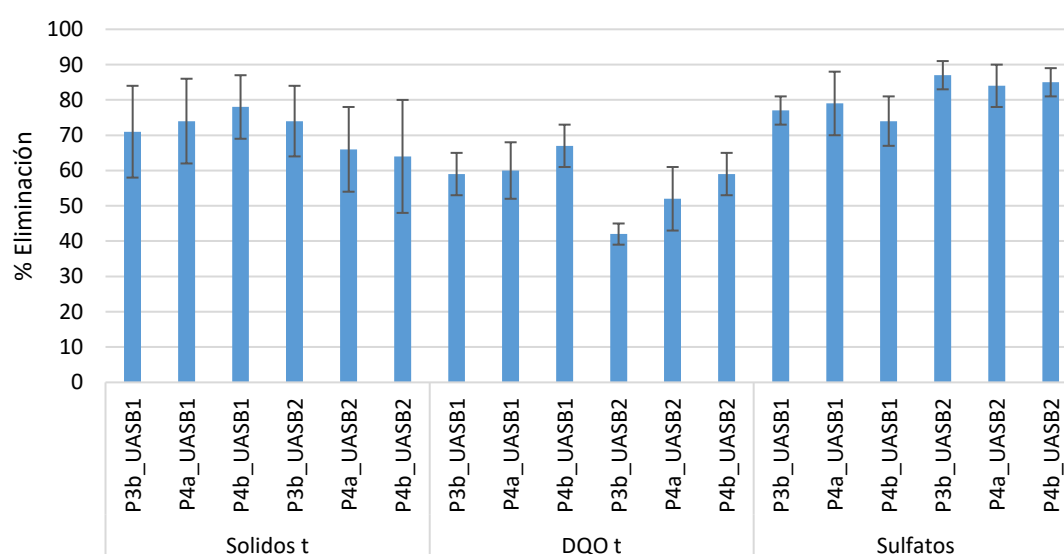


Figura 11: Porcentajes de eliminación de sólidos totales, DQO total y sulfatos en los reactores UASB 1 y 2, durante los periodos 3b, 4a y 4b.

Los mejores rendimientos de metano se obtuvieron durante este periodo cálido (UASB 1: $0,12 \pm 0,02$ y UASB 2: $0,09 \pm 0,02$ $\text{m}^3\text{CH}_4 / \text{kg DQO}_{\text{eliminada}}$) con una alta concentración de metano (70 – 79 %), pero estos valores fueron inferiores al valor máximo teórico reportado en la bibliografía ($0,35 \text{ m}^3\text{CH}_4 / \text{kg DQO}_{\text{eliminada}}$) (Chernicharo et al., 2015). Una parte de esta diferencia es la correspondiente a la fracción disuelta en el efluente de los propios reactores UASB (Chernicharo et al., 2015), por lo que el establecimiento de sistemas de recuperación del metano disuelto puede incrementar en gran medida los rendimientos de los reactores UASB, donde autores como Souza et al. (2011) determinaron que puede ser del orden del 36 – 41 % del total del metano producido. A este porcentaje habría que sumar el potencial de metano de la DQO consumido por las bacterias sulfato-reductoras (Bertolino et al., 2015).

Recuperación del metano disuelto

Durante el periodo de experimentación, se probaron dos prototipos con distintas capacidades (45 l (P45) y 166 l (P166)) con los que se llevaron a cabo dos procedimientos experimentales.

- Influencia de la temperatura sobre la recuperación del metano disuelto en el efluente de UASBs:

Durante el período de ensayos, se comprobó la influencia de la temperatura sobre la capacidad de recuperación de metano realizando un ensayo durante el periodo de invierno ($T = 18^\circ\text{C}$) y otro durante el periodo de verano ($T = 24^\circ\text{C}$), empleando el prototipo p45. Los principales resultados se muestran en la **Tabla 3**, donde se puede observar que la eficiencia de recuperación del metano entre ambas estaciones no presenta variaciones significativas. Este comportamiento coincide con el observado por (Giménez et al., 2012) quienes encontraron que la eficiencia de recuperación de metano obtenida a 20°C (53 %) fue similar a la obtenida a 33

°C (57 %), debido a que la disminución de la solubilidad de metano con el aumento de la temperatura, se compensa con el aumento de la producción de metano al operar con temperaturas más favorables para el proceso de digestión anaerobia. Sin embargo, la recuperación de metano por m³ de efluente tratado sí que se ve drásticamente reducida en un 56 % debido a la menor solubilidad de los gases a mayores temperaturas. El descenso de las temperaturas afecta negativamente a la actividad metanógena y además incrementa la capacidad de disolución de los gases en el líquido, por lo que es en esta estación cuando una mayor proporción de metano (11,2 %) puede ser recuperado con respecto a la producción total, suponiendo casi 3 veces más que lo registrado a 24 °C. Según varios estudios las pérdidas de metano disuelto en el efluente de reactores anaerobios podrían representar entre un 20 y un 60 % de la producción teórica de metano (Noyola et al., 2006, Souza et al., 2011). Además, algunos estudios (Singh y Viraraghavan, 1998, Souza et al., 2011, Hartley y Lant, 2006) han constatado la sobresaturación de metano en el efluente de reactores anaerobios, debido a una transferencia deficiente del CH₄ de la fase líquida a la fase gaseosa. Por lo tanto, la pérdida de CH₄ en el efluente podría ser más alta que las aproximaciones teóricas.

Tabla 3: Metano disuelto y recuperado en el efluente de reactores UASB bajo diferentes Temperaturas.

Temperatura (°C)	18	24
CH₄ disuelto (l CH₄/m³ efluente)	31,1	16,6
CH₄ recuperado (l CH₄/m³ efluente)	7,1	3,1
Eficiencia de recuperación (%)	22,8	18,7
CH₄ recuperado /producción total (%)	11,2	4,1
CH₄ disuelto/ producción total (%)	47,5	21,5

Hay que resaltar que el metano disuelto en el efluente de los UASB, 18 y 24 °C, mostró ser de un 47,5 y 21,5 % del metano total producido, por lo que su recuperación implica un incremento considerable sobre el rendimiento del reactor.

Estos valores están dentro de los recogidos en Crone et al. (2016), donde se aprecia la tendencia descendente en la solubilidad de los gases en función de la temperatura (**Figura 12**). Esta apreciación se refuerza si se considera que el metano recuperado cuenta con una riqueza del $77 \pm 3 \%$, superior al $72 \pm 1 \%$ del biogás procedente del reactor, por lo que es uno de los puntos a mejorar en la operación de los UASB para lograr una implantación exitosa en regiones con climas fríos-templados.

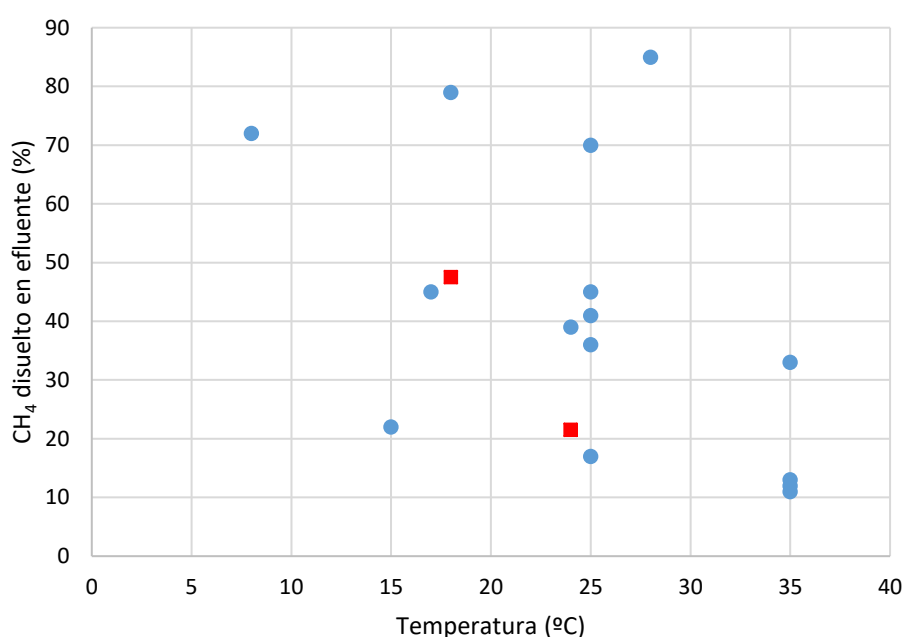


Figura 12: CH₄ disuelto en efluentes de aguas residuales tratadas por tecnología UASB. (●) Adaptado de (Crone et al., 2016). (■) Valores obtenidos en la experimentación.

- Influencia de la presión sobre la recuperación del metano disuelto en el efluente de UASBs:

En el siguiente experimento se empleó el prototipo p166 en el que se evaluó la recuperación de metano del efluente del reactor UASB 2 bajo distintas presiones.

En la **Figura 13** se puede apreciar como el metano recuperado por m³ de efluente del UASB 2 ($l \text{ CH}_4 / m^3_{\text{efluente}}$) va aumentando con el aumento de la presión de vacío (12 a -55 mbar) hasta alcanzar valores cercanos a los $10 l \text{ CH}_4 / m^3_{\text{efluente}}$, para presiones de vacío superiores a -40 mbar. El valor de referencia de 12 mbar

corresponde a la recuperación de metano sin vacío y conectado directamente al gasómetro, el cual ejerce una presión basal de 12 mbar por el peso de la cúpula, observándose que en ese caso se obtienen los valores más bajos de recuperación del metano disuelto. El rendimiento de metano disuelto frente al total producido muestra que el metano disuelto representa un 49 % del total del metano producido y que el 29 % de este metano disuelto se puede recuperar en el p166 con una presión de vacío de - 40 mbar.

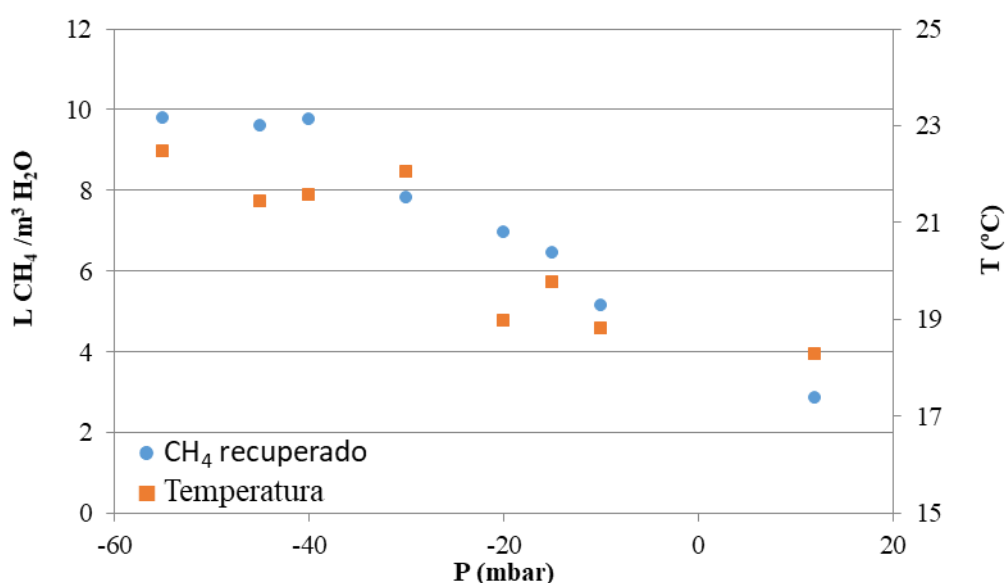


Figura 13: Metano recuperado en función de la presión de vacío y temperatura.

Es importante señalar que aunque la temperatura se va incrementando durante el periodo experimental (marzo-mayo), los valores de recuperación de metano no se ven afectados, porque hay un aumento de la producción de biogás al incrementarse la temperatura, obteniéndose los mejores valores de recuperación de metano con los valores más altos de productividad de biogás (**Figura 14**).

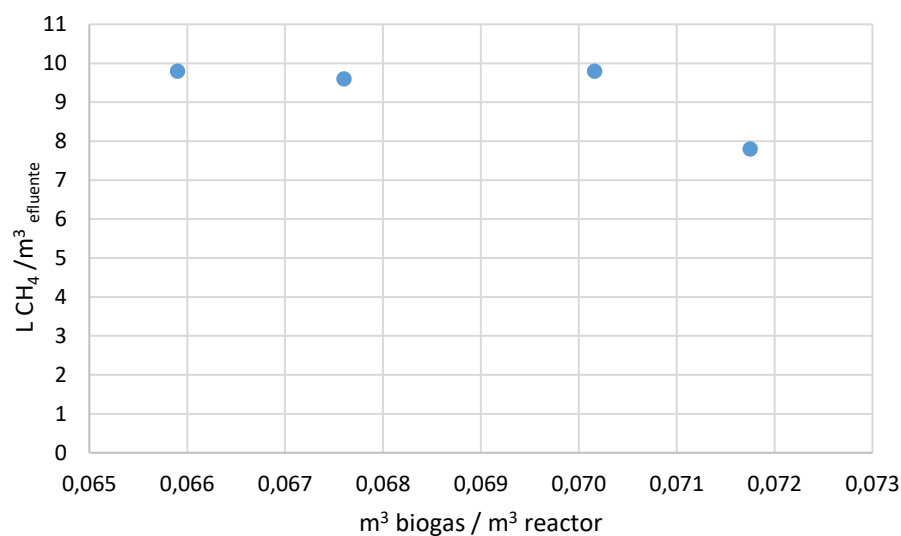


Figura 14: Metano recuperado en función de la productividad de biogás

El porcentaje de recuperación de metano en este estudio es menor (29 %) que el obtenido por otros autores como Giménez et al. (2012) (57 %); Cookney et al. (2012) (72 %). Esto puede deberse a que este proceso es menos eficiente que los procesos que emplean membranas. Sin embargo, es mucho menos costoso, sencillo de construir y operar, por lo que podría ser fácilmente implementado a escala real.

Durante el período de experimentación, el biogás recuperado mediante el prototipo p166 presentó un 78 ± 3 % de CH₄, (**Tabla 4**), valor ligeramente superior al obtenido en el biogás del reactor UASB 2 (72 ± 3 %), por lo que se puede almacenar en el gasómetro junto con el biogás producido en los reactores sin disminuir su poder calórico.

Tabla 4: Composición del biogás recuperado en el prototipo p166

Gas	Unidad	$\bar{X} \pm SD$
CH ₄	%	$78,1 \pm 3,3$
CO ₂	%	$4,7 \pm 0,8$
O ₂	%	0,0
N ₂	%	$16,7 \pm 3,8$
H ₂ S	ppmv	4366 ± 741

La aplicación de este sistema de recuperación de metano permitiría aumentar los rendimientos de los reactores UASB 1 y 2, para los resultados obtenidos durante el periodo P4b, hasta los 0,15 y 0,12 m³CH₄/ kg DQO_{eliminada}, respectivamente.

CONCLUSIONES

1. La operación de reactores anaerobios UASB a escala piloto, en latitudes con climas templados (16 – 27 °C) está limitada por la influencia de la estación fría sobre los rendimientos de los reactores.
2. El sistema de pulsos tuvo un efecto directo sobre los rendimientos de los reactores UASB bajo condiciones invernales (16 - 20 °C) trabajando a TRH de 36 y 24 h, suponiendo incrementos del 50 y 100 % en la eliminación de sólidos, 84 y 44 % en la eliminación de DQOt y 150 % en la eliminación de sulfatos, respectivamente.
3. La mejora en los rendimientos de metano del sistema de pulsos sólo fue observada en el UASB trabajando a 24 h de TRH, suponiendo un incremento del 10 %. La mejora en los parámetros registrados en el UASB trabajando a 36 h de TRH se atribuyen al aumento de la actividad de las bacterias sulfato-reductoras, promovida por la baja relación de DQO:sulfatos de 5.
4. En la etapa cálida (21 – 27 °C) fue posible operar los reactores UASB a TRH de 8 h (3 veces inferiores a los invernales TRH = 24 h) obteniéndose rendimientos de metano de 0,09 m³ CH₄ / kg DQO_{eliminada}. Estos valores se consideran mejorables atendiendo a criterios de diseño de reactor (altura/diámetro) y recuperación de metano disuelto en el efluente.
5. La utilización de un sistema de recuperación de metano (p166) sometido a vacío (-40 mbar) en el espacio en cabeza, recupera el 29 % del metano disuelto con composición similar a la del biogás del propio reactor, representando una alternativa sencilla y poco costosa.
6. La utilización del sistema de recuperación de metano del efluente de los reactores UASB 1 (TRH = 18 h) y UASB 2 (TRH = 8 h) supuso un aumento de los rendimientos de metano, de 0,12 y 0,09 hasta 0,15 y 0,12 m³ CH₄ / kg DQO_{eliminada}, respectivamente.

BIBLIOGRAFÍA

- ABDELGADIR, A., CHEN, X., LIU, J., XIE, X., ZHANG, J., ZHANG, K., WANG, H. & LIU, N. 2014. Characteristics, Process Parameters, and Inner Components of Anaerobic Bioreactors. *BioMed Research International*, 2014, 10.
- APHA 2005. Standard methods for the examination of water and wastewater. 18th ed. New York.
- BERTOLINO, S. M., SILVA, L. A. M., AQUINO, S. F. & LEÃO, V. A. 2015. COMPARISON OF UASB AND FLUIDIZED-BED REACTORS FOR SULFATE REDUCTION. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 32, 59-71.
- CONIL 2016. *Estaciones agroclimáticas de la Consejería de Agricultura, ganadería, pesca y desarrollo sostenible*.
- COOKNEY, J., CARTMELL, E., JEFFERSON, B. & MCADAM, E. 2012. Recovery of methane from anaerobic process effluent using poly-di-methyl-siloxane membrane contactors. *Water Science and Technology*, 65, 604-610.
- CRONE, B. C., GARLAND, J. L., SORIAL, G. A. & VANE, L. M. 2016. Significance of dissolved methane in effluents of anaerobically treated low strength wastewater and potential for recovery as an energy product: A review. *Water Research*, 104, 520-531.
- CHERNICHARO, C. A. L., BRESSANI-RIBEIRO, T. & VON SPERLING, M. 2019. Introduction to anaerobic sewage treatment. In: DE LEMOS CHERNICHARO, C. A. & BRESSANI-RIBEIRO, T. (eds.) *Anaerobic Reactors for Sewage Treatment: Design, Construction and Operation*. IWA Publishing.
- CHERNICHARO, C. A. L., VAN LIER, J. B., NOYOLA, A. & BRESSANI RIBEIRO, T. 2015. Anaerobic sewage treatment: state of the art, constraints and challenges. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 14, 649-679.
- DAELMAN, M. R. J., VAN VOORTHUIZEN, E. M., VAN DONGEN, U. G. J. M., VOLCKE, E. I. P. & VAN LOOSDRECHT, M. C. M. 2012. Methane emission during municipal wastewater treatment. *Water Research*, 46, 3657-3670.
- DAUD, M. K., RIZVI, H., AKRAM, M. F., ALI, S., RIZWAN, M., NAFEEES, M. & JIN, Z. S. 2018. Review of upflow anaerobic sludge blanket reactor technology: Effect of different parameters and developments for domestic wastewater treatment. *Journal of Chemistry*, 2018.
- DE GODOS, I., ARBIB, Z., LARA, E. & ROGALLA, F. 2016. Evaluation of High Rate Algae Ponds for treatment of anaerobically digested wastewater: Effect of CO₂ addition and modification of dilution rate. *Bioresource Technology*, 220, 253-261.
- DUTTA, A., DAVIES, C. & IKUMI, D. S. 2018. Performance of upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor and other anaerobic reactor configurations for wastewater treatment: A comparative review and critical updates. *Journal of Water Supply: Research and Technology - AQUA*, 67, 858-884.
- ELMITWALLI, T. & OTTERPOHL, R. 2011. Grey water treatment in upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor at different temperatures. *Water Science and Technology*, 64, 610-617.
- GIMÉNEZ, J., MARTÍ, N., FERRER, J. & SECO, A. 2012. Methane recovery efficiency in a submerged anaerobic membrane bioreactor (SAnMBR) treating sulphate-rich urban wastewater: evaluation of methane losses with the effluent. *Bioresource technology*, 118, 67-72.
- HAMZA, R. A., IORHEMEN, O. T. & TAY, J. H. 2016. Advances in biological systems for the treatment of high-strength wastewater. *Journal of Water Process Engineering*, 10, 128-142.
- HARTLEY, K. & LANT, P. 2006. Eliminating non-renewable CO₂ emissions from sewage treatment: An anaerobic migrating bed reactor pilot plant study. *Biotechnology and bioengineering*, 95, 384-398.
- HU, Y., JING, Z., SUDO, Y., NIU, Q., DU, J., WU, J. & LI, Y.-Y. 2015. Effect of influent COD/SO₄²⁻ ratios on UASB treatment of a synthetic sulfate-containing wastewater. *Chemosphere*, 130, 24-33.
- MADDEN, P., AL-RAEI, A., ENRIGHT, A.-M., CHINALIA, F. A., DE BEER, D., O'FLAHERTY, V. & COLLINS, G. 2014. Effect of sulphate on low-temperature anaerobic digestion. *Frontiers in Microbiology*, 5.
- MAHMOUD, N. 2008. High strength sewage treatment in a UASB reactor and an integrated UASB-digester system. *Bioresource technology*, 99, 7531-8.
- METCALF, EDDY, I., TCHOBANOGLOUS, G., BURTON, F. & STENSEL, H. D. 2002. *Wastewater Engineering: Treatment and Reuse*, McGraw-Hill Education.
- NOYOLA, A., MORGAN-SAGASTUME, J. M. & LOPEZ-HERNANDEZ, J. E. 2006. Treatment of biogas produced in anaerobic reactors for domestic wastewater: odor control and energy/resource recovery. *Reviews in environmental science and bio/technology*, 5, 93-114.
- RIZVI, H., AHMAD, N., ABBAS, F., BUKHARI, I. H., YASAR, A., ALI, S., YASMEEN, T. & RIAZ, M. 2015. Start-up of UASB reactors treating municipal wastewater and effect of

- temperature/sludge age and hydraulic retention time (HRT) on its performance. *Arabian Journal of Chemistry*, 8, 780-786.
- SALAZAR-LARROTA, L., URIBE-GARCÍA, L., GÓMEZ-TORRES, L. & ZAFRA-MEJÍA, C. 2019. Analysis of the efficiency of UASB reactors in a municipal wastewater treatment plant. *DYNA (Colombia)*, 86, 319-326.
- SINGH, K. S. & VIRARAGHAVAN, T. 1998. Start-up and operation of UASB reactors at 20°C for municipal wastewater treatment. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 85, 609-614.
- SINGH, K. S. & VIRARAGHAVAN, T. 2003. Impact of temperature on performance, microbiological, and hydrodynamic aspects of UASB reactors treating municipal wastewater. *Water Science and Technology*, 48, 211-217.
- SOUZA, C. L., CHERNICHARO, C. A. L. & AQUINO, S. F. 2011. Quantification of dissolved methane in UASB reactors treating domestic wastewater under different operating conditions. *Water Science and Technology*, 64, 2259-2264.
- SUBTIL, E. L., CASSINI, S. T. A. & GONÇALVES, R. F. 2012. Sulfate and dissolved sulfide variation under low COD/Sulfate ratio in Up-flow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) treating domestic wastewater. *Revista Ambiente & Água*, 7, 130-139.
- VASSALLE, L., GARCÍA-GALÁN, M. J., AQUINO, S. F., AFONSO, R. J. D. C. F., FERRER, I., PASSOS, F. & R MOTA, C. 2020. Can high rate algal ponds be used as post-treatment of UASB reactors to remove micropollutants? *Chemosphere*, 248.
- VON SPERLING, M. 2007. *Wastewater characteristics, treatment and disposal*, IWA publishing.

CAPÍTULO 3

Digestión anaerobia de biomasa microalgal producida con agua residual urbana: Ensayos a escala de laboratorio.

El presente capítulo está pendiente de ser enviado a la revista Water Research.

ANTECEDENTES

El agua es uno de los recursos naturales más importantes de nuestro planeta al ser necesaria o estar presente en casi todos los procesos diarios. La gestión y regeneración eficiente de la misma una vez utilizada, es uno de los retos actuales para lograr una sociedad sostenible. Uno de los tipos de aguas usadas omnipresente en todas las sociedades son las aguas residuales urbanas, cuya gestión no puede ser abordada por una única solución tecnológica debido a la gran diversidad de escalas, tipos de contaminantes que contiene y singularidades locales. En el modelo tradicional de tratamiento de las aguas residuales, las estaciones depuradoras de aguas residuales (EDARs) se basan en la eliminación de sólidos en suspensión, materia orgánica y nutrientes, como el nitrógeno y el fósforo, para evitar los procesos de eutrofización en las masas de aguas receptoras (Wollmann et al., 2019). La combinación del tratamiento de aguas residuales y la producción de bioenergía para reducir la demanda energética en las EDARs es un proceso por el que se puede satisfacer hasta el 50 % de los requerimientos energéticos en una planta convencional de lodos activados (Passos et al., 2014). Esta energía suele ser producida por procesos de digestión anaerobia debido a su gran plasticidad en relación a su capacidad de tratamiento de una gran variedad de sustratos orgánicos, al mismo tiempo que produce energía renovable (Cavinato et al., 2017). El proceso de aireación de los reactores biológicos es la etapa más costosa energéticamente en depuración de las aguas residuales en una EDAR convencional, llegando a suponer el 55 % de los requerimientos energéticos de la planta, por lo que la reducción de los costes de aireación puede contribuir a la autosuficiencia energética (Passos et al., 2014). El uso de biotecnología basada en el cultivo de microalgas como alternativa a los procesos biológicos basados en cultivos bacterianos aerobios es una solución atractiva para el tratamiento de las aguas residuales por su flexible metabolismo. Este metabolismo les permite realizar procesos

fotoautotróficos, mixotróficos o heterotróficos, confiriéndoles una alta capacidad de crecimiento en distintos tipos de aguas residuales (Wollmann et al., 2019). La acción de las microalgas, al mismo tiempo que producen oxígeno y asimilan nitrógeno y fósforo, en simbiosis con otras bacterias que consumen el oxígeno y asimilan la materia orgánica, da como resultado un efluente de alta calidad con bajos niveles de contaminación y todo ello con muy bajos costes energéticos (De Godos et al., 2016). Por otro lado, el reto medioambiental de la autosuficiencia energética, ha llevado a la comunidad científica a probar múltiples variantes de configuraciones y aprovechamiento de sustratos tratados mediante digestión anaerobia en busca de una producción sostenible y renovable de biocombustibles. La degradación de estos potenciales sustratos se realiza mediante la acción de distintos microorganismos, pudiéndose aplicar a cualquier escala y en ausencia de oxígeno. Los productos resultantes de este proceso de digestión anaerobia son el biogás y el digestato, que son fácilmente separables y cuentan con aplicaciones directas como fuente de energía y fertilizantes, respectivamente (Magdalena et al., 2018). Uno de los sustratos estudiados a lo largo del tiempo han sido las microalgas por su capacidad para crecer en aguas residuales, no competir por tierras de cultivo, contribuir a la reducción de las emisiones de CO₂, contar con tasas de crecimiento 100 veces mayores a los de las plantas superiores y producir proteínas, carbohidratos y lípidos mediante la fotosíntesis, al mismo tiempo que depuran las aguas residuales (Cavinato et al., 2017, Magdalena et al., 2018). A pesar de todas las ventajas que presenta la aplicación de las microalgas para el tratamiento de las aguas residuales, las variaciones en las condiciones climáticas y la estructura poblacional, hace que la composición de esta biomasa compuesta por microalgas, bacterias y otros organismos cambien consecuentemente (Choudhary et al., 2020). Además de esto, se pueden producir moléculas grandes poco biodegradables como las constituyentes de las paredes celulares (Passos et al., 2014), esporopolenina, algaena

y carbohidratos poliméricos (Magdalena et al., 2018). La influencia de la composición macromolecular de la biomasa y los distintos rendimientos sobre el proceso de digestión anaerobia es uno de los puntos clave estudiados para lograr los mayores rendimientos (Magdalena et al., 2018), existiendo distintos estudios enfocados al cultivo de la biomasa microalgal para lograr el enriquecimiento en determinadas moléculas como proteínas y lípidos (Choudhary et al., 2020) y procesos de pretratamiento con los que lograr una mayor disponibilidad de nutrientes y eliminación de barreras como la pared celular (Passos et al., 2014). A pesar de estos enfoques, hay autores que indican que la eficiencia de la digestión anaerobia no se ve alterada en gran medida por el perfil macromolecular de la biomasa (Cavinato et al., 2017). Es por ello que es necesario el estudio de las variables ambientales y su impacto sobre los rendimientos de la digestión anaerobia para lograr una mejor comprensión del proceso.

El principal objetivo del presente capítulo es determinar el TRH más favorable en términos de producción de metano, reducción de la carga orgánica y estabilidad del proceso, para la digestión anaerobia de la biomasa microalgal cosechada bajo condiciones mesófila y termófila a escala de laboratorio.

MATERIAL Y MÉTODOS

Reactores de laboratorio CSTR

Para la comparación de la evolución de la influencia de la temperatura y los TRH, se emplearon dos sistemas con 4 reactores de mezcla completa (CSTR) cada uno. Una de las unidades se operó en régimen mesófilo (35 °C) y la otra en termófilo (55 °C). El control de la temperatura se realizó mediante un circuito cerrado de agua alimentado por un baño termostático J.P Selecta ultratech automático e independiente para cada unidad. Cada reactor se aisló térmicamente con una capa de 50 mm de poliuretano (**Figura 1A**).

Los reactores CSTR fueron contruidos en PVC con un volumen de 4,5 l, con una tapa ajustable, provista de una salida para gases y una entrada de alimentación, cada uno. El sistema de agitación interna consistió en palas unidas a un eje engranado en un motor DC Mellor Electric RS: 248-3700, que las giró a 40 rpm. La estanqueidad se garantizó con un sello de agua en la zona donde el eje de agitación atravesaba la tapa del reactor. La toma de muestras se realizó por una toma localizada en la base del reactor (**Figura 1**).

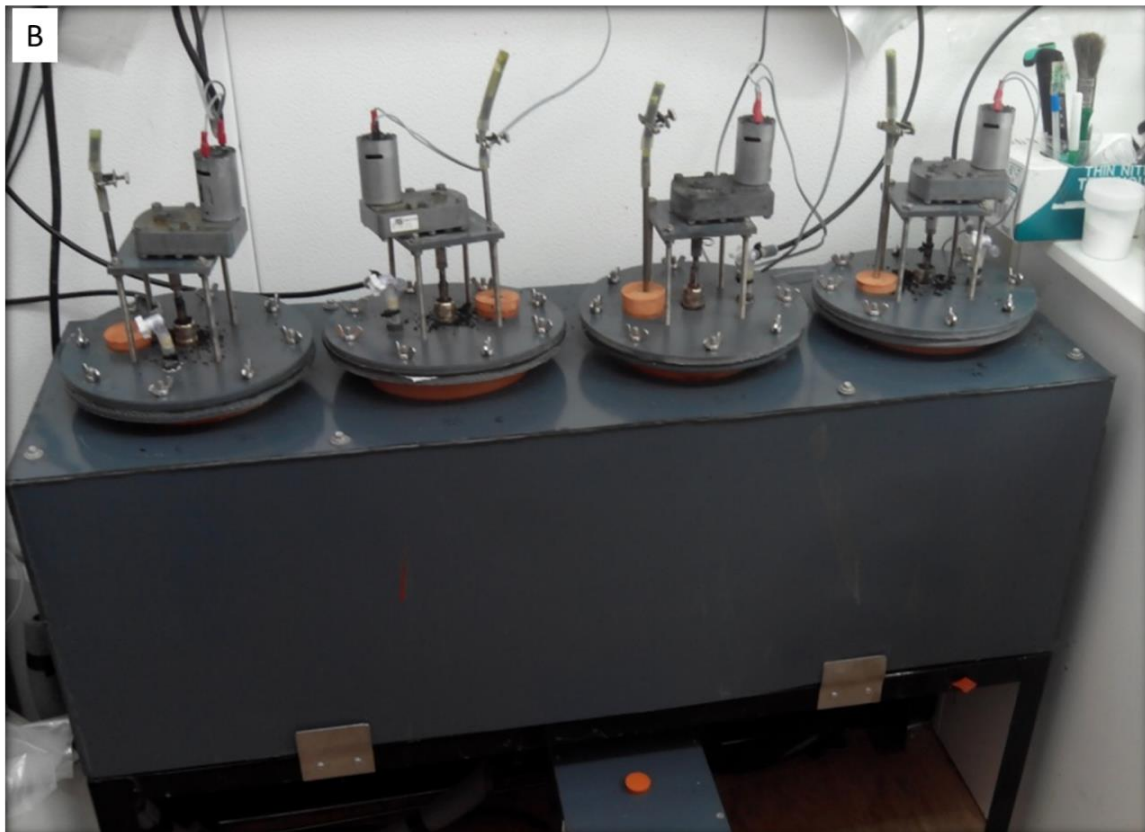
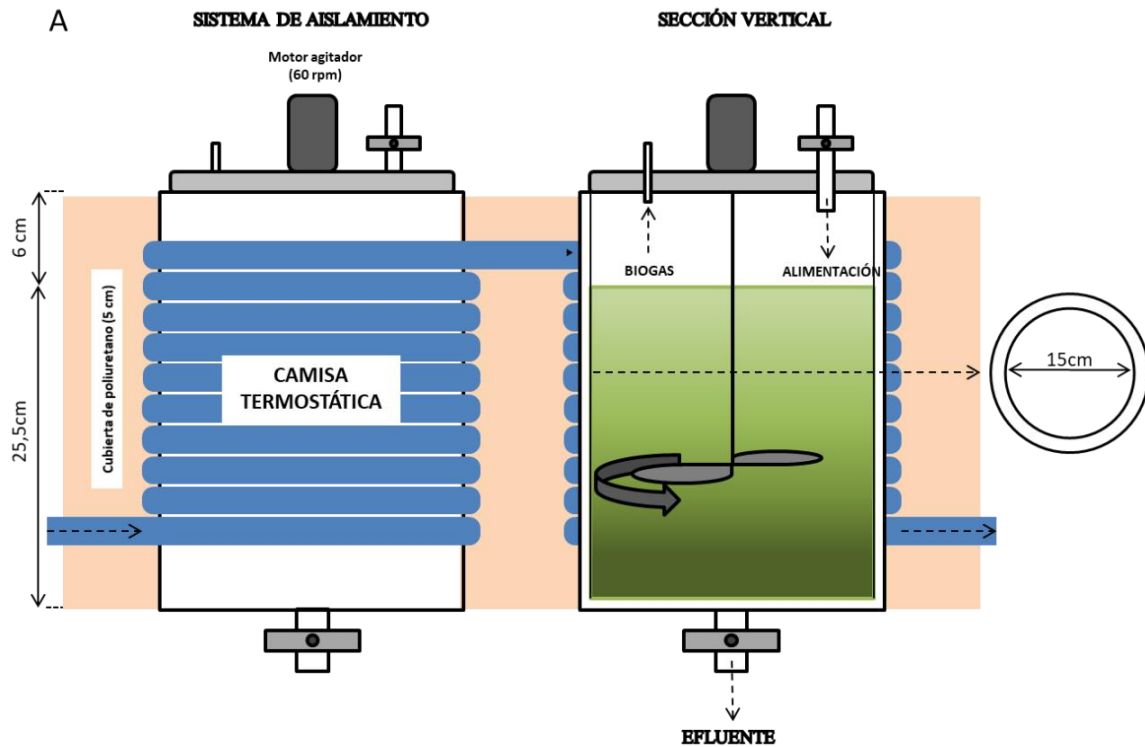


Figura 1: (A) Esquema de los reactores de mezcla completa con las principales referencias constructivas. (B) Fotografía de una de las unidades de 4 reactores

Inóculo

La inoculación de los reactores se realizó empleando 4,5 l, por reactor, de efluente de un reactor de microalgas mesofílico (35 °C) de 600 l trabajando a 21 días de TRH, situado en la estación depuradora de aguas residuales (EDAR) de “El Torno” (36° 25’38.0’’ N – 6° 09’22.0’’ W), localizada en el municipio de Chiclana de la Frontera (Cádiz), España. Tras la adición del inóculo, se mantuvieron en agitación las 2 unidades de 4 reactores, a 35 y 55 °C, respectivamente, durante 8 días sin alimentación.

