



UNIVERSIDAD DE CONCEPCION
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



**INFLUENCIA DE UN PRE-TRATAMIENTO SECUENCIAL
SOBRE LA PRODUCCION DE METANO Y ACTIVIDAD
MICROBIOLÓGICA DURANTE LA DIGESTION
ANAEROBICA DE LODOS SANITARIOS**

Presentada a la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad de Concepción, para
optar al título de Bioingeniero.

FELIPE ANDRES BARRIGA AZOCAR

Tutora: Dra. Gladys Vidal

Co-tutor: Dr. (c) Patricio Neumann

Concepción, 2017

INDICE GENERAL

RESUMEN	1
ABSTRACT.....	2
RESUMEN GRAFICO.....	3
1 INTRODUCCION	4
1.1 Gestión de aguas servidas en Chile.....	4
1.1.1 Tratamiento de aguas servidas y origen de lodos sanitarios.....	5
1.1.2 Caracterización de lodos sanitarios.....	7
1.2 Digestión anaeróbica.....	9
1.2.1 Etapas de la DA	10
1.2.2 Parámetros operacionales	13
1.2.3 Hidrólisis: Una etapa limitante en DA de lodos sanitarios.....	17
1.3 Pre-tratamiento de lodos	18
1.3.1 Ultrasonido.....	20
1.3.2 Pre-tratamiento térmico	25
1.3.3 Pre-tratamientos combinados.....	27
2 HIPOTESIS Y OBJETIVOS	29
2.1 Hipótesis	29
2.2 Objetivos.....	29
3 MATERIALES Y METODOS.....	30
3.1 Lodo sanitario	30
3.2 Procedimiento experimental	31
3.2.1 Pre-tratamiento de lodo sanitario.....	31
3.2.2 Montaje de reactores anaeróbicos.....	33
3.2.3 Inóculo	35
3.2.4 Puesta en marcha de los reactores.....	35
3.2.5 Operación de los reactores	35

3.2.6	Monitoreo de los parámetros operacionales y desempeño de los reactores ...	36
3.2.7	Balance de materia orgánica	37
3.2.8	Deshidratabilidad de lodos digeridos.....	37
3.2.9	Estado de la materia orgánica dentro de los reactores	38
3.3	Determinación de actividades microbiológicas	39
3.3.1	Actividad hidrolítica	39
3.3.2	Actividad acidogénica.....	40
3.3.3	Actividad metanogénica	40
3.4	Métodos analíticos	41
3.5	Análisis estadístico	43
4	RESULTADOS	44
4.1	Caracterización de las muestras de lodo	44
4.2	Operación reactores anaeróbicos	50
4.2.1	Parámetros operacionales	50
4.3	Eficiencias de transformación de materia orgánica	55
4.3.1	Eficiencia de eliminación de DQOt y SV	55
4.3.2	Producción de metano.....	56
4.3.3	Caracterización físico-química del efluente	58
4.3.4	Balance de materia orgánica	61
4.3.5	Deshidratabilidad de lodos posterior a DA.....	63
4.4	Estado de la materia orgánica dentro de los reactores	64
4.5	Actividades microbiológicas.....	66
5	DISCUSION	69
5.1	Caracterización del influente	69
5.2	Operación reactores anaeróbicos	71
5.3	Eficiencias de transformación de materia orgánica	73
5.3.1	Eficiencia de eliminación de DQOt y SV	73

5.3.2 Producción de metano.....	79
5.3.3 Caracterización del efluente.....	84
5.3.4 Balance de materia orgánica	85
5.3.5 Deshidratabilidad de lodos posterior a DA.....	86
5.4 Estado de la materia orgánica dentro de los reactores	87
5.5 Actividades microbiológicas.....	89
5.6 Proyecciones	92
6 CONCLUSIONES	93
7 AGRADECIMIENTOS	94
8 REFERENCIAS.....	95

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama de flujo del proceso.....	3
Figura 2. Configuración típica de una planta de tratamiento de aguas servidas, con sistema de lodos activados.....	5
Figura 3. Reacciones involucradas en proceso de digestión anaeróbica.	11
Figura 4. Extracción de lodo sanitario mixto desde la cámara de mezcla de la PTAS, ESSBIO S.A., Concepción.	30
Figura 5. Configuración sistema de pre-tratamiento de ultrasonido.....	31
Figura 6. Configuración sistema de pre-tratamiento térmico.	32
Figura 7. Configuración del sistema de digestión anaeróbica.	34
Figura 8. Etapas de operación y velocidad de carga orgánica.	47
Figura 9. Caracterización físico-química de lodo sin y con pre-tratamiento.....	49
Figura 10. Monitoreo de pH en reactores anaeróbicos.	50
Figura 11. Potencial de óxido-reducción en reactores anaeróbicos.....	51
Figura 12. Concentración de nitrógeno del amonio en reactores anaeróbicos..	52
Figura 13. Relación entre alcalinidad intermedia y parcial..	53
Figura 14. Concentración de ácidos grasos volátiles en efluente de ambos reactores.....	54
Figura 15. Eficiencia eliminación de materia orgánica en ambos reactores.....	56
Figura 16. Producción diaria de metano en ambos reactores.	58
Figura 17. Balance de materia orgánica.....	62
Figura 18. Concentración de almidón en función del tiempo durante los ensayos de actividad hidrolítica específica.	66
Figura 19. Concentración de glucosa en función del tiempo durante los ensayos de actividad acidogénica específica.....	67
Figura 20. Volumen de metano acumulado durante los ensayos de actividad metanogénica específica.	68
Figura 21. Eficiencia de eliminación de sólidos volátiles en diferentes etapas de operación.....	78
Figura 22. Rendimiento de metano.....	84

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Estrategia operacional de ambos reactores anaeróbicos	36
Tabla 2. Caracterización físico-química del lodo sin y con pre-tratamiento antes de digestión anaeróbica.	46
Tabla 3. Caracterización físico-química del efluente de ambos reactores.....	60
Tabla 4. Porcentajes de líquido y sólido separados por centrifugación de efluentes.....	64
Tabla 5. Resumen del estado de la materia orgánica en ambos reactores.	65
Tabla 6. Incrementos en eliminación de DQOt en digestión anaeróbica de lodos sanitarios pre-tratados con diferentes métodos.....	74
Tabla 7. Incrementos en eliminación de SV en digestión anaeróbica de lodos sanitarios pre-tratados con diferentes métodos.	76
Tabla 8. Incrementos en producción de metano en digestión anaeróbica de lodos sanitarios pre-tratados con diferentes métodos.....	81
Tabla 9. Actividades microbiológicas de biomasa proveniente de diferentes tratamientos anaeróbicos.	91

ABREVIATURAS

A	Acidogénesis
AGVs	Acidos grasos volátiles
AM	Actividad microbiológica
AI	Alcalinidad intermedia
AP	Alcalinidad parcial
CF	Coliformes fecales
CST	Capillary suction time: Tiempo de succión capilar
CSTR	Continuous stirred-tank reactor: Reactor de mezcla continua
DA	Digestión anaeróbica
DBO ₅	Demanda bioquímica de oxígeno
DQOs	Demanda química de oxígeno soluble
DQOt	Demanda química de oxígeno total
DS	Decreto supremo
E	Efluente
EE	Energía específica
EPS	Extracellular polymeric substances: Sustancia polimérica extracelular.
H	Hidrólisis
I	Influente
LC	Lodo crudo
LINC	Lodo incubado
LUS	Lodo ultrasonicado
M	Metanogénesis
POR	Potencial de óxido-reducción
PTAS	Planta de tratamiento de aguas servidas
RC	Reactor control
RPT	Reactor con pre-tratamiento
SRF	Specific resistance to filtration: Resistencia específica a filtración
SST	Sólidos suspendidos totales
ST	Sólidos totales

SV	Sólidos volátiles
TRH	Tiempo de retención hidráulico
TRS	Tiempo de retención de sólidos
UASB	Upflow anaerobic sludge blanked reactor: Reactor anaeróbico de flujo ascendente
US	Ultrasonido
VCO	Velocidad de carga orgánica

RESUMEN

El crecimiento de la cobertura de plantas de tratamientos de aguas servidas junto a la tecnología de lodos activados genera una alta producción de lodos que constituyen un peligro sanitario. La digestión anaerobia permite transformar materia orgánica en metano como fuente de energía renovable. Sin embargo, la etapa de hidrólisis constituye una limitante del proceso. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del pre-tratamiento secuencial de lodo sanitario mediante ultrasonido (2000 kJ/kg ST) e incubación (55°C durante 8 h) sobre la producción de metano y actividad microbiológica en un sistema de digestión anaeróbica. La digestión anaerobia fue realizada en dos reactores semi-continuos de 6 L de reacción a 37°C, uno alimentado con lodo pre-tratado (RPT) y otro con lodo sin pre-tratar (RC). Los principales resultados obtenidos mostraron que el pre-tratamiento incrementó 3 y 2 veces la demanda química de oxígeno soluble y concentración de amonio, respectivamente indicativo de una hidrólisis parcial de compuestos orgánicos. El pre-tratamiento causó un incremento de 3-12% y 21-31% respecto de la remoción de sólidos volátiles y producción diaria de metano, respectivamente, sin alterar la estabilidad del sistema. La actividad microbiológica hidrolítica y acidogénica fueron 2,5-27% y 10-30% mayor entre las etapas con tiempo de retención de sólidos 30-15 d, respectivamente en RPT. La actividad metanogénica en el mismo reactor fue 18% mayor durante la etapa operada con TRS de 15 d. En consecuencia, el pre-tratamiento mejoró el desempeño de la digestión anaerobia al promover la solubilización de la materia orgánica, generando incrementos en reducción de sólidos, producción de metano y actividad microbiológica específica sin comprometer la estabilidad del sistema.

ABSTRACT

Increase of wastewater treatment plants coverage along with activated sludge technology generates high sludge production, which constitutes a sanitary danger. Anaerobic digestion allows to transform organic matter into biogas as a renewable energy source. However, hydrolysis constitutes a limitation of the process. The objective of this work was evaluate the effect of sequential pre-treatment of sanitary sludge through ultrasound (2000 kj/kg ST) and incubation (55°C during 8 h) over the methane production and microbiological activity of anaerobic digestion system. Anaerobic digestion was carried out in two six-liters semi-continuous reactors at 37°C, one of them being fed with pre-treated sludge (PTR) and the other with untreated sludge (CR). Principal results obtained showed that pre-treatment increased soluble chemical oxygen demand 3 fold and ammonium concentration 2 fold, thus indicating the occurrence of partial hydrolysis of organic compounds. Pre-treatment caused an increase of 3-12% and 21-31% of volatile solid remotion and daily methane production respectively, without perturbation of the system's stability. Specific hydrolytic and acidogenic activity were 3-27% and 10-30% higher between the stages with solid retention time (SRT) 30-15 days, respectively on PTR. Methanogenic activity in said reactor was 18% higher during the stage operated with 15 days of SRT. Consequently, pre-treatment improved anaerobic digestion's performance by promoting organic matter solubilization, generating an increase of solid reduction, methane production and microbiological activity without compromising the system's stability.

RESUMEN GRAFICO

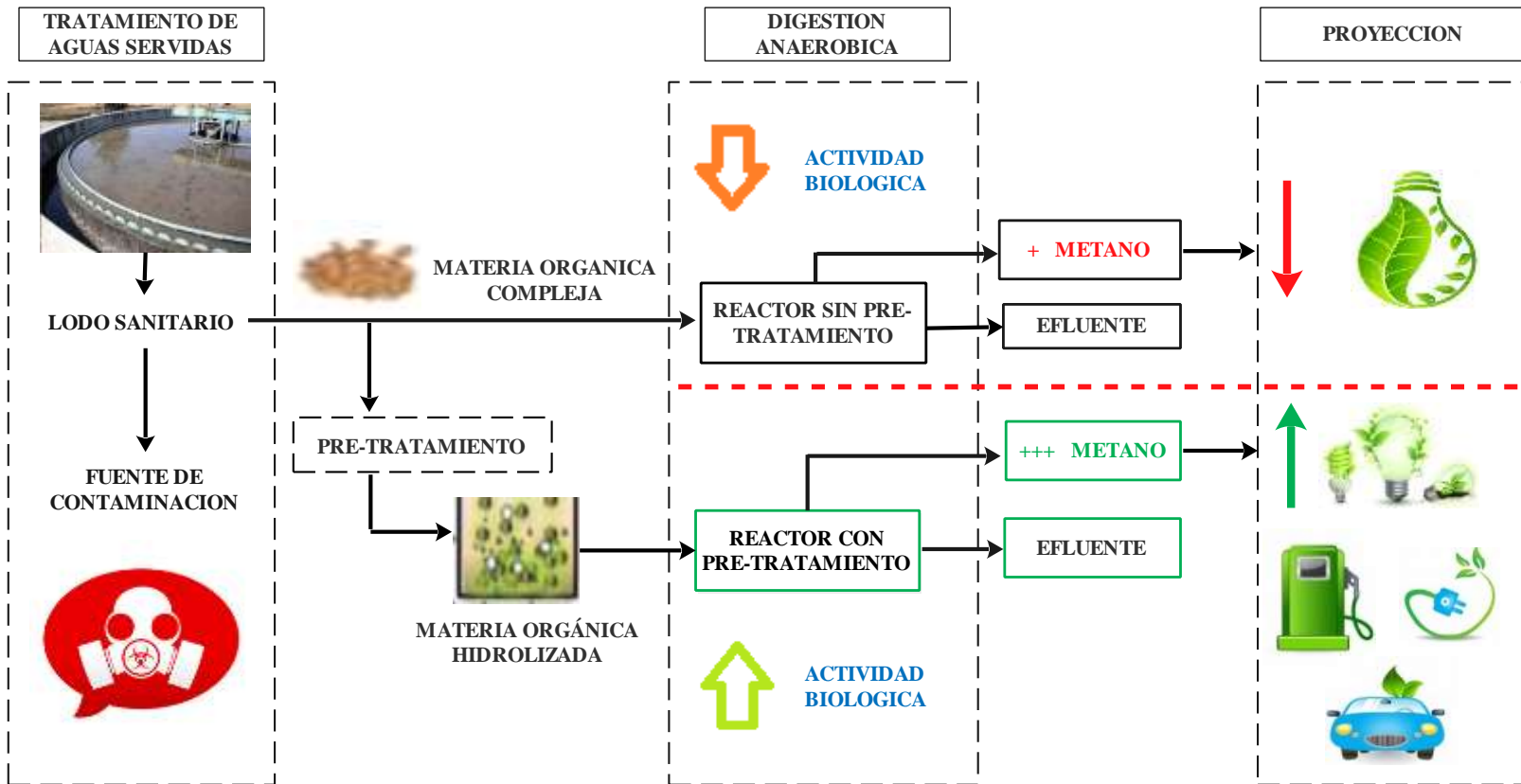


Figura 1. Diagrama de flujo del proceso.

1 INTRODUCCION

1.1 Gestión de aguas servidas en Chile

La creciente cobertura del servicio sanitario destinado al tratamiento de aguas residuales urbanas, está dado por la necesidad de descontaminar los grandes volúmenes de residuos líquidos que generan las distintas actividades humanas. Posterior al tratamiento, se procede a la descarga del efluente tratado a algún cuerpo de agua natural, logrando minimizar impactos negativos tanto al medio ambiente como a la salud humana.

Al iniciar la década del 90 (SISS, 2014) en Chile se comienza la construcción de plantas de tratamiento de aguas servidas (PTAS). La publicación y aplicación del Decreto Supremo (DS) N° 90 de la República de Chile, que regula la Emisión de Residuos Líquidos a Aguas Marinas y Continentales Superficiales, implica que hoy la mayoría de la población chilena que habita en sectores urbanos, descargan sus aguas residuales a sistemas que cuentan con algún tipo de tratamiento (Alarcón, 2009), contribuyendo a la descontaminación paulatina de los cursos de aguas naturales.

El principal objetivo propuesto por el DS 90 es la protección de aguas marinas y continentales superficiales de la República de Chile, mediante el control de contaminantes asociados a los residuos líquidos que se descargan a tales cuerpos receptores (MINSEGPRES, 2001). De esta manera, se logra mejorar sustancialmente la calidad ambiental de los cuerpos de aguas naturales, de manera que mantengan o alcancen condiciones libres de contaminación.

En el año 2000, un 21% de la población chilena que habitaba en el sector urbano, descargaba sus residuos líquidos a sistemas de recolección de aguas servidas conectados a PTAS (OECD, 2014), cifra que aumentó significativamente al año 2015, cuando la cobertura urbana de tratamiento de aguas servidas alcanzó un 99,85% (SISS, 2015).