Alimentación

La biomasa microalgal empleada para la alimentación de los reactores fue generada en reactores de microalgas tipo HRAP (High Rate Algae Pond) de unos 10 m³. Estos fueron alimentados con el efluente de los reactores UASBs descritos en el capítulo 2. La biomasa generada en los reactores HRAP (TRH = 7 días) fue cosechada mediante un sistema de flotación por aire disuelto (DAF) previa coagulación con PAX-18 y floculación con Flopam FO 4800 SSH (**Figura 2**). Los detalles de operación de los HRAP, así como del sistema de cosechado, han sido extensamente explicados en De Godos et al. (2016).

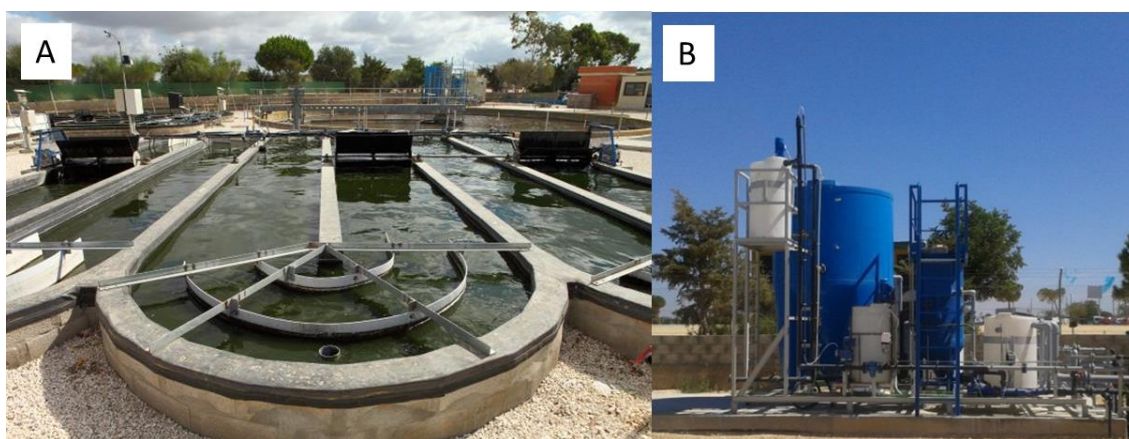


Figura 2: (A) Fotografía de los HRAP donde se produjo la biomasa microalgal (B) Fotografía del sistema de concentración por aire disuelto.

Diseño experimental

Los ensayos de digestión anaerobia bajo las estrategias mesófilas y termófilas comenzaron el 19 de junio de 2014 y se mantuvieron durante 373 días en los que se distinguieron 4 fases detalladas en la **Tabla 1**.

Tabla 1: Parámetros de operación de los digestores en los distintos períodos de experimentación

	TRH (d)	Días	Temperatura (°C)
Inoculación	28	8	35 / 55
P1	28	77	35 / 55
P2	21	179	35 / 55
P3	14	109	35 / 55

Técnicas Analíticas

Las muestras se tomaron de manera puntual una vez a la semana de cada uno de los reactores. Los parámetros de caracterización de las distintas muestras, formadas por la biomasa microalgal concentrada y el digestato, fueron: DQO total y soluble (métodos estándar 5220 C y 5220 D), sólidos totales (ST) y sólidos volátiles (SV) (método estándar 2540 D), Sulfato (método estándar 4500-SO₄⁻² E), Amonio (método estándar 4500-NH₃ D), (APHA, 2005). La cuantificación del nitrógeno total Kjeldahl (NTK) se realizó combinado una unidad de digestión Selecta Bloc Digest 6, y un destilador Kjeldahl VELP Scientifica UDK 152. La determinación del pH se realizó mediante pHmetro Hanna pH 210. La alcalinidad se midió mediante titulación con ácido sulfúrico (H₂SO₄) 0,02 N entre los puntos de pH 5,75 y 4,3, según Jenkins et al. (1983).

El biogás producido se almacenó en bolsas Tedlar®, midiéndose diariamente el volumen y composición del mismo (CH₄, CO₂, O₂ y H₂S) mediante un analizador de gases portátil COMBIMASS® GA-m. Una muestra de gas estándar (65% de CH₄ y 35% de CO₂) suministrada por la empresa Air liquide, fue usada como patrón para comprobar el correcto funcionamiento del analizador de gases.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Biomasa microalga.

El cosechado mediante flotación por aire disuelto (DAF) de la biomasa producida en los reactores HRAP alimentados con el efluente de 3 reactores UASB se realizó por lotes (3 – 4 h al día), empleándose una relación aire-sólidos de 0,02 mg aire / mg SST, esta relación se encuentra dentro del intervalo usado para concentrar lodos secundarios (0,005 – 0,09 mg aire / mg SST) (Metcalf et al., 1991). Este modo de operación se debió a que el caudal del efluente de los HRAP fluctuó entre los 0,040 – 0,133 m³ / h (en función del TRH del HRAP, 7 días en invierno y 3 días en verano), siendo la capacidad de tratamiento del sistema DAF muy superior, 1,67 m³ / h. En la **Tabla 2** se muestra la caracterización tanto de la biomasa cosechada como del influente a los reactores HRAP procedentes de los UASB. Los sólidos totales y volátiles del efluente de los UASB, durante los periodos de HRT = 28 y 21 días mostraron valores similares, mientras que en el caso del periodo de HRT = 14 días, mostraron un aumento del 40 %, debido al descenso del TRH de operación (de 18 a 12 h) en los UASB durante este periodo. En cuanto a las características de la biomasa microalgal concentrada, en la **Tabla 2** podemos observar como presenta diferencias entre los distintos periodos experimentales. En los tres periodos la concentración de ST se encuentra alrededor del 3 – 4 %, valor que coincide con el típico (3,5 – 5 %) de un lodo secundario concentrado por flotación (Tchobanoglous et al., 1991). Por otra parte, en los periodos de TRH de 28 y 14 días tanto la relación entre SV y ST como la relación DQO-ST son comparables, mientras que en el periodo de TRH de 21 días estos valores son inferiores. Estas diferencias entre periodos podrían deberse a cambios en la composición de la alimentación de los HRAP o en las condiciones climáticas. En la **Figura 3**, se presenta la evolución de las condiciones climáticas (temperatura y radiación solar) y de la composición de la biomasa microalgal. Se puede

apreciar como el periodo de TRH de 28 días coincide con el descenso de la temperatura desde la estación veraniega al otoño, mientras que el periodo de TRH de 21 días comprende desde el inicio del otoño hasta el comienzo de la primavera, concentrando los registros más bajos para la temperatura y la radiación solar. Asimismo apreciamos como la proporción de sólidos volátiles frente a los totales descendió, durante el periodo de TRH de 21 días en relación al de 28 días, en torno al 7 %, mientras que la de la DQO y sólidos totales lo hizo un 15 %. La temperatura y la radiación solar, son variables determinantes en la cinética de crecimiento de las microalgas (Sutherly y Ralph, 2020), así De Godos et al. (2016) registraron en estos mismos HRAP y para el mismo periodo de tiempo las menores productividades volumétricas de biomasa durante los meses de otoño e invierno (TRH = 28 días), 12,2 - 8,4 g /m²día, mientras que en primavera – verano (TRH = 21 y 14 días) alcanzaron los 18,6 – 29,3 g /m²día. Este incremento de la productividad en los meses de mayor radiación y temperatura, explicaría el mayor contenido en materia orgánica de la biomasa generada en los periodos de TRH de 28 y 14 días respecto al de TRH = 21 días.

Tabla 2: Caracterizaciones durante los distintos periodos experimentales del efluente de los reactores UASB y de la biomasa microalgal cosechada por el sistema DAF.

Periodo	TRH	Días de operación	DQO total			Sólidos totales			Sólidos Volátiles			
	(h)	(d)	$\bar{X} \pm IC$ (mg O ₂ / L)	n	CV	$\bar{X} \pm IC$ (mg / L)	n	CV	$\bar{X} \pm IC$ (mg / L)	n	CV	
UASB _{efluente}	P1	12 y24 (h)	85	232 ± 6,7	40	9	51,7 ± 5,1	40	31	43,6 ± 3,6	40	26
	P2	12 y24 (h)	179	277 ± 18,7	71	29	49,5 ± 4,0	72	35	40,0 ± 3,3	72	35
	P3	12 y18 (h)	109	274 ± 12,6	50	17	69,4 ± 5,0	53	27	56,3 ± 3,6	51	25
	(d)	(d)	$\bar{X} \pm IC$ (mg O ₂ / L)	n	CV	$\bar{X} \pm IC$ (g / kg)	n	CV	$\bar{X} \pm IC$ (g / kg)	n	CV	
DAF _{Biomasa}	P1	28	85	49086 ± 7171	11	25	37,5 ± 4,9	11	22	29,0 ± 4,4	11	26
	P2	21	179	35031 ± 3501	23	25	30,7 ± 2,0	23	16	22,1 ± 1,3	23	15
	P3	14	109	49077 ± 2269	16	9	39,5 ± 2,3	16	12	32,2 ± 1,7	16	11

(n = nº de datos, CV = coeficiente de variación (%), IC = intervalo de confianza calculado para $\alpha = 0.05$)

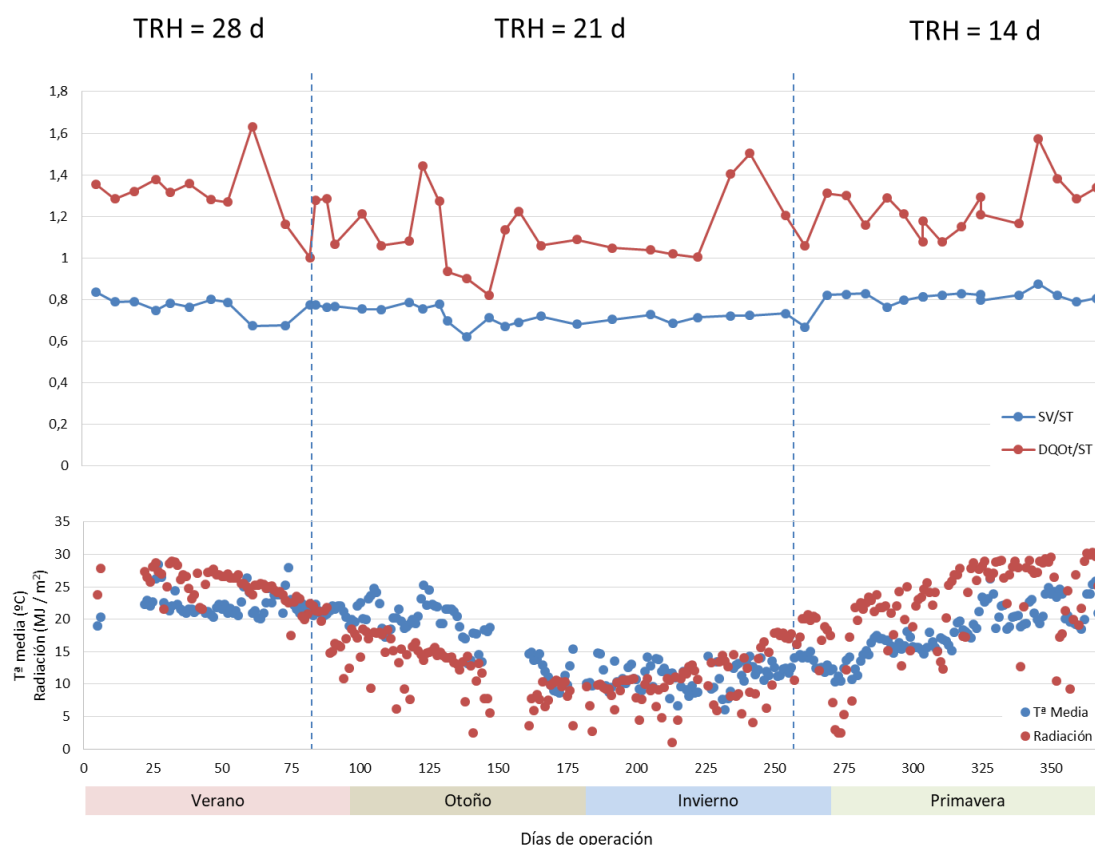


Figura 3: (A) variación de las relaciones de SV:ST y $DQO_{total}:ST$ en la alimentación a lo largo de los periodos de experimentación. (B) variación en los parámetros climáticos; T^a media y radiación solar (Conil, 2015).

Producción de Biogás

La producción de biogás a partir del sustrato microalgal se presentó como uno de los principales retos perseguidos durante la experimentación. El biogás generado en cada uno de los 4 reactores de cada una de las dos unidades (mesofila y termofila) se almacenó en bolsas tedlar® individuales para cada reactor. Para mantener el TRH fijado en cada fase experimental, se calculó el volumen semanal de biomasa microalgal a alimentar y se repartió entre los cinco días a la semana en los que se alimentó el reactor. Como consecuencia de esta estrategia de operación, los rendimientos observados en los distintos reactores no fueron estables a lo largo de la semana (**Figura 4**). Podemos observar como el rendimiento de producción de metano va incrementándose a medida que avanza la semana, volviéndose a repetir el ciclo después de cada fin de semana sin alimentación. Por esta razón se decidió que el análisis de los resultados se realizarían empleando medias

semanales y no valores diarios. Los resultados obtenidos en términos de medias semanales se muestran en la **Figura 5**, donde la concentración de metano en el biogás se mantuvo estable a lo largo de todos los periodos entre 63 – 68 % (**Tabla 3**), y los rendimientos de metano fluctuaron entre los 0,045 – 0,171 m³CH₄ / kg SV_{alimentado} según el periodo. Estos resultados están dentro del intervalo de valores reportados en la literatura (65,5 – 71,9 % y 0,06 – 0,28 m³CH₄ / kg SV_{alimentado}, respectivamente) para la digestión mesófila y termófila de biomasa microalgal producida a partir de aguas residuales urbanas con *Chlorella sp.* y *Scenedesmus sp.* como especies mayoritarias (Choudhary et al., 2020). Estos resultados se consideran similares a los que normalmente se obtienen para la concentración de metano en la digestión de lodos de depuradoras (50 – 80 %) (Fernandez Boizán et al., 2011), mientras que el rendimiento de metano resulta inferior 0,24 – 0,34 m³CH₄ / kg SV_{alimentado} (Shen et al., 2015).

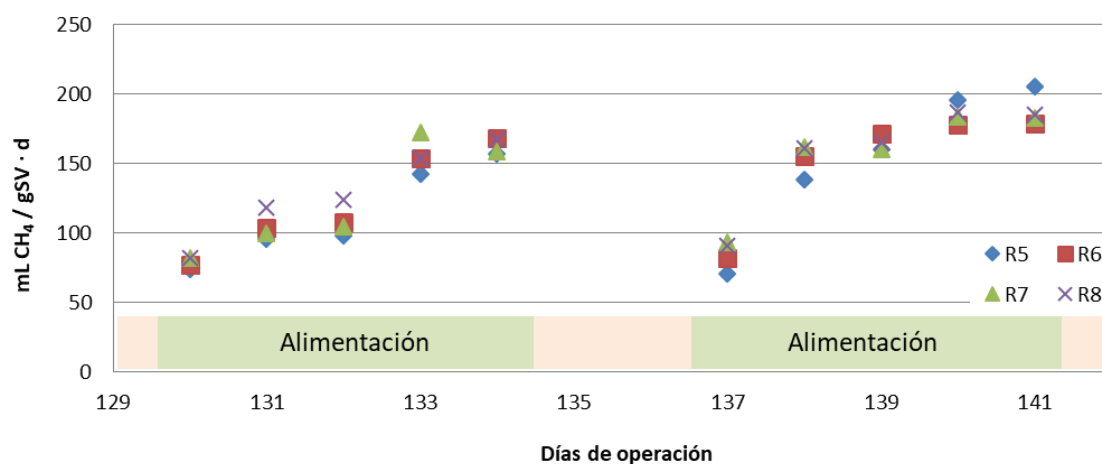


Figura 4: Evolución del rendimiento de metano en los reactores termófilos a lo largo de la semana con la alimentación semicontinua.

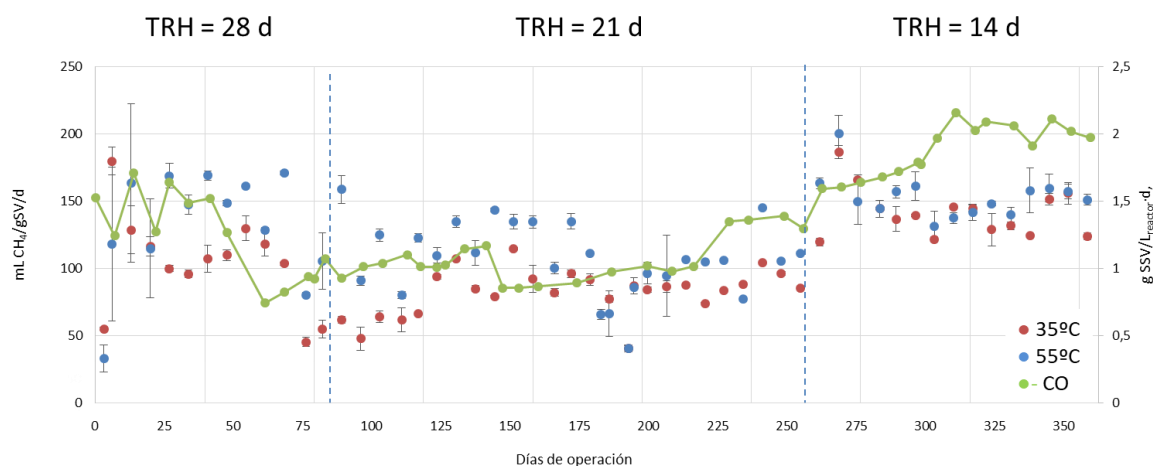


Figura 5: Evolución del rendimiento de metano.

En el primer periodo (TRH = 28 d) se realizó la inoculación de los reactores, a los que se mantuvo durante 8 días sin alimentación, tras lo que se inició el proceso de alimentación. Con respecto a la estabilidad en las medidas y resultados, los reactores termófilos presentaron una mayor variabilidad en las primeras fases como consecuencia del proceso de adaptación del inóculo mesofílico a las condiciones termófilas (Cavinato et al., 2017), como se puede apreciar por las barras de error de la **Figura 5**. Esta adaptación puede verse durante los primeros 45 días de operación, donde se obtuvieron rendimientos de metano de 112 y 153 ml CH₄ / g SV_{alimentado}día (**Tabla 3**) en los reactores mesófilos y termófilos, respectivamente. A partir de este momento se produjo un descenso en los rendimientos de metano en torno al 60 % en los mesófilos y 40 % en los termófilos. Estos descensos se atribuyeron a que el tiempo de agotamiento del inóculo mesofílico, empleado para el arranque de los reactores, no fue suficiente, pudiendo aportar sólidos adicionales a la carga del reactor. Otros autores mantuvieron fases de entre 20 – 30 días de agotamiento del inóculo en reactores mesófilos y termófilos, respectivamente, como paso previo al inicio de la alimentación (Lim et al., 2020), por lo que esta parece ser la razón de la variabilidad observada. Transcurridos los 45 días, los rendimientos de metano de los reactores descendieron conforme se fueron agotando los sólidos remanentes del

Tabla 3: Composición del biogás a lo largo de las distintas fases de experimentación.

TRH (d)	MESÓFILO (35 °C)									TERMÓFILO (35 °C)								
	28			21			14			28			21			14		
	$\bar{X} \pm IC$	n	CV	$\bar{X} \pm IC$	n	CV	$\bar{X} \pm IC$	n	CV	$\bar{X} \pm IC$	n	CV	$\bar{X} \pm IC$	n	CV	$\bar{X} \pm IC$	n	CV
CH₄ (%)	66±2	212	13	66±1	476	4	65±1	295	4	65±2	212	13	65±1	476	7	65±1	295	5
CO₂ (%)	23±1	212	26	33±0	476	5	33±0	295	5	25±1	212	28	35±1	476	8	33±1	295	13
O₂ (%)	0±0	212	-	0±0	476	-	0±0	295	-	0±0	212	-	0±0	476	-	0±0	295	-
H₂S (ppm)	2714±191	212	33	2930±349	476	37	4122±214	295	15	3434±210	212	29	3010±389	476	38	4262±191	295	13
mL CH₄/gSV·d	89±13	19	33	84±6	27	27	140±7	13	10	132±14	19	24	95±10	27	28	153±9	14	11
*mL CH₄/gSV·d	112±7	11	11	-	-	-	-	-	-	153±12	11	13	-	-	-	-	-	-
**mL CH₄/gSV·d	62±10	8	24	-	-	-	-	-	-	109±18	8	24	-	-	-	-	-	-

(n = n° de datos, CV = coeficiente de variación (%), IC =intervalo de confianza calculado para $\alpha = 0.05$)

***rendimientos de metano durante los primeros 45 días**

****rendimientos de metano durante los últimos 40 días**

inóculo, hasta estabilizarse en valores de rendimiento de metano medios de 62 y 109 ml CH₄ / g SV_{alimentado}día, en los reactores mesófilos y termófilos, respectivamente. Con respecto a las diferencias entre estrategias térmicas, en los reactores termófilos se alcanzó un rendimiento de metano promedio un 30 % más alto que en los reactores mesófilos, llegando a ser un 84 % mayor en la parte final del periodo. Esta diferencia y valores coinciden con los presentados por autores como (Golueke et al., 1957), que observaron diferencias de hasta el 100 % entre reactores mesófilos y termófilos, usando biomasa pura de *Scenedesmus* y *Chlorella*, aunque estudios más recientes indican valores cercanos al 56 % (Zamalloa et al., 2012).

A lo largo del segundo periodo (TRH = 21 días), la diferencia en los rendimientos de metano, entre los reactores mesófilos y termófilos, se redujo hasta el 10 % (**Figura 5**), siendo estos de 84 y 95 ml CH₄ / g SV_{alimentado}día, para los reactores mesófilos y termófilos, respectivamente (**Tabla 3**). Esta evolución se consideró como una continuación del proceso de adaptación iniciado al final del periodo anterior ya que al comparar con la literatura, se observó que otros autores como Passos et al. (2014), encontraron rendimientos de 180 ml CH₄ / g SV_{alimentado}, en la digestión mesófila de biomasa procedente de cultivos mixotróficos en HRAPs, operando a 20 días de TRH y una carga orgánica 0,72 g SV_{alimentado} / l_{reactor}día que es ligeramente inferior a la nuestra, 1,06 ± 0,07 g SV_{alimentado} / l_{reactor}día (n = 23; CV = 15 %; α = 0,05).

En el tercer periodo (TRH = 14 días), la carga orgánica aumentó hasta 1,9 g SV_{alimentado}/l_{reactor}día, incrementándose también el rendimiento de metano en ambas estrategias térmicas, mesófila y termófila, hasta valores medios de 140 y 153 ml CH₄ / g SV_{alimentado} (**Tabla 3**), respectivamente, manteniendo la diferencia del 10 % anteriormente registrada entre ambas estrategias.

Al comparar los reactores mesófilos a los distintos TRH (14, 21 y 28 días) se aprecia un incremento en los rendimientos de metano con la disminución del TRH, alcanzando los 140 ml CH₄ / g SV_{alimentado} para un TRH de 14 días, lo que supuso una mejora del 57 % sobre los resultados obtenidos a 28 días de TRH. Estos resultados fueron mejores que los obtenidos por Passos et al. (2014), en reactores mesófilos tratando biomasa mixotrófica microalgal a TRH = 15 días, donde el rendimiento de metano fue de 100 ± 27 ml CH₄ / g SV_{alimentado}día. Con respecto a la composición del biogás obtenido en los distintos periodos, se registró un incremento en la concentración de H₂S en torno al 40 % entre el TRH de 21 y 14 días. Este incremento se debió al aumento de la carga másica de sulfatos al reducir el TRH y en consecuencia a un aumento de actividad de las bacterias sulfato-reductoras (Bertolino et al., 2015).

Al igual que los reactores mesófilos, los termófilos registraron los mejores rendimientos de metano para el TRH de 14 días con una media de 153 ml CH₄ / g SV_{alimentado}día. Este resultado supuso una mejora del 40 % con respecto a los valores registrados a TRH = 28 días. Este rendimiento de metano fue inferior al obtenido por Ferrer et al. (2010) (230 ml CH₄ / g SV_{alimentado}día) trabajando con fango secundario en reactores termófilos a valores de carga orgánica similares a los experimentados (1,65±0,3 g SV_{alimentado}/L_{reactor}día). El menor rendimiento con respecto a los reactores de lodo secundario puede deberse a una menor biodegradabilidad de la biomasa microalgal cosechada como consecuencia de la estructura de la pared celular (Mendez et al., 2015, Cavinato et al., 2017) de la misma, que como se presentó en De Godos et al. (2016), estuvo principalmente compuesta por *Coelastrum sp*, género que cuenta con una pared celular formada por tres capas, conformando un polímero resistente (Rodríguez y Cerezo, 1996). Además de los incrementos en los rendimientos de metano, en el TRH = 14 días se produjo un aumento significativo de la proporción de H₂S en los reactores termófilos, alcanzando las 4262

ppmv de H_2S , y representando un incremento con respecto a los TRH anteriores en torno al 25 %. Al igual que en los reactores mesófilos, el incremento en el flujo másico de sulfatos en la alimentación pudo ser el motivo de este incremento en la proporción de H_2S , siendo superior en los reactores termófilos con respecto a los mesófilos para todos los TRH. Estas diferencias entre mesófilos y termófilos en la producción de H_2S responde a una mayor biodisponibilidad de ácidos grasos volátiles en los reactores termófilos (Perez, 2016, Moset et al., 2015) tanto para las bacterias metanógenas como las sulfato-reductoras.

Estabilidad de los reactores anaerobios

La estabilidad del proceso de digestión anaerobia en los digestores se analizó tomando como indicadores los valores de pH, relación de alcalinidad y la concentración de amonio (**Figura 6**).

En el caso del seguimiento del pH, hay autores que indican el rango de 7,1 – 7,8 como el idóneo para asegurar el buen funcionamiento de los digestores anaerobios (Wheatley, 1990, Liu et al., 2008). De acuerdo con De Godos et al. (2016), los cultivos de biomasa microalgal en los HRAP registraron valores de pH en torno al 8,5, sin embargo la biomasa cosechada presentó un pH estable (CV = 4,1 %) en torno a 6,5 (I.C = 0,1; n = 44), a lo largo de todo el periodo de experimentación. Este descenso se atribuye al empleo como coagulante del policloruro de aluminio (PAX-18) durante el proceso de cosechado por flotación, que presenta un pH = 1. Este pH es similar al que podemos encontrar en lodos mixtos (6 - 7) que alimentan digestores anaerobios en estaciones depuradoras de aguas residuales convencionales (Gebreyessus y Jenicek (2016). A pesar del bajo pH de la alimentación, ambos reactores anaerobios, mesófilos y termófilos, mantuvieron un pH estable (CV = 6 %) en torno a 7,6 (I.C. = 0,04; n = 386) a lo largo de todo el periodo

experimental (**Figura 6**). Atendiendo a los distintos periodos (**Tabla 4**), a TRH = 28 días, no se observaron diferencias significativas entre los reactores mesófilos y los termófilos en sus valores de pH, manteniéndose por encima de las referencias de operación óptima (7,1 – 7,8) con valores medios de $7,85 \pm 0,09$ y $8,13 \pm 0,06$, respectivamente. Estos resultados se atribuyeron a un consumo de los ácidos grasos volátiles (AGVs) que elevó el pH como consecuencia de la actividad del inóculo mesófilo empleado (procedente de un reactor mesófilo con TRH = 21 días). Este efecto sobre el pH, como consecuencia de un desequilibrio entre las fases de hidrólisis y producción de AGVs, ha sido descrita por otros autores como Xu et al. (2018) quienes al igual que en nuestro caso coincide con un descenso en la producción de biogás (**Tabla 3**).

Para TRH de 21 días, ambos reactores (mesófilos y termófilos) se mantuvieron dentro de la zona de operación óptima recomendada, existiendo diferencias significativas entre las condiciones mesófilas, $\text{pH} = 7,1 \pm 0,09$ (CV = 6,5 %; $\alpha = 0,05$; n = 94) y Termófila $7,6 \pm 0,07$ (CV = 4,5 %; $\alpha = 0,05$; n = 94). Estas diferencias entre ambas estrategias térmicas ha sido encontrada también por otros autores como Moset et al. (2015), pudiendo ser debida a un incremento de la degradación de las proteínas bajo la estrategia termófila (Labatut et al., 2014), junto con una mayor capacidad de disolución del CO₂ en los digestores mesófilos (Kinnunen et al., 2014). Con respecto al TRH = 14 días, los valores de pH registrados para los reactores mesófilos se mantuvieron dentro de los recomendados, siendo la media de $7,6 \pm 0,04$ (CV = 2 %; $\alpha = 0,05$; n = 58), mientras que se superaron en el caso de los termófilos, $\text{pH} = 8,1 \pm 0,04$ (CV = 1,8 %; $\alpha = 0,05$; n = 60). Este aumento es posible relacionarlo con el consumo de los AGVs por parte de las bacterias sulfato-reductoras (Perez, 2016) y el consecuente ascenso del pH, como resultado del incremento en el flujo másico de sulfatos al bajar el TRH a 14 días, tal y

como se puede apreciar en el aumento de la producción de H_2S (**Tabla 3**) para este periodo.

Comparando los valores promedios de pH de los distintos periodos, el que presentó mayor variabilidad fue el TRH = 21 días, tanto para los reactores mesófilos (CV = 6,5 %) como termófilos (CV = 4,5 %) (**Tabla 4**), mientras que el TRH = 14 días mostró las menores variabilidades, CV = 2,0 y 1,8 %, para los reactores mesófilos y termófilos, respectivamente.

La relación de alcalinidad es otro de los parámetros empleados para analizar el comportamiento de los reactores anaerobios, ya que permite anticipar procesos de acidificación de los mismos. Para ello se empleó la metodología de Jenkins et al. (1983), adaptada por (Ripley et al., 1986) por la que se realizan titulaciones donde se consideran la alcalinidad total (AT) del medio a pH 4,3 (punto en el que se asume el consumo del 99% del bicarbonato) y la alcalinidad parcial (AP) a pH 5,75 (donde se determina la capacidad buffer útil del medio). La diferencia entre la AP y la AT es denominada alcalinidad intermedia (AI). Dependiendo del tipo de sustrato y temperatura de digestión, se consideran distintos límites sobre los que la relación AI / AT es indicativo de un mal funcionamiento de los digestores. Este método se desarrolló inicialmente para aguas residuales como sustrato, estableciéndose un límite de AI / AT= 0,30 por encima del cual se considera que los reactores no funcionan correctamente. La aplicación del método a otras corrientes como los lodos de depuradora ha mostrado valores límite más elevados, 0,9 para reactores termófilos (Ferrer et al., 2010) y 0,51 para mesófilos (Jiang et al., 2020). En la Figura 6, es posible comprobar como las condiciones de operación de los reactores se mantuvo por debajo del 0,51 con valores medios de $0,30 \pm 0,01$ (CV = 31,5 %; n =377; $\alpha = 0,05$), para todo el periodo experimental.

Durante el TRH = 28 días (**Tabla 4**), las relaciones AI / AT, presentaron medias similares en los reactores mesófilos ($0,30 \pm 0,02$; $n = 48$; $\alpha = 0,05$) y los termófilos ($0,31 \pm 0,01$; $n = 44$; $\alpha = 0,05$), sin diferencias significativas. Con el cambio de TRH a 21 días, esta relación se incrementó hasta los 0,37 y 0,34 en los reactores mesófilos y termófilos, respectivamente, pero al igual que en el TRH anterior no se apreciaron diferencias significativas, mostrando un coeficiente de variabilidad para ambos TRH y temperaturas inferior al 25 %. Estos resultados fueron superiores a los obtenidos por (Ramos-Suárez et al., 2014), quienes trabajaron con biomasa microalgal liofilizada en reactores mesófilos a 30 días de TRH, obteniendo relaciones AI / AP de 0,16. Con respecto al TRH = 14 días, la relación AI / AP se redujo en un 60 % en el caso de los reactores mesófilos y un 23 % en el de los termófilos, con respecto al periodo anterior. El descenso en el TRH implicó un aumento de la carga orgánica del reactor, como se mostró en la **Figura 5**, aumentando el sustrato disponible para los procesos de hidrólisis y la producción de AGVs. Autores como Kim et al. (2002) han señalado que el consumo de estos AGVs por parte de bacterias metanógenas y sulfato-reductoras pueden implicar reducciones en la relación AI/AP, dado que disminuye la AI (Cerón et al., 2005). En este periodo, tal y como se puede ver en la **Tabla 3**, la proporción del H₂S en el biogás aumentó un 40 %, mientras que la de metano no experimentó diferencias significativas. Estas diferencias indican que este incremento en el consumo de los AGVs tuvo lugar principalmente por parte de las bacterias sulfato-reductoras, como consecuencia añadida al incremento de la carga de sulfatos correlacionada con la de la carga orgánica. Por otro lado, se ha descrito en la literatura (de Lemos Chernicharo, 2007) como la producción de CO₂, como consecuencia de la actividad fermentativa bacteriana durante la fase de hidrólisis, incrementa la AP de la relación de alcalinidad, por lo que este proceso podría también haber contribuido al descenso de la relación de alcalinidad observado.

Comparando los reactores mesófilos del periodo TRH =14 con los termófilos, se presentaron diferencias significativas en la relación AI / AP, siendo los valores medios de $0,15 \pm 0,01$ ($n = 55$; $\alpha = 0,05$) y $0,26 \pm 0,01$ ($n = 57$; $\alpha = 0,05$), respectivamente. Esta diferencia entre ambas estrategias térmicas suele ser atribuida a una mayor actividad hidrolítica en los reactores termófilos con respecto a los mesófilos (Perez, 2016, Labatut et al., 2014, Kim et al., 2002, Moset et al., 2015). Como consecuencia de esta actividad se incrementan la producción de AGVs, la reducción de sulfatos, y la degradación de compuestos orgánicos nitrogenados que contribuyen a aumentar esta relación de alcalinidad (AI / AP) (Perez, 2016).

El tercer parámetro en el control de la estabilidad de los digestores, es la concentración de amonio (NH_4^+). El amonio está considerado como un componente tóxico para la digestión anaerobia (Chen et al., 2008), ya que puede llegar a inhibir la actividad metanógena de los reactores, aunque también representa una importante fuente de nitrógeno y aporta cierta capacidad tampón frente a los cambios de pH. Distintos autores han señalado rangos de tolerancia a los niveles de amonio, que van desde los 1,7 – 1,8 g / l (Magdalena et al., 2018, Yenigün y Demirel, 2013) tanto para reactores mesófilos como termófilos, llegando a límites de 5 g / l en el caso mesofílico y 6 g / l en el termófilo, con inóculos aclimatados (Yenigün y Demirel, 2013). Otros autores apuntan intervalos más amplios, entre 1,5 – 3 y 7 - 11 g/l (Jiang et al., 2019, Sterling Jr et al., 2001, Koster y Lettinga, 1984). Como límite de referencia para este estudio se tomó el valor más restrictivo (1,5 g / l) encontrado en la literatura. Las concentraciones de amonio encontradas durante todo el periodo experimental fueron de $0,88 \pm 0,05$ g NH_4^+ / l (CV = 52 %; $n = 387$; $\alpha=0.05$) superándose el valor de 1,5 g NH_4^+ / l, en 45 de los 373 días de experimentación, por lo tanto es posible considerar que no ha tenido lugar procesos de inhibición como consecuencia de la presencia de amonio (Passos et al., 2014). Respecto

a los valores medios registrados para los dos tipos de reactores, se observaron diferencias significativas (**Tabla 4**) entre los reactores mesófilos ($0,66 \pm 0,04$ g NH_4^+ / l; n = 200; CV = 30 %; $\alpha = 0,05$) y termófilos ($1,12 \pm 0,07$ g NH_4^+ / l; n = 187; CV = 48 %; $\alpha = 0,05$), presentando estos últimos los resultados más elevados durante toda la etapa experimental. Resultados similares fueron presentados por Kinnunen et al. (2014) ($1,7 - 2,9$ g NH_4^+ / l) quienes trabajando con reactores termófilos digiriendo *Nannochloropsis sp.* Las diferencias en las concentraciones entre las dos estrategias térmicas pudo deberse a que al aumentar la temperatura, disminuyó la estabilidad de las macromoléculas, como las proteínas de la biomasa, pudiendo descomponerse con mayor facilidad y propiciando la acumulación de $\text{NH}_3 - \text{NH}_4^+$ en los digestores (Cavinato et al., 2017, Yenigün y Demirel, 2013)

Durante el periodo de operación a TRH = 28 días, en los reactores mesófilos y termófilos, la concentración de amonio descendió desde valores iniciales muy cercanos o ligeramente superiores a los $1,5$ g NH_4^+ / l. Estos elevados valores de amonio en la fase inicial se relacionaron con la aportación del inóculo empleado en el arranque de los reactores, siendo la concentración en éste de $1,0$ g NH_4^+ / L. Niveles similares de amonio fueron encontrados en inóculos mesófilos procedentes de lodos de depuradora (Liu et al., 2017) ($0,7$ g NH_4^+ / L) empleándolos en reactores mesófilos, alimentados con mezclas de estiércol. El descenso de estos valores se produjo de forma marcada a lo largo de los primeros 45 días de experimentación conforme se estabilizaron las condiciones de internas de los reactores. Este descenso ha sido también observado por Greses et al. (2018) donde presentaron la misma evolución para reactores CSTR termófilos con *Scenedesmus sp.* como la principal especie de la biomasa microalgal alimentada, aunque empleando TRH superiores (50 días).

A TRH = 21 días, la concentración de amonio en los reactores mesófilos y termófilos se mantuvo estable a lo largo de todo el periodo con valores medios de $0,41 \pm 0,02 \text{ g NH}_4^+ / \text{l}$ ($n = 94$; $\alpha = 0,05$) y $0,73 \pm 0,03 \text{ g NH}_4^+ / \text{l}$ ($n = 84$; $\alpha = 0,05$), respectivamente. Estos valores fueron inferiores a los presentados por Kinnunen et al. (2014), quienes en reactores CSTR mesófilos y termófilos, digiriendo *Nannochlorosis* sp., registraron concentraciones de 1,1 y 2,9 g NH_4^+ / l , trabajando a 36 y 46 días de TRH, respectivamente. Otros autores como Greses et al. (2018), presentaron concentraciones tan bajas como 0,18 y 0,38 g NH_4^+ / l para reactores CSTR mesófilos y termófilos, a 50 días de TRH y alimentados con *Scenedesmus* sp. Esta variabilidad pudiera estar relacionada con la biodegradabilidad y contenido proteico de los distintos tipos de sustratos (Cavinato et al., 2017).

En el periodo de TRH = 14 días se observó un aumento significativo, con respecto al periodo anterior (**Tabla 4**), en las concentraciones de amonio en los reactores mesófilos y termófilos que alcanzaron valores medios de $0,88 \pm 0,05 \text{ g NH}_4^+ / \text{l}$ ($n = 58$; $\alpha = 0,05$) y $1,36 \pm 0,07 \text{ g NH}_4^+ / \text{l}$ ($n = 59$; $\alpha = 0,05$), respectivamente. Estos resultados fueron superiores a los 0,26 g NH_4^+ / l obtenidos por Passos et al. (2014) para reactores mesófilos trabajando a 15 días de TRH con biomasa microalgal. El aumento en las concentraciones de amonio en los digestores anaerobios puede ser consecuencia de la temperatura de operación o de la disminución el TRH (Kalakodio, 2016). El incremento de estos valores presenta una evolución similar a las observadas en la carga orgánica, los rendimientos de metano (**Figura 5**) y el pH (**Figura 6**), para este mismo periodo. Tal y como se comentó en las secciones anteriores, el aumento de la carga orgánica podría provocar un aumento de la actividad hidrolítica y por tanto un incremento de la concentración de amonio (Perez, 2016).

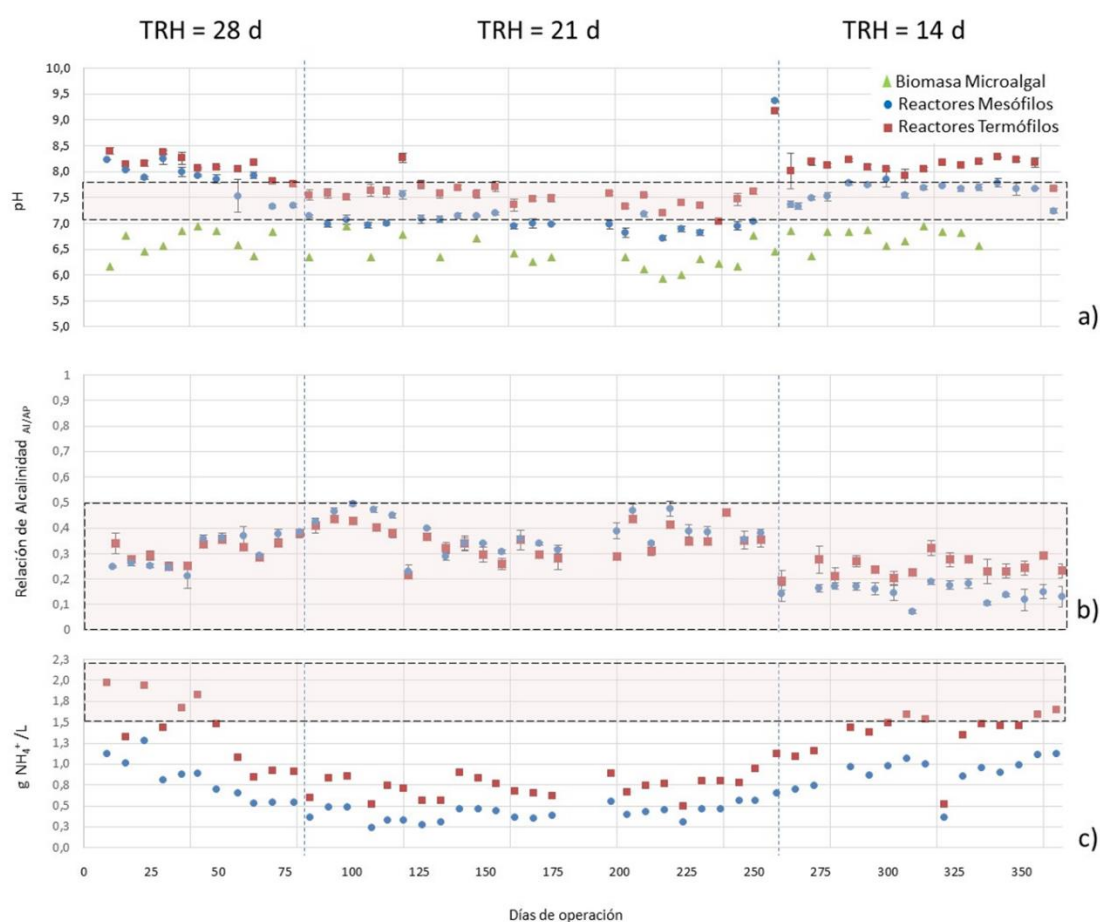


Figura 6: Principales parámetros de control de la estabilidad en los reactores anaerobios mesófilos y termófilos. El área punteada indica el límite de estabilidad operativa

La evaluación de los distintos índices considerados para el control de la estabilidad de los reactores, permitió concluir que, en general, la operación de los mismos se hizo sin excesivos desequilibrios entre las poblaciones responsables del proceso y sin que existieran procesos de inhibición debido a la presencia de amonio. Solo en el caso de los reactores termófilos operados a TRH = 14 días, la concentración de amonio se aproximó a los límites inferiores de toxicidad considerados ($1,5\ g\ NH_4^+ / l$) y los valores de pH fueron superiores a los encontrados por otros autores (7,1 – 7,8). En este TRH se alcanzaron los mayores rendimientos de metano en ambas estrategias térmicas, siendo un 9 % superior en los reactores termófilos (**Tabla 3**). Esta diferencia es inferior al 19 % encontrado en Rey Devesa (2014) en reactores digiriendo biomasa microalgal. En digestores de lodos secundarios esta diferencia suele ser del orden del 60 % para TRH

inferiores a 15 días (Ferrer Martí et al., 2011). Las pequeñas diferencias en los rendimientos de metano entre una estrategia térmica y otra, unida a los resultados de estabilidad del proceso parecen señalar a los reactores mesófilos como los más indicados para el tratamiento de la biomasa microalgal en este experimento.

Tabla 4: Valores medios de los parámetros de control de la estabilidad en los reactores mesófilos y termófilos durante las fases de experimentación.

TRH (d)	Reactores Mesófilos (35 °C)									Reactores Termófilos (55 °C)								
	28			21			14			28			21			14		
	$\bar{X} \pm IC$	n	CV	$\bar{X} \pm IC$	n	CV	$\bar{X} \pm IC$	n	CV	$\bar{X} \pm IC$	n	CV	$\bar{X} \pm IC$	n	CV	$\bar{X} \pm IC$	n	CV
pH	7,85±0,09	48	4	7,14±0,09	94	7	7,63±0,04	58	2	8,13±0,06	44	2	7,63±0,07	94	4	8,12±0,04	60	2
Relación de alcalinidad $pH_{AI/AP}$	0,3±0,02	48	21	0,37±0,02	91	25	0,15±0,01	55	25	0,31±0,01	44	16	0,34±0,01	82	20	0,26±0,01	57	17
g NH_4^+ / l	0,89±0,07	48	29	0,41±0,02	94	22	0,88±0,05	58	23	1,56±0,15	44	32	0,73±0,03	84	18	1,36±0,07	59	21
DQOt (mg O_2 / l)	42122±1216	44	10	28773±965	94	17	30777±625	58	8	36072±2156	44	20	25388±993	84	18	27749±738	59	10
DQOs (mg O_2 / l)	924±38	48	15	1443±59	94	20	737±52	58	28	3276±346	44	37	3364±142	84	20	3796±212	59	22
DQOt eliminada (%)	24±2	43	33	48±2	94	18	45±1	58	10	35±4	44	37	54±2	84	15	50±1	59	10

(n = nº de datos, CV = coeficiente de variación (%), IC = intervalo de confianza calculado para $\alpha = 0,05$)

Eliminación de materia orgánica

La eliminación de la materia orgánica fue analizada a partir de los valores de la DQO. Los resultados obtenidos a lo largo de todo el periodo de experimentación (**Tabla 4**), mostraron diferencias significativas entre los valores de DQO soluble registrados en reactores mesófilos y termófilos. En el caso de los reactores termófilos, se observó una mayor concentración de DQO soluble durante todos los periodos de experimentación ($3466 \pm 137 \text{ mg O}_2 / \text{l}$; $n = 168$; $\text{CV} = 26 \%$; $\alpha = 0,05$) que representó más de un 300 % con respecto a los digestores mesófilos ($1118 \pm 58 \text{ mg O}_2 / \text{l}$; $n = 178$; $\text{CV} = 35 \%$; $\alpha = 0,05$). Esto puede ser debido a que la cinética de los procesos hidrolíticos responsables de la solubilización de la DQO particulada es superior en reactores termófilos (Arras et al., 2019), como se comentó anteriormente. Esta acumulación de DQO en los reactores termófilos por la generación de AGVs puede conllevar a la aparición de AGVs de difícil degradación, como el propionato (Perez, 2016), así como de compuestos poliméricos poco degradables (Labatut et al., 2014, Mendez et al., 2015, Cavinato et al., 2017), observándose diferencias significativas en los porcentajes de eliminación de la DQO total siendo del $41 \pm 2 \%$ ($n = 173$; $\alpha = 0,05$) y $48 \pm 2 \%$ ($n = 165$; $\alpha = 0,05$), en los reactores mesófilos y termófilos, respectivamente.

Para $\text{TRH} = 28$ días, la evolución de la eliminación de la DQO total fluctuó considerablemente como parte del proceso de adaptación de los digestores a las condiciones de operación y a los contenidos en materia orgánica aún presentes del inóculo, observándose un coeficiente de variación (CV) en conjunto del 41 %. En el caso de los reactores mesófilos y termófilos por separado, los valores medios de eliminación de la DQO fueron de $24 \pm 2 \%$ ($n = 43$; $\text{CV} = 33 \%$; $\alpha = 0,05$) y $35 \pm 4 \%$ ($n = 44$; $\text{CV} = 37 \%$; $\alpha = 0,05$), respectivamente. En esta etapa se aprecia la misma diferencia entre

mesófilos y termófilos anteriormente comentada para el conjunto, concentrándose la mayor variabilidad en los 45 primeros días de operación (**Figura 7**), siendo esta fluctuación más acusada en los reactores termófilos, donde las altas temperaturas han sido presentadas en la bibliografía como uno de los puntos de posible inestabilidad en los reactores anaerobios al compararse con los mesófilos (Yenigün y Demirel, 2013).

En el segundo periodo (TRH = 21 días), la DQO total en los reactores disminuyó en torno al 40 % con respecto al periodo anterior, estabilizándose la eliminación de la misma en un 48 ± 2 % ($n = 94$; CV = 18 %; $\alpha = 0,05$) y 54 ± 2 % ($n = 84$; CV = 15 %; $\alpha = 0,05$), para los reactores mesófilos y termófilos, respectivamente. Estos resultados fueron mejores a los presentados por Passos et al. (2014), donde se lograron porcentajes de eliminación de DQO total del 31,4 – 34,2 % en reactores mesófilos tratando biomasa microalgal a 20 días de TRH. En comparación a la digestión de lodos convencionales de EDARs, los resultados obtenidos en esta fase se mantuvieron superiores a los presentados por autores como Bolzonella et al. (2009) para reactores mesófilos (35 %) y termófilos (45 %), trabajando a 20 días de TRH con lodos secundarios de EDAR.

La última fase (TRH = 14 días) presentó resultados similares a los del periodo anterior con un ligero descenso (6 y 8 %) en los porcentajes de eliminación de DQO total de los reactores mesófilos (45 ± 1 %; $n = 58$; CV = 10 %; $\alpha = 0,05$) y termófilos (50 ± 1 %; $n = 59$; CV = 10 %; $\alpha = 0,05$). El descenso en el TRH y su efecto sobre la capacidad de eliminación de DQO total ha sido también presentada en Passos et al. (2014), aunque en este caso el descenso fue más acusado, donde el paso de un TRH de 20 (31,4 - 34,2 %) a 15 (20,1 %) días supuso un descenso en torno al 38 % sobre la capacidad de eliminación de DQO total.

La acumulación de DQO soluble en los reactores puede ser indicio de presencia de materia no degradable por las bacterias o un problema en la fase de acidogénesis por la que la producción de los AGVs pudiera estar limitada (Kinnunen et al., 2014). Observando los resultados obtenidos (**Tabla 4**) con respecto a la DQO soluble, no se aprecia acumulación pues en el caso de los reactores mesófilos, al aumentar la carga de alimentación (TRH 21 a TRH 14 días) se produce un descenso significativo (50 %) de la DQO soluble. En el caso de los reactores termófilos al pasar de TRH 21 a TRH 14 no hay variación significativa en la concentración de DQO soluble.

Las diferencias en cuanto a la eliminación de DQO total entre la estrategia mesófila y la termófila, evidencian que la degradación de la biomasa microalgal siguiendo solamente una estrategia de aumento de temperatura, no reporta grandes mejoras debido a la estabilidad del tipo de biomasa y sus rígidas paredes celulares (González-Fernández et al., 2012), existiendo grandes diferencias entre distintos tipos de especies (Bohutskyi et al., 2014). Esta observación ya ha sido hecha por autores como Cavinato et al. (2017), proponiendo la necesidad de pretratamientos que hagan más biodisponibles los nutrientes intracelulares.

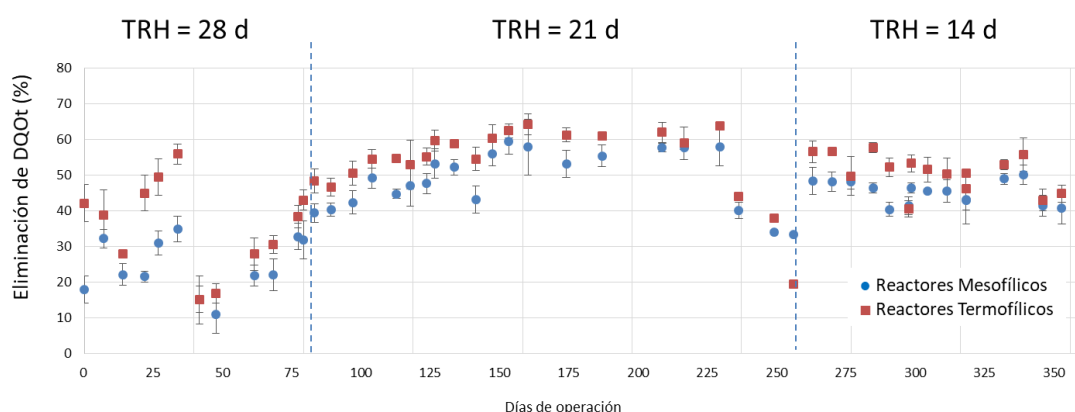


Figura 7: Eliminación de DQO_{total} en los reactores mesófilos y termófilos.

CONCLUSIONES

1. Los mejores rendimientos de metano se alcanzaron en los digestores termófilos trabajando a TRH = 14 días (153 ± 9 ml CH₄/gSVdía), suponiendo una mejora del 10 % sobre el resultado alcanzado por los digestores mesófilos (140 ± 7 ml CH₄/gSVdía). Esta pequeña diferencia evidencia que la degradación de la biomasa microalgal siguiendo solamente una estrategia de aumento de temperatura, no reporta grandes mejoras en los rendimientos de metano.
2. La operación de los reactores anaerobios bajo TRH de 14 días se realizó manteniéndose en condiciones de estabilidad alejada de procesos de acidificación, siendo más estables los reactores mesófilos que los termófilos.
3. Los mejores rendimientos de eliminación de DQO se registraron en los digestores termófilos con el 54 ± 2 % para TRH de 21 días.
4. La digestión anaerobia de la biomasa microalgal en régimen termófilo provocó la acumulación de DQO soluble encontrándose la mayor diferencia con respecto a los reactores mesófilos para TRH = 14 días.

BIBLIOGRAFÍA

- APHA 2005. *Standard Methods for the Examination of Water & Wastewater*, American Public Health Association.
- ARRAS, W., HUSSAIN, A., HAUSLER, R. & GUIOT, S. R. 2019. Mesophilic, thermophilic and hyperthermophilic acidogenic fermentation of food waste in batch: Effect of inoculum source. *Waste Management*, 87, 279-287.
- BERTOLINO, S. M., SILVA, L. A. M., AQUINO, S. F. & LEÃO, V. A. 2015. COMPARISON OF UASB AND FLUIDIZED-BED REACTORS FOR SULFATE REDUCTION. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 32, 59-71.
- BOHUTSKYI, P., BETENBAUGH, M. J. & BOUWER, E. J. 2014. The effects of alternative pretreatment strategies on anaerobic digestion and methane production from different algal strains. *Bioresource Technology*, 155, 366-372.
- BOLZONELLA, D., FATONE, F., DI FABIO, S. & CECCHI, F. 2009. Mesophilic, Thermophilic And Temperature Phased Anaerobic Digestion Of Waste Activated Sludge. *Chemical Engineering Transactions*, 17.
- CAVINATO, C., UGURLU, A., DE GODOS, I., KENDIR, E. & GONZALEZ-FERNANDEZ, C. 2017. Biogas production from microalgae. *Microalgae-Based Biofuels and Bioproducts*. Elsevier.
- CERÓN, A., PÉREZ VIDAL, A. & TORRES LOZADA, P. 2005. Importancia del pH y la Alcalinidad en el Tratamiento Anaerobio de las Aguas Residuales del Proceso de Extracción de Almidón de Yuca. *Revista Scientia et Technica - 0122-1701*, XI, 243 – 248.
- CONIL 2015. *Estaciones agroclimáticas de la Consejería de Agricultura, ganadería, pesca y desarrollo sostenible*.
- CHEN, Y., CHENG, J. J. & CREAMER, K. S. 2008. Inhibition of anaerobic digestion process: a review. *Bioresource technology*, 99, 4044-4064.
- CHOUDHARY, P., ASSEMAN, P. P., NAAZ, F., BHATTACHARYA, A., DE SIQUEIRA CASTRO, J., DO COUTO, E. D. A., CALIJURI, M. L., PANT, K. K. & MALIK, A. 2020. A review of biochemical and thermochemical energy conversion routes of wastewater grown algal biomass. *Science of The Total Environment*, 137961.
- DE GODOS, I., ARBIB, Z., LARA, E. & ROGALLA, F. 2016. Evaluation of High Rate Algae Ponds for treatment of anaerobically digested wastewater: Effect of CO₂ addition and modification of dilution rate. *Bioresource technology*, 220, 253-261.
- DE LEMOS CHERNICHARO, C. A. 2007. *Anaerobic reactors*, IWA publishing.
- FERNANDEZ BOIZÁN, M., CANTERO MORENO, D., PÉREZ SILVA, R. M. & RAMIREZ MUÑOZ, M. 2011. Desulfuración de biogás en condiciones anoxicas mediante biofiltración.
- FERRER, I., VÁZQUEZ, F. & FONT, X. 2010. Long term operation of a thermophilic anaerobic reactor: Process stability and efficiency at decreasing sludge retention time. *Bioresource Technology*, 101, 2972-2980.
- FERRER MARTÍ, I., VÁZQUEZ, F. & FONT SEGURA, X. Comparison of the mesophilic and thermophilic anaerobic sludge digestion from an energy perspective. *Journal of Residuals Science and Technology*, vol. 18, núm. 2, 2011. Destech, 81-87.
- GEBREEYESSUS, G. D. & JENICEK, P. 2016. Thermophilic versus Mesophilic Anaerobic Digestion of Sewage Sludge: A Comparative Review. *Bioengineering (Basel, Switzerland)*, 3, 15.
- GOLUEKE, C. G., OSWALD, W. J. & GOTAAS, H. B. 1957. Anaerobic digestion of algae. *Applied microbiology*, 5, 47.
- GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, C., SIALVE, B., BERNET, N. & STEYER, J. P. 2012. Impact of microalgae characteristics on their conversion to biofuel. Part II: Focus on biomethane production. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 6, 205-218.
- GRESES, S., ZAMORANO-LÓPEZ, N., BORRÁS, L., FERRER, J., SECO, A. & AGUADO, D. 2018. Effect of long residence time and high temperature over anaerobic biodegradation of *Scenedesmus* microalgae grown in wastewater. *Journal of Environmental Management*, 218, 425-434.
- JENKINS, S., MORGAN, J. & SAWYER, C. 1983. Measuring anaerobic sludge digestion and growth by a simple alkalimetric titration. *Journal (Water Pollution Control Federation)*, 448-453.
- JIANG, J., HE, S., KANG, X., SUN, Y., YUAN, Z., XING, T., GUO, Y. & LI, L. 2020. Effect of Organic Loading Rate and Temperature on the Anaerobic Digestion of Municipal Solid Waste: Process Performance and Energy Recovery. *Frontiers in Energy Research*, 8.
- JIANG, Y., MCADAM, E., ZHANG, Y., HEAVEN, S., BANKS, C. & LONGHURST, P. 2019. Ammonia inhibition and toxicity in anaerobic digestion: A critical review. *Journal of Water Process Engineering*, 32, 100899.

- KALAKODIO, L. 2016. Effect of Hydraulic Retention Time on Anaerobic Digestion of Xiao Jiahe Municipal Sludge. *International Journal of Waste Resources*.
- KIM, M., AHN, Y.-H. & SPEECE, R. E. 2002. Comparative process stability and efficiency of anaerobic digestion; mesophilic vs. thermophilic. *Water Research*, 36, 4369-4385.
- KINNUNEN, H. V., KOSKINEN, P. E. P. & RINTALA, J. 2014. Mesophilic and thermophilic anaerobic laboratory-scale digestion of Nannochloropsis microalga residues. *Bioresource Technology*, 155, 314-322.
- KOSTER, I. & LETTINGA, G. 1984. The influence of ammonium-nitrogen on the specific activity of pelletized methanogenic sludge. *Agricultural wastes*, 9, 205-216.
- LABATUT, R. A., ANGENENT, L. T. & SCOTT, N. R. 2014. Conventional mesophilic vs. thermophilic anaerobic digestion: A trade-off between performance and stability? *Water Research*, 53, 249-258.
- LIM, J. W., KELVIN WONG, S. W., DAI, Y. & TONG, Y. W. 2020. Effect of seed sludge source and start-up strategy on the performance and microbial communities of thermophilic anaerobic digestion of food waste. *Energy*, 203, 117922.
- LIU, C.-F., YUAN, X.-Z., ZENG, G.-M., LI, W.-W. & LI, J. 2008. Prediction of methane yield at optimum pH for anaerobic digestion of organic fraction of municipal solid waste. *Bioresource technology*, 99, 882-8.
- LIU, T., SUN, L., MÜLLER, B. & SCHNÜRER, A. 2017. Importance of inoculum source and initial community structure for biogas production from agricultural substrates. *Bioresource Technology*, 245, 768-777.
- MAGDALENA, J. A., BALLESTEROS, M. & GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, C. 2018. Efficient anaerobic digestion of microalgae biomass: proteins as a key macromolecule. *Molecules*, 23, 1098.
- MENDEZ, L., MAHDY, A., BALLESTEROS, M. & GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, C. 2015. Biomethane production using fresh and thermally pretreated *Chlorella vulgaris* biomass: a comparison of batch and semi-continuous feeding mode. *Ecological Engineering*, 84, 273-277.
- METCALF, L., EDDY, H. P. & TCHOBANOGLOUS, G. 1991. *Wastewater engineering: treatment, disposal, and reuse*, McGraw-Hill New York.
- MOSET, V., POULSEN, M., WAHID, R., HØJBERG, O. & MØLLER, H. B. 2015. Mesophilic versus thermophilic anaerobic digestion of cattle manure: methane productivity and microbial ecology. *Microbial biotechnology*, 8, 787-800.
- PASSOS, F., HERNÁNDEZ-MARINÉ, M., GARCÍA, J. & FERRER, I. 2014. Long-term anaerobic digestion of microalgae grown in HRAP for wastewater treatment. Effect of microwave pretreatment. *Water research*, 49, 351-359.
- PEREZ, M. 2016. Thermophilic and mesophilic temperature phase anaerobic codigestion (TPAcD) compared with single-stage co-digestion of sewage sludge and sugar beet pulp lixiviation. *Biomass and Bioenergy*.
- RAMOS-SUÁREZ, J. L., MARTÍNEZ, A. & CARRERAS, N. 2014. Optimization of the digestion process of *Scenedesmus* sp. and *Opuntia maxima* for biogas production. *Energy Conversion and Management*, 88, 1263-1270.
- REY DEVESA, L. 2014. Obtención de biogás a partir de codigestión anaerobia de microalgas y fangos de EDAR.
- RIPLEY, L. E., BOYLE, W. C. & CONVERSE, J. C. 1986. Improved Alkalimetric Monitoring for Anaerobic Digestion of High-Strength Wastes. *Journal (Water Pollution Control Federation)*, 58, 406-411.
- RODRÍGUEZ, M. C. & CEREZO, A. S. 1996. The resistant 'biopolymer' in cell walls of *Coelastrum sphaericum*. *Phytochemistry*, 43, 731-734.
- SHEN, Y., LINVILLE, J. L., URGUN-DEMIRTAS, M., MINTZ, M. M. & SNYDER, S. W. 2015. An overview of biogas production and utilization at full-scale wastewater treatment plants (WWTPs) in the United States: Challenges and opportunities towards energy-neutral WWTPs. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 50, 346-362.
- STERLING JR, M., LACEY, R., ENGLER, C. & RICKE, S. 2001. Effects of ammonia nitrogen on H₂ and CH₄ production during anaerobic digestion of dairy cattle manure. *Bioresource technology*, 77, 9-18.
- SUTHERLAND, D. L. & RALPH, P. J. 2020. 15 years of research on wastewater treatment high rate algal ponds in New Zealand: discoveries and future directions. *New Zealand Journal of Botany*.
- TCHOBANOGLOUS, G., BURTON, F. L., METCALF & EDDY 1991. *Wastewater Engineering: Treatment, Disposal, and Reuse*, McGraw-Hill.

- WHEATLEY, A. 1990. *Anaerobic digestion : a waste treatment technology / edited by Andrew Wheatley*, London ; New York : New York, NY, USA, Elsevier Applied Science ; Sole distributor in the USA, Elsevier Science Pub. Co.
- WOLLMANN, F., DIETZE, S., ACKERMANN, J. U., BLEY, T., WALTHER, T., STEINGROEWER, J. & KRUIJATZ, F. 2019. Microalgae wastewater treatment: Biological and technological approaches. *Engineering in Life Sciences*, 19, 860-871.
- XU, R., ZHANG, K., LIU, P., KHAN, A., XIONG, J., TIAN, F. & LI, X. 2018. A critical review on the interaction of substrate nutrient balance and microbial community structure and function in anaerobic co-digestion. *Bioresource Technology*, 247, 1119-1127.
- YENIGÜN, O. & DEMIREL, B. 2013. Ammonia inhibition in anaerobic digestion: a review. *Process Biochemistry*, 48, 901-911.
- ZAMALLOA, C., DE VRIEZE, J., BOON, N. & VERSTRAETE, W. 2012. Anaerobic digestibility of marine microalgae *Phaeodactylum tricornutum* in a lab-scale anaerobic membrane bioreactor. *Applied microbiology and biotechnology*, 93, 859-869.

CAPÍTULO 4

Digestión anaerobia de biomasa microalgal producida con agua residual urbana: Ensayos a escala piloto bajo tres estrategias térmicas.

El presente capítulo está pendiente de ser enviado a la revista Bioresource Technology.

ANTECEDENTES

La creciente escasez de combustibles fósiles, junto a la necesidad de paliar los efectos del cambio climático, ha llevado a la sociedad actual a buscar nuevas fuentes de energía renovables con las que hacer frente a los retos de la emergencia climática, entre ellas la solar, eólica, geotérmica y los biocombustibles, presentando cada uno distintos niveles de desarrollo y nichos de aplicación. (Jankowska et al., 2017, Santos-Ballardo et al., 2016). Entre los últimos se encuentra el biogás, que ha sido uno de los recursos históricamente asociados al aprovechamiento y estabilización de los residuos agrícolas y considerado como una de las fuentes de energía con mayor versatilidad y capacidad de deslocalización (Ward et al., 2014). Con el auge de los biocombustibles, la primera generación se basó en el uso de cultivos aptos para el consumo humano, causando un aumento del precio de los alimentos en el mundo (Food y Nations, 2008). La siguiente generación derivó hacia cultivos que no compitieran con las necesidades humanas, pero en este caso las grandes necesidades de tierras cultivables y agua, así como las bajas productividades hicieron su aplicación limitada y poco sostenible (Gonzalez-Fernandez et al., 2018, Jankowska et al., 2017). La tercera generación de biocombustibles cuenta con las microalgas como aliadas logrando importantes ventajas sobre los cultivos tradicionalmente empleados, presentando tasas de crecimiento 5 – 10 veces superiores, posibilidad de ser cultivadas en tierras baldías y capacidad de crecimiento en aguas residuales de las que toman los nutrientes que necesitan (Mehrabadi et al., 2015). El tratamiento de las aguas residuales combinado con procesos de obtención de bioenergía a partir del lodo generado, es un proceso bien conocido en la actualidad, llegándose a cubrir hasta el 50 % de los requerimientos energéticos de una planta de tratamiento de aguas residuales convencional. En estas plantas las demandas energéticas de los procesos de aireación suponen hasta el 55 % de la energía total, por lo que su reducción se presenta como una

de las metas en el campo de I+D (Passos et al., 2014). El empleo de las microalgas como alternativa a los costosos procesos biológicos aerobios de depuración ha sido propuesto y estudiado mediante el uso de reactores de microalgas de alta carga (HRAP), donde el proceso de depuración se basa en las relaciones simbióticas entre las microalgas y bacterias (Mehrabadi et al., 2015). Sin embargo, la biomasa generada suele presentarse en suspensión y bajas concentraciones (Ward et al., 2014), lo cual implica procesos de cosechado costosos (Zhang et al., 2020, Capson-Tojo et al., 2017). La Flotación con Aire Disuelto (DAF) es una alternativa sencilla a los procesos de concentración de biomasa convencionales (sedimentación, filtración o centrifugación) ya que alcanza concentraciones de sólidos relativamente altas (4 – 6 %) con muy bajo consumo energético (45 - 60 Wh / m³) (Shammas y Bennett, 2010) en comparación con procesos como la filtración por membranas (800 – 2.510 Wh / m³) o los filtros bandas (500 – 900 Wh / m³) (Fasaei et al., 2018). Sin embargo son pocas las experiencias de su aplicación a gran escala (De Godos et al., 2016).