Actualmente, en Chile operan más de 260 sistemas de tratamiento de aguas servidas autorizados, los que atienden a más de 11,5 millones de habitantes de todo el país. La tecnología de tratamiento secundario predominante en Chile, corresponde a Lodos Activados alcanzando un 60% respecto al número total de PTAS (SISS, 2014).

1.1.1 Tratamiento de aguas servidas y origen de lodos sanitarios

El proceso de tratamiento de aguas residuales, mediante la tecnología de lodos activados con biomasa suspendida en el tratamiento secundario, consiste en múltiples etapas, como muestra la Figura 2.

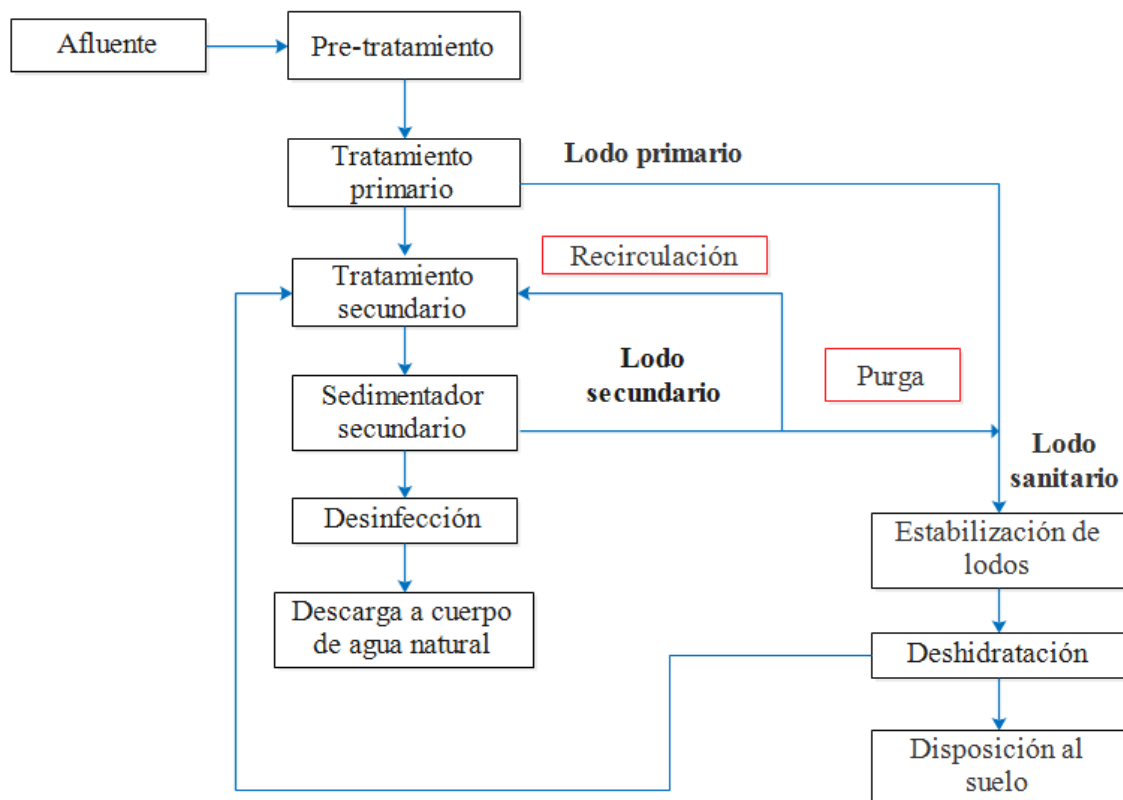


Figura 2. Configuración típica de una planta de tratamiento de aguas servidas, con sistema de lodos activados. Fuente: Adaptado de Barañao y Tapia, 2004.

La descontaminación de aguas residuales se inicia con un pre-tratamiento destinado a remover principalmente tanto sólidos de gran tamaño como también arenas, grasas y aceites. A continuación, se efectúa un tratamiento primario el cual permite remover aproximadamente un 50-60% de sólidos suspendidos, mediante un proceso de sedimentación (Qasim, 1999). Los residuos sólidos separados en éste primer tratamiento, constituyen al lodo primario. Luego, se da lugar al tratamiento secundario, donde

bacterias aeróbicas utilizan la materia orgánica disuelta en el agua residual para crecer, sobrevivir y dividirse para dar origen a nueva biomasa.

A continuación, la corriente de agua residual ingresa al sedimentador secundario, en donde se separa la fracción líquida tratada de la fracción sólida o lodo secundario, el cual está constituido principalmente por las bacterias provenientes desde el reactor biológico o sistema de lodo activado. Parte de esta biomasa es recirculada al reactor biológico, lo que permite mantener una población de microorganismos activos para tratar las nuevas corrientes de aguas contaminadas que ingresan continuamente a la PTAS. Sin embargo, una porción debe ser purgada para mantener las concentraciones óptimas de microorganismos competentes en el reactor biológico (Metcalf y col., 2003).

Para finalizar, tanto el lodo primario como secundario convergen en la cámara de mezcla, dando origen al lodo sanitario, el que debido a su composición debe ser gestionado, para su posterior disposición (Metcalf y col., 2003).

La materia orgánica disuelta en agua se expresa como demanda bioquímica de oxígeno (DBO_5), equivalente al oxígeno consumido por la degradación de materia orgánica, susceptible a ser consumida por un consorcio microbiano (Metcalf y col., 2003). El tratamiento primario remueve entre un 25 a 40% de DBO_5 y el secundario de tipo lodo activado entre un 85 a 95% de DBO_5 (Rojas, 2002), dando cuenta de la alta eficiencia que ofrecen las tecnologías predominantes en las PTAS de Chile.

Sin embargo, la tecnología de lodos activados presenta una desventaja asociada a la gran cantidad de lodos que se generan, lo que conlleva un importante desafío para las empresas sanitarias, ya que éstos deben ser tratados para su disposición final (Mikkelsen y Keiding, 2002).

Valores típicos referenciados, proponen que la tecnología de lodos activados involucran una producción equivalente a 7 kg lodo/hab•año, en contraste, la tecnología de aireación extendida genera en promedio 6 kg lodo/hab•año (Von Sperling, 2007). Un estudio, destinado a evaluar el desempeño de 14 plantas de tratamiento de residuos a escala real y con diferentes tecnologías para el tratamiento secundario de aguas servidas, obtuvo valores promedio para la producción de lodos en forma comparativa entre tres tecnologías: lodo activado convencional, aireación extendida y reactor secuencial,

alcanzando valores de 8,14, 6,15 y 3,98 kg lodo/hab•año, respectivamente (Vera y col., 2012). Lo anterior, indica que la tecnología de descontaminación de aguas servidas predominante en Chile, es la mayor contribuyente a la producción de lodos sanitarios.

En efecto, el lodo secundario contiene materia orgánica en forma de microorganismos aeróbicos originados en tratamiento secundario de aguas servidas, microorganismos patógenos, nutrientes y microcontaminantes orgánicos e inorgánicos (Pérez-Elvira y col., 2006), transformándolo en un residuo altamente putrescible, lo que impide su disposición directa en suelo.

El tratamiento y disposición de lodos pueden alcanzar hasta un 60% de los costos totales de una PTAS (Davis y Hall, 1997; Spellman, 1997). Lo anterior indica la cantidad de recursos a destinar por parte de las empresas sanitarias, a la línea de gestión de residuos sólidos al operar mediante sistema de lodos activados.

En el año 2014 se reportó que en el país se trataban aproximadamente 1.000 millones de metros cúbicos de aguas servidas al año, en 281 plantas en operación. Lo anterior, conllevó a una producción de lodos aproximada de 700.000 m³ de los cuales casi un 50% corresponde a la Región Metropolitana y un 14% a la región del BíoBío. En el mismo informe, redactado por la Superintendencia de Servicios Sanitarios, se especifica que las PTAS que generan la mayor cantidad de lodos son las que operan por medio de sistemas de lodos activados (SISS, 2014).

1.1.2 Caracterización de lodos sanitarios

La composición de lodos sanitarios, es altamente variable, dentro de la cual se encuentran, por ejemplo, una alta presencia de sólidos (sólidos totales (ST): 2 - 12% para lodos crudos y 12 - 40% para lodos deshidratados), patógenos (10⁹ UFC/100 mL, 2.500-70.000 Virus/100 mL, 200-1.000 Helmintos/100 ml), nutrientes (>10 mgP/kg, >30 mgN/kg, >3 mgK/kg) y microcontaminantes tales como metales (en rangos de concentración variable entre 0-25.000 mg/kg dependiendo del metal y el origen del lodo) y compuestos orgánicos (Farmacéuticos, Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos, Difeniles Policlorados, ftalatos, surfactantes y otros en concentraciones <100 mg/kg) (EPA, 1997; Johannesson, 1999; De Souza Pereira y Kuch, 2005; Villar y Garcia, 2006;

Aguilera y col., 2007; Silva Oliveira y col., 2007; Leiva y col., 2010; De Maria y col., 2010; Retamal y col., 2010; Paraíba y col., 2011).

Los lodos sanitarios están constituidos, tanto por lodo primario como secundario en proporciones aproximadas, que pueden variar entre un 60% y 40% respectivamente (Bravo y Ferrer, 2011). Sin embargo, estos valores pueden fluctuar según las eficiencias de sedimentación y espesamiento de lodos de cada PTAS. Ambos tipos de lodos involucran altas proporciones de materia orgánica, expresada como porcentaje de sólidos volátiles (SV), con respecto a la concentración de ST. La fracción de SV varía entre un 60-80 y 59-88% de los ST, correspondiente a lodo primario y secundario, respectivamente (Metcalf y col, 2003).

El lodo secundario está compuesto principalmente por flóculos bacterianos, producto de la agregación celular de microorganismos, que mediante la sustancia polimérica extracelular (EPS, por su sigla en inglés extracelular polymeric substances), mantienen una estructura altamente estable (Nielsen y col., 2004). Las EPS constituyen una mezcla de polímeros complejos y de alto peso molecular, constituida por compuestos excretados por los microorganismos y la materia orgánica adsorbida durante el tratamiento biológico del agua residual (Sheng y col., 2010). Dentro de los complejos poliméricos que destacan como principales constituyentes de la EPS se encuentran proteínas, lípidos, ácidos nucleicos y polisacáridos (Lee y col., 2010).

A modo de resumen, los lodos sanitarios contienen diversas sustancias tóxicas, como microorganismos patógenos, metales pesados y algunos contaminantes orgánicos (Zhang y col., 2009; Shehu y col., 2012; Dong y col., 2013), los cuales contribuirían con serios problemas de contaminación sin un tratamiento óptimo previo a su disposición (Mowla y col, 2013).

Comúnmente, los lodos sanitarios producidos en las PTAS, deben ser tratados tanto para reducir su volumen como para lograr la transformación de la materia orgánica putrescible en un residuo estable.

La necesidad de gestionar las grandes cantidades de lodos generados en PTAS, para cumplir con las normativas ambientales vigentes, llevó al desarrollo de una nueva tecnología denominada Digestión Anaeróbica (DA), la cual constituye uno de los

mayores descubrimientos dentro del campo de tratamiento de residuos (De Baere, 2006).

1.2 Digestión anaeróbica

Desde comienzos del siglo 20 el proceso de DA ha sido el más utilizado para la estabilización de lodos residuales y continúa desarrollándose ampliamente (Amani y col., 2010).

La DA es un proceso biológico que ocurre en ausencia de oxígeno y durante el cual distintos microorganismos involucrados convierten en forma secuencial la materia orgánica en biogás el cual está constituido principalmente por metano (CH_4) y dióxido de carbono (CO_2). Las concentraciones de CH_4 y CO_2 varían entre un 50-70% y 30-50%, respectivamente (IDAE, 2007).

La generación de CH_4 constituye una forma de energía renovable, que puede ser utilizada para generar calor y electricidad dentro de la misma PTAS, lo que otorga una ventaja significativa a ésta tecnología (Burgess y Pletschke, 2008). Hasta un 85% de la energía química del sustrato puede ser transformada a CH_4 durante la DA (Plugge y col., 2009).

Por otra parte, el residuo orgánico que se descarga (efluente) desde el proceso de DA, es un fluido el que posteriormente es deshidratado previo a su disposición con el objetivo de reducir su volumen y descontaminar el sobrenadante separado en la línea de tratamiento de aguas (Appels y col., 2008). Las características físico-químicas del lodo deshidratado varían dependiendo del contenido de la materia orgánica utilizada para alimentar el digestor, así como del tiempo de contacto de la biomasa anaeróbica con el lodo alimentado (Moncayo y Arrue, 2007),

El proceso de estabilización mediante DA involucra ventajas asociadas principalmente a la reducción de parámetros como cantidad de: sólidos, olores, emisiones de gases de efecto invernadero, microorganismos patógenos y volumen de lodo mediante la liberación de agua embebida en conglomerados bacterianos (Gonçalves, 2013). Además la aplicación de lodos estabilizados al suelo aporta nutrientes y puede beneficiar su calidad y el crecimiento cultivos (Klavon y col., 2013; Kuglarz y col., 2013), lo que otorga un valor agregado al proceso.

El lodo estabilizado, funciona también como tratamiento correctivo de la acidez de suelos y como aditivo orgánico en la preparación de soluciones nutritivas para cultivos (Castillo, 2001; Moncayo y Arrue, 2007).

1.2.1 Etapas de la DA

La DA involucra una serie de reacciones bioquímicas complejas que se pueden agrupar en cuatro etapas principales: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis, respectivamente, como se observa en la Figura 3 (Ma, y col., 2010).

a) Hidrólisis: El proceso comienza con la transformación de macromoléculas como lípidos, carbohidratos y proteínas en compuestos de menor peso molecular como ácidos grasos de cadena larga, azúcares simples y aminoácidos, respectivamente (Metcalf, 2003). Tales transformaciones son mediadas por enzimas extracelulares que catalizan la despolimerización de sustratos complejos como lipasas, amilasas y proteasas (Zhang y col., 2007).

Los compuestos de menor peso molecular pueden estar en forma de monómeros o dímeros solubles, los cuales pueden ser incorporados por los microorganismos responsables de la siguiente etapa, debido a que pueden atravesar la membrana celular (Angelidaki y col., 2011).