El empleo de la biomasa microalgal cosechada en los procesos de digestión anaerobia es defendida por algunos autores como la ruta más favorable y rentable para la obtención de biocombustibles a partir de las microalgas (Santos-Ballardo et al., 2016). La digestión anaerobia es un proceso por el que la materia orgánica es convertida en biogás a temperaturas que fluctúan típicamente entre la ambiental y 55 °C (Mehrabadi et al., 2015), denominándose a las bacterias con valores óptimos de crecimiento en torno a los 35 y 55 °C como mesófilas y termófilas, respectivamente (Capson-Tojo et al., 2017). La digestión anaerobia mesófila es la opción más extendida en el tratamiento de cualquier tipo de biomasa debido a que la estabilidad del proceso es mayor que la termófila (Cavinato et al., 2017). Sin embargo, muy pocos datos existen sobre digestibilidad y producción de metano a escala real de biomasa mixotrófica (Cea-Barcia et al., 2015, Jankowska et al.,

2017), y menos aún en regímenes termófilos (Thorin et al., 2018), versando la mayoría de trabajos sobre pretratamientos para incrementar la digestibilidad de microalgas (Ward et al., 2014) o sobre ensayos de co-digestión (Thorin et al., 2018, Cavinato et al., 2017). Si además de lo anterior, se buscan específicamente estudios realizados sobre la digestión de biomasa microalgal producida en continuo, no se encuentran referencias excepto algunas en las que se estudia la digestión mesófila de microalgas producidas en HRAP (Passos et al., 2014) pero el resto son publicaciones donde la biomasa microalgal producida es almacenada y refrigerada antes de su digestión (Capson-Tojo et al., 2017) o generada a partir de mezclas de biomasa microalgal (Cea-Barcia et al., 2015).

La falta de experiencias a escala real de la digestión de biomasa microalgal es uno de los puntos a mejorar para lograr una mayor comprensión del efecto de las fluctuaciones de la comunidad microalga-bacteria de los HRAP, como consecuencia de los cambios estacionales, sobre la estabilidad y rendimiento de los digestores anaerobios. Este capítulo pretende profundizar en las variables que influyen en la digestión anaerobia de la biomasa microalgal, cultivada en aguas residuales urbanas bajo condiciones climáticas reales, tres estrategias térmicas y a escala piloto.

MATERIAL Y MÉTODOS

Reactores piloto CSTR

El estudio de la influencia de la temperatura sobre los procesos de digestión de la biomasa microalgal se realizó empleando 3 digestores de mezcla completa, sometidos a distintos regímenes de temperaturas: ambiente ($24,9 \pm 0,7$ °C; $n = 193$; $\alpha = 0,05$), mesófila (35 °C) y termófila (55 °C). Estos digestores se localizaron en la estación de depuradora de aguas residuales (EDAR) de “El Torno” (36° 25’38.0’’ N – 6° 09’22.0’’ W), localizada en el municipio de Chiclana de la Frontera (Cádiz), España. Los tres digestores, dos de 600 l y uno de 1500 l, fueron construidos en acero inoxidable y su agitación se realizó mediante un sistemas de palas accionadas mediante un eje vertical (de 1000 y 1500 mm de longitud, respectivamente) conectado a un rotor Fluidmix VPH3 (0,75 kW). Adicionalmente a este rotor, se realizó la recirculación del contenido de cada digestor mediante una bomba MONO-PUMP C14A con un caudal de diseño de $1 - 4 \text{ m}^3 / \text{h}$ (1,10 kW). Los tres digestores contaron con una camisa termostática interna de $6,03 \text{ m}^2$ en los digestores de 600 l y $9,8 \text{ m}^2$ en el de 1500 l, recubierta de espuma de poliuretano de 100 mm de espesor y protegido a su vez por una camisa metálica externa. Para calentar los digestores se empleó un circuito de calefacción compuesto por un termo eléctrico de la marca Elnur Gabarron CM15 (15 kW), que calentó el agua y la recirculó por el interior de las camisas con un caudal de $0,42 - 3,3 \text{ m}^3 / \text{h}$. El control de la temperatura se realizó mediante un autómatas conectado a sensores Termya de temperatura en línea tipo PT100, con los que se reguló la apertura y cierre de los actuadores neumáticos Servitec del circuito de agua caliente. El biogás producido fue almacenado en gasómetros de cúpula flotante independientes, construidos en fibra de vidrio con un volumen de $0,2 \text{ m}^3$. El vaciado de dichos gasómetros se hizo de forma automática, mediante el uso de sensores infrarrojos

de proximidad que controlaron la apertura y cierre de la válvula neumática de vaciado de cada gasómetro, al llegar a las alturas pre-fijadas como niveles máximo y mínimo.

Inóculo

La inoculación de los digestores se realizó llenando los digestores de 600 y 1500 l con el lodo proveniente de un digestor anaerobio de lodos mixtos, localizado en la “EDAR Guadalete” en Jerez de la Frontera. Tras la inoculación se fijaron las temperaturas de trabajo de cada digestor (ambiente (Da), 35 °C (Dm) y 55 °C (Dt) y se mantuvieron sin alimentación durante 31 días (**Tabla 1**).

Tabla 1: Denominación de los digestores anaerobios.

	Da	Dm	Dt
Temperatura (°C)	Ambiente	Mesófilo (35 °C)	Termófilo (55 °C)
Volumen (l)	1500	600	600

Alimentación

La biomasa microalgal empleada para la alimentación de los digestores fue generada en 2 reactores abiertos de tipo HRAP (High Rate Algae Pond) de 500 m² cada uno y 30 cm de profundidad de lámina de agua. La agitación de uno de estos reactores se realizó mediante un sistema de agitación por palas tipo paddlewheels, mientras que el otro estuvo agitado por un sistema de turbina sumergida (LEAR (Low Energy Algae Reactor) patentado por Aqualia y descrito en Lara Corona y Rogalla (2016). Estos HRAP se alimentaron con el agua residual de entrada a la EDAR, tras pasar por un pre-tratamiento consistente en desbaste, desarenado-desengrasado y cribado por un tamiz rotativo de 1 mm. La biomasa generada en los HRAP (TRS = TRH = 3 - 4 días), fue cosechada mediante un sistema de flotación por aire disuelto (DAF) previa coagulación con policloruro de aluminio (PAX-18) y floculación con Flopam FO 4800 SSH. En la **Figura 1** se muestra un esquema del sistema y fotografías de los distintos elemento

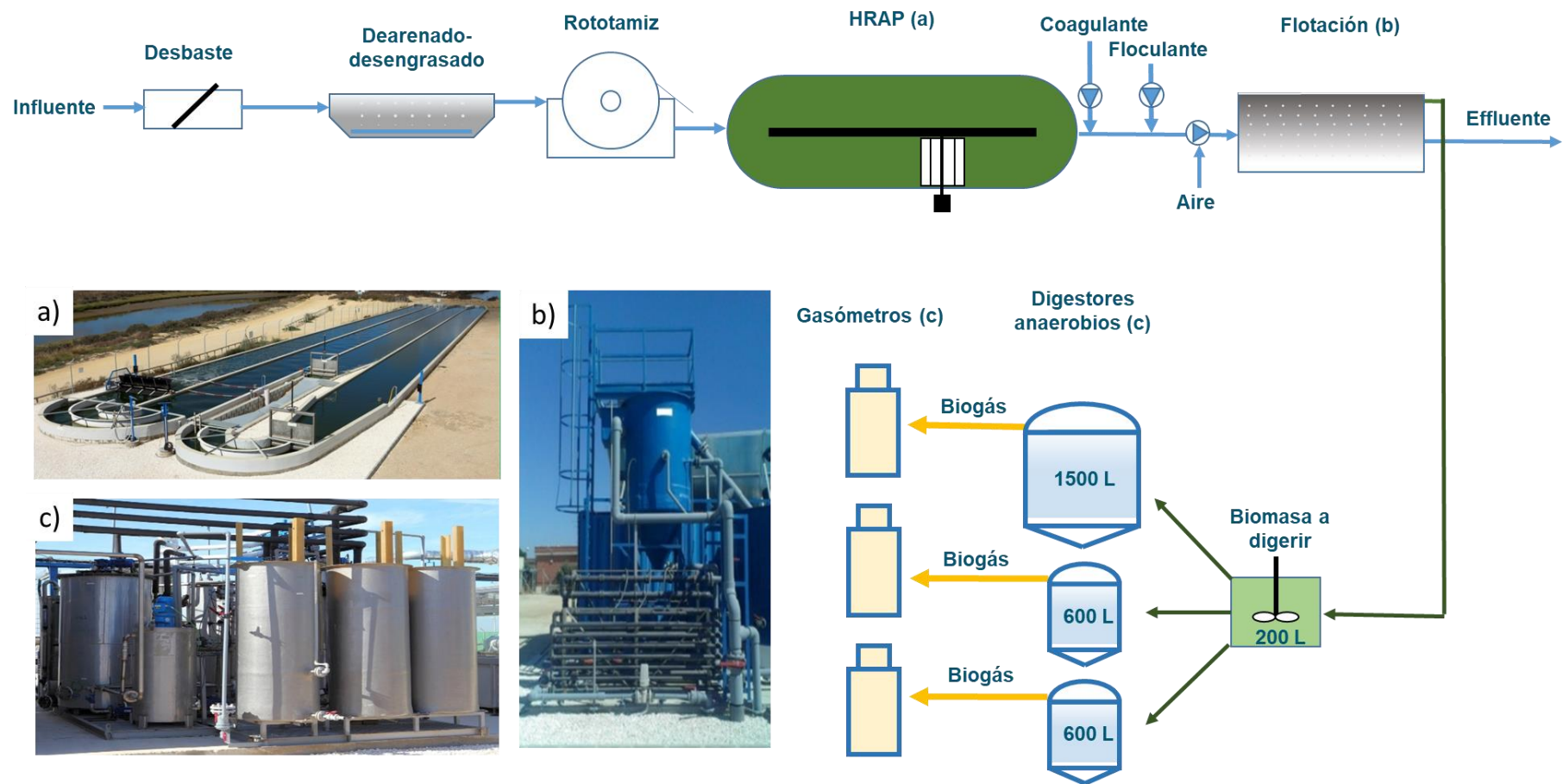


Figura 1: Esquema y fotografías de los a) HRAP de microalgas, b) sistema de cosechado y c) reactores anaerobios con los gasómetros.

Diseño experimental

Los ensayos de digestión anaerobia bajo las estrategias de temperatura ambiente (Da), mesofílica (Dm) y termofílica (Dt) comenzaron en enero y se mantuvieron durante 194 días. Durante el periodo experimental se ensayaron 4 TRH diferentes: 21 y 18 días en los digestores mesófilos y termófilos; y 30 y 25 días en el digestor operado a temperatura ambiente. (Figura 2 y Tabla 2).

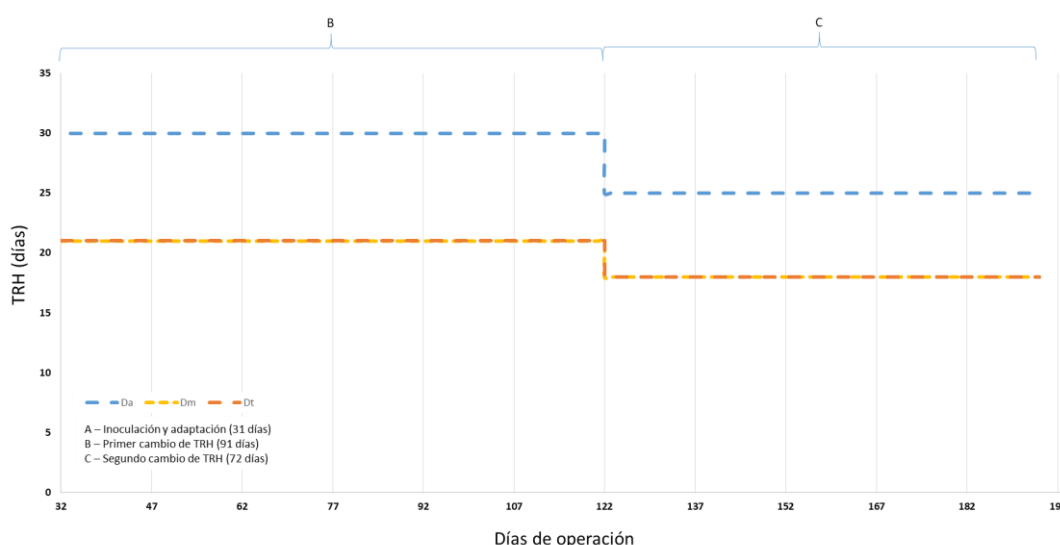


Figura 2: Evolución de los TRH durante las distintas fases de experimentación.

Tabla 2: Parámetros de operación de los digestores en los distintos períodos de experimentación.

Reactores	TRH (días)			T ^a (°C)			Días de operación	
	Da	Dm	Dt	Da	Dm	Dt	n	
A	-	-	-	*19,0±1,2	**17,6	35	55	31
B	30	21	21	*22,8±0,4	**8,7	35	55	91
C	25	18	18	*29,9±0,7	**10,5	35	55	72

(*X ± IC = intervalo de confianza calculado para $\alpha = 0,05$; n = n° de datos, **CV = coeficiente de variación (%))

Técnicas Analíticas

Las muestras se tomaron de manera puntual una vez a la semana de cada uno de los reactores. Los parámetros de caracterización de la biomasa microalgal concentrada y el digestato fueron: DQO total y soluble (métodos estándar 5220 C y 5220 D), ST y SV (método estándar 2540 D), Sulfato (método estándar 4500-SO₄²⁻ E), Amonio (método estándar 4500-NH₃ D), (APHA, 2005). La cuantificación del nitrógeno total Kjeldahl

(NTK) se realizó combinado una unidad de digestión Selecta Bloc Digest 6, y un destilador Kjeldahl VELP Scientifica UDK 152. La determinación del pH se realizó mediante pHmetro Hanna pH 210. La alcalinidad se midió mediante titulación con ácido sulfúrico (H_2SO_4) 0,02 N entre los puntos de pH 5,75 y 4,3, según Jenkins et al. (1983).

La composición del biogás almacenado en los gasómetros, se determinó en composición (CH_4 , CO_2 , O_2 y H_2S) utilizando un analizador de gases portátil COMBIMASS® GA-m. Para comprobar el correcto funcionamiento del analizador de gases se utilizó una botella de gas patrón (65% de CH_4 y 35% de CO_2) suministrada por la empresa Air liquide. El volumen de biogás producido se calculó mediante el recuento de pulsos de llenado y vaciado de los gasómetros de cúpula flotante.

Para la expresión de los distintos resultados, se calcularon los intervalos de confianza (IC) correspondientes a cada parámetro, para una probabilidad del 95% ($\alpha = 0,05$), y reflejándose junto al promedio de la medida (Promedio $\pm$ IC).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Biomasa microalgal

La caracterización del agua residual alimentada a los reactores HRAP en los distintos periodos B y C (**Tabla 3**) indicó que se trataba de un influente con una carga contaminante media-alta según la clasificación de Metcalf et al. (1991), con excepción de los niveles de sulfatos, que presentan concentraciones significativamente superiores. Esta elevada concentración de sulfatos es habitual en EDARs localizadas en zonas costeras, como es nuestro caso, debido a intrusiones de agua marina en el sistema de alcantarillado. La comparación de la composición de las aguas residuales en los dos periodos experimentales, B y C, no mostró diferencias significativas.

El cosechado de la biomasa producida en los reactores HRAP se realizó de manera continua mediante flotación por aire disuelto (DAF), empleándose una relación aire-sólidos de 0,02 mg aire / mg SST, dentro del intervalo típico para concentrar lodos secundarios (0,005 – 0,09 mg aire / mg SST) (Metcalf et al., 1991). La biomasa cosechada se recogió en un tanque de PVC agitado de 200 l (**Figura 1**) y estuvo constituida por una mezcla de bacterias, protozoos, microalgas (mayoritariamente del género *Coelastrum* (**Figura 3**) (De Godos et al., 2016)) y sólidos en suspensión provenientes del agua residual de la alimentación. En la **Figura 4**, se presenta la evolución de las condiciones climáticas (temperatura y radiación solar) y de la composición de la biomasa microalgal. A lo largo del periodo de experimentación, la temperatura media registrada fue de $17 \pm 4,5$ °C ($n = 163$; CV = 25,5 %) ascendiendo desde los 10 hasta los 28 °C, presentándose diferencias significativas entre las etapas de experimentación B ($15 \pm 2,3$ °C ($n = 91$; CV = 16 %) y C ($22 \pm 3,2$ °C ($n = 72$; CV = 15 %)). Estas diferencias aparecieron igualmente en el parámetro de radiación, donde los valores medios registrados para los periodos B

(enero-abril) y C (mayo-julio) fueron $16 \pm 6 \text{ MJ} / \text{m}^2$ ($n = 91$; $\text{CV} = 40 \%$) y $26 \pm 3,5 \text{ MJ} / \text{m}^2$ ($n = 72$; $\text{CV} = 13 \%$) respectivamente.

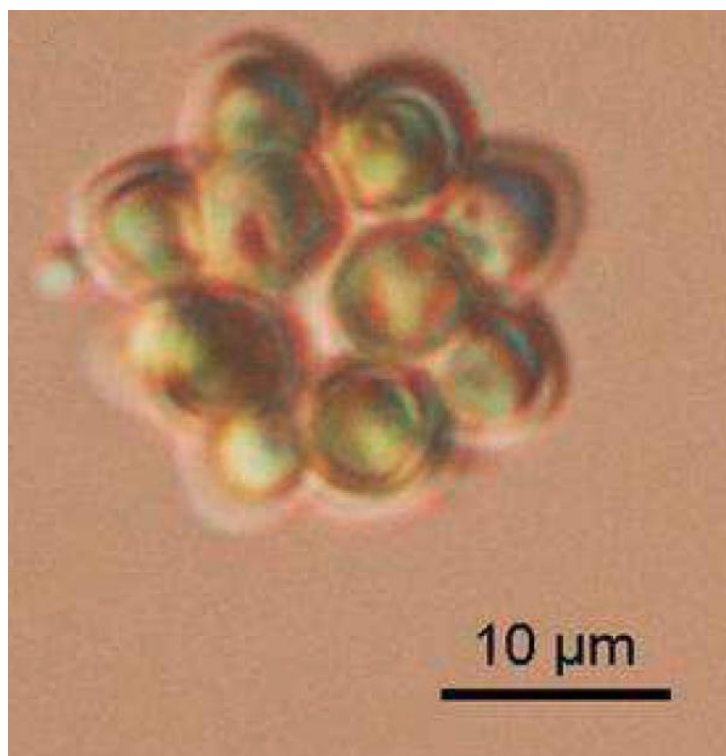


Figura 3: Fotografía de Coelastrum sp. de la biomasa microalgal alimentada

Atendiendo a la composición de la biomasa microalgal cosechada (**Tabla 3**) no se apreciaron diferencias significativas entre los distintos periodos B y C para la concentración de sólidos totales, siendo los resultados encontrados de $23 \pm 4 \text{ g} / \text{kg}$ ($n = 11$; $\text{CV} = 28 \%$) y $27 \pm 4 \text{ g} / \text{kg}$ ($n = 10$; $\text{CV} = 22 \%$), respectivamente. Concentraciones que aun siendo inferiores a las presentadas por Astals et al. (2013) ($35 \pm 7 \text{ g} / \text{kg}$), mantuvieron la relación DQOt:ST para ambos periodos B y C (1,39 y 1,18, respectivamente), en el mismo rango (1,32) que este autor. En relación a la concentración de sulfatos solubles en la biomasa microalgal cosechada (**Tabla 3**), en el periodo B se observaron niveles significativamente inferiores ($24 \pm 7 \text{ mg SO}_4^{-2} / \text{l}$; $n = 8$; $\text{CV} = 45 \%$) a los encontrados en el agua residual alimentada a los HRAP ($86,1 \pm 3,5 \text{ mg SO}_4^{-2} / \text{l}$; $n = 29$; $\text{CV} = 11 \%$). Si bien es cierto que las microalgas tienen cierta capacidad de

asimilación de sulfatos, Ajala y Alexander (2020) encontraron rendimientos de eliminación medios del 29 % para distintas especies (*Scenedesmus obliquus*, *Oocystis minuta* y *Chlorella vulgaris*). Esta tasa de eliminación no explicaría el elevado rendimiento de eliminación de sulfatos (72 %) observado entre el agua residual de alimentación y el de la biomasa cosechada. Por otro lado, el elevado grado de oxigenación del HRAP descarta los procesos biológicos de sulfatorreducción (van den Brand et al. (2015). Una hipótesis que explicaría esta eliminación de sulfatos sería que tuviesen lugar procesos de reducción del sulfato disuelto en el tanque de almacenamiento de la biomasa microalgal cosechada por DAF. Este tanque, a pesar de no ser estanco, pudo contar con condiciones de anoxia suficientes como para fomentar el desarrollo de bacterias sulfato-reductoras. Para evaluar esta posibilidad, durante el periodo C se realizó una parada del sistema de agitación. Como resultado de esta parada, se apreció un incremento en las concentraciones de sulfatos en la biomasa microalgal almacenada del 400 %, siendo las concentraciones de sulfatos disueltos anteriores a la parada de $21 \pm 6 \text{ mg SO}_4^{-2} / \text{l}$ ($n = 3$; $\text{CV} = 26 \%$) y las posteriores de $100 \pm 13 \text{ mg SO}_4^{-2} / \text{l}$ ($n = 3$; $\text{CV} = 11 \%$), lo que daría soporte a la hipótesis. Este incremento en las concentraciones de sulfatos solubles en la biomasa microalgal alimentada en los reactores anaerobios será tratado con mayor detenimiento en el apartado de biogás.

Por otro lado, la concentración de NTK en la biomasa microalgal cosechada (**Tabla 3**) no presentó diferencias significativas entre los dos periodos experimentales B y C, presentando valores medios de $2,05 \pm 0,48 \text{ g N}_{\text{total}} / \text{l}$ ($n = 8$; $\text{CV} = 33 \%$) y $2,10 \pm 0,40 \text{ g N}_{\text{total}} / \text{l}$ ($n = 10$; $\text{CV} = 31 \%$), respectivamente. Estas concentraciones de N_{total} , representaron valores del 8 % N / kg ST para ambos periodos B y C, estando dentro de las proporciones de 2 – 11,26 % N por kg de biomasa algal seca para diferentes especies (Li et al., 2019) y coincidiendo con las concentraciones presentadas por Astals et al.

(2013) ($1,97 \pm 0,33$ g N / l) trabajando con lodos mixtos de depuradora. Atendiendo a la concentración de amonio soluble, la reducción significativa del 45 % entre el periodo B (96 ± 28 mg / l; n = 9; CV = 44 %) y C (52 ± 15 mg / l; n = 9; CV = 45 %), se produjo como consecuencia del incremento de las temperaturas y radiación solar (**Figura 3**) en el periodo C, que provocó un mayor crecimiento de microalgas y, por lo tanto, una mayor asimilación de nitrógeno soluble, en este caso amonio que es la forma más fácilmente asimilable por las microalgas. Así, Delgadillo-Mirquez et al. (2016), trabajando con cultivos mixotróficos en aguas residuales urbanas obtuvieron un incremento en la eliminación de amonio del 166 % cuando la temperatura subió de 5 a 25 °C. Las diferencias observadas en la concentración de sulfatos y amonio en la biomasa microalgal entre los periodos B y C, no se apreciaron en las relaciones de SV:ST y DQOt:ST entre ambos periodos (**Figura 4**), manteniendo valores medios de $0,78 \pm 0,03$ (n = 21; CV = 10 %) y $1,29 \pm 0,05$ (n = 21; CV = 10 %), respectivamente. Estos resultados muestran pues una composición de biomasa microalgal sin gran variabilidad a lo largo de todo el periodo experimental y comparable a la obtenida en el Capítulo 3.

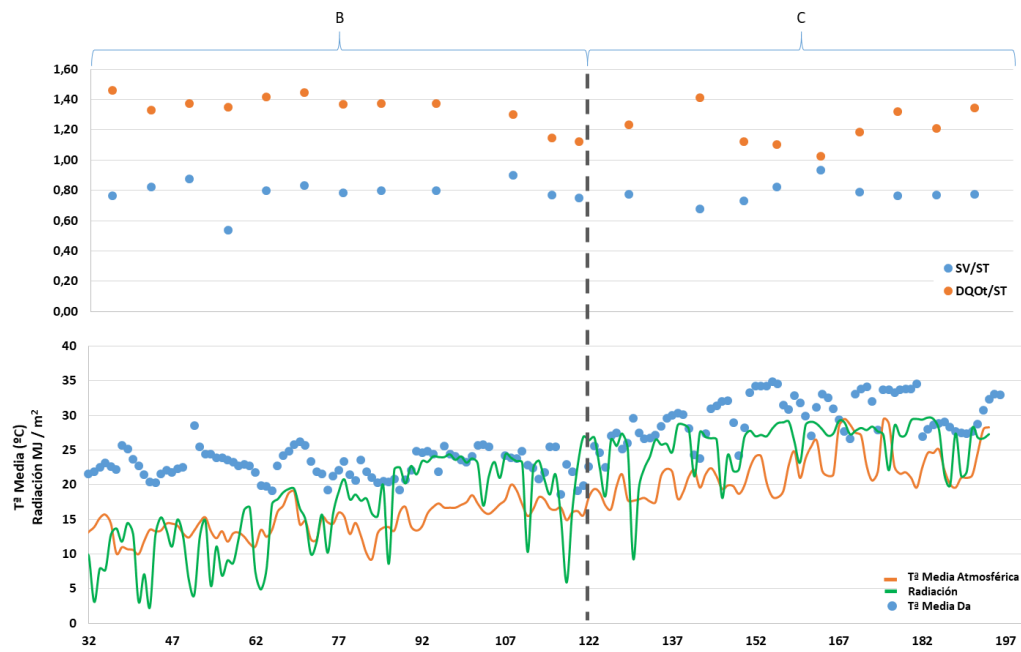


Figura 4: (A) variación de las relaciones de SV:ST y $DQO_{total}:ST$ en la alimentación a lo largo de los periodos de experimentación. (B) variación en los parámetros climáticos; T^a media y radiación solar (Conil, 2017), y variación de la T^a media dentro del digestor Da

Tabla 3: Caracterización del influente de los reactores HRAP y de la biomasa cosechada mediante el sistema DAF en cada periodo.

	TRH		Días de operación	DQO total			Sólidos totales			Sólidos Volátiles			Sulfatos			NH ₄ ⁺			NTK		
	Periodo	(d)		$\bar{X} \pm IC$ (mg O ₂ /l)	n	CV	$\bar{X} \pm IC$ (mg/l)	n	CV	$\bar{X} \pm IC$ (mg/l)	n	CV	$\bar{X} \pm IC$ (mg/l)	n	CV	$\bar{X} \pm IC$ (mg/l)	n	CV	$\bar{X} \pm IC$ (g/l)	n	CV
Agua residual alimentada	B	-	91	622±77	12	22	169±23	22	32	139±19	21	32	88±4	16	10	49±6	9	18	-	-	-
	C	-	72	670±56	12	15	177±20	12	20	146±20	10	22	86±5	20	13	45±4	8	13	-	-	-
Media - Alta ⁽¹⁾				430 - 800			210 - 400			160 - 315			30 - 50			25 - 45			- - -		
Biomasa microalgal	Periodo	(d)	(d)	$\bar{X} \pm IC$ (g O ₂ /l)	n	CV	$\bar{X} \pm IC$ (g/kg)	n	CV	$\bar{X} \pm IC$ (g/kg)	n	CV	$\bar{X} \pm IC$ (mg/l)	n	CV	$\bar{X} \pm IC$ (mg/l)	n	CV	$\bar{X} \pm IC$ (g/l)	n	CV
	B	30 y 21	91	32±6	11	30	23±4	11	28	19±3	11	32	24±7	8	45	96±28	9	44	2,05±0,48	8	33
	C	25 y 14	72	32±5	10	24	27±4	10	22	21±3	10	25	60±44	6	73	52±15	9	45	2,10±0,40	10	31
(Astals et al., 2013)				46,2±10,7	7	31	35±7	7	26	26±6	7	31	27±17	3	56				1,97±0,33	7	23

⁽¹⁾Agua residual típica de carga contaminante media-alta (Metcalf et al., 1991)

⁽²⁾ Valores típicos de un lodo mixto

(n = n° de datos, CV = coeficiente de variación (%), IC =intervalo de confianza calculado para $\alpha = 0,05$)

Producción de Biogás

El biogás generado en cada uno de los digestores se almacenó en gasómetros de cúpula flotante, de donde se analizó la composición semanalmente. La concentración de metano en el biogás (**Tabla 4**) se mantuvo estable en los distintos digestores a lo largo de los periodos experimentales con un valor medio de $60,8 \pm 0,6 \%$ CH₄ (n = 63; CV = 4 %) y con rendimientos de metano de $0,22 \pm 0,02$ ml CH₄/gSV_{alimentado}día (n = 63; CV = 4 %). Estos resultados son comparables a los valores reportados por Choudhary et al. (2020) para la digestión mesófila y termófila ($65,5 - 71,9 \%$ y $0,06 - 0,28$ m³ CH₄/ kg SV_{alimentado}, respectivamente) de biomasa microalgal producida a partir de aguas residuales urbanas con *Chlorella sp.* y *Scenedesmus sp.* como especies mayoritarias. Asimismo, se pueden considerar similares a los que usualmente se obtienen en la digestión mesófila de lodos de depuradoras ($50 - 80 \%$ CH₄) (Fernandez Boizán et al., 2011), estando el rendimiento de metano dentro del límite inferior, $0,24 - 0,34$ m³ CH₄ / kg SV_{alimentado} (Shen et al., 2015).

Analizando el periodo B, no se encontraron diferencias significativas en el contenido en metano del biogás entre las distintas estrategias térmicas ($62 \pm 1 \%$ CH₄), pudiendo ser estos resultados comparables a los obtenidos a escala de laboratorio (Capítulo 3) para los reactores mesófilos (66% CH₄) y termófilos (65% CH₄), para el mismo TRH (21 días). Con respecto a la carga orgánica ésta fue similar a escala prototipo en Dm y Dt ($0,95 \pm 0,08$ g SV_{alimentado}/l_{reactor}día, n = 22, CV = 20 %), que a escala de laboratorio ($1,06 \pm 0,07$ g SV_{alimentado}/l_{reactor}día). En el caso de Da, su carga orgánica fue inferior, $0,67 \pm 0,08$ g SV_{alimentado}/l_{reactor}día (n = 11, CV = 20 %), debido a su mayor TRH (30 días) de operación. Por otro lado, se observaron incrementos en las concentraciones de H₂S de casi el 300 % entre el biogás del digestor Da y Dt, correlacionados con el aumento de la temperatura,

siendo el termófilo (Dt) el que presentó mayores concentraciones (3043 ± 429 ppmv H_2S ; $n = 14$, $\text{CV} = 27 \%$), pero sin mostrar diferencias significativas con respecto al mesófilo (Dm) (2688 ± 291 ppmv H_2S ; $n = 14$, $\text{CV} = 21 \%$). Comparando con los resultados obtenidos en los reactores de laboratorio mesófilos para el mismo TRH (21 días) (2930 ± 349 ppm H_2S ; $n = 476$, $\text{CV} = 37 \%$), los resultados de Dm no presentaron diferencias significativas, al igual que en el caso de los termófilos de laboratorio (3010 ± 389 ppmv H_2S ; $n = 476$, $\text{CV} = 38 \%$) con respecto a Dt. Estas diferencias en la concentración de H_2S entre los digestores a temperatura ambiente ($22,8 \pm 0,4$ °C; $n = 91$; $\text{CV} = 9 \%$) con mesófilos y termófilos, responde a una mayor actividad hidrolítica con la temperatura y por lo tanto una mayor disponibilidad de ácidos grasos volátiles (Perez, 2016, Moset et al., 2015) tanto para las bacterias metanogénicas como las sulfato-reductoras. Atendiendo a los rendimientos de metano (**Tabla 4**), el reactor Da mostró los resultados más bajos ($0,18 \pm 0,03$ ml $\text{CH}_4/\text{gSV}_{\text{alimentado}}\text{día}$; $n = 11$, $\text{CV} = 27 \%$), seguidos de Dm ($0,23 \pm 0,04$ ml $\text{CH}_4/\text{gSV}_{\text{alimentado}}\text{día}$; $n = 11$, $\text{CV} = 27 \%$) y Dt ($0,28 \pm 0,02$ ml $\text{CH}_4/\text{gSV}_{\text{alimentado}}\text{día}$; $n = 11$, $\text{CV} = 10 \%$), lo que corrobora la hipótesis de una mayor disponibilidad de ácidos grasos por parte de las bacterias sulfato-reductoras y metanogénicas, como consecuencia de un incremento de la actividad hidrolítica con el aumento de la temperatura. Estos resultados suponen un rendimiento en el reactor Da de un 22 y 36 % inferior a los de Dm y Dt, respectivamente. En cuanto a los digestores Dm, los resultados obtenidos por otros autores ($0,18$ ml $\text{CH}_4 / \text{gSV}_{\text{alimentado}}\text{día}$) como Passos et al. (2014), son un 22 % inferiores al trabajar con biomasa procedente de cultivos mixotróficos en HRAPs, operando a TRH de 20 días bajo régimen mesófilo. Con respecto a los reactores Dt, en la literatura existen muy pocos estudios que hagan referencia a digestión de biomasa mixotrófica microalgas-bacterias en régimen termófilo, siendo muchos de ellos ensayos de potencial bioquímico de metano (BMP). Algunos de los resultados encontrados en la literatura para la digestión

de microalgas bajo régimen termófilo varían entre los 0,23 - 0,32 m³ CH₄ / kg SV_{alimentado}, empleando cultivos puros de microalgas y sus mezclas en distintas proporciones con lodos de depuradora (Thorin et al., 2018). Otros autores obtuvieron rendimientos de 0,14 – 0,41 m³ CH₄ / kg SV_{alimentado} para biomasa microalgal mixta donde las principales especies fueron *Scenedesmus sp.* y *C. vulgaris* (Olsson et al., 2014) ó 0,15 – 0,22 m³ CH₄ / kg SV_{alimentado} para las especies de microalgas *I. galbana* y *S. capricornutum* (Caporgno et al., 2015). Atendiendo a estos valores, los rendimientos obtenidos en el digestor Dt se encuentran dentro de estos intervalos, siendo incluso posible encuadrarlo entre los valores medios / altos. Los resultados de rendimiento de metano obtenidos para el Dm y Dt fueron similares a los resultados presentados por Ferrer Martí et al. (2011) (0,23 ± 0,05 m³ CH₄ / kg SV_{alimentado}, n= 4, CV= 22 %) para digestores de lodos mixtos operados a similares TRH (20 días) y temperaturas (35 - 37 °C), así como por Ferrer et al. (2010) (0,29 ± 0,08 m³ CH₄ / kg SV_{alimentado}), trabajando con digestores termófilos de lodos mixtos a TRH de 20 días.