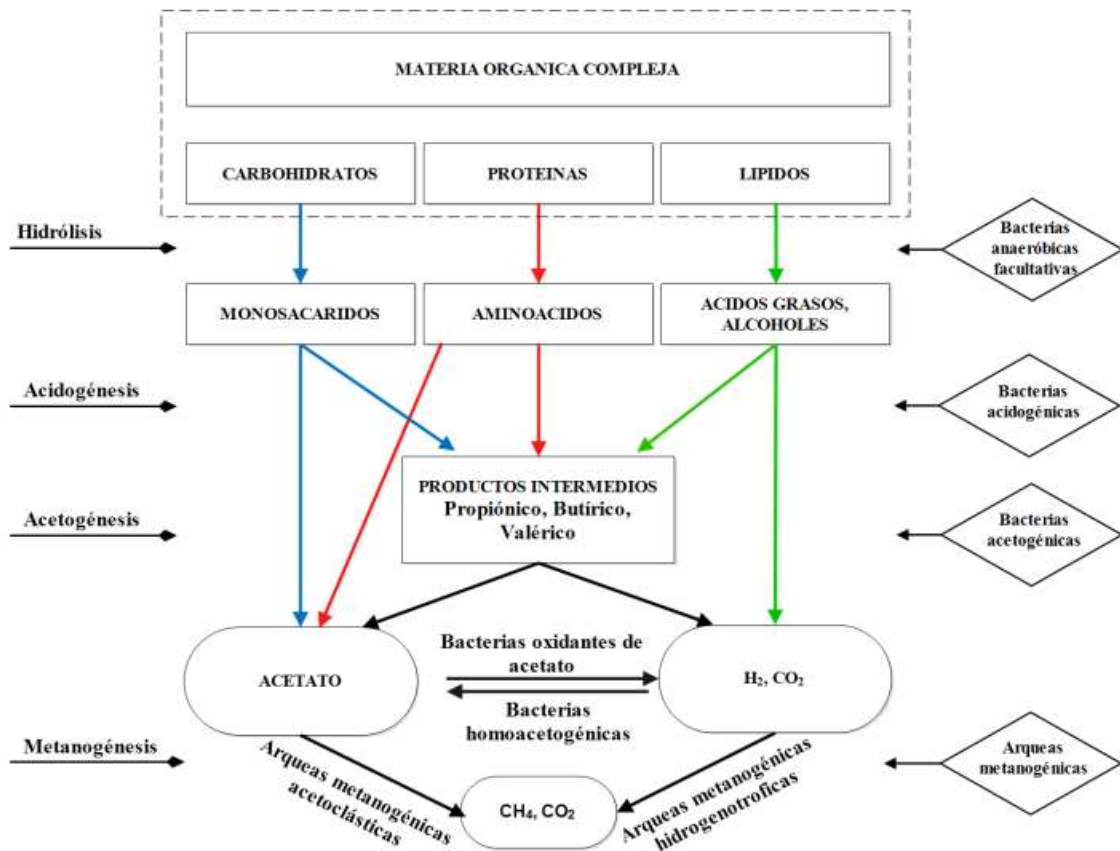


Figura 3. Reacciones involucradas en proceso de digestión anaeróbica. Fuente: Adaptado de Van Lier y col., 2008.

b) **Acidogénesis:** En esta etapa los productos generados durante la hidrólisis como amino ácidos, azúcares simples y ácidos grasos de cadena larga, los cuales son relativamente pequeños compuestos solubles, son incorporados por las bacterias fermentativas. Tal proceso ocurre a través de difusión por la membrana celular seguido de una conversión por medio de reacciones de fermentación u oxidación anaeróbica en diversos compuestos simples como ácidos grasos de cadena corta, H_2 , CO_2 y NH_3 , entre otros los que luego son excretados (Van Lier y col., 2008). La acidogénesis es la etapa de conversión más rápida de todas. Las velocidades de crecimiento son 10-20 veces mayores que las de microorganismos metanogénicos, en tanto el rendimiento bacteriano y la velocidad de conversión son 5 veces mayor que los microorganismos formadores de CH_4 , debido a esto es que los reactores anaeróbicos son susceptibles a la acidificación

cuando son sobrecargados o afectados por algún compuesto tóxico. Una vez la alcalinidad es consumida por los ácidos producidos el pH comienza a disminuir, resultando en una mayor concentración de ácidos grasos volátiles (AGVs) no disociados, lo que conlleva a una severa inhibición de los microorganismos metanogénicos (Van Lier y col., 2008).

c) Acetogénesis: En esta reacción bioquímica los productos intermediarios de la digestión, principalmente AGVs son convertidos en acetato, H_2 y CO_2 como también en nuevas estructuras celulares (Van Lier y col., 2008). Dentro de los grupos bacterianos que participan en esta etapa, se encuentra el denominado acetógeno productor obligado de hidrógeno, el cual produce acetato, CO_2 e H_2 a partir de los principales productos intermedios de ácidos grasos (propionato y butirato) y alcoholes como etanol (Anderson y col., 2003). Esta transformación es termodinámicamente desfavorable bajo condiciones estándar debido al ΔG positivo de los compuestos intermediarios (Van Lier y col., 2008). Sin embargo, bajo condiciones de digestión estables la transformación se ejecuta gracias al acoplamiento del grupo acetógeno productor con bacterias consumidoras de H_2 como las metanogénicas estableciendo una asociación sintrófica o transferencia interespecífica de H_2 (Díaz-Báez y col., 2002; Angelidaki y col., 2011). De tal forma se logra mantener presiones parciales de H_2 inferiores a 10^{-4} atm lo cual es suficiente para asegurar la ocurrencia de la reacción de acetogénesis productora de H_2 (Van Lier y col., 2008).

En reacciones inversas, el grupo bacteriano homoacetogénico cataliza la formación de acetato a partir de H_2 y CO_2 y las bacterias oxidantes de acetato transforman dicho compuesto en CO_2 (Anderson y col., 2003; Van Lier y col., 2008).

d) Metanogénesis: En esta última etapa el acetato, H_2 y CO_2 son convertidos a CH_4 y CO_2 por dos grupos de arqueas diferentes: las metanógenas acetoclásticas, que reducen directamente el acetato y las metanógenas hidrogenotróficas, que usan el hidrógeno como donador de electrones y el CO_2 como aceptor, produciendo CH_4 como resultado. Alrededor del 72% del CH_4 producido en esta etapa, se genera a partir de la transformación del acetato (Metcalf y col., 2003).

1.2.2 Parámetros operacionales

Dentro del ambiente anaeróbico, existen varios parámetros que afectan la velocidad de las diferentes etapas del proceso de digestión. Existen factores que son controlados como la temperatura y el tiempo de retención de sólidos y otros que son indicadores del proceso como pH, alcalinidad, AGVs, amoníaco e ión amonio, compuestos que están presentes en el sustrato que ingresa al digestor o que son generados durante la digestión.

a) **Temperatura:** La temperatura ejerce una importante influencia sobre la tasas de crecimiento y metabolismo de los microorganismos. La mayoría de los reactores anaeróbicos que se implementan a escala industrial, operan en un rango mesófilo con temperaturas óptimas entre 30 y 38°C, sin embargo la digestión también se puede llevar a cabo en un rango termófilo con temperaturas entre 50 y 57°C (Appels y col., 2008).

La DA desarrollada bajo condiciones termófilas ofrece algunas ventajas por sobre la operación en rango mesófilo. Entre las ventajas que ofrece este tipo de digestión destaca un aumento de la velocidad de las reacciones bioquímicas, incremento en la reducción de sólidos, mejora la deshidratabilidad de los lodos e incrementa la destrucción de microorganismos patógenos (Appels y col., 2008).

Sin embargo, la digestión termofílica presenta desventajas que la transforman en un método menos viable a nivel industrial. Entre las desventajas destacan el mayor requerimiento energético demandado por los digestores, baja calidad del sobrenadante por contener altas concentraciones de sólidos disueltos y un mayor potencial de olor proveniente del proceso (Turovskiy y Mathai, 2006).

Además la aplicación de altas temperaturas puede tanto incrementar la fracción de amonio libre (NH_3), el cual juega un rol inhibitorio para los microorganismos, como también puede conllevar un incremento de la constante de disociación (pK_a) de los AGVs (ácidos grasos volátiles), potenciando la susceptibilidad del sistema ante la inhibición (Boe, 2006).

Debido a lo anterior, es que predomina la preferencia de operar digestores anaeróbicos en rangos mesofílicos de temperatura, permitiendo reducir costos energéticos y potenciales de inhibición del proceso biológico.

b) pH, AGVs y alcalinidad: Cada microorganismo involucrado en las diferentes reacciones bioquímicas se desarrolla en un rango de pH óptimo. En particular, las bacterias metanogénicas, son sensibles al pH y su actividad óptima la llevan a cabo entre 6,5 y 7,2 (Boe, 2006; Turovskiy y Mathai, 2006).

Sin embargo, se ha reportado que las bacterias metanogénicas podrían desarrollar su actividad en un rango de pH entre 6,5 y 8,5 (Weiland, 2010). Por otra parte, los microorganismos responsables de la fermentación pueden desarrollar su actividad en un rango más amplio comprendido entre 4,0 y 8,5 (Hwang y col., 2004).

El pH óptimo para la DA fluctúa entre 6,5 y 7,8, esto puede ser debido a diferentes mecanismos físico-químicos entre lo que destaca a que dentro de este rango existe una ionización casi completa (aproximadamente 99%) de los AGVs lo que no genera toxicidad. En contraste, cuando el pH es inferior a 6 existe una menor ionización de los AGVs, aproximadamente el 50% estaría disociado, lo que generaría toxicidad (Díaz-Báez y col., 2002). Los AGVs producidos durante la digestión tienden a reducir el pH del medio de reacción, evento que es contrarrestado por la alcalinización del medio producto de la actividad de microorganismos metanogénicos que producen alcalinidad en forma de NH_3 libre y bicarbonato (Turovskiy y Mathai, 2006).

La acidificación de los reactores puede estar dada por una acumulación de AGVs, que puede producirse por sobrecarga de alimentación o por una inhibición de las bacterias productoras de CH_4 , debido al cese de transformación de productos intermediarios en biogás. A su vez, el incremento de concentraciones de AGVs puede provocar la rotura de la capacidad tampón del sistema, disminución del pH y, en consecuencia, inhibición de las bacterias formadoras de CH_4 (Mechichi y Sayadi, 2005).

Wang y col. (2009), descubrieron que cuando las concentraciones de ácido acético y butírico fueron menores a 3 g/L, no hubo una inhibición significativa de la actividad de bacterias metanogénicas. En el mismo estudio, se determinó que una concentración de ácido propiónico equivalente a 0,9 g/L comprende un efecto de inhibición significativa sobre el crecimiento de bacterias metanogénicas, cuya actividad no pudo ser reactivada (Wang y col., 2009). Pratap y col. (2001), reportaron que la

acumulación de ácido propiónico puede ser un efecto y no una causa de inhibición cuando las concentraciones alcanzan los 2,75 g/L.

Resultados similares fueron reportados por Xu y col. (2014), quienes observaron que el ácido acético es el AGV que tiene mayor consecuencia sobre la inhibición de la metanogénesis en DA de residuos cocina. La concentración inhibitoria inicial reportada fluctuó entre 1,5 y 2,5 g/L, sin embargo la actividad metanogénica se inhibió completamente cuando la concentración alcanzó un rango entre 5,8-6,9 g/L (Xu y col., 2014). En tanto, la mayor tolerancia reportada se presenta frente al ácido butírico, el que puede alcanzar concentraciones iguales o mayores a 8 g/L (Yuan y Zhu, 2016).

Para evitar los efectos de inhibición causados por la disminución de pH y acumulación de AGVs, se consideran dos procedimientos como posibles soluciones. Una posibilidad comprende detener el suministro de alimentación hacia el reactor, dando paso a un tiempo suficiente para que las bacterias metanogénicas transformen el exceso de AGVs, logrando elevar el pH al rango óptimo de digestión. La otra posibilidad, implica suministrar álcali directamente al medio de reacción, en forma de NaOH o Na_2CO_3 , permitiendo favorecer el incremento del pH (Leitao y col., 2006).

Por otra parte, la alcalinidad es una medida de la capacidad tampón del medio proporcionada por diferentes sustancias, por lo que se transforma en una medición inespecífica. En el rango de pH de 6 a 8, el principal equilibrio químico que controla la alcalinidad es el dióxido de carbono-bicarbonato (Hwang y col., 2004).

Operacionalmente, la relación entre la alcalinidad intermedia (AI) debido a los AGVs y la alcalinidad parcial (AP) debida al bicarbonato, entrega información sobre la potencial acumulación de AGVs en el digestor, recomendándose no sobrepasar un valor de 0,3-0,4, con el objetivo de evitar la acidificación del medio de reacción (CSIC, CTC y AGRUPAL, 2013).

c) **Tiempo de retención de sólidos:** El tiempo de retención de sólidos (TRS) es el promedio del tiempo de residencia del sustrato y los microorganismos dentro del reactor (Appels y col., 2008). Las reacciones bioquímicas del subsecuente proceso de DA están directamente relacionadas al TRS.

Cada vez que se retira lodo digerido desde el reactor, una fracción de la población bacteriana es también retirada, lo que implica que para operar bajo condiciones de estado estacionario, el crecimiento bacteriano debe compensar la eliminación de células, para evitar fallas del proceso, por posible efectos de lavado de biomasa (Metcalf y col., 2003; Turovskiy y Mathai, 2006).

La relación obtenida entre el desempeño de un sistema de DA y TRS en reactores continuos de tanque agitado (CSTR, por su sigla en inglés continuous stirred tank reactor) indica que: *i*) TRS < 5 d, es insuficiente para una digestión estable, debido al lavado de bacterias metanogénicas del reactor, *ii*) con TRS entre 5-8 d, las concentraciones de AGVs permanecen relativamente altas, debido a la transformación incompleta de algunos compuestos, especialmente lípidos, *iii*) TRS entre 8-10 d se logra una digestión estable: reduce la concentración de AGVs por su transformación en productos intermediarios, debido a que previamente comienza la descomposición de lípidos y *iv*) con TRS > 10 d, las curvas de descomposición se estabilizan debido a que todos los compuestos son significativamente reducidos (Appels y col., 2008).

d) *Amonio libre e ion amonio:* El NH₃ es producido durante la hidrólisis de compuestos nitrogenados como proteínas y urea (Boe, 2006; Chen y col., 2008). El ión amonio (NH₄⁺) y NH₃ son dos formas de nitrógeno inorgánico, sin embargo se ha reportado que el NH₃ es el más tóxico de ambos, debido a la facilidad con que puede atravesar la membrana celular (Sung y Liu, 2003; Chen y col., 2008). Tal compuesto genera un desbalance de protones y deficiencia de potasio una vez dentro de la célula (Belmonte y col., 2011; Chen y col., 2008).

La concentración de NH₃ libre, depende de tres factores: la concentración total de amonio, la temperatura y el pH (Hansen y col., 1998). Temperaturas termófilas favorecen el incremento de las concentraciones de NH₃ libre, en consecuencia la DA termófila es más susceptible a la inhibición que la digestión mesófila (Hansen y col., 1998; Sung y Liu, 2003).

Un valor de pH sobre 7,6 puede causar un 50% de inhibición de los microorganismos metanogénicos, debido a un cambio proporcional causado por el paso de amonio libre a amonio ionizado, lo que aumentaría la cantidad de AGVs. Tal efecto

causaría una disminución del pH generando nuevamente una disminución del amoníaco libre, ya que la digestión de materia orgánica disminuiría, obteniendo bajos rendimientos de CH₄ (Hansen y col., 1998; Sung y col., 2003; Chen y col., 2008).

Sin embargo, concentraciones de NH₃ menores a 200 mg/L son beneficiosas para la DA, ya que este constituye un nutriente esencial para los microorganismos (Liu y Sung, 2002).

Estudios reportados por Angelidaki y Ahring (1993), indican que concentraciones de N-NH₄⁺ en un rango de 1,5 a 3 (g/L), generarían una inhibición parcial de la metanogénesis. En particular, Sung and Liu (2003) y Procházka y col. (2012), indicaron que concentraciones de N-NH₄⁺ mayores a 4 (g/L), generaría completa inhibición de los microorganismos involucrados en la metanogénesis. Sin embargo, concentraciones menores a 0,5 g/L podría generar una disminución del rendimiento en la producción de CH₄ y disminución de la actividad metanogénica acetoclástica, debido a la ausencia de la fuente de nitrógeno como nutriente (Procházka y col., 2012).

1.2.3 Hidrólisis: Una etapa limitante en DA de lodos sanitarios

La resistencia a la reacción de hidrólisis que oponen sustratos complejos como lodo y residuos sólidos se asocia principalmente a la presencia de materia orgánica particulada y compuestos de alto peso molecular (Dohányos y col., 2004). En general, la etapa de hidrólisis para la digestión de lodo secundario, involucra la ruptura de la estructura flocular, disrupción de la pared bacteriana y la degradación de la EPS (Appels y col., 2008), proceso que requiere mayores tiempos de contacto entre la biomasa y el sustrato.

En general, las eficiencias de transformación de materia orgánica en DA bajo condiciones mesófilas, alcanzan un rango entre 20-50% (Weemaes y Verstraete, 1998). Hartmann y col. (2000), han estimado que cerca del 25% de la materia orgánica no es digerida por no estar biodisponible para los microorganismos indicando la dificultad que enfrenta el proceso de DA a raíz de la resistencia que opone la materia orgánica compleja a ser transformada (Appels col., 2008).

La disminución de la biodegradabilidad de la materia orgánica, implica también una disminución en la producción de biogás (Carrère y col., 2010). Tal desventaja

implica costos energéticos y económicos para la PTAS, debido a que se requieren mayores tiempos de reacción dentro de los reactores anaeróbicos, para lograr una adecuada estabilización. Los altos tiempos de retención, debidos a la dificultad presentada por la etapa de hidrólisis y fluctúan entre 20-50 días (Kim y col., 2010).

Como la DA representa una tecnología bien establecida y efectiva para la estabilización de lodos sanitarios, los intereses técnicos y científicos están destinados a la optimización del proceso y maximizar la generación de biogás. En una forma de disminuir los costos asociados a la etapa limitante, se ha evaluado tanto la modificación del uso de digestores anaeróbicos, como la aplicación de pre-tratamientos de lodos, previo al proceso de digestión, siendo éste último uno de los métodos con resultados más prometedores (Carrère y col., 2010).