En el periodo C, la composición del biogás (**Tabla 4**) no presentó diferencias significativas con respecto al periodo anterior, con excepción de la concentración de H₂S a resultas del ensayo para comprobar la hipótesis de la reducción de sulfatos en el tanque de almacenamiento de la biomasa microalgal cosechada. Las concentraciones de H₂S previas a la detención de la agitación del tanque, para Da (29,9 ± 0,7 °C; n = 72; CV = 10 %), Dm y Dt, fueron: 885 ± 176 ppmv H₂S (n = 3, CV= 18 %), 2.941 ± 274 ppmv H₂S (n = 3, CV = 8 %) y 3.530 ± 833 ppmv H₂S (n = 3, CV= 21 %), elevándose un 9, 14 y 16 % sobre los valores del periodo B, respectivamente, pero sin presentar diferencias significativas. Tal y como se explicó anteriormente, la detención de la agitación del tanque de almacenamiento de la biomasa microalgal hizo incrementar la concentración de sulfatos solubles en un 400 % en la biomasa concentrada y almacenada en el tanque,

repercutiendo igualmente en las concentraciones de sulfhídrico, que llegaron a superar el límite de detección del medidor de gases, 10.000 ppmv, en el caso de los reactores Dm y Dt, mientras que en el Da se registraron valores de 8.227 ± 1.006 ppmv H_2S ($n = 4$, CV = 12 %). Este aumento en las proporciones de H_2S pudo deberse tanto al efecto del incremento de la concentración en la biomasa alimentada, como al efecto de la reducción en los TRH en los reactores, que provoca un incremento de los flujos máxicos de sulfatos alimentados por litro de digestor en Da de 0,84 a 4 mg SO_4^{-2} / l_{Dig} día y en Dm/Dt de 1,15 a 5,5 mg SO_4^{-2} / l_{Dig} día. A pesar de este aumento en la proporción del H_2S , no se mostraron diferencias significativas en las concentraciones de metano en el biogás. Respecto a los rendimientos de metano en el periodo C (**Tabla 4**), se obtuvieron valores medios inferiores a los reportados en el periodo B pero sin diferencias significativas, con excepción de Dm, donde la media descendió un 39 %. Al analizar los resultados del periodo C y considerando la fase previa a la parada de la agitación, se encontraron rendimientos de $0,17 \pm 0,02$, $0,17 \pm 0,06$ y $0,30 \pm 0,04$ ml $CH_4 / gSV_{alimentado}$ día para Da, Dm y Dt, respectivamente. Dentro del periodo C, en la fase con agitación, los resultados fueron similares a los del periodo anterior (B) sin diferencias significativas. Por otra parte, los rendimientos registrados para la fase sin agitación del tanque de alimentación presentaron los valores de $0,12 \pm 0,06$, $0,13 \pm 0,03$ y $0,19 \pm 0,06$ ml $CH_4 / gSV_{alimentado}$ día para Da, Dm y Dt, respectivamente. En este caso, las diferencias con respecto a los resultados encontrados en la fase con agitación fueron un 23, 29 y 36 % inferiores para Da, Dm y Dt, respectivamente, incrementándose esta diferencia con el aumento de la temperatura. Como se comentó anteriormente, el incremento en la temperatura en las estrategias de operación conllevó una mayor actividad de las bacterias hidrolíticas (Santos-Ballardo et al., 2016, Ward et al., 2014) y una menor capacidad de disolución del H_2S en el medio líquido Seneesrisakul et al. (2018), lo que sumado al aumento del flujo

másico de sulfatos con el descenso en el TRH, fomentó la actividad de las bacterias sulfato-reductoras, compitiendo con las metanogénicas por los AGVs del medio (Perez, 2016).

La temperatura del Da (**Tabla 2**), en el periodo C se vio incrementada hasta los 30 °C, aproximándose a la temperatura del digestor mesófilo (35 °C) pero operado a un TRH de 25 días en lugar de los 18 días del Dm. Si se comparan los rendimientos de metano previos a la parada en la agitación del tanque de almacenamiento de microalgas del Da ($0,17 \pm 0,06 \text{ m}^3 \text{ CH}_4 / \text{kg SV}_{\text{alimentado}}$) con los resultados obtenidos por el Dm a TRH = 21 días en el periodo B ($0,23 \pm 0,04 \text{ ml CH}_4 / \text{gSV}_{\text{alimentado}}\text{día}$), observamos como son un 26 % inferiores, pero sin presentar diferencias significativas, por lo que podría considerarse que el uso de digestores a temperatura ambiente podría ser comparable al de un digestor mesófilo calefactado en áreas de climatología cálida con temperaturas medias diarias de 20 – 25 °C durante todo el año.

Tabla 4: Composición del biogás y rendimientos de metano en las distintas fases de experimentación.

Periodo Digestor (TRH)	B									C								
	Da (30 día)			Dm (21 día)			Dt (21 día)			Da (25 día)			Dm (18 día)			Dt (18 día)		
	$\bar{X} \pm IC$	n	CV	$\bar{X} \pm IC$	n	CV	$\bar{X} \pm IC$	n	CV	$\bar{X} \pm IC$	n	CV	$\bar{X} \pm IC$	n	CV	$\bar{X} \pm IC$	n	CV
CH ₄ (%)	62±1	14	3	62±1	14	2	62±1	14	2	60±1	7	3	58±1	7	3	58±3	7	8
CO ₂ (%)	36±1	14	6	34±1	14	5	33±1	14	4	33±2	7	6	35±3	7	12	34±3	7	13
O ₂ (%)	0	14	-	0	14	-	0	14	-	0	7	-	0	7	-	0	7	-
H ₂ S (ppm)	776±130	14	32	2688±291	14	21	3043±429	14	27	5080±2957	7	79	6975±2797	7	54	7227±2581	7	48
m ³ CH ₄ /kg SV _{alimentado}	0,18±0,03	11	27	0,23±0,04	11	27	0,28±0,02	11	10	0,14±0,03	6	29	0,15±0,03	6	28	0,25±0,06	6	29
* m ³ CH ₄ /kg SV _{alimentado}	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,17±0,02	3	13	0,17±0,06	3	31	0,3±0,04	3	11
** m ³ CH ₄ /kg SV _{alimentado}	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,12±0,06	3	42	0,13±0,03	3	18	0,19±0,06	3	26
CO (gSV/L _{digestor} ·d)	0,67±0,08	11	20	0,95±0,11	11	20	0,95±0,11	11	20	0,88±0,16	7	25	1,23±0,23	7	25	1,23±0,23	7	25

(n = n° de datos, CV = coeficiente de variación (%), IC =intervalo de confianza calculado para $\alpha = 0.05$, CO = Carga orgánica)

* Valores previos a la parada de la agitación del tanque de alimentación

** Valores posteriores a la parada de la agitación del tanque de alimentación

Por otro lado, comparando los resultados obtenidos a escala prototipo con los anteriormente presentados en el Capítulo 3 para los reactores mesófilos y termófilos en el TRH = 21 días donde los resultados medios obtenidos fueron 0,085 y 0,095 m³ CH₄/kg SV_{alimentado}día, respectivamente, se observaron incrementos del 173 y 100 %, en el Dm y Dt, respectivamente. Estas diferencias podrían atribuirse a la automatización del proceso de alimentación que permitió un suministro continuo sin largos periodos de inanición y una mejor agitación de los reactores al combinar dos sistemas diferentes (recirculación y agitador de palas). Adicionalmente, se pudo producir una mayor digestibilidad de la biomasa cosechada, ya que en la escala laboratorio las microalgas fueron producidas en HRAP operando a 7 días de TRH, mientras que en la escala prototipo se produjeron a TRH de 3 - 4 días. Autores como Santos-Ballardo et al. (2016) encontraron que un descenso en los tiempos de retención celular del HRAP, que en nuestro caso coincide con los TRH, puede propiciar la presencia de células de microalgas más jóvenes y con paredes celulares más fácilmente degradables o incluso el desarrollo de especies de microalgas más adecuadas para la digestión anaerobia.

Estabilidad de los digestores anaerobios

La estabilidad del proceso de digestión anaerobia en los digestores se analizó tomando como referencia los valores de pH, las concentraciones de amonio y la relación de alcalinidad (**Figura 5**). Al igual que en el Capítulo 3, se consideraron distintas referencias del control de la estabilidad de los digestores, las cuales se encuentran representadas por la zona sombreada de las distintas gráficas de la **Figura 5**.

En el caso del pH, se consideró el intervalo de 7,1 – 7,8 (Wheatley, 1990, Liu et al., 2018) como referencia de estabilidad para la operación de los distintos digestores. El pH de la alimentación se mantuvo en torno a $6,8 \pm 0,1$ (n=19; CV = 4 %), valor similar al obtenido

en la experimentación a escala de laboratorio ($6,5 \pm 0,1$), siendo pH similares a los presentes en lodos mixtos (6 - 7) generados en EDARs de aguas residuales urbanas (Gebreyessus y Jenicek, 2016). Con respecto al valor medio de pH durante todo el periodo de experimentación en los digestores Da, Dm y Dt, éstos presentaron valores significativamente diferentes, siendo de $7,3 \pm 0,1$, $7,5 \pm 0,1$ y $8,0 \pm 1$ respectivamente. En el caso de Da y Dm sus valores se mantuvieron dentro de los límites indicadores de procesos estables, mientras que en el caso de Dt estos estuvieron siempre por encima. Valores similares de pH ($8,08 \pm 0,11$) han sido también descritos por Ferrer et al. (2010) en digestores termófilos de lodos mixtos trabajando a TRH de 20,4 días. El aumento en la temperatura de operación pudo fomentar una mayor velocidad de consumo de AGVs por parte de bacterias metanogénicas y sulfato-reductoras, lo que se traduce en un aumento del pH, esta explicación también fue postulada por Xu et al. (2018) para explicar las diferencias de pH entre reactores mesófilos y termófilos. Este aumento del consumo de AGVs por parte de las bacterias metanogénicas se confirma por el incremento en los rendimientos de metano en los tres digestores a lo largo del tiempo de experimentación, con valores de $0,17 \pm 0,02$, $0,20 \pm 0,03$ y $0,27 \pm 0,02$ ($n = 17$) para de Da, Dm y Dt respectivamente (**Tabla 4**). En el caso de las sulfato-reductoras, también se aprecia (**Tabla 4**) un incremento en la producción de sulfhídrico al aumentar la temperatura del reactor.

En la fase B, se observó una tendencia similar entre los digestores a la descrita de manera general para todo el periodo experimental, donde los valores de pH presentaron diferencias significativas y se mantuvo correlacionado con el incremento de temperatura, con valores para Da (TRH = 30 días), Dm (TRH = 21 días) y Dt (TRH = 21 días) de $7,38 \pm 0,1$, $7,63 \pm 0,09$ y $8,19 \pm 0,09$ ($n = 11$), respectivamente. Este aumento del pH con la temperatura fue también observado por Moset et al. (2015), al trabajar con estiércol en

reactores mesófilos y termófilos a TRH de 20 días. Con respecto a la fase C, los valores de pH medios de todos los digestores descendieron con respecto a la fase anterior, siendo en Da (TRH = 25 días), Dm (TRH = 18 días) y Dt (TRH = 18 días) de $7,27 \pm 0,14$, $7,36 \pm 0,1$ y $7,78 \pm 0,17$ ($n = 11$). Este descenso del pH al hacerlo el TRH de operación pudiese ser debido a una acumulación de AGV dado que aumentamos la carga orgánica (**Tabla 4**) pero no se aprecian incrementos significativos en los rendimientos de metano (**Tabla 4**) entre la fase B y la C previa a la parada de la agitación del tanque de almacenamiento de biomasa cosechada. En esta fase, no se aprecia diferencias significativas entre los valores de pH entre Da y Dm observadas en la fase anterior, presumiblemente debido al incremento en la temperatura media de Da (30 ± 1 °C) durante esta fase, aproximándose a los valores de operación de Dm (35 °C).

La relación de alcalinidad AI / AT de 0,51(**Figura 5**) por debajo de la cual se considera que un digestor opera bajo condiciones estables (Jiang et al., 2020) y la metodología de Ripley et al. (1986), son las mismas que las explicadas en el capítulo 3.

En relación a los resultados medios para todo el periodo experimental, los digestores se mantuvieron por debajo del límite establecido y sin diferencias significativas entre ellos, con valores de $0,26 \pm 0,03$; $0,31 \pm 0,06$ y $0,33 \pm 0,04$, para Da, Dm y Dt, respectivamente. Con respecto a la fase A, la relación de alcalinidad mostró valores por encima del límite de 0,51 fijado (**Figura 5**), correspondiéndose a la fase de adaptación del inóculo a las condiciones de experimentación, apreciándose el descenso de la relación hasta valores próximos al promedio de toda la fase experimental alrededor del día 45. En la fase B las medias para los distintos digestores Da, Dm y Dt no presentaron diferencias significativas, siendo $0,25 \pm 0,06$; $0,27 \pm 0,03$ y $0,31 \pm 0,04$ ($n = 11$), respectivamente. Resultados próximos a los registrados por Ferrer et al. (2010) ($0,39 \pm 0,04$) para digestores termófilos de lodo mixto a TRH de 20,4 días. Estos resultados fueron inferiores a los

registrados en el C3 para los reactores mesófilos ($0,37 \pm 0,02$) y termófilos ($0,34 \pm 0,01$), para TRH de 21 días, pudiendo deberse a la mayor estabilidad que supone una alimentación continua (Piloto) frente a la semi-continua (Laboratorio) y una mejor agitación del reactor (Piloto), lo que promueve una velocidad superior y menos variable del consumo de AGVs por parte de las bacterias metanógenas y sulfato-reductoras (Cerón et al., 2005) y por consiguiente un mayor descenso de la relación de AI / AP. Esta teoría es confirmada al observar los rendimientos de metano obtenidos a escala de laboratorio para los reactores mesófilos ($0,08 \pm 0,01 \text{ m}^3 \text{ CH}_4 / \text{kgSV}_{\text{alimentado}}$; $n = 19$; $\text{CV} = 33 \%$) y termófilos ($0,09 \pm 0,01 \text{ m}^3 \text{ CH}_4 / \text{kgSV}_{\text{alimentado}}$; $n=27$; $\text{CV}=28 \%$) a TRH = 21 días, en comparación con los obtenidos a escala piloto para Dm ($0,23 \pm 0,04 \text{ m}^3 \text{ CH}_4 / \text{kgSV}_{\text{alimentado}}$; $n=11$; $\text{CV} = 27 \%$) y Dt ($0,28 \pm 0,02 \text{ m}^3 \text{ CH}_4 / \text{kgSV}_{\text{alimentado}}$; $n=11$; $\text{CV} = 10 \%$). Dado que las concentraciones de H_2S en el biogás fueron similares a escala de laboratorio (Capítulo 3, **Tabla 3**) y a escala piloto (**Tabla 3**), este incremento del consumo de los AGVs podría ser atribuible principalmente a bacterias metanogénicas. En la fase C se observó un incremento no significativo de los valores medios de AI / AT (**Tabla 5**) para Da ($0,26 \pm 0,03$) DM ($0,36 \pm 0,11$) y Dt ($0,35 \pm 0,07$) con respecto a la fase anterior. En el caso de Dm y Dt los valores registrados mostraron un aumento en su CV consecuencia del experimento de parada de la agitación del tanque de almacenamiento de la biomasa microalgal (día 155 de operación).

La concentración de amonio en los digestores es el tercer parámetro de control de la estabilidad de los digestores, para el cual se estableció el límite de $1,5 \text{ g NH}_4^+ / \text{l}$ anteriormente explicado en el C3 (Sterling et al., 2001). Las concentraciones de amonio encontradas durante todo el periodo experimental para Da, Dm y Dt (**Tabla 5**) fueron de $0,5 \pm 0,1$; $0,7 \pm 0,1$ y $0,8 \pm 0,1 \text{ g NH}_4^+ / \text{l}$ ($n = 20$) sin llegarse a superar el valor de $1,5 \text{ g NH}_4^+ / \text{l}$, por lo que no se considera la existencia de procesos de inhibición como

consecuencia de la presencia de amonio (Passos et al., 2014). Se aprecia pues como existen diferencias significativas en las concentraciones de amonio registradas durante todo el periodo experimental, entre los digestores calefactados (Dm y Dt) y el digestor a temperatura ambiente (Da). La mayor acumulación de amonio en los digestores mesófilos y termófilos podría ser consecuencia de un aumento de la cinética de la hidrólisis y fermentación, acorde a la temperatura (Cavinato et al., 2017). Al comparar las concentraciones de amonio medias durante todo el periodo experimental a escala piloto y de laboratorio, se observan resultados similares para Dm y los reactores mesófilos de laboratorio ($0,66 \pm 0,04 \text{ g NH}_4^+ / \text{l}$), mientras que en rango termófilo los niveles de amonio a escala piloto fueron un 29 % inferiores que a escala de laboratorio ($1,12 \pm 0,07 \text{ g NH}_4^+ / \text{l}$) y un 53 % inferior a los niveles de amonio registrados por Kinnunen et al. (2014) ($1,7 \text{ g NH}_4^+ / \text{L}$), en digestores termófilos alimentados con microalgas del género *Nannochloropsis* sp.

En la fase B, las concentraciones medias de amonio obtenidas para Da, Dm y Dt (**Tabla 5**) fueron $0,57 \pm 0,13$; $0,84 \pm 0,11$ y $0,91 \pm 0,12 \text{ g NH}_4^+ / \text{l}$ (n=11), superiores a las presentadas por Passos et al. (2014) ($0,2 \text{ g NH}_4^+ / \text{l}$) digiriendo cultivos mixotróficos alimentados con agua residual urbana en digestores mesófilos a 20 días de HRT. En comparación con los resultados obtenidos en laboratorio a TRH = 21 días, los resultados de la escala prototipo fueron significativamente superiores a los mesófilos ($0,41 \pm 0,02 \text{ g NH}_4^+ / \text{l}$) y termófilos ($0,73 \pm 0,03 \text{ g NH}_4^+ / \text{l}$) a escala de laboratorio. Esta diferencia pudo deberse al incremento en la cinética de degradación de proteínas debido a la mejora en la mezcla de los digestores a escala prototipo. En la fase C, los resultados para Da, Dm y Dt (**Tabla 5**) fueron $0,41 \pm 0,12$; $0,54 \pm 0,11$ y $0,61 \pm 0,14 \text{ g NH}_4^+ / \text{l}$ (n=9), descendiendo en torno a un 30 % respecto a la fase B.

La evaluación de los distintos índices considerados para el control de la estabilidad de los reactores, permite concluir que, en general, la operación de los mismos se hizo sin excesivos desequilibrios. El caso de los reactores Dt que mantuvieron un pH por encima de los límites, puede ser tomado como un valor de equilibrio bajo las condiciones de experimentación de este estudio, ya que para la relación AI / AT o las concentraciones de amonio, el digestor se mantuvo dentro de los límites. Dm mantuvo una operación estable con excepción del desequilibrio sufrido ante la parada de la agitación del depósito de alimentación, que provocó el aumento de la concentración de sulfatos en ésta y por consiguiente un incremento en la relación AI / AT.

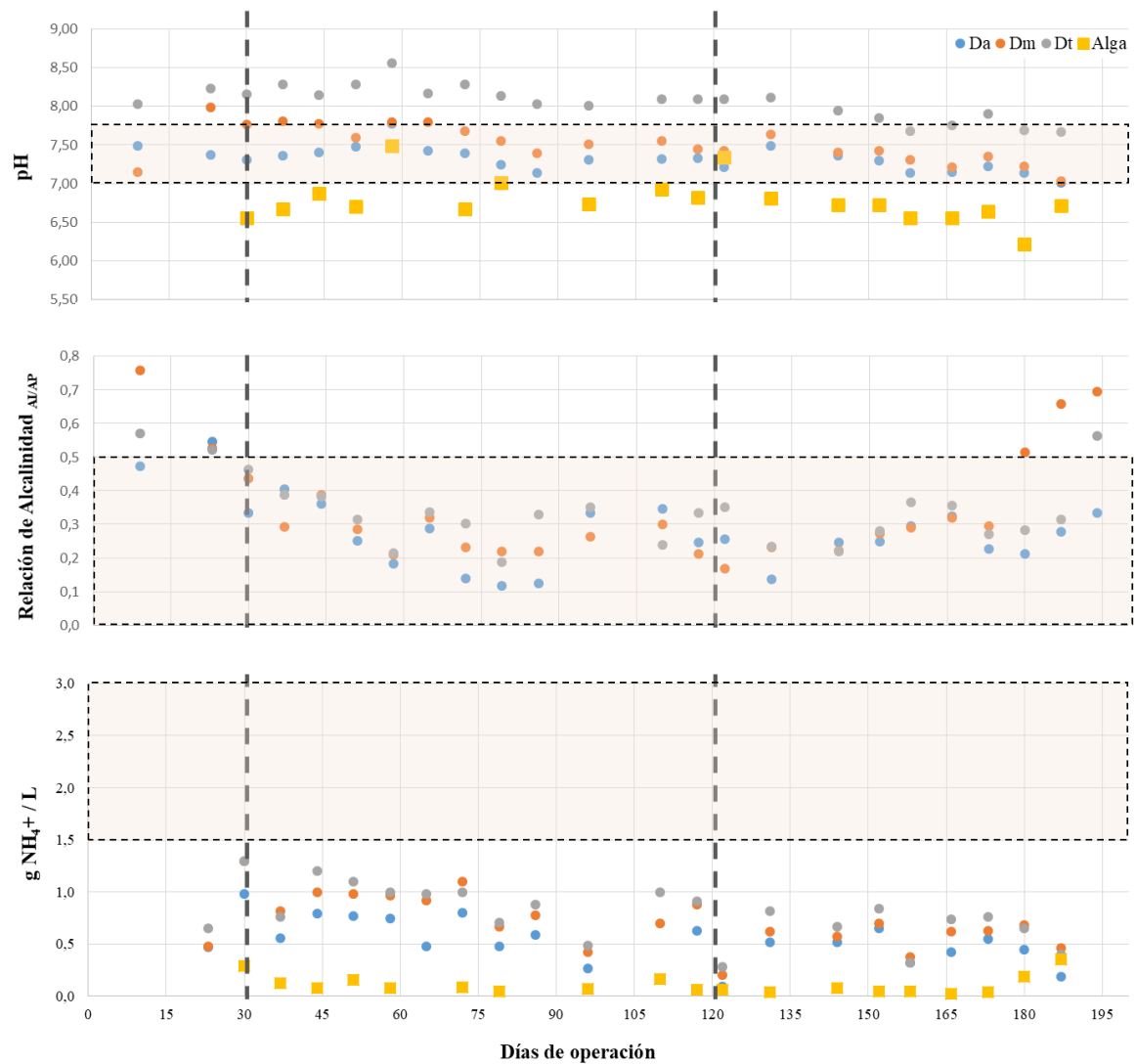


Figura 5: Principales parámetros de control de la estabilidad en los reactores anaerobios a temperatura ambiente, mesófilos y termófilos. El área punteada indica el límite de estabilidad operativa recomendada en la bibliografía.

Tabla 5: Valores medios registrados en los reactores Da, Dm y Dt a distintos TRH

Periodo Digestor (TRH)	B									C								
	Da (30 días)			Dm (21 día)			Dt (21 día)			Da (25 día)			Dm (18 día)			Dt (18 día)		
	$\bar{X} \pm IC$	n	CV (%)	$\bar{X} \pm IC$	n	CV (%)	$\bar{X} \pm IC$	n	CV (%)	$\bar{X} \pm IC$	n	CV (%)	$\bar{X} \pm IC$	n	CV (%)	$\bar{X} \pm IC$	n	CV (%)
pH	7,38±0,1	11	2	7,63±0,09	11	2	8,19±0,09	11	2	7,27±0,14	11	3	7,36±0,1	11	2	7,78±0,17	11	4
Relación de alcalinidad pH_{AI/AP}	0,25±0,06	11	40	0,27±0,03	11	21	0,31±0,04	11	21	0,26±0,03	11	21	0,36±0,11	11	49	0,35±0,07	11	34
g NH₄⁺ / l	0,57±0,13	11	37	0,84±0,11	11	23	0,91±0,12	11	22	0,41±0,12	9	43	0,54±0,11	9	30	0,61±0,14	9	36
ST (g/Kg)	17±1	11	10	16±1	11	10	16±1	11	12	16±1	9	5	17±2	8	15	14±2	9	19
SV (g/Kg)	13±1	11	8	12±1	11	10	11±1	11	13	12±1	9	11	11±1	8	16	9±1	9	18
DQO_{total} (g O₂ / l)	21365±930	9	7	19053±1163	9	10	18475±1094	9	10	19865±1574	9	12	19075±1821	9	14	16522±1205	9	11
DQO_{soluble} (g O₂ / l)	473±33	11	11	1087±275	11	43	2602±484	11	31	626±367	9	89	1429±867	9	93	2462±336	9	20
DQO_{total} eliminada (%)	38±13	7	48	43±11	7	33	46±7	7	22	34±10	9	45	37±10	9	40	45±7	9	24
ST eliminados (%)	38±5	7	20	39±6	8	18	40±7	8	25	39±9	9	34	32±11	8	50	45±8	9	28
SV eliminados (%)	36±7	7	25	37±11	8	41	41±11	8	39	42±10	9	36	43±8	8	26	55±7	9	20

(n = n° de datos, CV = coeficiente de variación (%), IC = intervalo de confianza calculado para $\alpha = 0,05$)

Eliminación de materia orgánica

La eliminación de la materia orgánica fue analizada a partir de los valores de la DQO y Sólidos.

Los resultados obtenidos a lo largo de todo el periodo de experimentación (**Tabla 5**), mostraron diferencias significativas para los valores de DQO soluble para Da, Dm y Dt, siendo $542 \pm 165 \text{ g O}_2 / \text{l}$, $1.241 \pm 413 \text{ g O}_2 / \text{l}$ y $2.539 \pm 300 \text{ g O}_2 / \text{l}$ ($n=20$), respectivamente. Estas diferencias pueden explicarse en base al incremento con la temperatura, de la cinética de los procesos hidrolíticos responsables de la solubilización de la DQO particulada (Arras et al., 2019). Atendiendo a los porcentajes de eliminación de DQO, en la fase B (**Tabla 5**), no se observan diferencias significativas entre los distintos digestores Da ($38 \pm 13 \%$), Dm ($43 \pm 11 \%$) y Dt ($46 \pm 7 \%$) ($n=7$), siendo estos resultados similares a los obtenidos en los reactores de laboratorio mesófilos ($48 \pm 2 \%$) y termófilos ($54 \pm 2 \%$) a TRH de 21 día. Valores comparables a los presentados por autores como (Bolzonella et al., 2009) para reactores mesófilos (35%) y termófilos (45%), trabajando a 20 días de TRH con lodos secundarios de EDAR.

En la fase C se descendió el TRH en Da (25 días), Dm (18 días) y Dt (18 días), obteniéndose resultados de eliminación de DQO (**Tabla 5**) de $34 \pm 10 \%$, $37 \pm 10 \%$ y $45 \pm 7 \%$ ($n=9$), respectivamente. A pesar del incremento de la carga orgánica y de sólidos en los tres digestores, se mantuvieron rendimientos de eliminación de DQO similares a los registrados en la fase B, apreciándose una aproximación en los rendimientos entre Da y Dm debido a la menor diferencia de temperatura entre ambos reactores en el periodo C, temperatura de Da $= 29,9 \pm 0,7^\circ\text{C}$ ($n = 72$). Estos resultados contrastan con los presentados por (Passos et al., 2014), donde la disminución en el TRH de 28 a 16 días causó un descenso significativo del rendimiento de eliminación de DQO del 51 al 33 %.

A pesar de presentar los mayores porcentajes de eliminación de DQO, los reactores Dt fueron los que mayor acumulación de DQO soluble mostraron, debido a la promoción de los procesos hidrolíticos y fermentativos por efecto de la temperatura, y a partir de los cuales se generan AGVs, algunos de los cuales pueden ser de difícil degradación (Perez, 2016). A pesar del incremento en la carga orgánica en los reactores Da (31 %); Dm y Dt (29 %) con el paso de la fase B a C, no se aprecian diferencias significativas en las concentraciones de DQO soluble entre ambas etapas, lo que indica que los reactores aun contaban con capacidad suficiente para procesar esta sobrecarga.

Con respecto a la media de eliminación de sólidos durante todo el periodo experimental, no existieron diferencias significativas entre Da, Dm y Dt para los sólidos totales (**Tabla 5**) ($0,38 \pm 0,05$ %; $0,35 \pm 0,07$ % y $0,43 \pm 0,06$ %; n= 16, 16 y 17) ni para los volátiles ($0,4 \pm 0,06$ %; $0,4 \pm 0,07$ % y $0,48 \pm 0,07$ %; n = 16, 16 y 17), respectivamente.

En la fase B las diferencias, al igual que en el global del periodo experimental, no fueron significativas entre los digestores Da, Dm y Dt para los porcentajes de eliminación de sólidos totales (38 ± 5 %; n = 7; 39 ± 6 %, n= 8 y 40 ± 7 %, n = 8; respectivamente), ni para los de los sólidos volátiles (36 ± 7 %; n = 7; 37 ± 11 %, n= 8 y 41 ± 11 %, n = 8; respectivamente). Los resultados obtenidos en el Dt son similares a los obtenidos por autores como Ferrer et al. (2010), que trabajando con lodo mixto en reactores termófilos a TRH de 20,4 días obtuvo porcentajes de eliminación de sólidos totales de $36,1 \pm 17,1$ y volátiles de $40,5 \pm 9,1$. De la Rubia et al. (2002) indicó que para reactores mesófilos y termófilos trabajando a TRH superiores a 27 días con lodos mixtos, los porcentajes de eliminación de sólidos totales y volátiles son superiores en los reactores termófilos, igualándose a TRH de 27 días en torno al 53% de $SV_{eliminado}$. Estos mismos autores presentaron eficiencias del 38 % de $SV_{eliminado}$ para TRH de 20 días en los reactores termófilos, similar a los obtenidos por Dt en la fase B.

En la fase C, tampoco se aprecian diferencias significativas entre los digestores Da, Dm y Dt en los valores medios de eliminación de sólidos totales ($39 \pm 9 \%$; $n = 9$; $32 \pm 11 \%$, $n = 8$ y $45 \pm 8\%$, $n = 9$; respectivamente), ni volátiles ($42 \pm 10 \%$; $n = 9$; $43 \pm 8 \%$, $n = 8$ y $55 \pm 7\%$, $n = 9$; respectivamente). En el caso de los reactores Dm los resultados obtenidos para la eliminación de sólidos volátiles casi duplicaron los presentados por Passos et al. (2014) ($21,3 \pm 2,8$ $SV_{\text{eliminado}}$ ($\pm$ Desviación estándar)) en reactores mesófilos tratando biomasa mixotrófica producida con aguas residuales a TRH de 15 días, pero en reactores de laboratorio de 2 l, lo que pone de nuevo en evidencia la importancia de la escala en la mejora de la cinética de los reactores. Por el contrario, en el caso de los Dt los resultados obtenidos fueron similares a los presentados por Ferrer et al. (2010) trabajando con lodo mixto en reactores termófilos a TRH de 16,0 días quienes registraron rendimientos de eliminación de sólidos totales de $35,1 \pm 17,7 \%$ y volátiles de $43,5 \pm 9,1 \%$.

Da presentó concentraciones de DQO solubles más estables a lo largo de todos los periodos ($CV = 20 \%$), en comparación con Dm ($CV = 41 \%$) y Dt ($CV = 27 \%$), si bien es cierto que su menor temperatura y mayor TRH disminuyen sus rendimientos de eliminación de DQO total (**Tabla 5**), siendo un 11 y 17% inferior a Dm y Dt, respectivamente. Los mejores rendimientos de metano de Da ($0,17 \pm 0,02$ m^3 CH_4 / kg $SV_{\text{alimentado}}$ día) fueron para un TRH de 25 días (**Tabla 4**), que al compararlo con el obtenido para Dm a TRH de 21 días ($0,23 \pm 0,04$ m^3 CH_4 / kg $SV_{\text{alimentado}}$ día) no se apreciaron diferencias significativas, mostrando que pudiera ser apropiado el uso de digestores no calefactados como alternativa a Dm en áreas de con temperaturas medias diarias de 20 – 25 °C durante todo el año. En el caso de Dt, los rendimiento de metano más altos ($0,3 \pm 0,04$ m^3 CH_4 / kg $SV_{\text{alimentado}}$ día) se alcanzaron durante el periodo C trabajando con un TRH de 18 días, mejorando en un 76 % respecto a los obtenidos por Dm ($0,17 \pm 0,06$ m^3 CH_4 / kg $SV_{\text{alimentado}}$ día) (**Tabla 4**) para el mismo TRH. Esta mejora

plantea a Dt como la opción más interesante con respecto al tratamiento de la biomasa microalgal mediante digestión anaerobia, ya que además presentó los porcentajes medios más elevados de eliminación (**Tabla 5**) de DQO total (45 ± 7) y sólidos volátiles (55 ± 7) para la fase C.