1.3 Pre-tratamiento de lodos

La aplicación de un pre-tratamiento, permite disminuir costos tanto energéticos, como económicos, que demanda el proceso de tratamiento de residuos dentro de las PTAS (Bougrier y col., 2005). Diversos tipos de pre-tratamientos han sido descritos en bibliografía, entre los cuales destacan procesos físicos, químicos y biológicos (Lafitte-Trouqué y Forster, 2002).

En general, los métodos están dirigidos a desintegrar la estructura flocular y ruptura de la membrana celular, lo cual resulta en la lisis o desintegración de las bacterias que componen principalmente el lodo secundario (Appels y col., 2008). De tal forma, se logra que la materia orgánica lentamente biodegradable, se transforme en compuestos de menor peso molecular y rápidamente biodegradables por parte de la biomasa en el proceso de DA (Patil y col., 2016).

La mayoría de las investigaciones asociadas al pre-tratamiento de residuos orgánicos involucran el uso de procesos mecánicos, térmicos y químicos, con una abundancia de 33, 24 y 21% sobre el total de reportes, respectivamente (Mata-Alvarez y col., 2014). Tales resultados concuerdan con lo reportado por Neumann y col. (2016), destacando que un tercio de todos los métodos de pre-tratamientos encontrados en bibliografía, corresponden a mecánicos y térmicos.

La mayoría de los estudios dirigen sus objetivos hacia evaluar el efecto de pre-tratamiento de lodos a estabilizar por DA en condiciones mesófilas en rangos de temperatura entre 35 y 37°C (Neumann y col., 2016).

En efecto, los diversos pre-tratamientos muestran mejores resultados antes de DA en condiciones mesofílicas que termofílicas. Lo anterior, se debe probablemente al efecto innecesario de un pre-tratamiento antes de DA termofílica debido a que bajo tal condición se logra un favorecimiento de la etapa de hidrólisis (Benabdallah El-Hadj y col., 2007).

Entre los pre-tratamientos que ofrecen un incremento en la solubilización de materia orgánica e incremento del desempeño de la DA, se encuentran pre-tratamientos de tipo físicos como ultrasonido (US) y térmicos (Cesaro y Belgiorno, 2014).

Los pre-tratamientos físicos como US y térmico, pueden inducir cambios considerables sobre propiedades físicas, químicas y biológicas del lodo (Khanal y col., 2007; Braguglia y col., 2011; Pilli y col., 2011; Braguglia y col., 2012; Tyagi y col., 2014).

Una de las propiedades físicas representativa del lodo se asocia al alto contenido de agua que éste contiene, lo que dificulta su manejo y posterior disposición llevando a que el desaguado constituya una etapa crítica (Ruiz-Hernando y col., 2015) en la línea de gestión y manejo de los lodos en las PTAS.

La existencia de las EPS constituye una de las mayores causas de la baja capacidad de deshidratabilidad del lodo, debido a que sus componentes conllevan a la unión intersticial de agua (Chen y col., 2001; Jin y col., 2004).

La deshidratabilidad del lodo puede ser mejorada a través de varios pre-tratamientos, entre los que destacan métodos como US (Ruiz-Hernando, 2010) e incubación (Neyens y col., 2004). El objetivo principal de la aplicación de cualquier pre-tratamiento, se basa en desintegrar parcialmente el lodo, lo que desencadena en la liberación del agua intersticial conllevando un incremento en la deshidratabilidad del lodo (Neyens y col., 2004).

Existen diversas formas de cuantificar la capacidad de desaguado del lodo. Uno de los métodos más utilizados es la determinación del tiempo de succión capilar (CST;

sigla en inglés: capillary suction time). Este parámetro se define como el tiempo que involucra el avance del filtrado entre dos electrodos (APHA, 1998), de modo que cuanto menor sea el CST determinado, mayor será la capacidad de deshidratado del lodo.

Otro método para evaluar la deshidratabilidad, consiste en la determinación de la resistencia específica a la filtración (SRF, por su sigla en inglés specific resistance to filtration), la cual indica la facilidad con que el lodo es desaguado mediante un proceso de filtración (Foladori y col., 2010). Conforme a lo anterior, la disminución del valor SRF indica un incremento de la filtración, lo que corresponde a una mejora en la capacidad de deshidratabilidad del lodo.

1.3.1 Ultrasonido

El US, corresponde al tipo de pre-tratamiento físico más estudiado y reportado, el cual se ha destinado a diversas aplicaciones como lodos y estiércol (Apul y Sanin, 2010; Elbeshbishy y col, 2011; Oz y Yarimtepe, 2014).

El principio del método de sonicación, se basa en generar el efecto de cavitación a través de la generación de burbujas que al colapsar producen alteraciones en la naturaleza de los compuestos (Mason y Peters, 2002; Dehghani, 2005). Tal efecto, promueve la desintegración física de la materia orgánica polimérica difícilmente biodegradable (Kwiatowska y col., 2011).

La frecuencia de las ondas de US juega un rol importante en el pre-tratamiento, ya que esta determina el tamaño crítico de las burbujas responsables de la cavitación (Hua y Hoffmann, 1997).

En efecto, existen dos rangos de frecuencia comúnmente utilizadas, baja (<100 kHz) y alta (>100 kHz). Frecuencias bajas, se consideran útiles para promover la transformación física y desintegración mecánica de compuestos poliméricos, sin embargo, altas frecuencias permiten generar efectos sonoquímicos a través de la formación de radicales libres (Bordeleau y Droste, 2011). Sin embargo, para el tratamiento de lodos el uso de frecuencias bajas (20-40 kHz), ha reportado ser el más efectivo (Tyagi y col., 2014).

En consecuencia, el proceso incrementa la biodisponibilidad de materia orgánica a través del efecto de hidrólisis (Muller y col., 2009; Elbeshbishy y col., 2011). La

cantidad total de materia orgánica soluble, cuantificada como DQOs, es significativamente incrementada durante el tratamiento ultrasónico, logrando un beneficio significativo en la subsecuente etapa de DA (Show y col., 2010).

La materia orgánica en fase soluble, es la principal fuente nutritiva para los microorganismos. Sin embargo, sustratos orgánicos complejos insolubles primero deben ser hidrolizados y luego incorporados como nutrientes para el crecimiento y mantención microbiana (Zhang y col., 2015). Para tal efecto, es que actúan enzimas principalmente hidrolíticas, que se ubican en la EPS de agregados bacterianos (Frølund y col., 1995; Guellil y col., 2001; Luo y col., 2013).

La utilización de US como pre-tratamiento, involucra otra ventaja significativa, esta se asocia principalmente al incremento de la actividad enzimática hidrolítica intrínseca de la EPS. Tales enzimas son sintetizadas por los propios microorganismos aeróbicos constituyentes del lodo secundario (Schläfer y col., 2002) y generalmente se asocian a la EPS mediante interacciones iónicas e hidrofóbicas (Nabarlantz y col., 2010).

Proteasa, amilasa, aminopeptidasas, galactosidasas, glucosidasas, lipasas, y fosfatasa, son algunas de las enzimas hidrolíticas identificadas, las cuales juegan un rol significativo en el proceso de lodos activados (Kwiatkowska y col., 2011). La desintegración de flóculos de lodo secundario, permite el paso de las enzimas hidrolíticas hacia la fase soluble, las que bajo condiciones favorables de pH, temperatura, entre otras, permiten la transformación de los compuestos orgánicos poliméricos, que constituyen los propios lodos, en compuestos monoméricos (Tyagi, 2014). Consecuentemente, la utilización de US aumenta la velocidad de transformación de sólidos en DA y disminuye el tiempo de digestión (Yu y col., 2008).

El US ha sido ampliamente utilizado tanto para la solubilización de materia orgánica de lodos como para la estimulación de la actividad catalítica de enzimas constituyente de los mismos y generalmente presentes en la EPS (Gessesse y col., 2003; Grönroos y col., 2005; Souza y col., 2013a). Zhang y col. (2008), observaron que a bajas frecuencias de sonicación (25 kHz), se logra una mayor actividad enzimática que a altas frecuencias (150 kHz). Por su parte, Yu y col. (2008), reportaron un incremento significativo de la actividad enzimática hidrolítica de lodo aeróbico pre-tratado

(frecuencia: 20 kHz, intensidad: 3 W/mL y tiempo: 10 min.), equivalente a 7 veces más que el control.

Otros estudios realizados bajo condiciones similares de pre-tratamiento, también obtuvieron valores óptimos de actividad enzimática hidrolítica, específicamente de proteasas y lipasas (Xie y col., 2009; Nabarlatz y col., 2010).

La energía específica (EE), es un parámetro clave en la operación de sistemas de US, debido a que involucra y depende de la potencia transferida, tiempo de sonicación, concentración de ST del lodo a pre-tratar y el volumen (Foladori y col., 2007). La solubilización de materia orgánica se relaciona de manera lineal con la EE suministrada (Aydin y Civelekoğlu, 2010; Braguglia y col., 2012).

Un rango de EE comprendido entre 1000 a 16000 kJ/kgST, es reportado como el óptimo para lograr una solubilización significativa del lodo (Carrère y col., 2010). Un rango similar, ha sido utilizado para incrementar el desempeño de la DA, concluyendo que al incrementar la energía aplicada también incrementa la producción de biogás (Salsabil y col., 2009).

En bibliografía, se han reportado resultados de los efectos que ejerce el pre-tratamiento de US, en diferentes escalas (batch, laboratorio y piloto), rangos de frecuencia (20-40 kHz) y EE de trabajo (660-90692 kJ/kgST). Los resultados reportan valores de solubilización de materia orgánica (antes de DA) entre 10-71,8%, respectivamente y rangos de incremento en producción de biogás entre 23-93%, respectivamente (Bougrier y col., 2005; Braguglia y col., 2011; Braguglia y col., 2012; Cesaro y col., 2012).

Sin embargo, valores de EE menores a 1000 kJ/kgST, no reportan efectos significativos sobre la desintegración de los flóculos de lodos como de las células microbianas (Tyagi, 2014). Bajo este umbral la energía sólo logra la reducción del tamaño del flóculo, en contraste sobre tal valor la energía excedente permite romper las células bacterianas logrando la liberación de sustancias orgánicas hacia la fase soluble (Bougrier y col., 2005).

Una forma específica de evaluar el paso de materia orgánica hacia la fase soluble del lodo, es determinar las concentraciones de proteínas y carbohidratos en esta.

Con el incremento de la EE, primero se solubilizan los carbohidratos, seguido de las proteínas y finalmente los lípidos (Mohapatra y col., 2011). Dhar y col. (2012), reportaron un potenciamiento significativo sobre concentraciones de proteínas y carbohidratos solubles. Ellos aplicaron diferentes EE: 1000, 5000 y 10000 kJ/kgST, obteniendo incrementos en la concentración de proteína y carbohidratos solubles de 271, 568, 764% y 162, 282, 730%, respectivamente (Dhar y col., 2012), mostrando el efecto significativo que provoca la aplicación de US sobre la biodisponibilidad de compuestos orgánicos.

Sin embargo, se debe considerar la escala de trabajo de la DA (batch, laboratorio o escala industrial), para la que se está aplicando el pre-tratamiento. Cano y col. (2015), determinaron que experimentos llevados a escala de laboratorio generalmente son energéticamente ineficientes, mostrando consumos de energía entre 27-118 kW·h/m³_{lodo} para diferentes concentraciones de lodo 5-60 gST/L.

En efecto, al utilizar equipos de US industriales, en procesos a escala real, el consumo energético reduce alcanzando valores menores a 10 kW·h/m³_{lodo} para lodos concentrados (concentraciones hasta 10% de ST), lo que explica el amplio alcance que éste pre-tratamiento ha logrado en diferentes PTAS del mundo (Cano y col., 2015).

Por otra parte, la aplicación de US ejerce un efecto diferenciado sobre la capacidad de desaguado dependiendo en la etapa en que se efectúe la medición, ya sea antes o después de la DA. Un estudio realizado por Shao y col. (2010), en el cual aplicaron US (20 kHz, 480 W por 10 min.) a lodo secundario, determinó primero un incremento de CST del lodo posterior al US, desde 2,3 a 44,4 s L/gSST. En cambio, luego de 47 d de DA del lodo sonicado, la deshidratabilidad del lodo sonicado y digerido aumentó conforme a una disminución del CST (11,1 s L/gSST). En efecto, la deshidratabilidad del lodo no sonicado empeoró luego de la DA resultando en un incremento del CST desde 2,3 (antes de DA) hasta 51,4 s L/gSST.

Resultados similares fueron obtenidos por Xu y col. (2011), quienes aplicaron US (20 kHz, 15 kW/L por 20 min) a lodo secundario. La DA de lodo no sonicado, deterioró la deshidratabilidad al incrementar el CST desde 1,42 a 18,9 s L/gSST. Sin embargo, la aplicación de US antes de la DA, deterioró la deshidratabilidad, pero mejoró

significativamente después de la DA, al disminuir el CST desde 44,4 s L/gSST a 23,2 s L/gSST. El incremento en la deshidratabilidad del lodo digerido anaeróbicamente, fue principalmente atribuido a la disminución de contenido orgánico principalmente proteínas, por el efecto de debilitamiento que causa el US sobre la unión de flóculos de lodos a través de la EPS (Xu y col., 2011).

Un estudio realizado por Braguglia y col. (2012), quienes evaluaron el CST de lodo no sonicado y sonicado (24 kHz y 2500 kJ/kgST) antes y después de DA. El CST del lodo no sonicado incrementó desde 1 a 15 s L/gST, posterior al pre-tratamiento de US. Tal efecto, se atribuyó a la desintegración de flóculos seguido de un incremento de partículas finas y mayor retención de agua. Lo anterior se relacionó a la colmatación del filtro producido por las partículas de menor tamaño, que impiden el paso de agua en un tiempo menor.

En tanto, el lodo no sonicado digerido, presentó mayor dificultad para deshidratarse posterior al proceso de DA (CST incrementó de 1 a 7 s L/gST), lo que se debió principalmente al incremento de partículas coloidales en solución expresado como DQOs, debido a la etapa de hidrólisis de la digestión (Braguglia y col., 2012).

Sin embargo, los mismo autores observaron que la digestión de lodo sonicado, atenuó los efectos negativos del pre-tratamiento y mejoró la deshidratación del lodo (CST disminuyó de 15 a 11 s L/gST), lo que se debió principalmente al consumo durante la DA de materia orgánica particulada pequeña originada durante el pre-tratamiento. Esto demuestra, que si bien la DA de lodo pre-tratado, incrementa la deshidratabilidad, se sigue observando una menor capacidad de desaguado con respecto al lodo digerido no pre-tratado (11 y 7 s L/gST, respectivamente), debido al efecto significativo que ejerce el pre-tratamiento sobre el incremento de partículas coloidales antes del proceso de digestión.

En consecuencia, el US ofrece una alternativa efectiva y ambientalmente sostenible para el proceso de pre-tratamiento de lodos, al incrementar la recuperación de energía eco-amigable y la minimización de la cantidad de lodos residuales (Tyagi y col., 2014), debido a que el incremento en la biodisponibilidad de materia orgánica favorece significativamente la transformación de la misma.

1.3.2 Pre-tratamiento térmico

El pre-tratamiento basado en la aplicación de temperatura, consiste en someter al lodo al efecto de la energía térmica, generando una alteración de la estructura de compuestos que coexisten como fracción insoluble, facilitando su biodisponibilidad y posterior transformación en la DA (Cesaro y Belgiorno, 2014).

El pre-tratamiento térmico, se lleva a cabo bajo rangos de temperatura diferentes: pre-tratamientos a baja (<100°C) y alta (>100°C) temperatura (Carvajal., 2012).

Pre-tratamientos térmicos a baja temperatura, en rangos entre 50-90°C han demostrado un incremento significativo del desempeño de la DA, debido a la solubilización de materia orgánica del lodo pre-tratado antes de DA (Prorot y col., 2011), en un rango variable y equivalente a 18-40%. En tanto, los aumentos en la producción de biogás reportados para el rango de solubilización antes descrito alcanzan valores promedio entre un 14 y 38%, respectivamente (Ferrer y col., 2008; Appels y col., 2010; Prorot y col., 2011), tanto en la digestión de lodo primario, secundario o mixto.

Sin embargo, los resultados varían conforme a variables de tiempo y temperatura empleadas para el pre-tratamiento y las condiciones en que se lleva a cabo la DA, dependiendo de la escala (batch o laboratorio) y tiempos de digestión o retención, respectivamente (Barjenbruch y Kopplow 2003; Ferrer y col., 2008; Appels y col., 2010, Dhar y col., 2012, Carvajal y col., 2012).

A bajas temperaturas, el tiempo de pre-tratamiento juega un rol más dominante que la temperatura aplicada (Appels y col., 2010). Para lograr un proceso exitoso de DA, se requiere de una eficiente transformación de sustratos complejos en biogás, sin embargo, varios compuestos pueden promover o inhibir algunas de las etapas en el proceso.

En efecto, el pre-tratamiento térmico permite liberar algunos componentes como metales pesados o producir otros, a través de la hidrólisis de estructuras insolubles, por ejemplo AGVs a partir de la desintegración de lípidos (Chowdhury y col., 2007).

Uno de los fundamentos del pre-tratamiento térmico a baja temperatura, se basa en incrementar la actividad intrínseca de enzimas hidrolíticas asociadas a la EPS de los

microorganismos aeróbicos (Carvajal, 2012), de manera similar a lo que ocurre debido a la aplicación de US.

Algunos estudios han demostrado la habilidad de enzimas asociadas a EPS de microorganismos constituyentes del lodo secundario, para hidrolizar la fracción coloidal del agua residual (Guellil y col., 2001; Burgess y Pletschke, 2008), llevando a que la aplicación de temperatura aporte las condiciones necesarias para favorecer la actividad catalítica.

Climent y col. (2007), observaron efectos de solubilización de materia orgánica, a través del incremento significativo de AGVs equivalente a un 43% en lodo pre-tratado a 70°C durante 9 h, seguido de un incremento equivalente a un 58% en la producción de biogás en DA batch y termofílica (55°C).

En tanto, Xue y col. (2015) reportaron que el pre-tratamiento térmico (60-90°C) incrementa el paso de materia orgánica desde la fase particulada a la soluble en rangos entre 29,6-41,1%, incremento en la concentración de proteína soluble entre 6,9-11,7 veces mayor respecto al lodo no pre-tratado (control) e incremento en la concentración de carbohidratos entre 5,7-13,5 veces mayor que el control.

En general, pre-tratamientos térmicos reportados en literatura, han utilizado rangos variables de temperatura (50-121°C), obteniendo incrementos en la producción de biogás que alcanzan valores promedio entre 14 y 22%, respectivamente (Barjenbruch y Kopplow, 2003; Ferrer y col., 2008; Appels y col., 2010; Dhar y col., 2012; Carvajal 2012). Tal efecto, depende del tiempo de aplicación del pre-tratamiento junto a la escala en que operan los digestores anaeróbicos y características de lodo con el que se trabaja.

Por otra parte, el efecto de la aplicación de pre-tratamientos térmicos sobre la capacidad de desaguado del lodo, dependerá de la temperatura aplicada (Neumann y col., 2016). La mayoría de los estudios, han reportado resultados posterior a la aplicación de temperaturas > 100°C, como pre-tratamientos.

En literatura, se encuentran resultados variables asociados a favorecer o desfavorecer el proceso de separación sólido/líquido. Bougrier y col. (2008), observaron que el valor de CST del lodo incrementó desde 1300 a 2030 s, al aplicar una temperatura

de 130°C. Tal efecto, fue atribuido a la solubilización del lodo y formación de partículas pequeñas, que dificultaron la separación del líquido.

Sin embargo, Bougrier y col. (2007), reportaron que al aplicar pre-tratamiento térmico a lodo activado (135°C durante 35 min.), seguido de la DA mesofílica (35°C y TRS: 20 d), el CST del lodo disminuyó desde 481 (control) hasta 233 s (lodo pre-tratado y digerido). Tal efecto, demuestra que el pre-tratamiento térmico puede ser utilizado con el objetivo de favorecer la filtrabilidad (Bougrier y col., 2007).

Por su parte, Carballa y col. (2009), observaron que la DA mesofílica (TRS: 20 d) de lodo mixto pre-tratado a 130°C durante 1 h, permitió disminuir el SRF desde $1,6 \times 10^{-14}$ (antes de DA) hasta $0,9 \times 10^{-14}$ (después de DA).

1.3.3 Pre-tratamientos combinados

Por otra parte, los pre-tratamientos combinados consisten en la aplicación de dos o más métodos diferentes (térmico, químico, mecánico) lo que ofrece un atractivo interesante, ya que incrementa la eficiencia con respecto a métodos individuales (Cesaro y Belgiorno, 2014).

Combinaciones de diferentes pre-tratamientos potencia la desintegración del lodo, debido al efecto sinérgico producido entre los diferentes métodos (Tyagi y col., 2014), conllevando a un incremento en la biodisponibilidad de sustratos orgánicos de fácil transformación.

Reportes previos han mostrado que el uso de pre-tratamientos combinados utilizando US con métodos químicos o térmicos potencia sinérgicamente la solubilización de materia orgánica particulada contenida en lodo. Jin y col. (2009), utilizaron un método combinado de US-alcalinización (25 kHz, 7500 kJ/kgST y un ajuste a pH 12, durante 30 min), logrando obtener un 45% de solubilización de DQO y un consecuente incremento en la remoción de SV equivalente a un 33% más que el sistema control (sin pre-tratamiento). En tanto, Kim y col. (2010), obtuvieron un 70% de solubilización de DQO al aplicar un método similar (ajuste a pH 13, durante 1 h y 15000 kJ/kgST).

Por otra parte, Dhar y col. (2011) investigaron el efecto de un pre-tratamiento combinado (térmico seguido de US). El mayor incremento en la producción de metano

(30%), fue obtenido para la DA de lodo pre-tratado a 90°C por 30 min seguido por aplicación de EE igual a 10000 kJ/kgSST.

La actividad hidrolítica de enzimas responsables de la depolimerización de la materia orgánica compleja se ve reducida debido al alto estado de asociación en que se encuentra la matriz que las contiene, lo que disminuye la probabilidad de interacción con el sustrato reduciendo el resultado de la actividad catalítica (Burgess y Pletschke, 2008; Guo y Xu, 2011). En consecuencia, la disrupción de la matriz extracelular y la liberación de enzimas hidrolíticas hacia la fase soluble e incremento de la actividad catalítica a través de la aplicación de US e incubación (Guo y Xu, 2011) incrementa la eficiencia del sistema de DA de lodos

Los tratamientos combinados permiten disminuir el consumo energético, uso de reactivos químicos y tiempos de tratamiento cuando se comprara a la aplicación de métodos individuales (Tyagi col., 2014). En consecuencia, los métodos que involucran la combinación de diferentes métodos, potencian sinérgicamente la solubilización de lodo y la subsecuente eficiencia de digestión biológica, comparado a métodos individuales.

Los efectos sinérgicos causados por una combinación de pre-tratamientos basados en métodos físicos de US e incubación bajo condiciones de baja energía, no han sido reportados en literatura, ya que la gran cantidad de reportes están asociados a la utilización de métodos individuales e intensivos, utilizando altas frecuencias o EE y altos rangos de temperatura (>60°C).

Como consecuencia, pre-tratamientos como el ultrasonido e incubación favorecerían efectos como la disrupción física del lodo, liberación de enzimas hidrolíticas endógenas e incremento de la actividad enzimática. Lo anterior daría paso a un mecanismo de autohidrólisis lo que contribuiría a evadir la resistencia que opone la etapa de hidrólisis e incrementar el desempeño de la DA.

2 HIPOTESIS Y OBJETIVOS

2.1 Hipótesis

El pre-tratamiento de lodo sanitario mediante la aplicación secuencial de ultrasonido e incubación, incrementará la producción de metano y actividad microbiológica específica.

2.2 Objetivos

Objetivo general

Evaluar el efecto de un pre-tratamiento secuencial de ultrasonido e incubación sobre la producción de metano y actividad específica de biomasa en un sistema de digestión anaeróbica de lodo sanitario.

Objetivos específicos

1. Determinar el efecto del pre-tratamiento secuencial de lodo sanitario sobre la estabilidad del proceso de digestión anaeróbica.

2. Determinar la influencia del pre-tratamiento sobre la producción de metano y capacidad de deshidratación de lodo sanitario estabilizado mediante un sistema de digestión anaeróbica.

3. Evaluar comparativamente las actividades específicas (hidrolítica, acidogénica y metanogénica) de la biomasa predominante en los sistemas de digestión anaeróbica.

3 MATERIALES Y METODOS

3.1 Lodo sanitario

Para los ensayos se utilizó lodo sanitario mixto proveniente desde la PTAS del Gran Concepción, perteneciente a la empresa ESSBIO S.A., ubicada en la comuna de Hualpén, Región del Bío-Bío, Chile. La extracción se realizó desde la salida de la cámara de mezcla donde confluye tanto el lodo primario como el secundario (Figura 4). Esta unidad se encuentra anterior al tratamiento y estabilización de lodos en los reactores anaeróbicos de la PTAS. El lodo extraído fue transportado en bidones de plástico hasta el laboratorio, donde se determinaron los parámetros físico-químicos. Luego se almacenó a 4°C, hasta la aplicación de pre-tratamiento y alimentación a los sistemas de digestión. El muestreo, se realizó en forma periódica y quincenal.



Figura 4. Extracción de lodo sanitario mixto desde la cámara de mezcla de la PTAS, ESSBIO S.A., Concepción.

3.2 Procedimiento experimental

3.2.1 Pre-tratamiento de lodo sanitario

El pre-tratamiento aplicado al lodo mixto, fue realizado en forma secuencial, primero ultrasonido seguido de un pre-tratamiento térmico.

Para el pre-tratamiento de ultrasonido, se utilizó un homogeneizador de laboratorio ultrasónico Hielscher (UP200ST). El pre-tratamiento fue realizado en condiciones batch, en vasos de precipitado de 1 L, con 400 mL de lodo mixto y agitación mecánica para favorecer una distribución homogénea de la energía. La EE aplicada fue de 2000 kJ/kg ST. El montaje para la aplicación del pre-tratamiento de US se muestra en la Figura 5.

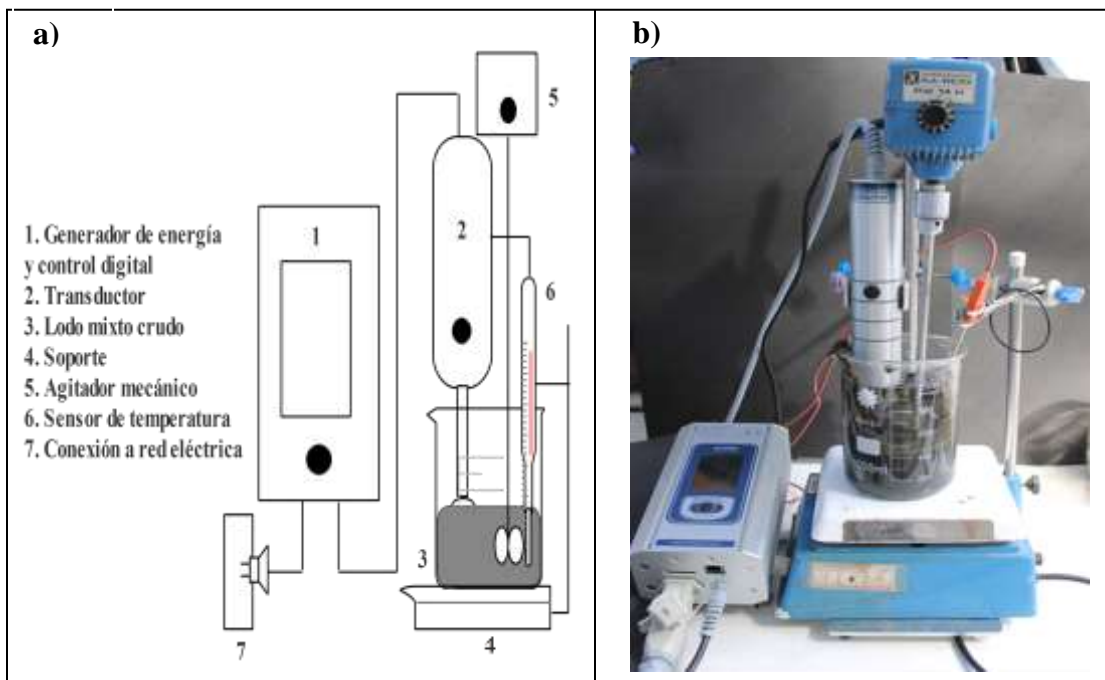


Figura 5. Configuración sistema de pre-tratamiento de ultrasonido. a) Esquema del sistema y b) Montaje del pre-tratamiento.

Luego, el lodo sonicado se incubó a temperatura constante de 55°C durante 8 h en un agitador orbital con control de temperatura y tiempo, Thermoshake (Gerhardt THO 500), programado con agitación orbital a 70 rpm. La incubación se realizó en vasos de precipitado de 1 L, los que fueron llenados con 800 ml de lodo mixto. El pre-

tratamiento térmico fue llevado a cabo bajo condiciones microaeróbicas de acuerdo a lo propuesto por Carvajal y col. (2013). Los vasos fueron tapados utilizando tapas de poliestireno expandido, con un tamaño equivalente al diámetro de cada vaso de precipitado, perforadas y provistas de mangueras que favorecieron el ingreso de oxígeno hacia el seno de la fase del lodo. El montaje para la aplicación del pre-tratamiento térmico se muestra en la Figura 6.

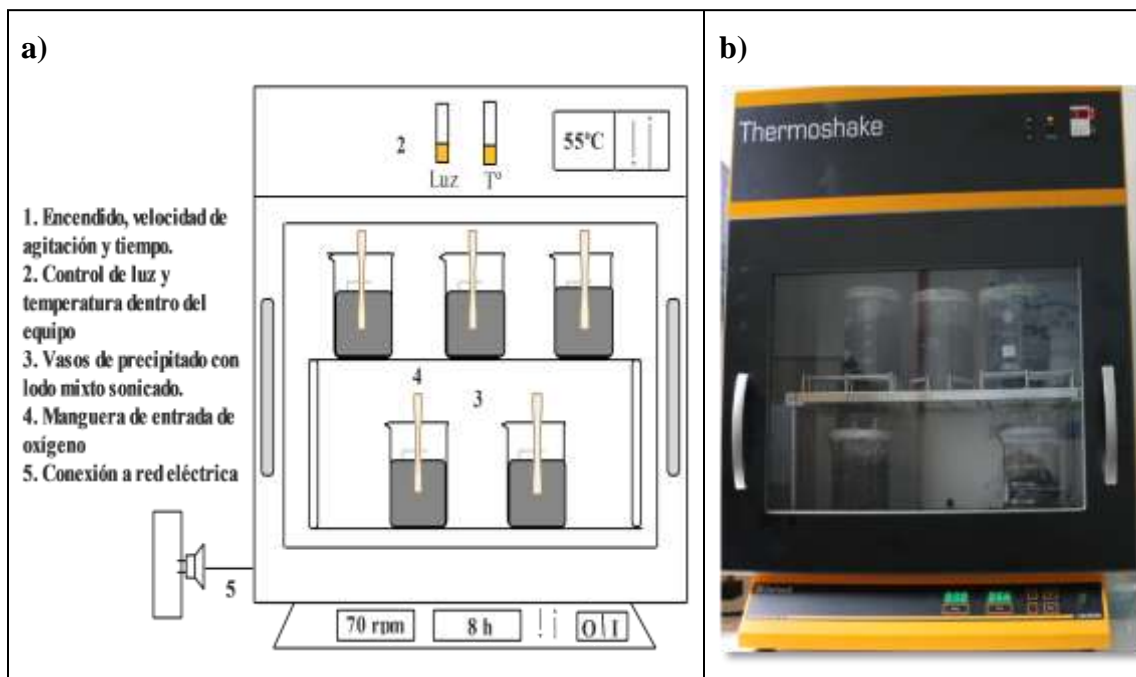


Figura 6. Configuración sistema de pre-tratamiento térmico. a) Esquema del sistema y b) Montaje del pre-tratamiento

El efecto de solubilización de materia orgánica a causa del pre-tratamiento, se evaluó mediante la determinación de la demanda química de oxígeno total (DQOt) y soluble (DQOs). El porcentaje de solubilización representa el incremento de la DQOs por efecto del pre-tratamiento sobre la DQOt medida en la muestra (Wei y col., 2003), siguiendo la siguiente ecuación:

$$f(\%) = \frac{DQO_{spt} - (DQOs)_{t=0}}{(DQOt)_{t=0} - (DQOs)_{t=0}}$$

f (%): Factor de incremento de DQOs por efecto del pre-tratamiento; DQO_{spt} : Demanda química de oxígeno soluble de la muestra después del pre-tratamiento; $(DQOs)_{t=0}$: Demanda química de oxígeno soluble de la muestra antes del pre-tratamiento; $(DQOt)_{t=0}$: Demanda química de oxígeno total de la muestra antes del pre-tratamiento.