CONCLUSIONES

1. La parada en la agitación del tanque de almacenamiento de la biomasa microalgal mostró un incremento del 400 % en la concentración de sulfatos, por lo que la homogeneización de la alimentación en el tanque de almacenamiento se presenta como un factor crítico que puede afectar a la estabilidad de los digestores, especialmente en escenarios con aguas con altos contenidos en sulfatos, por ejemplo en EDARs costeras.
2. Los mejores rendimientos de reducción de DQO (45 %), sólidos totales (45 %) y sólidos volátiles (55 %) de la biomasa microalgal se registraron en los digestores termófilos operando a TRH de 18 días, siendo estos rendimientos además los más estables en comparación con Dm y Da.
3. La digestión a temperatura ambiente de la biomasa microalgal presentó los mejores valores para los indicadores de estabilidad del proceso anaerobio, pH, relación de alcalinidad y concentración de amonio, sin embargo Dt mostró una menor variabilidad de estos parámetros (con excepción del pH).
4. La digestión anaerobia de la biomasa microalgal cultivada en HRAP con aguas residuales urbanas presenta rendimientos de metano superiores a los observados en estudios realizados en condiciones de laboratorio debido al cambio de la operación de semicontinuo a continuo y al mayor grado de mezcla de los digestores.
5. Atendiendo a los rendimientos de producción de metano la digestión termófila de biomasa microalgal presentó los mejores resultados ($0,30 \text{ m}^3 \text{ CH}_4 / \text{kg SV}_{\text{alimentado}}\text{día}$), con rendimientos similares a los obtenidos al tratar lodos mixtos bajo mismo TRH y temperatura.

6. Los rendimientos de producción de metano indicaron que la digestión anaerobia a temperatura ambiente de biomasa microalgal mixotrófica puede suponer una alternativa a la digestión mesófila en zonas geográficas con temperaturas medias diarias de 20 – 25°C durante todo el año.

BIBLIOGRAFÍA

- AJALA, S. O. & ALEXANDER, M. L. 2020. Assessment of *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus obliquus*, and *Oocystis minuta* for removal of sulfate, nitrate, and phosphate in wastewater. *International Journal of Energy and Environmental Engineering*.
- APHA 2005. *Standard Methods for the Examination of Water & Wastewater*, American Public Health Association.
- ARRAS, W., HUSSAIN, A., HAUSLER, R. & GUIOT, S. R. 2019. Mesophilic, thermophilic and hyperthermophilic acidogenic fermentation of food waste in batch: Effect of inoculum source. *Waste Management*, 87, 279-287.
- ASTALS, S., ESTEBAN-GUTIÉRREZ, M., FERNÁNDEZ-ARÉVALO, T., AYMERICH, E., GARCÍA-HERAS, J. L. & MATA-ALVAREZ, J. 2013. Anaerobic digestion of seven different sewage sludges: A biodegradability and modelling study. *Water Research*, 47, 6033-6043.
- BOLZONELLA, D., FATONE, F., DI FABIO, S. & CECCHI, F. 2009. Mesophilic, Thermophilic And Temperature Phased Anaerobic Digestion Of Waste Activated Sludge. *Chemical Engineering Transactions*, 17.
- CAPORGNO, M. P., TROBAJO, R., CAIOLA, N., IBÁÑEZ, C., FABREGAT, A. & BENGIOA, C. 2015. Biogas production from sewage sludge and microalgae co-digestion under mesophilic and thermophilic conditions. *Renewable Energy*, 75, 374-380.
- CAPSON-TOJO, G., TORRES, A., MUÑOZ, R., BARTACEK, J. & JEISON, D. 2017. Mesophilic and thermophilic anaerobic digestion of lipid-extracted microalgae *N. gaditana* for methane production. *Renewable Energy*, 105, 539-546.
- CAVINATO, C., UGURLU, A., DE GODOS, I., KENDIR, E. & GONZALEZ-FERNANDEZ, C. 2017. Biogas production from microalgae. *Microalgae-Based Biofuels and Bioproducts*. Elsevier.
- CEA-BARCIA, G., MORENO, G. & BUITRÓN, G. 2015. Anaerobic digestion of mixed microalgae cultivated in secondary effluent under mesophilic and thermophilic conditions. *Water Science and Technology*, 72, 1398-1403.
- CERÓN, A., PÉREZ VIDAL, A. & TORRES LOZADA, P. 2005. Importancia del pH y la Alcalinidad en el Tratamiento Anaerobio de las Aguas Residuales del Proceso de Extracción de Almidón de Yuca. *Revista Scientia et Technica - 0122-1701*, XI, 243 – 248.
- CONIL 2017. *Estaciones agroclimáticas de la Consejería de Agricultura, ganadería, pesca y desarrollo sostenible*.
- DE GODOS, I., ARBIB, Z., LARA, E. & ROGALLA, F. 2016. Evaluation of High Rate Algae Ponds for treatment of anaerobically digested wastewater: Effect of CO₂ addition and modification of dilution rate. *Bioresource technology*, 220, 253-261.
- DE LA RUBIA, M., PEREZ, M., ROMERO, L. & SALES, D. 2002. Anaerobic mesophilic and thermophilic municipal sludge digestion. *Chemical and biochemical engineering quarterly*, 16, 119-124.
- DELGADILLO-MIRQUEZ, L., LOPES, F., TAIDI, B. & PAREAU, D. 2016. Nitrogen and phosphate removal from wastewater with a mixed microalgae and bacteria culture. *Biotechnology reports (Amsterdam, Netherlands)*, 11, 18-26.
- FASAEI, F., BITTER, J. H., SLEGERS, P. M. & VAN BOXTEL, A. J. B. 2018. Techno-economic evaluation of microalgae harvesting and dewatering systems. *Algal Research*, 31, 347-362.
- FERNANDEZ BOIZÁN, M., CANTERO MORENO, D., PÉREZ SILVA, R. M. & RAMIREZ MUÑOZ, M. 2011. Desulfuración de biogás en condiciones anoxicas mediante biofiltración.
- FERRER, I., VÁZQUEZ, F. & FONT, X. 2010. Long term operation of a thermophilic anaerobic reactor: Process stability and efficiency at decreasing sludge retention time. *Bioresource Technology*, 101, 2972-2980.
- FERRER MARTÍ, I., VÁZQUEZ, F. & FONT SEGURA, X. Comparison of the mesophilic and thermophilic anaerobic sludge digestion from an energy perspective. *Journal of Residuals Science and Technology*, vol. 18, núm. 2, 2011. Destech, 81-87.
- FOOD & NATIONS, A. O. O. T. U. 2008. *El Estado Mundial de la Agricultura Y la Alimentación 2008: Biocombustibles - Perspectivas, Riesgos Y Oportunidades*, FAO.
- GEBREEYESSUS, G. D. & JENICEK, P. 2016. Thermophilic versus Mesophilic Anaerobic Digestion of Sewage Sludge: A Comparative Review. *Bioengineering (Basel, Switzerland)*, 3, 15.
- GONZALEZ-FERNANDEZ, C., BARREIRO-VESCOVO, S., DE GODOS, I., FERNANDEZ, M., ZOUHAYR, A. & BALLESTEROS, M. 2018. Biochemical methane potential of microalgae biomass using different microbial inocula. *Biotechnology for Biofuels*, 11.

- JANKOWSKA, E., SAHU, A. K. & OLESKOWICZ-POPIEL, P. 2017. Biogas from microalgae: Review on microalgae's cultivation, harvesting and pretreatment for anaerobic digestion. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 75, 692-709.
- JENKINS, S., MORGAN, J. & SAWYER, C. 1983. Measuring anaerobic sludge digestion and growth by a simple alkalimetric titration. *Journal (Water Pollution Control Federation)*, 448-453.
- JIANG, J., HE, S., KANG, X., SUN, Y., YUAN, Z., XING, T., GUO, Y. & LI, L. 2020. Effect of Organic Loading Rate and Temperature on the Anaerobic Digestion of Municipal Solid Waste: Process Performance and Energy Recovery. *Frontiers in Energy Research*, 8.
- KINNUNEN, H. V., KOSKINEN, P. E. P. & RINTALA, J. 2014. Mesophilic and thermophilic anaerobic laboratory-scale digestion of Nannochloropsis microalga residues. *Bioresource Technology*, 155, 314-322.
- LARA CORONA, E. & ROGALLA, F. 2016. *Open reactor for cultivating microalgae*.
- LI, F., SRIVATSA, S. C. & BHATTACHARYA, S. 2019. A review on catalytic pyrolysis of microalgae to high-quality bio-oil with low oxygenous and nitrogenous compounds. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 108, 481-497.
- LIU, Z.-H., YIN, H., LIN, Z. & DANG, Z. 2018. Sulfate-reducing bacteria in anaerobic bioprocesses: basic properties of pure isolates, molecular quantification, and controlling strategies. *Environmental Technology Reviews*, 7, 46-72.
- MEHRABADI, A., CRAGGS, R. & FARID, M. M. 2015. Wastewater treatment high rate algal ponds (WWT HRAP) for low-cost biofuel production. *Bioresource Technology*, 184, 202-214.
- METCALF, L., EDDY, H. P. & TCHOBANOGLOUS, G. 1991. *Wastewater engineering: treatment, disposal, and reuse*, McGraw-Hill New York.
- MOSET, V., POULSEN, M., WAHID, R., HØJBERG, O. & MØLLER, H. B. 2015. Mesophilic versus thermophilic anaerobic digestion of cattle manure: methane productivity and microbial ecology. *Microbial biotechnology*, 8, 787-800.
- OLSSON, J., FENG, X. M., ASCUE, J., GENTILI, F. G., SHABIIMAM, M. A., NEHRENHEIM, E. & THORIN, E. 2014. Co-digestion of cultivated microalgae and sewage sludge from municipal waste water treatment. *Bioresource Technology*, 171, 203-210.
- PASSOS, F., HERNÁNDEZ-MARINÉ, M., GARCÍA, J. & FERRER, I. 2014. Long-term anaerobic digestion of microalgae grown in HRAP for wastewater treatment. Effect of microwave pretreatment. *Water research*, 49, 351-359.
- PEREZ, M. 2016. Thermophilic and mesophilic temperature phase anaerobic codigestion (TPAcD) compared with single-stage co-digestion of sewage sludge and sugar beet pulp lixiviation. *Biomass and Bioenergy*.
- RIPLEY, L. E., BOYLE, W. C. & CONVERSE, J. C. 1986. Improved Alkalimetric Monitoring for Anaerobic Digestion of High-Strength Wastes. *Journal (Water Pollution Control Federation)*, 58, 406-411.
- SANTOS-BALLARDO, D. U., ROSSI, S., REYES-MORENO, C. & VALDEZ-ORTIZ, A. 2016. Microalgae potential as a biogas source: current status, restraints and future trends. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 15, 243-264.
- SENEESRISAKUL, K., SUTABUTR, T. & CHAVADEJ, S. 2018. The Effect of Temperature on the Methanogenic Activity in Relation to Micronutrient Availability. *Energies*, 11, 1057.
- SHAMMAS, N. K. & BENNETT, G. F. 2010. 1 - Principles of Air Flotation Technology. In: WANG, L., SHAMMAS, N., SELKE, W. & AULENBACH, D. (eds.) *Principles of Air Flotation Technology*. Humana Press, Totowa, NJ.
- SHEN, Y., LINVILLE, J. L., URGUN-DEMIRTAS, M., MINTZ, M. M. & SNYDER, S. W. 2015. An overview of biogas production and utilization at full-scale wastewater treatment plants (WWTPs) in the United States: Challenges and opportunities towards energy-neutral WWTPs. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 50, 346-362.
- STERLING, M. C., LACEY, R. E., ENGLER, C. R. & RICKE, S. C. 2001. Effects of ammonia nitrogen on H₂ and CH₄ production during anaerobic digestion of dairy cattle manure. *Bioresource Technology*, 77, 9-18.
- THORIN, E., OLSSON, J., SCHWEDE, S. & NEHRENHEIM, E. 2018. Co-digestion of sewage sludge and microalgae – Biogas production investigations. *Applied Energy*, 227, 64-72.
- VAN DEN BRAND, T., ROEST, K., G.H. C., BRDJANOVIC, D. & VAN LOOSDRECHT, M. 2015. Occurrence and activity of sulphate reducing bacteria in aerobic activated sludge systems. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 31, 507-516.
- WARD, A. J., LEWIS, D. M. & GREEN, F. B. 2014. Anaerobic digestion of algae biomass: A review. *Algal Research*, 5, 204-214.

- WHEATLEY, A. 1990. *Anaerobic digestion : a waste treatment technology*, London; New York; New York, NY, USA, Elsevier Applied Science ; Sole distributor in the USA, Elsevier Science Pub. Co.
- XU, R., ZHANG, K., LIU, P., KHAN, A., XIONG, J., TIAN, F. & LI, X. 2018. A critical review on the interaction of substrate nutrient balance and microbial community structure and function in anaerobic co-digestion. *Bioresource Technology*, 247, 1119-1127.
- ZHANG, B., LI, W., GUO, Y., ZHANG, Z., SHI, W., CUI, F., LENS, P. N. L. & TAY, J. H. 2020. Microalgal-bacterial consortia: From interspecies interactions to biotechnological applications. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 118, 109563.

CAPÍTULO 5

Combinando biotecnología de microalgas y procesos anaerobios para la depuración de aguas residuales urbanas: Análisis energético de diferentes estrategias.

El presente capítulo está pendiente de ser enviado a la revista Bioresource Technology.

ANTECEDENTES

El tratamiento de las aguas residuales urbanas es una necesidad de la sociedad actual con la que se restringe el impacto sobre las masas de aguas receptoras. En las últimas décadas se han incrementado el número de estaciones depuradoras de aguas residuales (EDARs) basadas en sistemas de tratamiento considerados convencionales, que requieren grandes cantidades de energía, en torno a $1 \text{ kWh} / \text{m}^3$ (Passos et al., 2017) o $0,69 - 3,01 \text{ kWh} / \text{kg DQO}_{\text{eliminada}}$, siendo $0,92 \text{ kWh} / \text{kg DQO}_{\text{eliminada}}$ el consumo medio en países de la unión europea como Alemania, Italia y España (Longo et al., 2016). Esta energía suele ser aportada a modo de electricidad, gas natural u otros tipos de combustibles fósiles (Stillwell et al., 2010), a pesar de que las aguas residuales urbanas contienen un potencial energético que se estima ronda los $1,67 - 2,33 \text{ kWh} / \text{m}^3$ (incluso con concentraciones de DQO de $600 \text{ mg} / \text{l}$) (Capodaglio y Olsson, 2020) la depuración de las aguas residuales es hoy en día un proceso que conlleva un consumo energético en torno a los $0,3 - 2,1 \text{ kWh} / \text{m}^3$ en países europeos (Gandiglio et al., 2017).

Entre los distintos tratamientos de depuración de las aguas residuales urbanas, los lodos activos representan el proceso biológico más ampliamente extendido en el mundo (Yang et al., 2020). Debido fundamentalmente a la aireación de los reactores, estos procesos aerobios pueden llegar a ser responsables de entre el $50 - 70 \%$ del consumo energético total de una EDAR convencional (Capodaglio y Olsson, 2020), fluctuando entre $0,27$ (China) – $1,89$ (Japón) kWh / m^3 (Gu et al., 2017), siendo la media de $0,5 \text{ kWh} / \text{m}^3$ para el caso de España (Soares et al., 2017). Como alternativa a este modelo, el tratamiento directo de las aguas residuales mediante procesos anaerobios como los UASB, permite reducciones del $20 - 50 \%$ sobre los costes de inversión (CAPEX) y superiores al 50% de los costes de operación (OPEX) de una EDAR convencional (Chernicharo et al., 2015). Esta tecnología puede llegar a aportar la energía suficiente como para satisfacer sus

propias necesidades energéticas de operación (Ahmed et al., 2015) y está mundialmente extendida debido a la simplicidad en operación y bajos requerimientos de espacios, que los hacen ideales para poblaciones con poco terreno disponible (Mainardis et al., 2020). Sin embargo, la aplicación de los UASB por si solos para el tratamiento de la depuración de las aguas residuales presenta algunos inconvenientes como son las limitaciones en el rendimiento en zonas con climatologías extremas o muy variables, como la de la cuenca mediterránea (Chernicharo et al., 2015), así como el precisar de un post-tratamiento para llegar a alcanzar los estándares de calidad de efluente de una EDAR convencional (Vassalle et al., 2020). Una posible alternativa a los procesos aerobios como los lodos activados, son los reactores de microalgas de alta carga (HRAP), que presentan consumos energéticos de $0,02 \text{ kWh} / \text{m}^3$ (Passos et al., 2017), representando una opción adecuada como tratamiento directo o post-tratamiento a los UASB. En este sentido, distintos autores han explorado el uso de sistemas mixtos de UASB seguidos de un post-tratamiento mediante HRAP como alternativas para la eliminación de nutrientes (N y P) y oxigenación del efluente (de Godos et al., 2016), desinfección (Gutiérrez-Alfaro et al., 2018) o eliminación de contaminantes prioritarios (Vassalle et al., 2020) y emergentes (Villar-Navarro et al., 2018). El tratamiento de las aguas residuales mediante HRAP supone la producción de biomasa microalgal ($0,3 \text{ kg/m}^3$ agua tratada (Tredici, 2004)) que puede tener distintos usos, entre los que se encuentra la valoración energética, pudiéndose considerar como una materia prima de interés. El uso de la biomasa microalgal como sustrato energético ha sido evaluado en muchos proyectos en busca de la obtención de nuevas líneas de producción de biocombustibles (Maga, 2017), siendo económicamente inviable para procesos como la combustión directa, pirolisis y gasificación o como biodiesel, debido a su alto contenido en agua, que suele rondar el 80 – 90 % (Milledge et al., 2019). Además de lo anterior, existen otras características de las propias microalgas

que constituyen un reto en la etapa de cosechado y concentración, como son: la baja concentración del cultivo en HRAP (unos 300 mg SS/L), el pequeño tamaño de las células (mayoritariamente $< 30 \mu\text{m}$), densidad similar a la del propio medio de cultivo, así como la presencia de cargas negativas de superficie que las mantienen dispersas (Milledge y Heaven, 2017). Con respecto a la fase de cosechado de la biomasa microalgal, el consumo energético de los sistemas de concentración, como la centrifugación y filtros banda ($0,94 - 1,5 \text{ kWh} / \text{m}^3$), suponen entre el 4 – 7 % del total del proceso (Capodaglio y Olsson, 2020, Gandiglio et al., 2017). Un método de concentración de biomasa que permite producir un sustrato con concentraciones adecuadas para el proceso de digestión anaerobia (3 – 5 %) (Metcalf et al., 1979), con bajo requerimiento energético ($45 - 60 \text{ Wh} / \text{m}^3$) (Shammas y Bennett, 2010) y eficiente (95 % de recuperación de sólidos), es el sistema de flotación por aire disuelto (DAF) (Maga, 2017, de Godos et al., 2016). Esta tecnología ha sido probada con éxito a escala demostrativa para la pre-concentración de biomasa microalgal mixotrófica cultivada en agua residual previo a su digestión anaerobia, en el proyecto All-gas (www.all-gas.eu) (Maga, 2017).

En el presente capítulo, utilizando las principales conclusiones y resultados de los capítulos anteriores, se realiza un análisis energético de las diferentes alternativas para combinar procesos anaerobios para el tratamiento de agua residual (UASB) o digestión de la biomasa y biotecnología de microalgas, al objeto de seleccionar la opción energéticamente más favorable.

MATERIAL Y MÉTODOS

Escenarios analizados.

Para la realización de los balances de materia y energía se ha realizado la comparación de una EDAR convencional (**Figura 1**) con dos posibles escenarios (**Figura 2 y 3**), basados en los procesos estudiados y resultados obtenidos en los Capítulos anteriores.

Como EDAR convencional(**Figura 1**) se ha considerado una instalación que prestaría servicio a una población de 50.000 habitantes, que vierte sus aguas a zona sensible y por lo tanto según la Directiva 91/271/CEE sobre tratamiento de las aguas residuales urbanas, además de eliminar DBO_5 (25 mg / l O_2), DQO (125 mg / l O_2) y Sólidos suspendidos totales (35 mg / l) ha de eliminar Fósforo total (2 mg / l) y Nitrógeno total (15 mg / l). Los procesos en ella contemplados comprenden un pretratamiento consistente en un desbaste donde se eliminan los sólidos gruesos y un desarenado desengrasado donde son retiradas las arenas y grasas de la corriente de agua residual. Seguidamente se continúa con un proceso de eliminación de fósforo por pre-precipitación, seguido de una decantación primaria donde se genera una corriente de lodos (primarios) y agua clarificada. El agua clarificada pasa a un proceso biológico de nitrificación-desnitrificación en un reactor tipo "Ludzack-Ettinger modificado", donde se reduce la concentración de nitrógeno. El agua resultante pasa a un segundo proceso de decantación tras el cual se evacúa el efluente al medio receptor y se genera una nueva corriente de lodos (secundarios). Las dos corrientes de lodos generados (primarios y secundarios), se aúnan formando los lodos mixtos y previamente concentradas por gravedad alimentan en un digestor anaerobio mesófilo (35 °C) del que surge una corriente de lodo estabilizado (digestato) y biogás. El biogás generado alimentaría una unidad de cogeneración formada por un motor de combustión interna calor para mantener la temperatura del digestor y electricidad. El digestato es deshidratado mediante centrifugación generando el fango

deshidratado que es gestionado y una corriente de escurrido que es retornada a la cabecera de la EDAR.

Escenario 1: El proceso incluye una etapa de pretratamiento del agua residual consistente en un desbaste, y un desarenado-desengrasado aireado, proceso idéntico al del proceso convencional (**Figura 1**), con la excepción de que se incluye una etapa adicional que incluye un rototamiz de 1 mm de paso de malla. Una vez pretratada el agua (1) se alimenta en los reactores anaerobios de manto de lodo de flujo ascendente (UASB) (**Figura 2**) en los que se obtiene una primera corriente de biogás (9). Seguidamente, el efluente resultante (2) es empleado para la producción de biomasa mixotrófica microalgas-bacterias en reactores tipo HRAP. La biomasa generada (3) es concentrada mediante un proceso de flotación por aire disuelto (DAF), similar al descrito en los Capítulos 3 y 4, por el que se obtiene un efluente que es vertido al medio receptor (4) y una biomasa concentrada (5) que es empleada como sustrato en la digestión anaerobia (mesófila (35 °C) o termófila (55 °C)). Como resultado de esta digestión anaerobia se obtiene una segunda corriente de biogás (10) y un efluente estabilizado (6) que pasa a ser deshidratado por centrifugación, obteniéndose una biomasa deshidratada (7) y un escurrido (8) que es devuelto a la cabecera de la EDAR.

Escenario 2: Se trata de un proceso análogo al anterior (**Figura 3**), pero en este caso se elimina el tratamiento mediante UASB (desapareciendo la primera corriente de biogás), alimentándose (1) directamente los reactores tipo HRAP con agua pretratada. El resto de los procesos descritos en el escenario anterior para el tratamiento de la biomasa generada se mantienen.

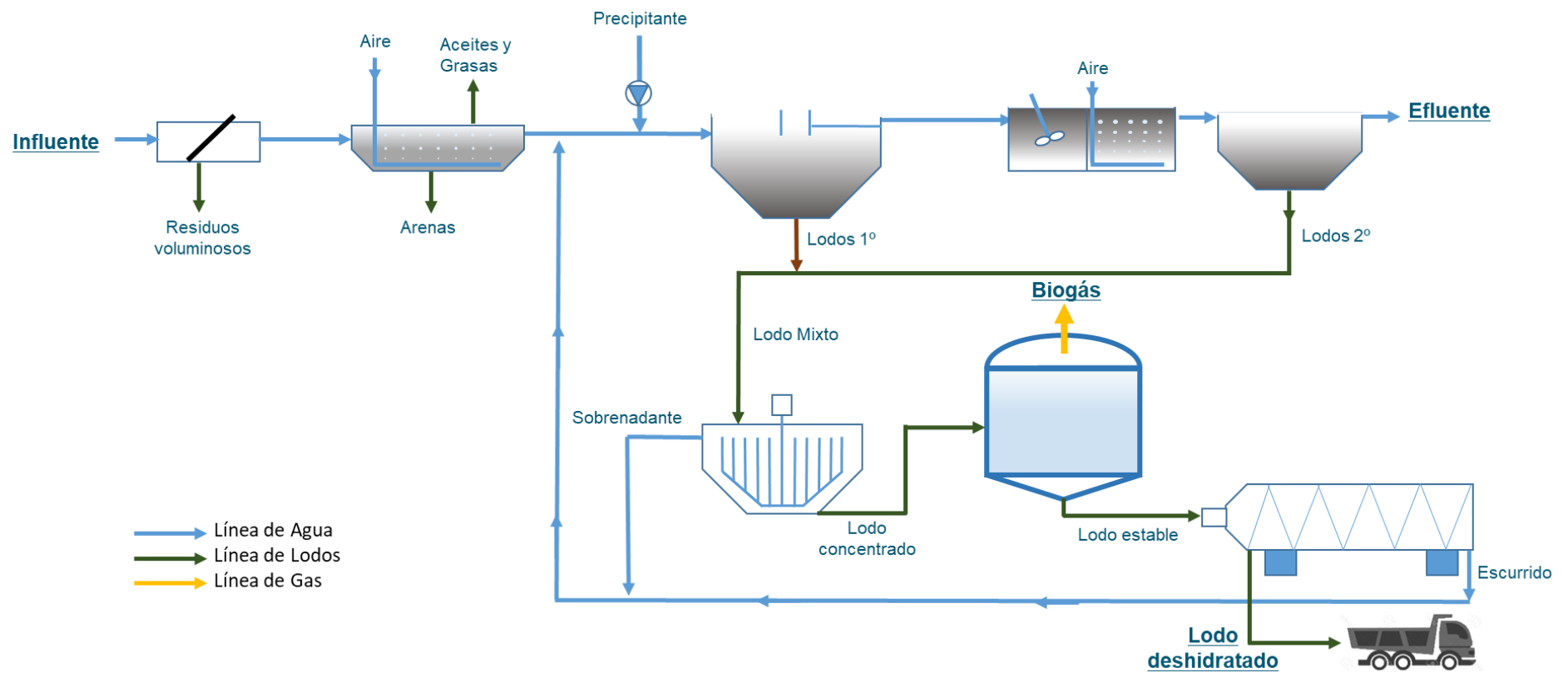


Figura 1: Esquema general de una EDAR convencional

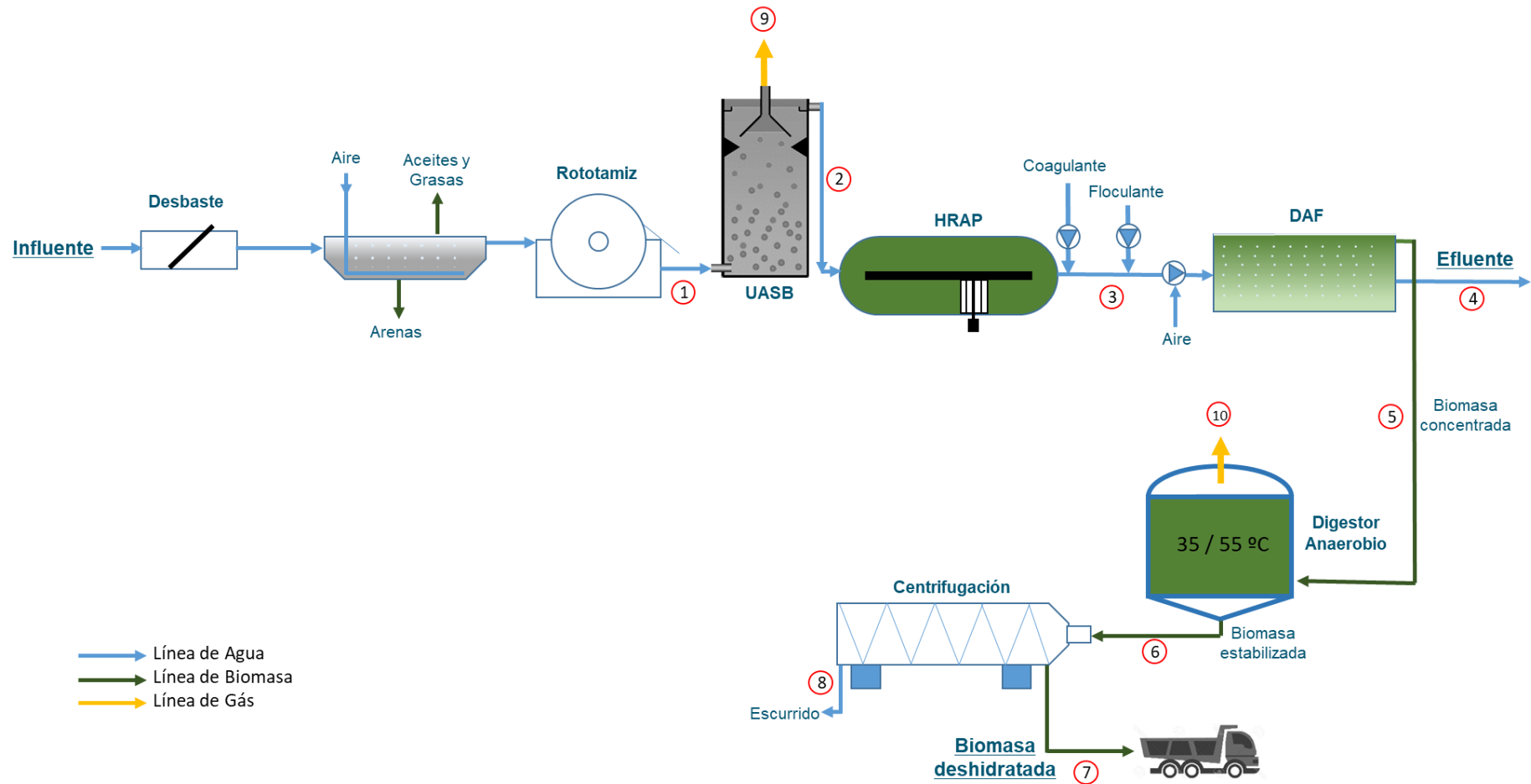


Figura 2: Esquema del Escenario 1 considerado para los balances de masa y energía con las principales corrientes: 1) Agua bruta tras desbaste, 2) Efluente UASB, 3) Efluente HRAP, 4) Efluente DAF, 5) Biomasa concentrada, 6) Digestato, 7) Biomasa deshidratada, 8) Ecurrido de centrifuga, 9) Biogás producido por el UASB y 10) Biogás producido por el digestor de biomasa (Mesófilo (35 °C) o Termófilo (55 °C)).

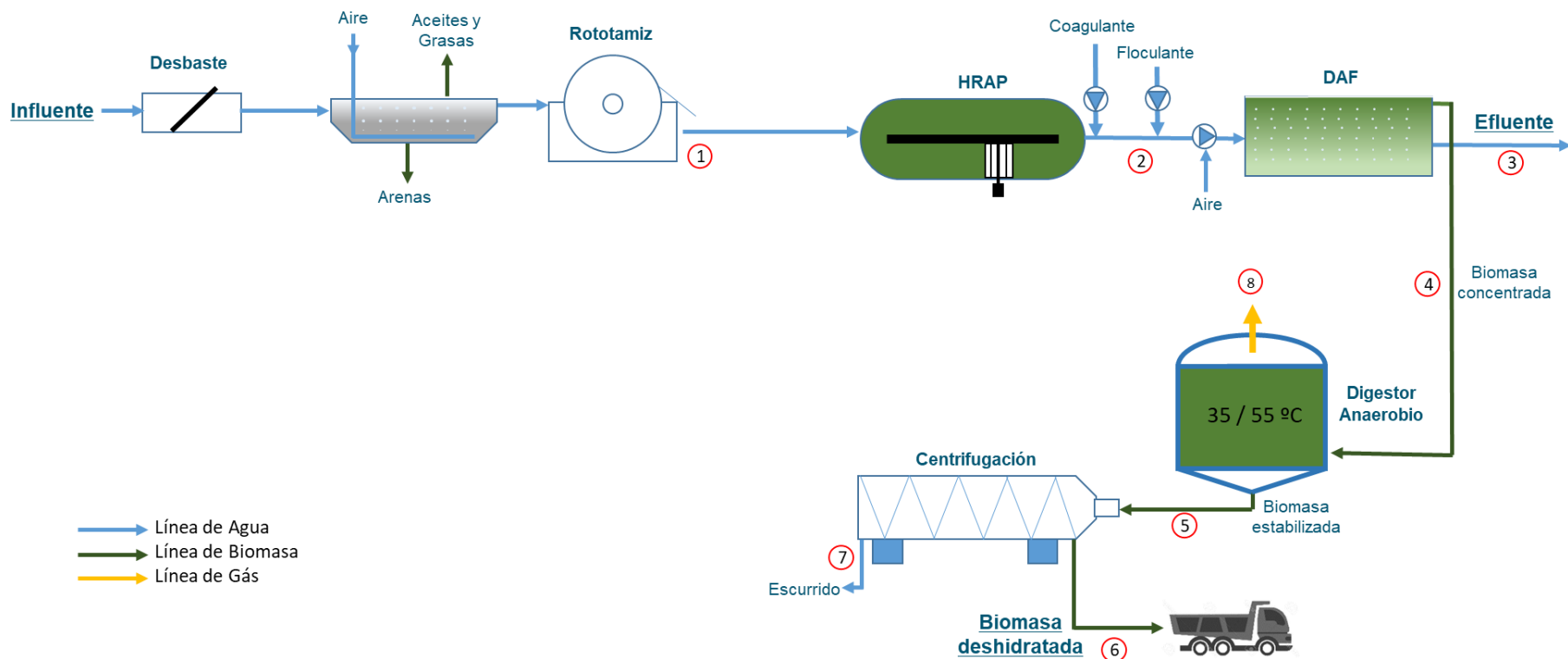


Figura 3: Esquema del Escenario 2 considerado para los balances de masa y energía con las principales corrientes: 1) Agua bruta tras desbaste, 2) Efluente HRAP, 3) Efluente DAF, 4) Biomasa concentrada, 5) Digestato, 6) Biomasa deshidratada, 7) Ecurrado de centrífuga, 8) Biogás producido por el digestor de biomasa (Mesófilo (35 °C) o Termófilo (55 °C)).

Balance de materia

Se considera una EDAR convencional (**Figura 1**) para una población de 50.000 habitantes con una generación media de agua residual de $0,3 \text{ m}^3 / \text{día}$ por habitante (Acampa et al., 2019), lo que supone un caudal de tratamiento diario de $15.000 \text{ m}^3 / \text{día}$. Estos valores se escogieron como representativos para la realización de una comparación relevante sobre los flujos máxicos de producción de biogás, el cual es considerado rentable para la generación de electricidad a partir del tratamiento del caudal generado por poblaciones mínimas de 50.000 habitantes (Campello et al., 2020).

Para el Escenario 1 y 2 se realizó un análisis de las distintas corrientes de la EDAR, identificándose: Línea de agua, Línea de lodos y Línea de gas. Los cálculos se realizaron a partir de valores experimentales obtenidos en los capítulos 2, 3 y 4, valores experimentales provenientes del proyecto All-gas (Aqualia, 2019) así como mediante datos bibliográficos.

Balance de energía

El consumo de los distintos elementos identificados en una EDAR convencional y los Escenarios 1 y 2 (**Tabla 1**), dependen en gran medida de la escala, esto es, del tamaño de población, en general cuanto mayor es ésta el rendimiento energético de los procesos es mayor (Campello et al., 2020). En este caso los valores de referencia de consumo eléctrico para los distintos elementos en la EDAR convencional así como de aquellos comunes con los dos escenarios planteados, se obtuvieron de IDAE (2010) para poblaciones entre 50.000 y 100.000 habitantes, mientras que los de los de los escenarios 1 y 2 se detallan en la sección de resultados y discusión.

Para el cálculo de la producción de metano y el rendimiento en su transformación en energía eléctrica mediante un sistema de cogeneración con motor de combustión interna, se consideró, para la EDAR convencional, un valor de 1,712 W / habitante equivalente (Bachmann et al., 2015), mientras que en el caso de los escenarios 1 y 2 se emplearon los flujos máxicos de metano obtenidos para el/los reactores anaerobios en el balance de materia para cada escenario. El poder calorífico inferior del metano empleado en los cálculos fue de 9,43 kWh / m³ (García Posada et al., 2011), mientras que la eficiencia de transformación en energía eléctrica mediante cogeneración con motores de combustión interna fue del 36 % (BESEL, 2007).

Tabla 1: Elementos considerados en el balance energético de los distintos supuestos

EDAR:	Convencional	Escenario 1	Escenario 2
Bombeo Cabecera	+	+	+
Motores y bombas desbaste	+	+	+
Motores y bombas desarenado	+	+	+
Rototamiz	-	+	+
Motores y bombas decantación primaria	+	-	-
Aireación nitrificación- desnitrificación	+	-	-
Agitación y retorno de fangos desnitrificación	+	-	-
UASB	-	+	-
HRAP	-	+	+
DAF	-	+	+
Bombeo fangos	+	+	+
Espesador por gravedad	+	-	-
Digestión anaerobia y cogeneración (consumo)	+	+	+
Digestión anaerobia y cogeneración (producción)	+	+	+
Centrifugado	+	+	+

Para realizar el balance energético se han considerado los consumos eléctricos de los elementos identificados para los distintos procesos en la **Tabla 1**, si bien no se han considerado los consumos de otros procesos auxiliares (iluminación, calefacción de edificios, mantenimiento, etc.) lo que hace que el consumo global difiera del real de una EDAR. No obstante, al ser comunes tanto para el modelo de EDAR convencional como

a los dos escenarios estudiados, su no inclusión no alteraría el análisis comparativo realizado.

De acuerdo con Carlsson et al. (2016), se ha considerado que el calor generado en la cogeneración del biogás tanto en el caso de la EDAR convencional como en los dos escenarios, es suficiente para cubrir la demanda incluso en el caso de la variante termófila, a pesar de tener requerimientos de energía térmica que duplican al de los procesos mesófilos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Balance de materia

Para la realización de los balances de materia de los escenarios 1 y 2 se diferencié entre líneas de agua, lodos y gas. Las referencias bibliográficas comunes empleadas para los cálculos se indican en la **Tabla 2**.

Tabla 2: Referencias bibliográficas empleadas en los cálculos de los escenarios 1 y 2.

Parámetro	Unidades	Valor	Fuente
Población	habitante	50000	(Campello et al., 2020)
Dotación	l/habitante día	300	(Acampa et al., 2019)
[N-NO₃]_{influyente}	g / m³	0,0	(Metcalf et al., 2007)
[N-NO₂]_{influyente}	g / m³	0,0	(Metcalf et al., 2007)
Rendimiento NKT UASB	%	0,0	(de Sousa et al., 2008, Vashi et al., 2010)
Rendimiento NO₃ UASB	%	0,0	(de Sousa et al., 2008, Vashi et al., 2010)
Rendimiento NO₂ UASB	%	0,0	(de Sousa et al., 2008, Vashi et al., 2010)
[SSV]_{HRAP}	g / m³	250,6	(de Godos et al., 2016)
[N-NH₄⁺]_{HRAP}	g / m³	11,5	(de Godos et al., 2016)
[N-NO₃]_{HRAP}	g / m³	13,3	(de Godos et al., 2016)
[N-NO₂]_{HRAP}	g / m³	1,9	(de Godos et al., 2016)
[P-PO₄⁻³]_{HRAP}	g / m³	4,0	(de Godos et al., 2016)
Rendimiento NKT HRAP	%	92,8	(Pacheco et al., 2019)
Sólidos biomasa HRAP	%	0,407	(Aqualia, 2019)
[P-PO₄]_{DAF}	g / m³	0,35	(Aqualia, 2019)
Rendimiento SS DAF	%	95,0	(de Godos et al., 2016)
[ST]_{lodo deshidratado}	g / m³	200000	(Dentel y Qi, 2014)
Rendimiento ST centrífuga	%	90,0	(Dentel y Qi, 2014)

En los escenarios 1 y 2 (**Figura 2**), se han contemplado dos posibilidades, el uso de digestores de biomasa de mezcla completa (CSTR) termófilo (55 °C) y mesófilo (35 °C), que han sido analizados por separado.

Escenario 1:

Línea de Agua

En la **Tabla 3** se presentan los caudales, concentraciones y flujos másicos obtenidos del balance de masa a las distintas corrientes de agua indicadas en la **Figura 2**. Este balance

de materia es común tanto para la opción del digestor CSTR mesófilo como termófilo. Para la composición del agua residual a tratar (corriente 1, **Tabla 3**) se han empleado los datos experimentales fruto de la caracterización de las aguas de la EDAR de El Torno (Capítulo 2), en cuanto al caudal, se ha considerado una dotación de 300 litros por habitante y día (Acampa et al., 2019) para una población de 50.000 habitantes. Se puede apreciar como la composición del agua pretratada permite clasificarla dentro de la categoría de agua residual de carga contaminante media (Metcalf et al., 2007). Esta agua presentó altas concentraciones en sulfatos como consecuencia de la influencia de las mareas sobre el sistema de alcantarillado municipal. Al tratarse de un agua residual urbana bruta, se ha considerado que la especiación mayoritaria de los nutrientes eran Nitrógeno orgánico, amonio y fosfatos, siendo despreciables las otras especies como el fósforo orgánico, los nitratos o los nitritos (Metcalf et al., 2007). Tras el paso de la corriente 1 por los UASB, se genera una corriente 2 (Columna 2, **Tabla 3**). Los rendimientos aplicados a esta corriente provienen de los resultados experimentales medios obtenidos en el capítulo 2. Concretamente se seleccionaron los rendimientos correspondientes a un UASB operando a un TRH de 24 horas para la estación fría (3 meses), y de 8 horas para el resto de estaciones (9 meses), esto es, un TRH promedio de 12 horas. En el caso de los rendimientos se escogieron aquellos más conservadores obtenidos en el capítulo 2 para los TRH de 24 y 8 horas, siendo de un 42 % para la eliminación de DQO, un 64 % en eliminación de sólidos totales, 65 % en sólidos volátiles, 65 % en amonio y 85 % en sulfatos. En el caso del Nitrógeno Kjeldhal Total (Nitrógeno amoniacal + Nitrógeno orgánico) se asumió que no hay reducción de estas especies bajo condiciones anaerobias (de Sousa et al., 2008, Vashi et al., 2010), tampoco se ha considerado un incremento en la concentración de fosfatos, comprobándose en este caso experimentalmente en el capítulo 2, lo que corrobora la suposición de que el fósforo

orgánico resulta minoritario. La reducción en la concentración de sulfatos del 85 %, explicado por las producciones de H_2S en el biogás resultante, como se comenta más adelante en el apartado de la línea de gas.

El paso de la corriente 2 por los reactores mixotróficos microalgas-bacterias tipo HRAP operados a un TRH de 7 días (de Godos et al., 2016) generó una corriente 3 (Columna 3, **Tabla 3**) conteniendo la biomasa generada, para la que se consideraron los valores medios anuales experimentales obtenidos por de Godos et al. (2016) para las concentraciones de sólidos suspendidos volátiles, nitrógeno amoniacal disuelto, nitratos, nitritos y fosfatos. Las concentraciones de DQO total y sólidos suspendidos totales se calcularon empleando las relaciones DQO / ST y SSV / ST obtenidas experimentalmente en la alimentación en el capítulo 3 así como las concentraciones de sulfatos. Se puede apreciar cómo hay un incremento en las concentraciones de sólidos con respecto a la corriente 2 de alrededor de 3 veces, lo que supondría una producción de biomasa en el reactor HRAP de 10,06 gSS / m²día, similar a la obtenida experimentalmente por de Godos et al. (2016) (8,4 gSS / m²día), así como una reducción del 66 y 43 %, respectivamente, en los flujos máxicos de nitrógeno amoniacal y fosfatos.

Una vez la biomasa de la corriente 3 procedente de los reactores tipo HRAP es separada y concentrada mediante un sistema de flotación por aire disuelto, se genera la corriente 4 (Columna 4, **Tabla 3**), el efluente de la EDAR. Para los cálculos de esta corriente se tomó como referencia el rendimiento de sistema DAF presentado en de Godos et al. (2016), así como valores experimentales obtenidos en los capítulos 3 y 4 para el cálculo de las concentraciones de DQO total y sólidos. Los rendimientos de eliminación en el resto de elementos solubles como amonio, nitrato, nitrito y sulfatos, se consideraron inalterados, excepto para el caso de los fosfatos, pues al añadir un coagulante de base metálica en el proceso tienen lugar procesos de precipitación de fosfatos, para éstos se utilizaron las

concentraciones determinadas experimentalmente en la alimentación de los digestores y presentadas en los capítulos 3 y 4.

Tabla 3:

Tabla 3: Resultados del balance de materia para la línea de agua del escenario 1

		1	2	3	4
Q	m ³ /día	15.000,0	15.000,0	15.000,0	14.840,6
[DQO]t	g O ₂ / m ³	622,0	360,8	401,0	20,3
[SST]	g / m ³	218,0	78,5	313,3	15,8
[SSV]	g / m ³	184,0	64,4	250,6	12,7
[N-NH ₄ ⁺]	g / m ³	34,2	34,2	11,5	11,5
[N-NKT]	g / m ³	46,0	46,0	11,5	11,5
[N-NO ₃]	g / m ³	0,0	0,0	13,3	13,3
[N-NO ₂]	g / m ³	0,0	0,0	1,9	1,9
[P-PO ₄ ⁻³]	g / m ³	7,0	7,0	4,0	0,35
[SO ₄ ⁻²]	g / m ³	73,0	11,0	8,1	8,1
[ND]	g / m ³	46,0	46,0	26,7	26,7
[PD]	g / m ³	7,0	7,0	4,0	0,4
mDQOt	kg O ₂ /día	9.330,0	5.411,4	6.014,4	300,7
mSST	kg / día	3.270,0	1.177,2	4.698,8	234,9
mSSV	kg / día	2.760,0	966,0	3.759,0	188,0
mN-NH ₄	kg / día	513,3	513,3	172,5	170,7
mN-NKT	kg / día	690,0	690,0	172,5	170,7
mN-NO ₃	kg / día	0,0	0,0	199,5	197,4
mN-NO ₂	kg / día	0,0	0,0	28,5	28,2
mP-PO ₄ ⁻³	kg / día	105,0	105,0	60,0	5,2
mSO ₄ ⁻²	kg / día	1.095,0	164,3	121,3	120,0
mND	kg / día	690,0	690,0	400,5	396,2
mPD	kg / día	105,0	105,0	60,0	5,2

Datos:	Calculados	Experimentales	Ref. bibliográfica
--------	------------	----------------	--------------------

Línea de Lodo

El análisis de la línea de lodos se inicia a partir de la biomasa generada en los reactores tipo HRAP tras su cosechado por el sistema de flotación por aire disuelto (DAF) (**Figura 2**, corriente 5). Los resultados del balance de materia a la línea de lodos se presentan en la **Tabla 4**. Con respecto a la corriente 5 (columna 5), se emplearon los resultados experimentales obtenidos en los capítulos 3 y 4, donde los resultados analíticos mostraron concentraciones en DQO, sólidos y amonio próximos a los presentados por autores como

Astals et al. (2013) para lodos mixtos. Esta corriente 5 es utilizada como sustrato en digestores de mezcla completa mesófilos (35 °C), tras los cuales surge una corriente 6 (Columna 6, **Tabla 4**) de lodo estabilizado tras un TRH de 21 días. Este TRH se tomó a partir de los datos experimentales del capítulo 3, así como el los rendimientos de eliminación de DQO (48 %), ST (16,9 %) y SV (21 %). La corriente 6 es deshidratada por centrifugación tras la que se generan dos corrientes. La corriente 7 (Columna 7, **Tabla 4**) fue calculada a partir de los valores típicos de rendimiento de centrifugación presentados por Dentel y Qi (2014), donde se presentan capturas de sólidos del orden de 90 - 95 % manteniéndose las relaciones DQO / SST y SSV / SS obtenidas en la corriente 6 (Lodo digerido). En el caso de la corriente 8 (Columna 8, **Tabla 4**), supone un retorno a la cabecera de la planta equivalente al 1 % del caudal de entrada suponiendo un incremento en la carga contaminante de la entrada del 3, 11 y 11 % en términos de DQO total, SST y amonio respectivamente.

Tabla 4: Resultados del balance de materia para la línea de lodos del escenario 1 (35 °C)

		5	6	7	8
Q	m³ / día	159,4	159,4	16,7	142,7
[DQO]_t	g O₂ / m³	35.840,0	18.636,8	16.0269,7	2.081,5
[ST]	g / m³	28.000,0	23.256,8	20.0000,0	2.597,5
[SV]	g / m³	22.400,0	17.689,3	152.121,4	1.975,7
[N-NH₄⁺]	g / m³	11,5	410,0	410,0	410,0
mDQOt	kg O₂ / día	5.713,7	2.971,1	2.674,0	297,1
mST	kg / día	4.463,8	3.707,6	3.336,9	370,8
mSV	kg / día	3.571,1	2.820,1	2.538,1	282,0
mN-NH₄	kg / día	1,8	65,4	6,8	58,5
Datos:		Calculados	Experimentales	Ref. bibliográfica	

En el caso de la variante con el digestor termófilo (**Tabla 5**), los resultados para la corriente 5 fueron los mismos que los presentados para el CSTR mesófilo, sin embargo la corriente 6 (Columna 6, **Tabla 5**) mostró aumentos en las concentraciones de DQO

total (21 %) y amonio soluble (31 %), con respecto a los resultados obtenidos en la configuración mesófila (Columna 6, **Tabla 4**). Estos resultados se obtuvieron empleando los rendimientos de eliminación de DQO (37 %), ST (21,8 %) y SV (30,1 %) observados en el capítulo 3 para los reactores termófilos operados a un TRH de 21 días, así como las concentraciones medias de amonio disuelto. En el caso de la corriente 7 (Columna 7, **Tabla 5**) se apreció una reducción del 6 % en el flujo másicos de lodos generados (mST) con respecto al proceso bajo las condiciones mesófilas (Columna 7, **Tabla 4**). Con respecto a la corriente 8 (Columna 8, **Tabla 5**) presentó resultados similares a la opción mesófila (Columna 8, **Tabla 4**), incrementando el flujo másico en la corriente de entrada a la EDAR (Columna 1, **Tabla 3**) en DQO total (4 %), SST (15 %) y amonio (11 %) (Columna 1, **Tabla 3**).

Tabla 5: Resultados del balance de materia para la línea de lodos del escenario 1 (55 °C)

		5	6	7	8
Q	m³/ día	159,4	159,4	15,7	143,7
[DQO]t	g O₂/ m³	35.840,0	22.579,2	20.6187,7	2.504,8
[ST]	g / m³	28.000,0	21.901,6	200.000,0	2.429,6
[SV]	g / m³	22.400,0	15.650,9	14.2920,0	1.736,2
[N-NH₄⁺]	g / m³	11,5	540,0	540,0	540,0
mDQOt	kg O₂/ día	5.713,7	3.599,6	3.239,7	360,0
mST	kg / día	4.463,8	3.491,6	3.142,4	349,2
mSV	kg / día	3.571,1	2.495,1	2.245,6	249,5
mN-NH₄	kg / día	1,8	86,1	8,5	77,6
Datos:		Calculados	Experimentales	Ref. bibliográfica	

Línea de gas

El análisis de la línea de gas se realizó considerando las dos corrientes de generación de biogás presentadas en la **Figura 2**, correspondientes a los reactores UASB (corriente 9) y los digestores de biomasa (corriente 10). En la **Tabla 6** se presentan los resultados obtenidos para el balance de materia, empleando como base de cálculo los resultados

experimentales obtenidos en el capítulo 2 y 3, para el reactor UASB y el digestor mesófilo (35 °C), respectivamente. En el caso de la corriente 9 (Columna 9, **Tabla 6**) se adoptaron los valores de composición de biogás correspondientes al periodo de funcionamiento del UASB bajo TRH de 8 h, mientras que en el rendimiento de metano se mantuvo el valor más conservador de los obtenidos para TRH de 24 h (invierno) y 8 h (resto del año), 0,12 CH₄ Nm³/ día, correspondiente al presentado en el capítulo 2, considerando la proporción de recuperación de biogás disuelto. En la corriente 10 (Columna 10, **Tabla 6**) se emplearon los valores registrados de composición de biogás del capítulo 3 para los digestores mesófilos, así como los rendimientos de metano encontrados para un TRH de 21 días. Al comparar ambas corrientes (9 y 10, **Tabla 6**) se observa como el caudal diario de metano es un 57 % superior en el caso del UASB con respecto al reactor mesófilo. Por otro lado, la corriente de biogás generada en los reactores UASB presenta una riqueza del 80 % de metano frente al 66 % del reactor mesófilo. Esta diferencia en riqueza de metano permitiría mejores rendimientos en los procesos de refinado de biogás al partir de concentraciones más elevadas, si bien también presenta concentraciones de H₂S muy superiores (150 %) a las presentadas en el biogás procedente del digestor mesófilos, generado por la acción de las bacterias sulfato-reductoras y la mayor proporción (223 %) en el flujo másico de sulfatos alimentados en los reactores UASB, como se presentó en el capítulo 2.

Tabla 6: Resultados del balance de materia para la línea de gas del escenario 1 (35 °C)

		9	10	BIOGAS
Q biogás	Nm³ / día	587,8	454,5	1.042,29
[CH₄]	%	80,0	66,0	73,90
[H₂S]	ppmv	7.100,0	2.930,0	5.281,64
[CO₂]	%	7,6	33,0	18,68
[O₂]	%	0,0	0,0	0,00
mCH₄	Nm³ / día	470,2	300,0	770,20
mH₂S	Nm³ / día	4,2	1,3	5,50
mCO₂	Nm³ / día	44,7	150,0	194,66
mO₂	Nm³ / día	0,0	0,0	0,00

Datos:	Calculados	Experimentales
---------------	-------------------	-----------------------

En la **Tabla 7** se presentan los resultados obtenidos para el balance de materia, tomándose los resultados experimentales obtenidos en el capítulo 2 y 3, para los reactores UASB y termófilo (55 °C), respectivamente. En este caso, los resultados obtenidos en la corriente 9 (Columna 9, **Tabla 7**) fueron los mismos presentados en la **Tabla 6**. Los valores de referencia usados para el cálculo de la corriente 10 (Columna 10, **Tabla 7**) se extrajeron del capítulo 3 para los digestores termófilos trabajando a TRH de 21 días. En este caso, los caudales diarios de metano fueron un 13 % superiores a los obtenidos en el caso de los reactores mesófilos (Columna 10, **Tabla 6**), siendo la composición del biogás similar.

Tabla 7: Resultados del balance de materia para la línea de gas del escenario 1 (55 °C)

		9	10	BIOGAS
Q biogás	Nm³ / día	587,8	521,9	1109,71
[CH₄]	%	80,0	65,0	72,95
[H₂S]	ppmv	7100,0	3010,0	5176,38
[CO₂]	%	7,6	35,0	20,49
[O₂]	%	0,0	0,0	0,00
mCH₄	Nm³ / día	470,2	339,2	809,48
mH₂S	Nm³ / día	4,2	1,6	5,74
mCO₂	Nm³ / día	44,7	182,7	227,34
mO₂	Nm³ / día	0,0	0,0	0,00

Datos:	Calculados	Experimentales
---------------	-------------------	-----------------------

Escenario 2:

Línea de Agua

En la **Tabla 8** se presentan los resultados de las distintas corrientes consideradas en el escenario 2 (**Figura 3**) para la Línea de Agua. Este balance de materia es común tanto para la opción del digestor CSTR mesófilo como termófilo, siendo los valores considerados y calculados para la composición del agua residual pretratada (Columna 1, **Tabla 8**) los mismos que para el escenario 1 (**Tabla 3**). En el caso de la corriente generada en los reactores tipo HRAP, operando en este caso a un TRH de 3,5 días, se emplearon los valores experimentales medios facilitados por Aqualia (2019), y la referencia de rendimiento de eliminación de NTK del 92,8 % (Pacheco et al., 2019). Al comparar las productividades calculadas en los HRAP para el escenario 2 (16,67 g / m²día) y el escenario 1 (10,06 g / m²día), se aprecia un aumento del 66 %. Este aumento se debió a que en el escenario 2 e flujo másico de SST y DQO fue un 32 % superior, debido a que en el escenario 1 éstos fueron reducidos en el reactor UASB. En el caso de las concentraciones de sulfatos, el aumento fue mucho más marcado (7,3 veces) como consecuencia de la supresión de la acción de las bacterias sulfato-reductoras del reactor UASB con respecto al escenario 1. Con respecto a la corriente 3 (Columna 3, **Tabla 8**), efluente del escenario 2, Se realizaron los cálculos partiendo de resultados experimentales medios facilitados por Aqualia (2019), y la referencia de rendimiento de eliminación de sólidos suspendidos del sistema DAF (95 %) referido en de Godos et al. (2016). El análisis del efluente del DAF (corriente 3) se hizo en referencia a los requerimientos de depuración exigidos por la Directiva 91/271/CEE. Para poder determinar si el efluente (corriente 3) de la instalación propuesta en el escenario 2 cumple con la normativa en materia de depuración de aguas residuales urbanas (Directiva 91/277/CE) es preciso calcular la concentración de nitrógeno total y fósforo total, esto es la suma del nitrógeno y fósforo en forma particulada y disuelta. El cálculo de las concentraciones de nutrientes en forma particulada se realizó a partir de los flujos másicos de sólidos (mSST) (columna

3, **Tabla 8**) y el contenido en fósforo (1,20 %) y nitrógeno (7,44 %) (Aqualia, 2019) de la biomasa. Tras el cálculo de estas concentraciones se sumaron a los flujos másicos de fósforo (mPD) y nitrógeno (mND) disuelto, respectivamente (columna 3, **Tabla 8**) y se calcularon las concentraciones correspondientes. Los resultados obtenidos para DQO (26,9 mg O₂ / l), Sólidos suspendidos totales (21,0 mg / l), Fósforo total (0,6 mg / l) y Nitrógeno total (13,51 mg / l) mostraron el cumplimiento con la mencionada normativa. Estos resultados supusieron una diferencia entre los dos escenarios estudiados, ya que en el primero no se cumplen los límites exigidos para el nitrógeno, siendo los valores registrados en nitrógeno disuelto de 26,7 mg / l ([ND], columna 4, **Tabla 3**).

Tabla 8: Resultados del balance de materia para la línea de agua del escenario 2

		1	2	3
Q	m³/día	15.000,0	15.000,0	14.706,1
[DQO]t	g O₂ / m³	622,0	528,0	26,9
[SST]	g / m³	218,0	412,5	21,0
[SSV]	g / m³	184,0	330,0	16,8
[N-NH₄⁺]	g / m³	34,2	11,0	11,0
[N-NKT]	g / m³	46,0	11,0	11,0
[N-NO₃]	g / m³	0,0	0,8	0,8
[N-NO₂]	g / m³	0,0	0,2	0,2
[P-PO₄⁻³]	g / m³	7,0	2,2	0,4
[SO₄⁻²]	g / m³	73,0	67,6	67,6
[ND]	g / m³	46,0	12,0	12,0
[PD]	g / m³	7,0	2,2	0,4
mDQOt	kg O₂/día	9.330,0	7.920,0	396,0
mSST	kg / día	3.270,0	6.187,5	309,4
mSSV	kg / día	2.760,0	4.950,0	247,5
mN-NH₄	kg / día	513,3	165,0	161,8
mN-NKT	kg / día	690,0	165,0	161,8
mN-NO₃	kg / día	0,0	12,0	11,8
mN-NO₂	kg / día	0,0	2,3	2,2
mP-PO₄⁻³	kg / día	105,0	33,2	5,1
mSO₄⁻²	kg / día	1.095,0	1.013,7	993,8
mND	kg / día	690,0	179,3	175,7
mPD	kg / día	105,0	33,2	5,1

Datos:	Calculados	Experimentales	Ref. bibliográfica
--------	------------	----------------	--------------------

Línea de Lodo

La línea de lodos se inicia a partir de la biomasa generada en los reactores tipo HRAP tras su cosechado por el sistema DAF (corriente 4, **Figura 3**). Los resultados del balance se presentan en la **Tabla 9**, donde para el cálculo se emplearon los resultados experimentales obtenidos en el capítulo 4. En comparación con la biomasa cosechada (mST, corriente 5, **Tabla 4**) en el escenario 1 se observó un aumento del flujo másico de sólidos cosechados con respecto al escenario 2 (mST, corriente 4, **Tabla 9**) en un 31 %, fruto del incremento de productividad de los HRAP, anteriormente comentado. Seguidamente, esta biomasa fue alimentada al digestor anaerobio mesófilo (TRH de 18 días), tras el que se genera la corriente 5 (Columna 5, **Tabla 9**). Para el análisis de esta corriente se emplearon los datos experimentales del Capítulo 4, en los que se vio una mejora en los rendimientos de eliminación de sólidos totales (32 %) y volátiles (43 %) con respecto al escenario 1 (16,9 y 21 %, respectivamente). Igualmente se observó un aumento en las concentraciones de amonio disuelto (32 %), propiciado por las mejoras en el sistema de agitación y alimentación en el escalado del digestor del escenario 2, con respecto a los resultados del escenario 1. Para el cálculo de la corriente 6 (Columna 6, **Tabla 9**), se emplearon las mismas referencias bibliográficas del escenario 1. Como resultado, se apreció un ligero aumento en la producción de sólidos del 8 % con respecto al escenario 1. La corriente de retorno a cabecera (7) (Columna 7, **Tabla 9**), supuso un retorno a la cabecera de la planta equivalente al 2 % del caudal de entrada causando un incremento en el flujo másico en la corriente de entrada a la EDAR (Columna 1, **Tabla 8**) en DQO total (5 %), SST (12 %) y amonio (29 %).

Tabla 9: Resultados del balance de materia para la línea de lodos del escenario 2 (35 °C)

		4	5	6	7
Q	m³ / día	293,9	293,9	18,0	275,9
[DQO]_t	g O₂ / m³	25.600,0	16.128,0	23.7176,5	1.717,9
[ST]	g / m³	20.000,0	13.600,0	200.000,0	1.448,7
[SV]	g / m³	16.000,0	9.120,0	13.4117,6	971,5
[N-NH₄⁺]	g / m³	11,5	540,0	540,0	540,0
mDQOt	kg O₂ / día	7.524,0	4.740,1	4.266,1	474,0
mST	kg / día	5.878,1	3.997,1	3.597,4	399,7
mSV	kg / día	4.702,5	2.680,4	2.412,4	268,0
mN-NH₄	kg / día	3,4	158,7	9,7	149,0
Datos:		Calculados	Experimentales	Ref. bibliográfica	

La opción termófila del escenario 2 (**Tabla 10**) mostró un descenso en las concentraciones de DQO total (12 %), ST (19 %) y SV (21 %) en la corriente 5, lodo digerido, mientras que las concentraciones de amonio disuelto se incrementaron (13 %), con respecto a los valores de la opción mesófila del mismo escenario. Estos resultados supusieron igualmente una mejora frente a los obtenidos en la opción termófila del escenario 1, descendiendo las concentraciones para la DQO total (30 %), ST (44 %) y SV (48 %), y aumentando para el amonio disuelto en un 11 %. Estas diferencias con respecto a los digestores mesófilos han sido anteriormente discutidas en los capítulos 3 y 4 como resultado del aumento de las cinéticas del reactor, fruto del incremento de temperatura. En el caso de la comparación con el termófilo del escenario 1, las mejoras pueden deberse a la optimización en el sistema de agitación y automatización de la alimentación en el escalado del digestor. Con respecto a la corriente 6, lodos deshidratados, (Columna 6, **Tabla 10**), el aumento en los rendimientos de eliminación del digestor anaerobio termófilo del escenario 2 dio como resultado una reducción del 19 % en la cantidad de lodos generados, presentando una relación de SV/ST del 65 %, similar a la opción mesófila donde esta relación fue del 67 %. El análisis de la corriente 7 de efluente de la

centrífuga (Columna 7, **Tabla 10**), supuso un retorno a la cabecera de la planta equivalente al 2 % del caudal de entrada causando un incremento en el flujo másico en la corriente de entrada a la EDAR (Columna 1, **Tabla 8**) en DQO total (4 %), SST (10 %) y amonio (33 %), registrándose en este supuesto los retornos más elevados en amonio, como resultado de la estrategia de operación termófila del reactor anaerobio, anteriormente discutida en el capítulo 4.

Tabla 10: Resultados del balance de materia para la línea de lodos del escenario 2 (55 °C)

		4	5	6	7
Q	m³/ día	293,9	293,9	14,5	279,4
[DQO]t	g O₂/ m³	25.600,0	14.080,0	25.6000,0	1.481,3
[ST]	g / m³	20.000,0	11.000,0	200.000,0	1.157,3
[SV]	g / m³	16.000,0	7.200,0	130.909,1	757,5
[N-NH₄⁺]	g / m³	11,5	610,0	610,0	610,0
mDQOt	kg O₂/ día	7.524,0	4.138,2	3.724,4	413,8
mST	kg / día	5.878,1	3.233,0	2.909,7	323,3
mSV	kg / día	4.702,5	2.116,1	1.904,5	211,6
mN-NH₄	kg / día	3,4	179,3	8,9	170,4
Datos:		Calculados	Experimentales	Ref. bibliográfica	

Tal y como se muestra en la **Figura 4**, las mayores producciones de lodos se obtuvieron en el Escenario 2 bajo la configuración de digestión mesófila, mientras que la opción termófila presentaron las menores (19 %) producciones de lodos con respecto al mesófilo del mismo escenario. Con respecto a una EDAR convencional, todos los escenarios estudiados mostrando reducciones medias en las cantidades de lodos generados del 13 %, presentándose la mayor diferencia con respecto al termófilo del escenario 2 con una reducción del 22 %. Estos resultados presentan a la opción termófila del escenario 2 como la más interesante desde el punto de vista de la producción de lodos para una EDAR de 50.000 habitantes equivalentes.

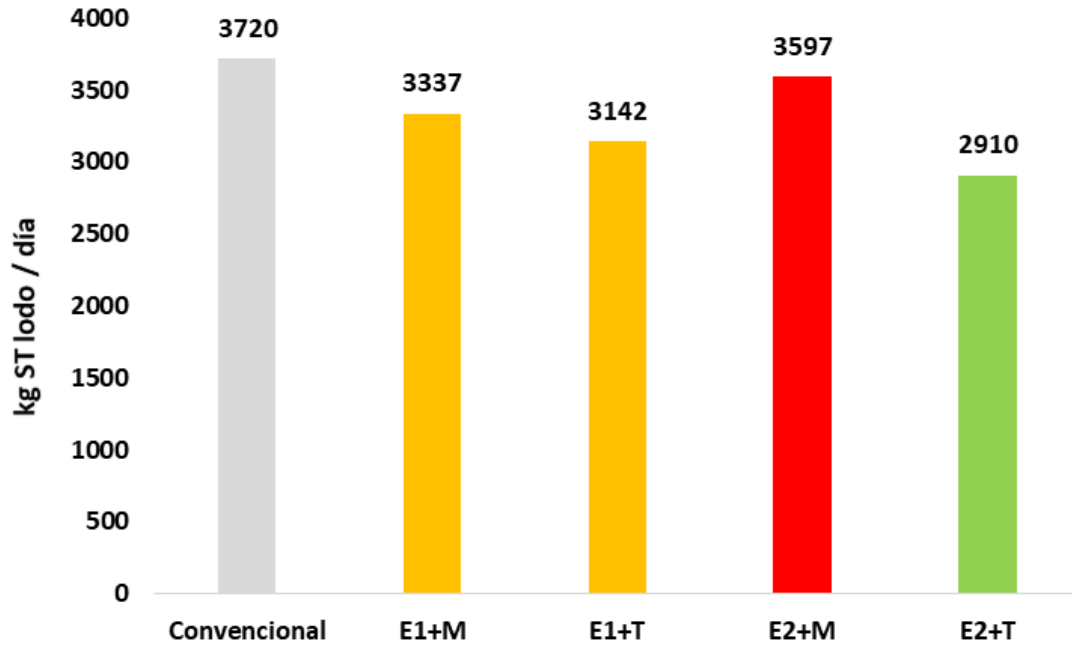


Figura 4: Producciones de lodo en cada uno de los escenarios: Convencional (calculado a partir de (National Research Council, 1996), 0,248 kg ST / m³ agua tratada)

Línea de gas

En el caso del Escenario 2 solamente existe un punto de producción de biogás, localizado en el digester anaerobio. En la **Tabla 11** se presentan los resultados para la corriente de gas (8) de la opción mesófila y termófila. Para ambos casos se han empleado los resultados experimentales obtenidos en el capítulo 4 para TRH de 18 días. Al comparar las composiciones del biogás, ambas temperaturas presentan valores similares, pero al revisar los rendimientos de metano, se puede ver como la opción termófila es un 41 % superior a la mesófila. Este resultado, comparando los rendimientos de metano de los distintos escenarios (**Figura 5**), presenta la opción termófila sin UASB como la idónea para la optimización en la producción de biogás.