3.2.2 Montaje de reactores anaeróbicos

El estudio comparativo del desempeño de la DA, se llevó a cabo mediante la instalación de dos reactores cilíndricos de acrílico, uno alimentado con lodo pre-tratado de forma secuencial (RPT) y otro alimentado con lodo sin pre-tratamiento (RC) como sistema control. El volumen total y de reacción efectivo de ambos reactores fue de 9 y 6 L, respectivamente. Además ambos fueron cerrados herméticamente con una tapa provista de goma, tornillos y tuercas, permitiendo mantener condiciones anaeróbicas (Figura 7). Ambos reactores poseen una chaqueta calefactora externa, que rodea la zona de digestión, por la cual recirculó agua proveniente de un baño Julabo (F12-ED) de temperatura controlada y provisto de una bomba de recirculación. La temperatura del baño, se mantuvo a 38°C durante todo el período de estudio.

Ambos reactores, fueron equipados con una manguera ubicada en la tapa, la cual conectó al exterior con el seno del licor de mezcla, la que permitió extraer el lodo digerido e inyectar la alimentación. La extracción de lodo de salida y la alimentación diaria fue realizada en forma manual con una jeringa de 60 mL.

En la tapa de ambos reactores se instaló una manguera de salida para el biogás. El biogás fue cuantificado mediante un sistema de desplazamiento volumétrico de líquido consistente en dos columnas de vidrio conectadas de manera directa en su parte inferior y mediante una válvula hidráulica (tubo en forma de J) en su zona central, de acuerdo a lo propuesto por Veiga y col. (1990). Al alcanzar cierto volumen de biogás producido, el líquido desplazado permite la conexión entre ambas columnas por medio de la válvula hidráulica, momento en el cual se cierra un circuito eléctrico consistente

en dos electrodos de cobre y se genera una señal que es registrada en forma automática mediante un contador digital.

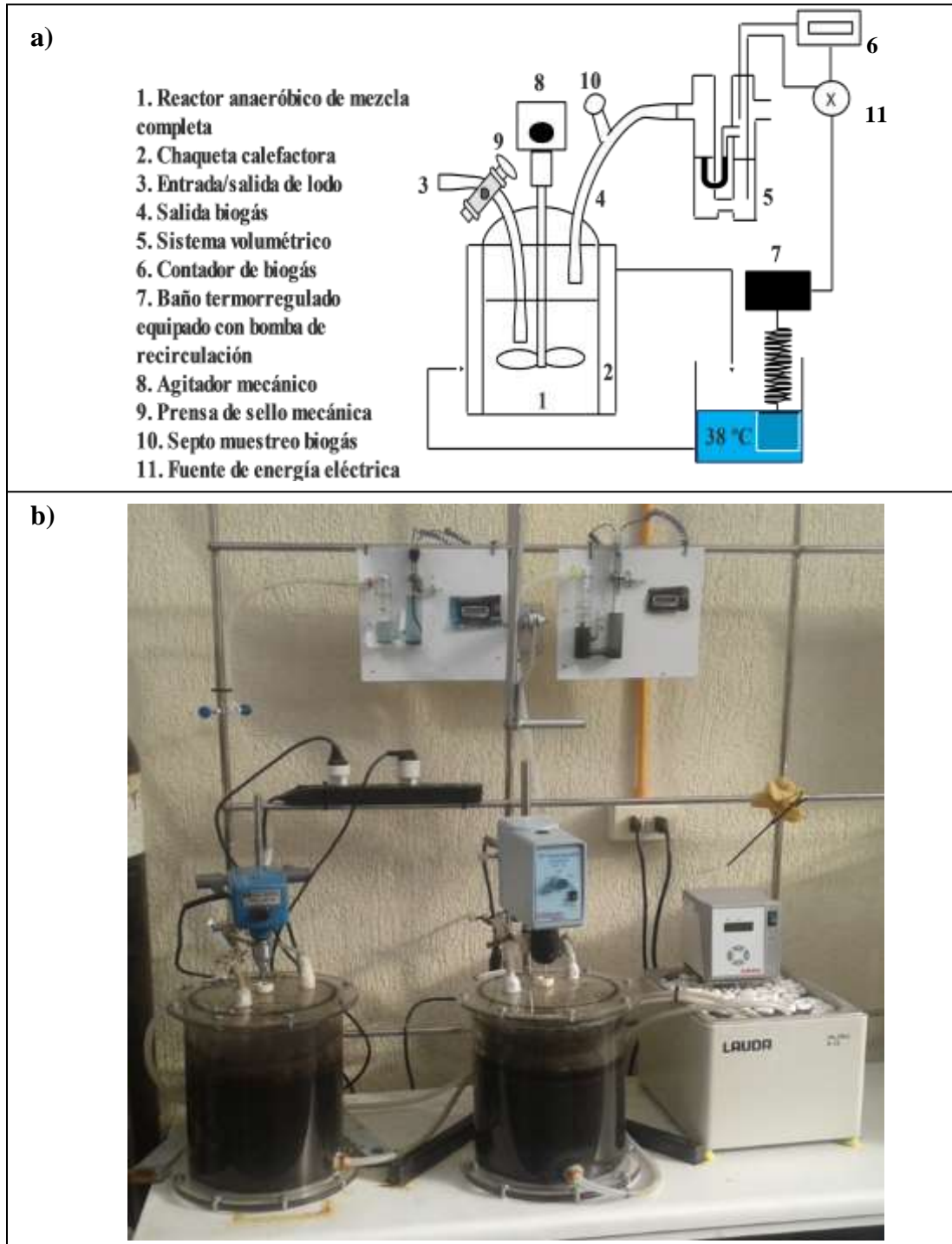


Figura 7. Configuración del sistema de digestión anaeróbica. a) Esquema del sistema y b) Montaje de ambos reactores: izquierda (RC) y derecha (RPT).

Entre la salida del gas desde los reactores y el sistema de cuantificación, se instaló un septo, con el objetivo de extraer muestras de biogás para determinar la composición de este en términos de concentración de CH₄ y CO₂.

Para favorecer la mezcla completa del medio de reacción en cada reactor, se montó un agitador mecánico con impeler en cada uno, IKA-WERK (RW 14 H) y EQUILAB (Stuart-Scientific), los cuales fueron programados a 100 ± 10 rpm.

3.2.3 Inóculo

El inóculo bacteriano anaeróbico fue extraído desde la recirculación interna de la unidad de DA de lodos de la PTAS. El volumen inoculado a ambos reactores al inicio de la operación correspondió al volumen de operación efectiva equivalente a 6 L.

3.2.4 Puesta en marcha de los reactores

Posterior al montaje e inóculo de los reactores, se procedió a la etapa de puesta en marcha, para lo cual se procedió a alimentar en forma diaria un reactor con lodo mixto, reactor control (RC) y el otro con lodo pre-tratado, denominado reactor con pre-tratamiento (RPT). La puesta en marcha fue llevada a cabo con TRS variables entre 100 y 40 días (d), con el fin de lograr una aclimatación progresiva de los microorganismos anaerobios. Este período, finalizó al momento de observar la estabilidad en ambos sistemas en términos de transformación de materia orgánica y producción de biogás.

3.2.5 Operación de los reactores

El estudio del desempeño operacional de ambos reactores se llevó a cabo en tres etapas correspondientes a TRS de 30, 15 y 7,5 d, respectivamente. En la Tabla 1, se resumen las condiciones de operación del sistema durante el período experimental.

Tabla 1. Estrategia operacional de ambos reactores anaeróbicos

		TRS (d)			
		100 - 40	30	15	7,5
Duración (d)		96	94	84	12
VCO (gSV/L·d)	RC	0,63 ± 0,19	0,88 ± 0,15	2,07 ± 0,75	4,88 ± 0,00
	RPT	0,63 ± 0,19	0,88 ± 0,14	2,01 ± 0,72	4,15 ± 0,00

VCO: Velocidad de carga orgánica, RC: Reactor control y RPT: Reactor con pre-tratamiento.

3.2.6 Monitoreo de los parámetros operacionales y desempeño de los reactores

A lo largo del período de puesta en marcha y operación se determinaron diferentes características físico-químicas tanto al: lodo crudo (LC) y lodo pre-tratado después de US e incubación (LUS y LINC, respectivamente), como al lodo de salida del RC y RPT.

Tales parámetros involucraron la medición de pH, conductividad, AGVs y N-NH₄⁺, y fueron determinados cada vez que se caracterizó una muestra nueva proveniente de la PTAS y posterior al pre-tratamiento. En tanto, para el lodo de salida de los reactores, se determinó el pH en forma diaria, mientras que la conductividad, potencial de óxido reducción (POR), AGVs, alcalinidad y N-NH₄⁺, fueron determinados una vez por semana. La concentración de AGVs totales se reportó en función de DQO considerando el número de moles de oxígeno necesario para transformar cada uno de los ácidos grasos en CO₂ y H₂O, a través de la relación estequiométrica de la reacción de oxidación.

El desempeño operacional en términos de transformación de materia orgánica y sólidos se evaluó comparativamente mediante determinaciones como DQOt, DQOs, ST y SV presentados por el lodo de salida con respecto a las concentraciones presentadas por la alimentación de cada uno de los reactores. Tales determinaciones se realizaron dos veces por semana.

El porcentaje de CH₄ en el biogás se determinó una vez por semana, con el objetivo de calcular el volumen diario de CH₄ producido en ambos reactores, a través de la siguiente fórmula:

$$V_{\text{CH}_4} \left(\frac{\text{mL}}{\text{d}} \right) = \frac{V_B \left(\frac{\text{mL}}{\text{d}} \right) \cdot \% \text{CH}_4_B}{100}$$

V_{CH_4} : Volumen diario de CH_4 producido, V_B : Volumen diario de biogás producido y $\% \text{CH}_4_B$: Porcentaje de CH_4 en biogás.

3.2.7 Balance de materia orgánica

El balance de materia se realizó con respecto al flujo másico de DQOt a la entrada del sistema global (LC) y salida en forma del efluente de lodo de cada reactor. En tanto, el volumen de CH_4 teórico fue expresado en equivalentes de DQO, asumiendo una temperatura normalizada de 20°C correspondiente a la temperatura promedio del agua en el sistema de desplazamiento volumétrico para la cuantificación del biogás. El factor de conversión utilizado para transformar el volumen de CH_4 a equivalente de DQO, se calculó según la siguiente fórmula (Soto y col., 1993):

$$\text{FC} = \frac{350 \cdot (273 + T)}{273}$$

FC: Factor de conversión y T: Temperatura promedio de agua en sistema de cuantificación de biogás.

En consecuencia, FC corresponde al volumen de CH_4 seco (mL) equivalente a 1 gDQO.

3.2.8 Deshidratabilidad de lodos digeridos

La capacidad de deshidratado, se evaluó mediante una técnica de centrifugabilidad propuesta por el Departamento de Ingeniería Química y Tecnología de Medio Ambiente de la Universidad de Valladolid (DIQ y T.M.A., 2009). Las pruebas, fueron realizadas a diferentes tiempos de centrifugación de las muestras de lodo de salida de ambos reactores, mediante una centrífuga Sigma (2-6E), programada a 3900 rpm durante 3 y 10 min con el objetivo de determinar el porcentaje de líquido y sólido separado respecto de la masa total centrifugada ML y MS, respectivamente. La técnica

involucra la determinación de los sólidos suspendidos totales (SST) de la muestra de lodo, para lo que se utilizó el procedimiento propuesto Standard Methods (APHA, 2005). A continuación se detallan las fórmulas utilizadas para el cálculo de ML y MS:

$$ML (\%) = \frac{ML}{MF} \cdot 100$$

$$MS (\%) = \frac{(V_0 \cdot ST) - (V_L \cdot SST)}{V_0 \cdot ST}$$

ML: Masa del líquido sobrenadante posterior a centrifugación, MF: Masa total de lodo previo a centrifugación, Vo: Volumen inicial de lodo previo a centrifugación, ST: Concentración de sólidos totales, VL: Volumen del líquido sobrenadante posterior a centrifugación y SST: Sólidos suspendidos totales del sobrenadante posterior a centrifugación.

3.2.9 Estado de la materia orgánica dentro de los reactores

Con el objetivo de conocer el efecto del pre-tratamiento sobre las diferentes reacciones de la DA, se calcularon los porcentajes de hidrólisis, acidogénesis y metanogénesis, H, A y M, respectivamente mediante las siguientes ecuaciones: (El-Mashad y col., 2004):

$$H (\%) = \left(\frac{CH_4 \text{ como DQO} + DQOs \text{ E}}{DQOt \text{ I}} \right) \cdot 100$$

$$A (\%) = \left(\frac{CH_4 \text{ como DQO} + AGV \text{ E como DQO}}{DQOt \text{ I}} \right) \cdot 100$$

$$M (\%) = \left(\frac{CH_4 \text{ como DQO}}{DQOt \text{ I}} \right) \cdot 100$$

DQOs E: Demanda química de oxígeno soluble del efluente, DQOt I: Demanda química de oxígeno total del influente y AGV E: Concentración de ácidos grasos totales en efluente expresados como equivalentes de DQO.

3.3 Determinación de actividades microbiológicas

Para conocer el efecto que ejerció el pre-tratamiento sobre la actividad de los principales grupos metabólicos presentes durante la DA, se determinaron las actividades específicas hidrolítica, acidogénica y metanogénica de ambos reactores para las dos primeras etapas operacionales, correspondientes a TRS de 30 y 15 días, respectivamente. Todos los test fueron desarrollados en triplicado y los protocolos descritos por Soto y col. (1993) y Regueiro y col. (2012) fueron tomados como referencia.

3.3.1 Actividad hidrolítica

El ensayo consiste en determinar la velocidad máxima de consumo de un sustrato complejo (almidón) y se expresa en términos de gDQO de almidón consumidos por día por una población específica de microorganismos (en gSV). Para ello, se utilizaron botellas ámbar a las cuales se adicionó un volumen de lodo necesario para alcanzar una concentración de 1,5 gSV/L. El ensayo se llevó a cabo por triplicado más un blanco (sin inóculo de lodo), para cada reactor. El volumen de reacción total fue de 100 mL. Luego se adicionó 10 mL de una solución de nutrientes [NH_4Cl (2,8 g/L); KH_2PO_4 (2,5 g/L); $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ (0,1 g/L); CaCl_2 (0,076 g/L); NaHCO_3 (4 g/L)], 0,5 g de NaHCO_3 (5 g/L) y se completó a 100 mL con agua destilada. Luego, se infundió N_2 durante 30-45 s, con el objetivo de desplazar todo el oxígeno de cada botella y se sellaron para lograr mantener las condiciones anaeróbicas óptimas para la digestión. A continuación, las botellas se llevaron a un agitador orbital con control de temperatura y tiempo, Thermoshake (Gerhardt THO 500), programado a 100 rpm.

Al inicio del ensayo se añadió una solución stock de almidón previamente preparada, de manera que su concentración inicial fuera de alrededor de 1,5 gDQO/L. La concentración de almidón fue estimada como la diferencia entre la concentración de carbohidratos totales determinados mediante el método de Dubois (Dubois y col., 1956) y azúcares reductores determinados mediante el método del ácido dinitrosalicílico (DNS), y fue determinada 3 veces durante las primeras 9 h de ensayo y una cuarta vez a las 24 h desde el inicio.

3.3.2 Actividad acidogénica

El método está basado en el consumo de un sustrato intermedio, en este caso glucosa. La metodología utilizada para el monitoreo de la desaparición del sustrato fue la propuesta por Hutňan y col. (1999), denominado DNS. El ensayo se llevó a cabo por triplicado más un blanco (sin inóculo de lodo), para cada reactor. El procedimiento fue el mismo que el utilizado para la determinación de la actividad hidrolítica, sólo que el sustrato que se agregó a cada botella (luego de haber terminado la producción de biogás), fue 1,5 mL de una solución de glucosa previamente preparada (100 gDQO/L).

La medición de azúcares reductores se realizó al inicio del ensayo y cada 3 h durante las primeras 9 h (después de iniciado el ensayo). Luego se procedió a medir a las 24 h. Las muestras fueron analizadas sin filtrar y de manera inmediata posterior al muestreo.

3.3.3 Actividad metanogénica

El ensayo fue realizado en condiciones batch utilizando botellas ámbar de 100 mL. El volumen de reacción efectiva fue de 70 mL, para lo cual se inoculó un volumen tal de lodo procedente de ambos reactores, alcanzando una concentración de 1,5 gSV/L. Luego se adicionaron 7 mL de una solución de nutrientes (misma composición de la utilizada para la actividad hidrolítica y acidogénica) y 0,35 g de NaHCO_3 , completando al volumen efectivo con agua destilada. La condición anaeróbica se logró mediante infusión de N_2 a cada botella, durante 30-45 s. Posteriormente, las botellas se llevaron a incubación (37°C) y agitación (100 rpm) y se añadió 0,6 mL de solución de AGV (190 gDQO/L), consistente en: 9,5 mL de ácido acético, 2,5 mL de ácido propiónico y 2,5 mL de ácido butírico en 100 mL, obteniendo una relación $\text{C1:C2:C3} = 2:0,5:0,5$ (Soto y col., 1993).

La determinación de la producción de biogás y de CH_4 fue realizada por monitoreo del incremento de la presión mediante la ecuación de los gases ideales y cromatografía de gas, respectivamente. El ensayo fue realizado por triplicado más un blanco (sin sustrato) para cada reactor. La medición de biogás y CH_4 , fue realizada a las

primeras 24 h (posterior al inicio) y luego cada 2 o 3 d, hasta que la presión se mantuvo constante.

3.4 Métodos analíticos

La determinación de pH, conductividad y POR, se realizó mediante el uso de un instrumento multi paramétrico portátil OAKTON (PC650).

La determinación de la capacidad tampón del medio se realizó mediante la medición de la alcalinidad intermedia (AI) producto de la diferencia entre la alcalinidad total (AT) y parcial (AP). El método utilizado correspondió a la valoración de 20 mL de muestra de lodo con H₂SO₄ de concentración 0,5 N, hasta alcanzar un pH de 5,75 equivalente a AP, seguido de la continuación de valoración hasta alcanzar un pH de 4,3 correspondiente a AT. La metodología que se siguió para la determinación de la alcalinidad fue la propuesta en Standard Methods (APHA, 2005). La medida del pH correspondiente a la titulación, se realizó con un electrodo compuesto de vidrio y otro de referencia de calomelano saturado con cloruro de potasio, conectado a un peachímetro Hanna (HI255), equipado con sensor de temperatura.

La determinación de AGVs, se realizó con un Cromatógrafo de gas Shimadzu (GC 2014), con detector dual FID/TCD y provisto de un muestreador automático AOC 20i. La separación cromatográfica, se realizó con una columna Stabilwax-DA (0,25 µm de espesor y fase estacionaria x 30 m x 0,32 mm de diámetro interno). La temperatura del horno era inicialmente 90°C (2 min) y programada a 10°C/min hasta 120°C (4 min). La temperatura del inyector fue de 250°C. El gas portador utilizado fue nitrógeno (pureza > 99,9%) a un flujo constante de 3 mL/min. La temperatura del FID fue de 250°C. El procedimiento involucró primero, la obtención de la fase soluble de todas las muestras mediante centrifugación de 14 mL de lodo en una centrífuga Sigma (2-6E), programada a 3900 rpm por 5 min. Luego, se procedió a realizar una filtración seriada del sobrenadante mediante filtros de tamaño de poro 1,5, 0,7 y 0,22 µm, respectivamente, seguido de la inyección de 1 µL de muestra en el cromatógrafo.

Respecto a la determinación de N-NH₄⁺, se utilizó el kit comercial Test Amonio Spectroquant[®], de la empresa Merck. El principio se basa en el desarrollo de una

reacción colorimétrica. La determinación del color se realizó en un Espectrofotómetro UV-VIS Spectroquant (Nova 60/Merck).

El procedimiento para la determinación de DQOt y DQOs, fue el propuesto por Standard Methods (APHA, 2005) correspondiente al método colorimétrico de reflujo cerrado 5220-D. La reacción para la obtención del color se llevó a cabo en un termoreactor Hach (45600-00). Ambas DQO fueron determinadas por absorbancia a 600 nm usando un Espectrofotómetro UV-VIS Shimadzu (UV-1800). En tanto, la obtención de la fase soluble de las muestras para la determinación de DQOs, consistió en la centrifugación de las muestras de lodo a 3900 rpm durante 5 min, seguido de una filtración seriada del sobrenadante por filtros de tamaño de poro 1,5 y 0,7, respectivamente.

Las técnicas utilizadas para la determinación de ST y SV, correspondieron a los procedimientos propuestos en Standard Methods (APHA, 2005). La masa fue determinada en una balanza analítica Precisa (XB 120A). La determinación de ST, consistió en el secado de la muestra usando una estufa Memmert (54 L) programada a 105 °C durante 24 h. Luego, para la determinación de SV, la muestra seca se expuso a 550 °C durante 1 h en una mufla JSR (JSMF-30T).

El porcentaje de CH₄ producido en los reactores, fue determinado en un cromatógrafo de gas Shimadzu (GC-2014), con detector de conductividad térmica (TCD). La separación cromatográfica, se realizó con una columna 60/80 carboxen 1000 (4,6 m x 1/8 in x 2,10 mm de diámetro interno). La temperatura del inyector y TCD fue 200°C. El gas portador utilizado fue nitrógeno (pureza > 99,9%). La temperatura del horno fue 170°C y se inyectó 0,2 mL de muestra.

El análisis de concentración de carbohidratos totales mediante el método de Dubois, consistió en añadir a un tubo: 0,8 mL de muestra de lodo diluida (FD=2,5) y 0,02 mL de fenol (80%), previamente preparado. Luego, se agitaron los tubos en vortex y se dejaron reposar tapados durante 30 min. Finalmente, se procedió a determinar la concentración mediante absorbancia a 490 nm usando el Espectrofotómetro UV-VIS Shimadzu (UV-1800).

En tanto, análisis de concentración de azúcares reductores mediante el método DNS, consistió en añadir a un tubo de 20 mL: 1 mL de muestra de lodo diluida (FD=40) y 2 mL de reactivo DNS (solución de ácido 3,5 – dinitrosalicílico al 0,044 M). Se agitaron los tubos en vortex, y luego se calentaron con agua hirviendo durante 5 min. Luego, se enfriaron rápidamente y se completaron a 20 mL con agua destilada. Finalmente, se dio paso a la determinación de la concentración mediante absorbancia a 540 nm usando el Espectrofotómetro UV-VIS Shimadzu (UV-1800).

3.5 Análisis estadístico

Los datos se analizaron mediante el software estadístico InfoStat versión 2008. El análisis descriptivo se realizó a través de tablas de frecuencia, gráficos y medidas de resumen de tendencia central. Se realizó estadística inferencial para contrastar hipótesis en dos poblaciones relacionadas para lo cual se utilizó la prueba t apareada para variables que cumplieran con criterio de normalidad según prueba de Shapiro-Wilks. Para los datos que no cumplieron el criterio de normalidad se aplicó prueba no paramétrica para variables apareadas, Wilcoxon. Todos los análisis se realizaron con un nivel de confianza de 95%.

4 RESULTADOS

4.1 Caracterización de las muestras de lodo

En la Tabla 2, se muestra la caracterización físico-química de LC, LUS y LINC antes de la DA. En relación al pH cabe destacar que el LC, LUS y LINC presentaron valores promedios de $5,83 \pm 0,33$, $5,80 \pm 0,22$ y $5,85 \pm 0,25$. El pH de LC exhibió la mayor desviación estándar respecto al promedio equivalente a un 6% comparado con LUS y LINC los que arrojaron desviaciones de 4 y 2%, respectivamente.

En tanto, la materia orgánica expresada como DQOt el LC, LUS y LINC presentaron valores promedios equivalentes a $56,0 \pm 12,3$, $57,6 \pm 13,9$ y $61,9 \pm 15,3$ g/L con variaciones respecto al promedio equivalentes a 22, 24 y 25%, respectivamente. Lo anterior coincide con las desviaciones estándar presentadas por las concentraciones de SV equivalentes a un 25% del promedio aproximadamente para los tres lodos. Por otra parte, la DQOs presentó valores que aumentaron posterior a cada nivel de pre-tratamiento en rangos de 1,3-5,9, 2,4-9,7 y 4,7-11,4 g/L para LC, LUS y LINC, respectivamente. El factor de solubilización de DQO para el LUS y LINC alcanzó un promedio equivalente a $6,32 \pm 1,84\%$ y $8,80 \pm 3,02\%$, respectivamente. En adición, el grado de solubilización de DQO obtenido como resultado de la razón entre DQOs y DQOt en porcentaje, para el LC y LINC alcanzó valores de 4,5 y 15%, respectivamente.

Los AGVs expresados como gramos equivalentes de DQO, denotan valores promedios de $0,98 \pm 0,28$, $1,00 \pm 0,16$ y $0,97 \pm 0,13$ gDQO/L, para el LC, LUS y LINC, respectivamente, siendo el LC el que presenta la mayor desviación con respecto a su promedio, cercana a un 30%, en contraste el LUS y LINC, presentan desviaciones de un 20 y 15%, aproximadamente.

La determinación de N-NH₄, entregó valores promedios comprendidos entre 0,29 y 0,55 g/L para LC y LINC, respectivamente. Sin embargo, este parámetro fue el que entregó mayores desviaciones estándar con respecto al promedio, con valores que alcanzaron un 60 y 80%, respectivamente. Sin embargo, el LUS presentó una variación equivalente a un 47% respecto al promedio obtenido durante todo el período experimental.

En la Figura 8, se muestra la VCO con la que se operó cada uno de los reactores en las 4 diferentes etapas. Si bien el TRS se mantuvo constante durante las etapas operacionales, la carga varió debido a que las muestras de lodo presentaron variabilidad en términos de concentración de sólidos (ST y SV).

Tabla 2. Caracterización físico-química del lodo sin y con pre-tratamiento antes de digestión anaeróbica.

Parámetro ^N	Unidad	Rango			Promedio		
		LC	LUS	LINC	LC	LUS	LINC
pH ¹⁶	-	5,10 - 6,45	5,23 - 6,19	5,19 - 6,20	5,83 ± 0,33	5,80 ± 0,22	5,85 ± 0,25
Conductividad ¹⁶	mS/cm	0,68 - 2,90	1,00 - 2,96	1,19 - 3,78	1,70 ± 0,55	1,98 ± 0,51	2,77 ± 0,65
DQOt ³⁵	g/L	37,8 - 80,5	42,5 - 92,0	42,7 - 103,2	56,0 ± 12,3	57,6 ± 13,9	61,9 ± 15,3
DQOs ³⁵	g/L	1,3 - 5,9	2,4 - 9,7	4,7 - 11,4	2,5 ± 1,0	5,4 ± 1,7	7,1 ± 1,8
Sólidos Totales ²⁸	g/L	25,1 - 65,9	26,8 - 65,2	24,4 - 62,5	42,9 ± 11,5	42,4 ± 11,8	42,1 ± 10,6
Sólidos Volátiles ²⁸	g/L	19,9 - 51,7	21,5 - 47,1	19,5 - 47,7	31,3 ± 7,9	31,3 ± 7,7	30,9 ± 7,1
Acido acético ¹²	g/L	0,09 - 0,67	0,09 - 0,31	0,08 - 0,36	0,22 ± 0,17	0,21 ± 0,08	0,20 ± 0,09
Acido propiónico ¹²	g/L	0,25 - 0,51	0,26 - 0,41	0,26 - 0,40	0,33 ± 0,08	0,35 ± 0,07	0,35 ± 0,05
Acido butírico ¹²	g/L	0,06 - 0,15	0,06 - 0,12	0,06 - 0,11	0,09 ± 0,03	0,09 ± 0,02	0,09 ± 0,02
Acido N-valérico ¹²	g/L	0,03 - 0,10	0,03 - 0,06	0,03 - 0,05	0,04 ± 0,02	0,05 ± 0,01	0,04 ± 0,01
AGVtotal	gDQO/L	0,69 - 1,77	0,70 - 1,20	0,73 - 1,08	0,98 ± 0,28	1,00 ± 0,16	0,97 ± 0,13
N-NH ₄ ⁺ ¹⁸	g/L	0,16 - 0,71	0,21 - 0,76	0,27 - 1,74	0,29 ± 0,17	0,30 ± 0,14	0,55 ± 0,44

N: Número de determinaciones realizadas, LC: Lodo crudo, LUS: Lodo ultrasonificado y LINC: Lodo incubado.

En el período de puesta en marcha la VCO varió entre 0,36-1,13 y 0,35-1,14 gSV/L·d para RC y RPT, respectivamente.

En la etapa de operación con TRS de 30 d, la VCO varió entre 0,66-1,33 y 0,65-1,31 para RC y RPT, respectivamente, experimentando una desviación equivalente a un 17% con respecto al promedio, en ambos reactores. Para la siguiente etapa en que se operó con un TRS fijo de 15 d, la VCO promedio comprendida entre los días 191-227 de operación alcanzó valores equivalentes a $2,82\pm 0,25$ y $2,74\pm 0,24$ gSV/L·d para RC y RPT, respectivamente.

Sin embargo, y como se discutirá en las siguientes secciones, desde el día 218 de operación, los reactores comenzaron a presentar señales propias de una inhibición parcial de la biomasa responsable de transformar la materia orgánica, por lo que desde el día 228 se decidió diluir la concentración de alimentación, con el objetivo de recuperar la actividad de los microorganismos.

En la etapa operada con TRS de 7,5 d se operó con una VCO de 4,88 y 4,15 gSV/L·d correspondiente a RC y RPT, respectivamente.

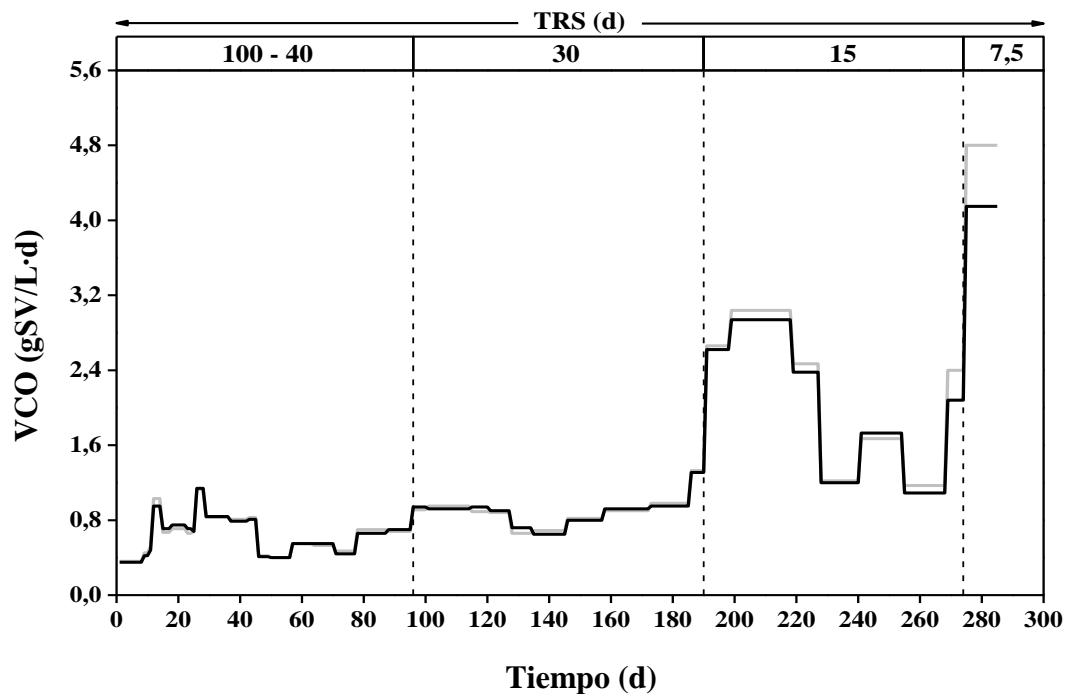


Figura 8. Etapas de operación y velocidad de carga orgánica. — RC y — RPT.

En la Figura 9, se presentan los resultados de las concentraciones tanto de DQO, sólidos y N-NH_4^+ para el LC, LUS y LINC.