Tabla 11: Resultados del balance de materia para la línea de gas del escenario 2 (35 y 55 °C)

		8 (35°C)	8 (55°C)
Q biogás	Nm³ / día	1378,3	1945,9
[CH₄]	%	58,0	58,0
[H₂S]	ppmv	6975,0	7227,0
[CO₂]	%	35,0	34,0
[O₂]	%	0,0	0,0
mCH₄	Nm³ / día	799,4	1128,6
mH₂S	Nm³ / día	9,6	14,1
mCO₂	Nm³ / día	482,4	661,6
mO₂	Nm³ / día	0,0	0,0

Datos:	Calculados	Experimentales
--------	------------	----------------

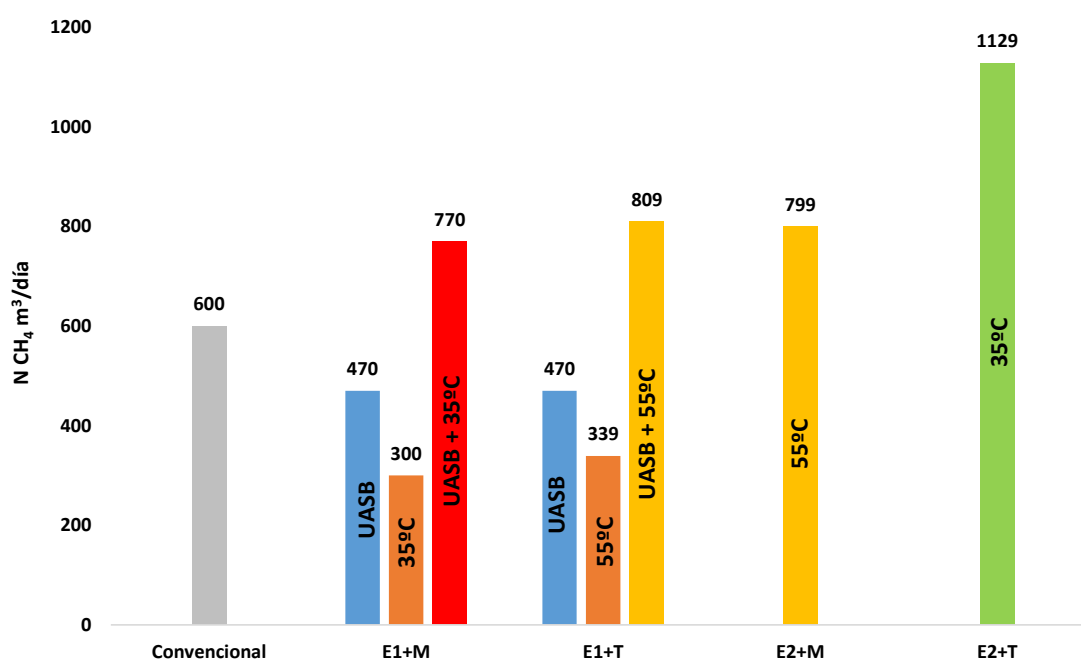


Figura 5: Producciones de metano en cada uno de los escenarios: EDAR Convencional; calculado a partir de la producción media de energía eléctrica (1,712 W / habitante equivalente (Bachmann et al., 2015), el rendimiento de la cogeneración (36 %, (BESEL, 2007)) y el poder calorífico inferior del metano (9,43 kWh / m³ (García Posada et al., 2011)).

Balance de energía

Los balances de energía se realizaron, tal y como se presentó en la **Tabla 1**, considerando los diferentes procesos que conforman la línea de tratamiento tanto para la EDAR convencional como en los distintos escenarios. Los resultados obtenidos, no suponen un indicativo del consumo energético global del proceso pues hay consumos que no han sido considerados, estos corresponderían a los servicios auxiliares, comunes a la EDAR convencional y los escenarios propuestos, que no distorsionarían el análisis comparativo. Estos consumos derivados de elementos auxiliares no considerados en el análisis, pueden representar entre un 6 – 12 % de la energía total consumida en una EDAR (Capodaglio y Olsson, 2020).

EDAR Convencional

Para la estimación de los consumos de una EDAR convencional se consideraron los elementos y consumos presentados en la **Tabla 12**. En esta tabla se puede ver como el proceso de tratamiento biológico (Aireación nitrificación - desnitrificación y Agitación y retorno de fangos desnitrificación) supone el 74 % del consumo total, viéndose en la literatura que sólo el proceso de aireación puede representar entre el 55 – 70 % del consumo total de una EDAR convencional (Gandiglio et al., 2017), siendo uno de los puntos clave a optimizar en este tipo de instalaciones desde el punto de vista energético. El balance de los consumos y producciones desde una aproximación teórica, mostraron un rendimiento neto de $0,26 \text{ kWh} / \text{m}^3$, inferior a los encontrados en la bibliografía, donde se refieren valores medios de consumo de $0,5 \text{ kWh} / \text{m}^3$ (Soares et al., 2017) pero siendo similar en potencia ($5,33 \text{ W} / \text{habitante equivalente (h-e)}$) a los valores medios estimados en EDARs tratando el agua de municipios de 50.000 habitantes ($4,5 \text{ W} / \text{h-e}$) (IDAE, 2010).

Tabla 12:

Tabla 12: Balance energético para una EDAR convencional (15.000 m³ / día)

	W / h-e	kWh / día	Referencia
Bombeo Cabecera	0,21	252	(IDAE, 2010)
Motores y bombas desbaste	0,15	180	(IDAE, 2010)
Motores y bombas desarenado	0,25	300	(IDAE, 2010)
Motores y bombas decantación primaria	0,01	12	(IDAE, 2010)
Aireación nitrificación- desnitrificación	3,45	4.140	(IDAE, 2010)
Agitación y retorno de fangos desnitrificación	0,48	576	(IDAE, 2010)
Bombeo fangos	0,08	96	(IDAE, 2010)
Espesador por gravedad	0,1	40	(IDAE, 2010)
Digestión anaerobia y cogeneración (consumo)	0,20	240	(Bachmann et al., 2015)
Digestión anaerobia y cogeneración (producción)	-1,71	-2055	(Bachmann et al., 2015)
Centrifugado	0,4	160	(BESEL, 2007)
Consumo:	5,33	5.996	kWh / m³ 0,26
Producción:	1,71	2.055	
Balance:	3,62	3.941	
Datos:	Calculados	Ref. bibliográfica	

Escenario 1

En el caso del escenario 1 se mantuvieron los elementos comunes a la EDAR convencional y se introdujeron las nuevas unidades, indicándose sus potencias y balances energéticos en la **Tabla 13**, donde se presentan los resultados para la variable mesófila (35 °C) y termófila (55 °C). Como se puede observar en esta misma tabla, las unidades de UASB (1.438 kWh / día) y HRAP (1.680 kWh / día) son las que más energía consumen (30 y 35 %, respectivamente) frente al total (4.773 kWh / día). Con respecto a una EDAR convencional, el consumo del escenario 1 supone una reducción del 46 % en el conjunto de procesos considerados, como consecuencia del efecto combinado de la sustitución del proceso de biológico de nitrificación-desnitrificación (3,45 W / h-e) por un proceso UASB-HRAP-DAF que consume en su conjunto (2,98 W / h-e) unido a un incremento del 27 % en la autoproducción de energía eléctrica. Tal y como se comentó anteriormente,

no se consideraron diferencias en el consumo energético de la digestión anaerobia y cogeneración entre la opción mesófila y la termófila, ya que las producciones de calor son suficientes para satisfacer las necesidades térmicas de ambas estrategias (Carlsson et al., 2016). Al comparar los balances energéticos entre el digestor mesófilo y termófilo, no se encontraron grandes diferencias (5 %) entre ambos, que alcanzaron valores de 0,14 kWh / m³. Esto es consecuencia de la similitud en los rendimientos de metano observados entre ambas estrategias térmicas (Capítulo 3).

Tabla 13: Balance energético para el Escenario 1 a 35 y 55 °C (15.000 m³ / día)

	W / h-e		kWh / d		Referencia
	35 °C	55 °C	35 °C	55 °C	
Bombeo Cabecera		0,21	252		(IDAE, 2010)
Motores y bombas desbaste		0,15	180		(IDAE, 2010)
Motores y bombas desarenado		0,25	300		(IDAE, 2010)
Rototamiz		0,03	41		(Aqualia, 2019)
UASB		1,20	1.438		Vazquez 2014
HRAP		1,40	1.680		(Aqualia, 2019)
DAF		0,38	450		(Aqualia, 2019)
Bombeo fangos		0,08	32		(IDAE, 2010)
Digestión anaerobia y cogeneración (consumo)		0,20	240		(Bachmann et al., 2015)
Digestión anaerobia y cogeneración (producción)	-2,18	-2,29	-2.615	-2.748	(BESEL, 2007, Bachmann et al., 2015, García Posada et al., 2011)
Centrifugado		0,4	160		(BESEL, 2007)
Consumo:	4,30	4,30	4.773	4.773	
Producción:	2,18	2,29	2.615	2.748	
Balance:	2,12	2,01	2.159	2.025	
		kWh / m³	0,14	0,14	
Datos:	Calculados	Ref. bibliográfica			

Escenario 2

En el escenario 2 se eliminó la unidad de UASB y se modificó el TRH del HRAP de 7 a 3,5 días, observándose un cambio en el balance global de consumo y producción eléctrica. Tal y como se puede observar en la **Tabla 14**, en este caso los mayores consumos eléctricos estuvieron representados por el HRAP, suponiendo el 34 % del consumo total (2.495 kWh / d). Al comparar este escenario con el de una EDAR convencional la disminución del consumo representó el 42 %, debido al cambio del tratamiento biológico (3,45 W / h-e, **Tabla 12**) por un HRAP (0,7 W / h-e, **Tabla 14**), así como al incremento de la energía eléctrica del 32 y 86 % con respecto a las variables mesófila y termófila, respectivamente. Este cambio en la configuración supuso un descenso en el consumo total del sistema del 44 %, con respecto al escenario 1, debido fundamentalmente a la eliminación de la etapa de tratamiento anaerobio mediante UASB ya que al disminuir el THR del reactor mixotrófico microalgas-bacteria de 7 a 3,5 días, se consigue un descenso del consumo de esta etapa del 50 %. Además de esto, en los rendimientos energéticos de las variantes mesófilas y termófilas, a diferencia del escenario 1, se encontraron que los rendimientos eléctricos del biogás generado en el modelo termófilo fueron un 41 % superiores. Las reducciones en los consumos globales, así como el gran incremento en las producciones eléctricas del termófilo (39 %), pero no del mesófilo (3 %), con respecto al escenario anterior, mostraron al escenario 2 como el más ventajoso para la depuración de las aguas residuales en la EDAR estudiada. Estos resultados, tal y como se ha comentado anteriormente, representan un balance energético positivo para para el caso mesófilo (-0,01 kWh / m³) y termófilo (-0,09 kWh / m³), debiéndose tener presente los consumos no analizados en este estudio como los de los servicios auxiliares. A pesar de esta consideración y tal y como se ilustra en la **Figura 6**, el escenario 2 bajo su configuración

termófila resultó ser la opción más ventajosa desde un punto de vista energético en comparación con una EDAR convencional, el resto de escenarios y variables estudiadas.

Tabla 14: Balance energético para el Escenario 2 a 35 y 55°C (15.000 m³/ día)

	W / h-e		kWh / día		Referencia
	35 °C	55 °C	35 °C	55 °C	
Bombeo Cabecera	0,21		252		(IDAE, 2010)
Motores y bombas desbaste	0,15		180		(IDAE, 2010)
Motores y bombas desarenado	0,25		300		(IDAE, 2010)
Rototamiz	0,03		41		(Aqualia, 2019)
HRAP	0,70		840		(Aqualia, 2019)
DAF	0,38		450		(Aqualia, 2019)
Bombeo fangos	0,08		32		(IDAE, 2010)
Digestión anaerobia y cogeneración (consumo)	0,20		240		(Bachmann et al., 2015)
Digestión anaerobia y cogeneración (producción)	-2,26	-3,19	-2.714	-3.831	(Bachmann et al., 2015, García Posada et al., 2011, BESEL, 2007)
Centrifugado	0,4		160		(BESEL, 2007)
Consumo:	2,40	2,40	2.495	2.495	
Producción:	2,26	3,99	2.714	3.831	
Balance:	0,14	-1,59	-219	-1.336	
		kWh/m³	-0,01	-0,09	
Datos:	Calculados	Ref. bibliográfica			

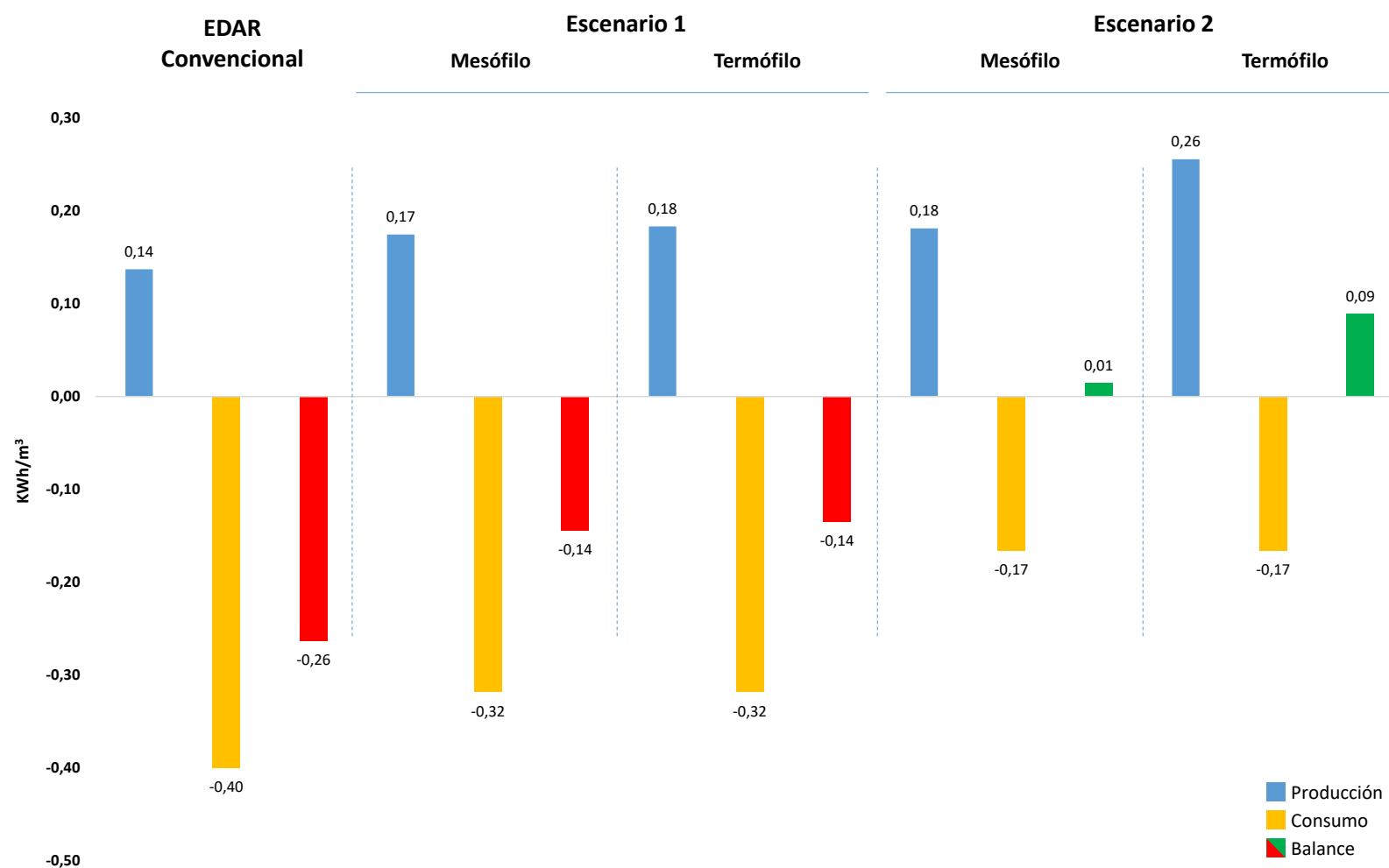


Figura 6: Balances energéticos de los distintos escenarios

Visión Global

En la siguiente tabla se recoge a modo de resumen los principales resultados obtenidos de los balances de materia y energía realizados para las diferentes alternativas.

Tabla 15: Matriz comparativa de los distintos escenarios.

	Convencional	E1				E2	
		UASB+M		UASB+T		M	T
Cumplimiento de la Directiva 91/271/CEE	+	-		-		+	+
Producción de lodos	3.720 ⁽¹⁾	3.337		3.142		3.579	2.910
Incremento de la carga contaminante influente por recirculaciones (Σ m NH₄, DQO y SST) kg / día	-	672		788		1.023	906
Contenido en CH₄ en el Biogás%	63 – 67% ⁽²⁾	80	66	80	65	58	58
Contenido en H₂S en el Biogás	6.818 – 13.636 (0,5-1%) ⁽³⁾	7.100	2.930	7.100	3.010	6.975	7.227
Balance energético (kWh / m³)	0,26	0,14		0,14		-0,01	-0,09

(1) (National Research Council, 1996)

(2) (Bachmann et al., 2015)

(3) (Montebello et al., 2012)

CONCLUSIONES

1. Todos los escenarios planteados, suponen un significativo ahorro energético frente al proceso convencional, siendo el proceso sin UASB y con digestión termófila de lodos el que mejores resultados obtiene, suponiendo un ahorro del 100% del consumo eléctrico asociado a los principales procesos involucrados en el tratamiento del agua y el lodo, obteniéndose un superávit de $0,09 \text{ kWh} / \text{m}^3$.
2. En términos de producción de lodos, cualquiera de las estrategias planteadas supone una generación de lodos comparable al de una instalación convencional, si bien el proceso sin UASB y digestión termófila es el que presenta una menor producción.
3. Solamente cuando no se emplea UASB se consigue generar un efluente con una calidad dentro de los límites impuestos por la normativa vigente en términos de materia orgánica, sólidos en suspensión y nutrientes.
4. Cuando no se emplea UASB la carga contaminante que retorna a cabecera de planta, procedente del escurrido de la deshidratación del lodo, es alrededor de un 30 % superior a cuando se emplean en el tratamiento del agua como paso previo al reactor tipo HRAP mixotrófico.
5. Las mayores producciones de lodos se obtuvieron en el Escenario 2 bajo la configuración de digestión mesófila, mientras que la opción termófila del mismo escenario presentó las menores.

BIBLIOGRAFÍA

- ACAMPA, G., GIUSTRA, M. G. & PARISI, C. M. 2019. Water treatment emergency: cost evaluation tools. *Sustainability*, 11, 2609.
- AHMED, M., HASAN, C. K., RAHMAN, H., ALI HOSSAIN, M. & UDDIN, S. A. 2015. Prospects of using wastewater as a resource-nutrient recovery and energy generation. *American Journal of Environmental Sciences*, 11, 99-114.
- AQUALIA 2019. Comunicación personal.
- ASTALS, S., ESTEBAN-GUTIÉRREZ, M., FERNÁNDEZ-ARÉVALO, T., AYMERICH, E., GARCÍA-HERAS, J. L. & MATA-ALVAREZ, J. 2013. Anaerobic digestion of seven different sewage sludges: A biodegradability and modelling study. *Water Research*, 47, 6033-6043.
- BACHMANN, N., LA COUR JANSEN, J., BOCHMANN, G. & MONTPART, N. 2015. *Sustainable biogas production in municipal wastewater treatment plants*, IEA Bioenergy Massongex, Switzerland.
- BESEL, S. 2007. Departamento de Energía,(2007).“*. Biomasa: Digestores anaerobios*”, IDAE (Instituto para la Diversificación y Ahorro de la Energía).
- CAMPELLO, L. D., BARROS, R. M., TIAGO FILHO, G. L. & DOS SANTOS, I. F. S. 2020. Analysis of the economic viability of the use of biogas produced in wastewater treatment plants to generate electrical energy. *Environment, Development and Sustainability*.
- CAPODAGLIO, A. G. & OLSSON, G. 2020. Energy issues in sustainable urban wastewater management: Use, demand reduction and recovery in the urban water cycle. *Sustainability*, 12, 266.
- CARLSSON, M., LAGERKVIST, A. & MORGAN-SAGASTUME, F. 2016. Energy balance performance of municipal wastewater treatment systems considering sludge anaerobic biodegradability and biogas utilisation routes. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 4, 4680-4689.
- CHERNICHARO, C. A. L., VAN LIER, J. B., NOYOLA, A. & BRESSANI RIBEIRO, T. 2015. Anaerobic sewage treatment: state of the art, constraints and challenges. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 14, 649-679.
- DE GODOS, I., ARBIB, Z., LARA, E. & ROGALLA, F. 2016. Evaluation of High Rate Algae Ponds for treatment of anaerobically digested wastewater: Effect of CO₂ addition and modification of dilution rate. *Bioresource Technology*, 220, 253-261.
- DE SOUSA, J. T., SANTOS, K. D., HENRIQUE, I. N., BRASIL, D. P. & SANTOS, E. C. 2008. ANAEROBIC DIGESTION AND THE DENITRIFICATION IN UASB REACTOR. *Journal of Urban and Environmental Engineering*, 2, 63-67.
- DENTEL, S. K. & QI, Y. 2014. 3.12 - Management of Sludges, Biosolids, and Residuals. In: AHUJA, S. (ed.) *Comprehensive Water Quality and Purification*. Waltham: Elsevier.
- GANDIGLIO, M., LANZINI, A., SOTO, A., LEONE, P. & SANTARELLI, M. 2017. Enhancing the energy efficiency of wastewater treatment plants through co-digestion and fuel cell systems. *Frontiers in Environmental Science*, 5, 70.
- GARCÍA POSADA, J. M., AMELL ARRIETA, A. & BURBANO MARTÍNEZ, H. J. 2011. Análisis comparativo de las propiedades de combustión de las mezclas metano-hidrógeno con respecto al metano. *Revista Científica Ingeniería y Desarrollo*, 20, 19-34.
- GU, Y., LI, Y., LI, X., LUO, P., WANG, H., WANG, X., WU, J. & LI, F. 2017. Energy self-sufficient wastewater treatment plants: feasibilities and challenges. *Energy Procedia*, 105, 3741-3751.
- IDAE 2010. *Estudio de Prospectiva “Consumo Energético en el Sector del Agua”*.
- LONGO, S., D'ANTONI, B. M., BONGARDS, M., CHAPARRO, A., CRONRATH, A., FATONE, F., LEMA, J. M., MAURICIO-IGLESIAS, M., SOARES, A. & HOSPIDO, A. 2016. Monitoring and diagnosis of energy consumption in wastewater treatment plants. A state of the art and proposals for improvement. *Applied Energy*, 179, 1251-1268.
- MAGA, D. 2017. Life cycle assessment of biomethane produced from microalgae grown in municipal waste water. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 7, 1-10.
- MAINARDIS, M., BUTTAZZONI, M. & GOI, D. 2020. Up-flow anaerobic sludge blanket (Uasb) technology for energy recovery: A review on state-of-the-art and recent technological advances. *Bioengineering*, 7.
- METCALF, AMP, EDDY, I. A. A. C., TAKASHI, A., FRANKLIN, B. & HAROLD, L. 2007. *Water Reuse: Issues, Technologies, and Applications*, New York, McGraw-Hill Education.
- METCALF, L., EDDY, H. P. & TCHOBANOGLIOUS, G. 1979. *Wastewater engineering: treatment, disposal, and reuse*, McGraw-Hill New York.
- MILLEDGE, J. & HEAVEN, S. 2017. Energy Balance of Biogas Production from Microalgae: Effect of Harvesting Method, Multiple Raceways, Scale of Plant and Combined Heat and Power Generation. *Journal of Marine Science and Engineering*, 5, 9.

- MILLEDGE, J., NIELSEN, B., MANEEN, S. & HARVEY, P. 2019. A Brief Review of Anaerobic Digestion of Algae for Bioenergy. *Energies*, 12, 1166.
- MONTEBELLO, A. M., FERNÁNDEZ, M., ALMENGLO, F., RAMÍREZ, M., CANTERO, D., BAEZA, M. & GABRIEL, D. 2012. Simultaneous methylmercaptan and hydrogen sulfide removal in the desulfurization of biogas in aerobic and anoxic biotrickling filters. *Chemical Engineering Journal*, 200-202, 237-246.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL, N. 1996. *Use of reclaimed water and sludge in food crop production*, National Academies Press.
- PACHECO, M. M., HOELTZ, M., BJERK, T. R., DE SOUZA, M. P., DA SILVA, L. F., GRESSLER, P. D., MORAES, M. S., LOBO, E. A. & SCHNEIDER, R. C. 2019. Evaluation of microalgae growth in a mixed-type photobioreactor system for the phycoremediation of wastewater. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 94, 3102-3110.
- PASSOS, F., GUTIÉRREZ, R., UGGETTI, E., GARFÍ, M., GARCÍA, J. & FERRER, I. 2017. Towards energy neutral microalgae-based wastewater treatment plants. *Algal Research*, 28, 235-243.
- SHAMMAS, N. K. & BENNETT, G. F. 2010. 1 - Principles of Air Flotation Technology. In: WANG, L., SHAMMAS, N., SELKE, W. & AULENBACH, D. (eds.) *Principles of Air Flotation Technology*. Humana Press, Totowa, NJ.
- SOARES, R. B., MEMELLI, M. S., ROQUE, R. P. & GONÇALVES, R. F. 2017. Comparative analysis of the energy consumption of different wastewater treatment plants. *International Journal of Architecture, Arts and Applications*, 3, 79-86.
- STILLWELL, A., HOPPOCK, D. & WEBBER, M. 2010. Energy Recovery from Wastewater Treatment Plants in the United States: A Case Study of the Energy-Water Nexus. *Sustainability*, 2.
- TREDICI, M. R. 2004. Mass production of microalgae: photobioreactors. *Handbook of microalgal culture: Biotechnology and applied phycology*, 1, 178-214.
- VASHI, A., LUBBE, J. & HEFFERNAN, B. 2010. Anaerobic Sewage Treatment using UASB Reactors: Engineering and Operational Aspects.
- VASSALLE, L., GARCÍA-GALÁN, M. J., AQUINO, S. F., AFONSO, R. J. D. C. F., FERRER, I., PASSOS, F. & R MOTA, C. 2020. Can high rate algal ponds be used as post-treatment of UASB reactors to remove micropollutants? *Chemosphere*, 248.
- YANG, Y., WANG, L., XIANG, F., ZHAO, L. & QIAO, Z. 2020. Activated Sludge Microbial Community and Treatment Performance of Wastewater Treatment Plants in Industrial and Municipal Zones. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17, 436.

CONCLUSIONES GLOBALES

La hipótesis principalmente defendida en esta tesis es que la optimización de los procesos de digestión anaerobia en una EDAR, tanto para las aguas como para los lodos y específicamente microalgas, en nuestro caso, podría generar suficiente energía en forma de biogás como para satisfacer una parte importante de la demanda energética de la EDAR. Para comprobar esta hipótesis, se han desarrollado a lo largo de los distintos Capítulos una serie de experimentos que responden a los objetivos planteados inicialmente, obteniéndose las siguientes conclusiones globales:

1. El tratamiento anaerobio de agua residual municipal bajo condiciones invernales de 17 y 19 °C es posible operando a TRH por encima de 14 h para evitar la acumulación excesiva de DQO particulada no digerida en el interior del reactor, siendo el seguimiento del porcentaje de hidrólisis y el balance de DQO herramientas de control importantes para conseguir una correcta operación de los reactores UASB.
2. La operación de reactores anaerobios UASB a escala piloto, en latitudes con climas templados (16 – 27 °C) está limitada por la influencia de la estación fría sobre los rendimientos de los reactores, siendo necesario operar a TRH 3 veces más altos (24 h) a los del periodo estival para conseguir rendimientos de metano similares, siendo éstos de $0,09 \text{ m}^3 \text{ CH}_4 / \text{kg DQO}_{\text{eliminada}}$, mejorables optimizando el diseño del reactor (altura / diámetro) e incluyendo una etapa de recuperación de metano disuelto en el efluente.

3. La utilización de un sistema de recuperación de metano sometido a presión de - 40 mbar en el espacio en cabeza, permite una recuperación del 29 % del metano disuelto en el efluente, suponiendo incrementos en los rendimientos de metano del 33 % en el caso del UASB trabajando a TRH = 8 h y del 25 % en el de TRH = 18 h, lo que supone rendimientos de metano de 0,12 y 0,15 m³ CH₄ / kg DQO_{eliminada}, respectivamente.
4. La aplicación de un sistema de alimentación pulsada en comparación con la alimentación continua, mejoró para dos TRH (36 y 24 h) distintos los rendimientos de eliminación de sólidos (50 – 100 %), DQO (84 y 44 %) y sulfatos (150%) bajo condiciones invernales (16 -20 °C). Sin embargo, los rendimientos de metano no aumentaron significativamente con respecto al periodo de operación continua, debido al incremento de la actividad de las bacterias sulfato-reductoras por la mejor agitación del manto de lodo.
5. Los mejores rendimientos de metano, de la digestión anaerobia de microalgas cultivadas en el efluente de los reactores UASB, se alcanzaron en los digestores termofílicos trabajando a TRH = 14 días (152 ± 7 ml CH₄ / gSV_{alimentado}día), suponiendo una mejora del 11% sobre el resultado alcanzado por los digestores mesofílicos (136 ± 13 ml CH₄ / gSV_{alimentado}día).
6. Los mejores rendimientos de metano, de la digestión anaerobia de microalgas cultivadas en el agua residual pretratada, se alcanzaron en el digestor termofílico trabajando a 18 días de TRH (0,31 m³ CH₄ / kg SV_{alimentado}día) siendo un 25 % y un 41 % superior que los digestores mesofílico y de temperatura ambiente, respectivamente.

7. La depuración sostenible de las aguas residuales es posible bajo un escenario basado en el tratamiento aerobio mediante microalgas y la digestión anaerobia termófila a 21 h de TRH, de la biomasa mixotrófica cosechada mediante flotación, obteniéndose un balance de energía positivo de $0,09 \text{ kWh} / \text{m}^3_{\text{agua residual tratada}}$ y un efluente que cumple con la Directiva 91/271/CEE, al mismo tiempo que se reducen en un 22 % los lodos generados, en comparación con una EDAR convencional.

BIBLIOGRAFÍA CITADA EN LA INTRODUCCIÓN

- AHMED, M., HASAN, C. K., RAHMAN, H., ALI HOSSAIN, M. & UDDIN, S. A. 2015. Prospects of using wastewater as a resource-nutrient recovery and energy generation. *American Journal of Environmental Sciences*, 11, 99-114.
- CAVINATO, C., UGURLU, A., DE GODOS, I., KENDIR, E. & GONZALEZ-FERNANDEZ, C. 2017. Biogas production from microalgae. *Microalgae-Based Biofuels and Bioproducts*. Elsevier.
- CEA-BARCIA, G., MORENO, G. & BUITRÓN, G. 2015. Anaerobic digestion of mixed microalgae cultivated in secondary effluent under mesophilic and thermophilic conditions. *Water Science and Technology*, 72, 1398-1403.
- CHERNICHARO, C. A. L., VAN LIER, J. B., NOYOLA, A. & BRESSANI RIBEIRO, T. 2015. Anaerobic sewage treatment: state of the art, constraints and challenges. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 14, 649-679.
- DE GODOS, I., ARBIB, Z., LARA, E. & ROGALLA, F. 2016. Evaluation of High Rate Algae Ponds for treatment of anaerobically digested wastewater: Effect of CO₂ addition and modification of dilution rate. *Bioresource technology*, 220, 253-261.
- GUTIÉRREZ-ALFARO, S., RUEDA-MÁRQUEZ, J. J., PERALES, J. A. & MANZANO, M. A. 2018. Combining sun-based technologies (microalgae and solar disinfection) for urban wastewater regeneration. *Science of the Total Environment*, 619-620, 1049-1057.
- HEIDRICH, E. S., CURTIS, T. P. & DOLFING, J. 2011. Determination of the internal chemical energy of wastewater. *Environ Sci Technol*, 45, 827-32.
- JANKOWSKA, E., SAHU, A. K. & OLESKOWICZ-POPIEL, P. 2017. Biogas from microalgae: Review on microalgae's cultivation, harvesting and pretreatment for anaerobic digestion. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 75, 692-709.
- LETTINGA, G., VAN LIER, J., VAN BUUREN, J. & ZEEMAN, G. 2001. Sustainable development in pollution control and the role of anaerobic treatment. *Water science and technology*, 44, 181-188.
- PASSOS, F., GUTIÉRREZ, R., UGGETTI, E., GARFÍ, M., GARCÍA, J. & FERRER, I. 2017. Towards energy neutral microalgae-based wastewater treatment plants. *Algal Research*, 28, 235-243.
- SALAZAR-LARROTA, L., URIBE-GARCÍA, L., GÓMEZ-TORRES, L. & ZAFRA-MEJÍA, C. 2019. Analysis of the efficiency of UASB reactors in a municipal wastewater treatment plant. *DYNA (Colombia)*, 86, 319-326.
- SANTIAGO, A. F., CALIJURI, M. L., ASSEMAN, P. P., CALIJURI, M. D. C. & REIS, A. J. D. D. 2013. Algal biomass production and wastewater treatment in high rate algal ponds receiving disinfected effluent. *Environmental Technology (United Kingdom)*, 34, 1877-1885.
- SANTOS-BALLARDO, D. U., ROSSI, S., REYES-MORENO, C. & VALDEZ-ORTIZ, A. 2016. Microalgae potential as a biogas source: current status, restraints and future trends. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 15, 243-264.
- SORENSEN, J. P., LAPWORTH, D. J., NKHUWA, D. C., STUART, M. E., GOODDY, D. C., BELL, R. A., CHIRWA, M., KABIKA, J., LIEMISA, M., CHIBESA, M. & PEDLEY, S. 2014. Emerging contaminants in urban groundwater sources in Africa. *Water Res.*
- STILLWELL, A., HOPPOCK, D. & WEBBER, M. 2010. Energy Recovery from Wastewater Treatment Plants in the United States: A Case Study of the Energy-Water Nexus. *Sustainability*, 2.
- TASNEEM, A., S.M., T. & ABBASI, S. A. 2012. A Brief History of Anaerobic Digestion and "Biogas". *Biogas Energy*, 2, 11-23.
- THORIN, E., OLSSON, J., SCHWEDE, S. & NEHRENHEIM, E. 2018. Co-digestion of sewage sludge and microalgae – Biogas production investigations. *Applied Energy*, 227, 64-72.
- VASSALLE, L., GARCÍA-GALÁN, M. J., AQUINO, S. F., AFONSO, R. J. D. C. F., FERRER, I., PASSOS, F. & R MOTA, C. 2020. Can high rate algal ponds be used as post-treatment of UASB reactors to remove micropollutants? *Chemosphere*, 248.
- VILLAR-NAVARRO, E., BAENA-NOGUERAS, R. M., PANIW, M., PERALES, J. A. & LARA-MARTÍN, P. A. 2018. Removal of pharmaceuticals in urban wastewater: High rate algae pond (HRAP) based technologies as an alternative to activated sludge based processes. *Water Research*, 139, 19-29.
- WARD, A. J., LEWIS, D. M. & GREEN, F. B. 2014. Anaerobic digestion of algae biomass: A review. *Algal Research*, 5, 204-214.

- WEBER, S., KHAN, S. & HOLLENDER, J. 2005. Human risk assessment of organic contaminants in reclaimed wastewater used for irrigation. *In: Khan SJ, Muston MH, Schafer AI (eds) Integrated concepts in water recycling. University of Wollongong, Wollongong*, 724-735.
- WOLLMANN, F., DIETZE, S., ACKERMANN, J. U., BLEY, T., WALTHER, T., STEINGROEWER, J. & KRUIJATZ, F. 2019. Microalgae wastewater treatment: Biological and technological approaches. *Engineering in Life Sciences*, 19, 860-871.