En el período de puesta en marcha operado con TRS variable entre 100 y 40 d, se registró una concentración de DQOt en rangos entre 44-81, 49-92 y 49-103 g/L presentada por el LC, LUS y LINC. En efecto, durante la etapa de operación con TRS de 30 d, los promedios obtenidos fueron de 47, 51 y 53 g/L para LC, LUS y LINC, respectivamente. En tanto, durante la etapa de operación con TRS de 15 d, la concentración de DQOt de LC, LUS y LINC, fluctuaron entre 51-76, 50-80 y 47-81 g/L, respectivamente y cuyos promedios aumentaron aproximadamente un 30% con respecto a los presentados en la etapa de operación con TRS de 30 d. La concentración de DQOs se muestra en la Figura 9a.

En la Figura 9b se muestra que la concentración de ST fluctuó entre 24 y 65 g/L alcanzando un valor promedio de 42 g/L aproximadamente para los tres tipos de lodos. La concentración de SV, fluctuó entre 20 a 50 g/L, con un promedio equivalente a 30 g/L.

En la Figura 9c se muestra la concentración de N-NH_4^+ para los tres tipos de lodos antes de la DA. Entre los días 18 y 197 de operación las concentraciones alcanzaron valores promedios de $0,21 \pm 0,03$, $0,26 \pm 0,05$ y $0,38 \pm 0,11$ g/L para LC, LUS y LINC, respectivamente. Sin embargo, la siguiente muestra de lodo presentó un promedio equivalente a $0,70 \pm 0,01$, $0,76 \pm 0,00$ y $1,71 \pm 0,04$ g/L, aumentando 3, 3 y 5 veces para el LC, LUS y LINC, respectivamente. Tales incrementos coinciden con el evento de inhibición parcial ocurrido durante el período antes descrito y que será discutido en las siguientes secciones. Luego desde el día 239, las concentraciones promedio de las muestras disminuyeron hasta $0,34 \pm 0,16$, $0,31 \pm 0,10$ y $0,54 \pm 0,16$ para LC, LUS y LINC, respectivamente.

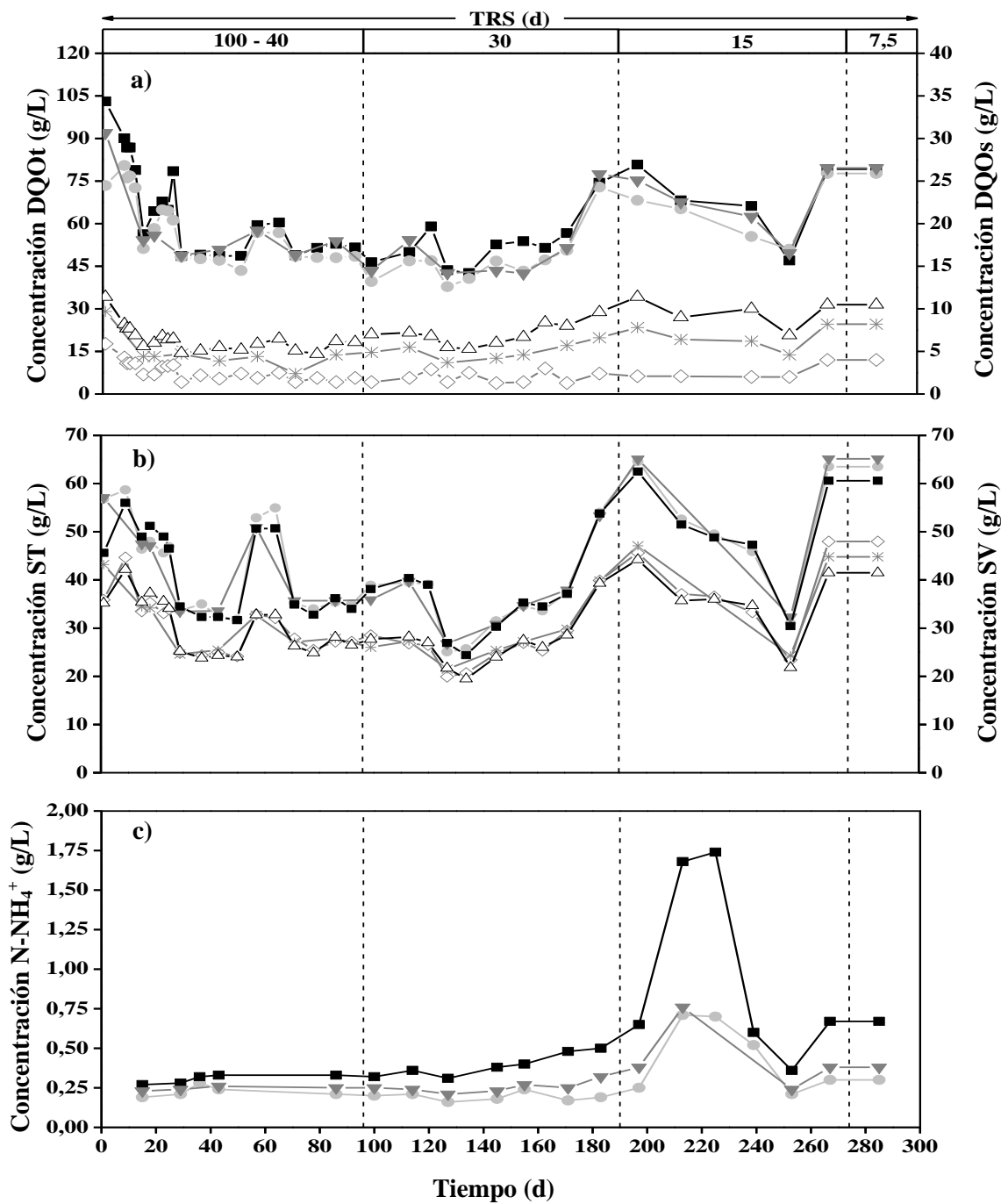


Figura 9. Caracterización físico-química de lodo sin y con pre-tratamiento. Concentración a) Demanda química de oxígeno total (●) LC, (▼) LUS, (■) LINC y Demanda química de oxígeno soluble (◇) LC, (*) LUS, (△) LINC; b) Sólidos totales (●) LC, (▼) LUS, (■) LINC y Sólidos volátiles (◇) LC, (*) LUS y (△) LINC; c) N-NH₄⁺ (●) LC, (▼) LUS, (■) LINC.

4.2 Operación reactores anaeróbicos

4.2.1 Parámetros operacionales

En la Figura 10, se presentan los resultados de pH del sistema de DA monitoreado durante todo el proceso experimental.

El pH presentado durante el período de puesta en marcha se mantuvo entre 6,9-7,8. Durante las tres etapas de operación, los valores promedios fueron de $7,35\pm 0,03$ y $7,36\pm 0,02$, para RC y RPT, respectivamente. En tanto para el período de inhibición parcial, presentado durante la tercera etapa operada con TRS de 15 d, el cual abarcó desde el día 213 hasta 246, se observó un aumento en el pH del RC entre los días 213-220 alcanzando un valor equivalente a $7,60\pm 0,2$, mientras que el RPT presentó un valor de $7,43\pm 0,3$ para el mismo período, alcanzando valores máximos equivalentes a 7,84 para ambos reactores. Sin embargo, entre los días 220 y 246, se observó una disminución del valor del pH, el cual alcanzó un valor mínimo de 7,06 y 7,10 para RC y RPT, respectivamente. Para la etapa con TRS de 7,5 d, se presentaron valores en intervalos entre 7,2-7,5 y 7,0-7,6 con valores promedios de $7,4\pm 0,1$ y $7,3\pm 0,2$, para RC y RPT, respectivamente.

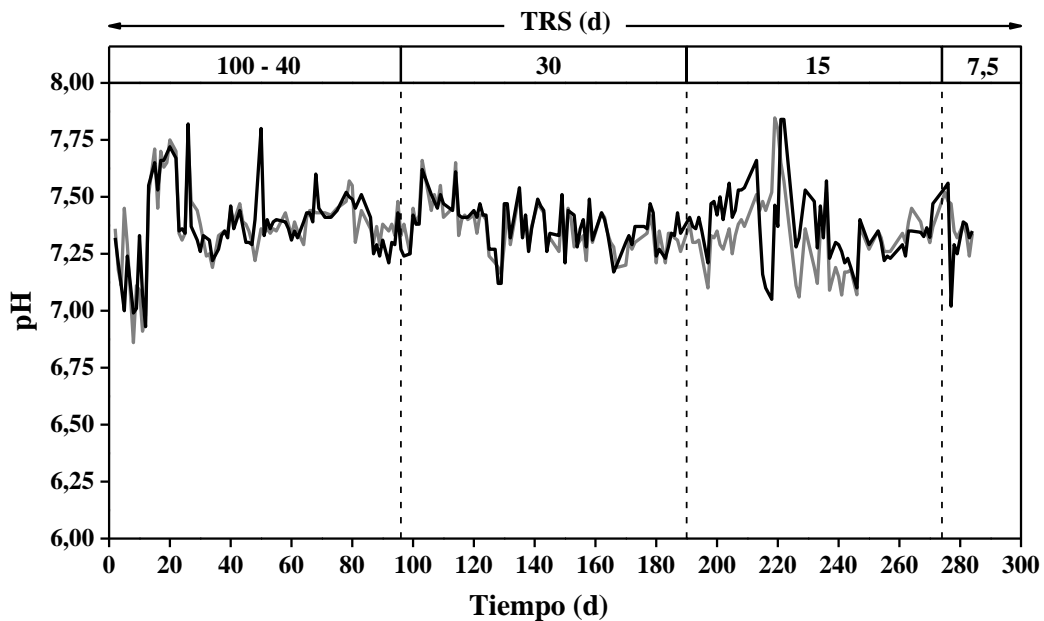


Figura 10. Monitoreo de pH en reactores anaeróbicos. — RC y — RPT.

La Figura 11, ilustra las condiciones anaeróbicas en las que operaban ambos sistemas de digestión mediante la determinación del potencial de óxido-reducción (POR). Ambos reactores operaron a potenciales negativos durante toda la etapa de operación con una tendencia de -361 a -212 y -354 a -211 mV para RC y RPT, respectivamente.

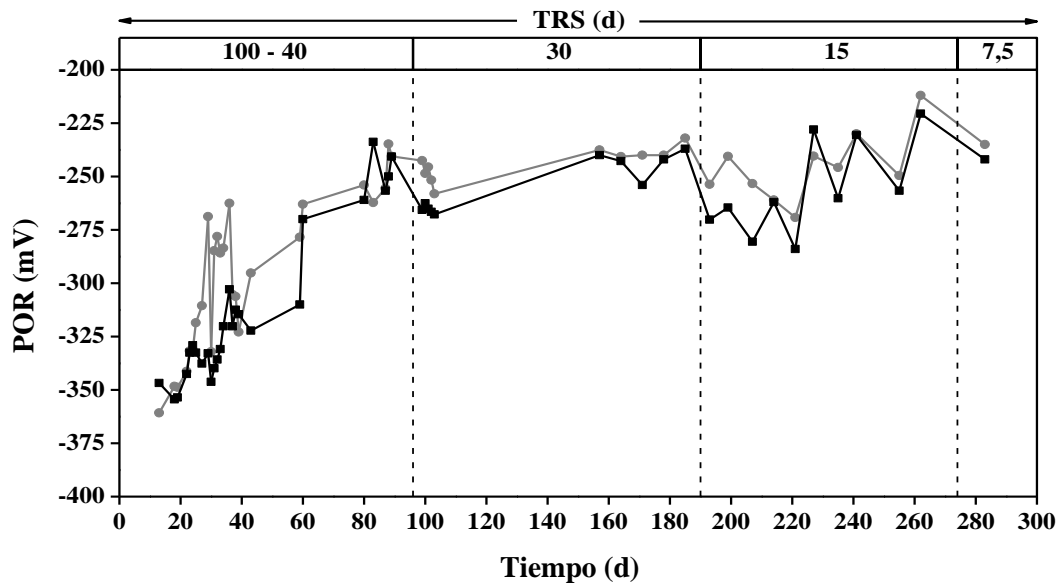


Figura 11. Potencial de óxido-reducción en reactores anaeróbicos. ● RC y ■ RPT.

En la Figura 12 se ilustra la concentración de $N-NH_4^+$ en el efluente de cada uno de los reactores, valores promedios para cada etapa indicaron fluctuaciones entre 0,8-1,4 y 0,7-1,5 g/L, para RC y RPT durante las cuatro etapas de operación. Durante la etapa con TRS de 30 d se alcanzaron concentraciones promedios de $0,9 \pm 0,1$ y $1,0 \pm 0,1$ g/L en RC y RPT, respectivamente, mientras que en la etapa con TRS de 15 d, las concentraciones promedios alcanzaron los $1,1 \pm 0,1$ y $1,2 \pm 0,2$ g/L, respectivamente. En tanto para la etapa de operación con TRS de 7,5 d se registraron concentraciones promedios de $0,96 \pm 0,02$ y $1,06 \pm 0,02$ g/L en RC y RPT, respectivamente. Durante el intervalo de tiempo en que se observó la inhibición, entre los días 214-240 se registraron

concentraciones entre 1,4-3,1 y 1,8-3,1 g/L, alcanzando valores promedios equivalentes a $2,5\pm 0,5$ y $2,5\pm 0,4$ g/L, en RC y RPT, respectivamente.

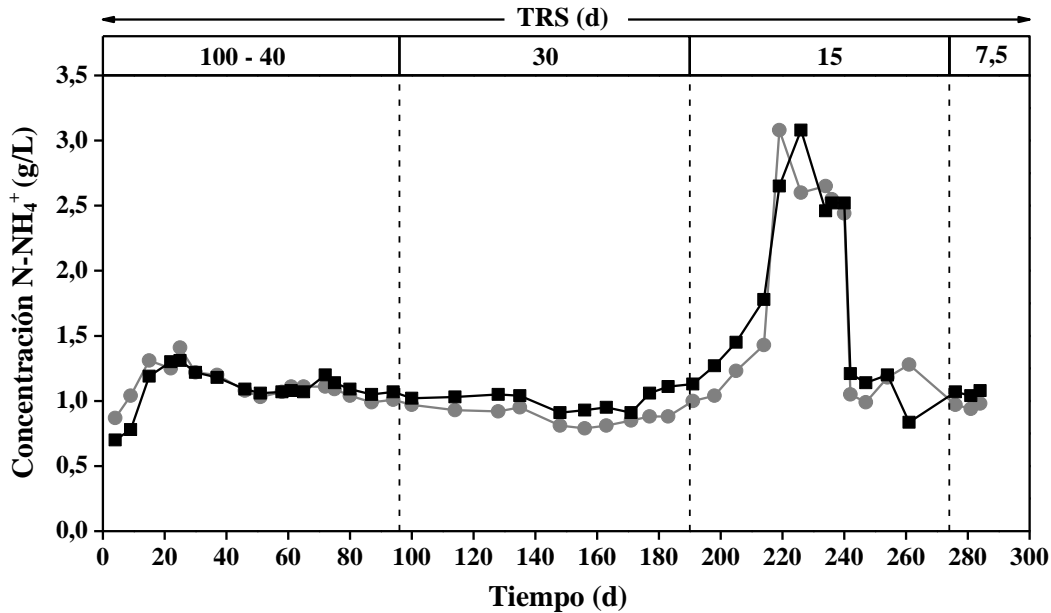


Figura 12. Concentración de nitrógeno del amonio en reactores anaeróbicos. ● RC y ■ RPT.

La Figura 13 presenta los resultados de alcalinidad del efluente de ambos sistemas de digestión como una aproximación de la capacidad tampón del medio de reacción al interior de ambos reactores, para lo cual se utilizó como parámetro de control la relación entre alcalinidad intermedia y la parcial (AI/AP).

La relación AI/AP entre las etapas de puesta en marcha y la operada con TRS de 15 d, estuvo comprendida entre 0,20-0,40 y 0,20-0,43 para el RC y RPT, respectivamente. Durante la etapa con TRS de 30 d se alcanzaron valores promedios de $0,28\pm 0,04$ y $0,30\pm 0,07$ en RC y RPT, respectivamente mientras que durante la etapa de operación con TRS de 15 d se obtuvieron valores equivalentes a $0,31\pm 0,05$ y $0,29\pm 0,05$ en RC y RPT, respectivamente. Mientras que para la etapa operada con TRS de 7,5 d, se alcanzaron valores promedios de $0,43\pm 0,12$ y $0,35\pm 0,05$, comprendido en rangos entre 0,29-0,53 y 0,30-0,41, en RC y RPT, respectivamente. Sin embargo, durante el período

de inhibición se alcanzaron valores promedio de $0,46 \pm 0,09$ y $0,68 \pm 0,37$ en RC y RPT, respectivamente con un valor máximo de 0,5 y 1,5, respectivamente.

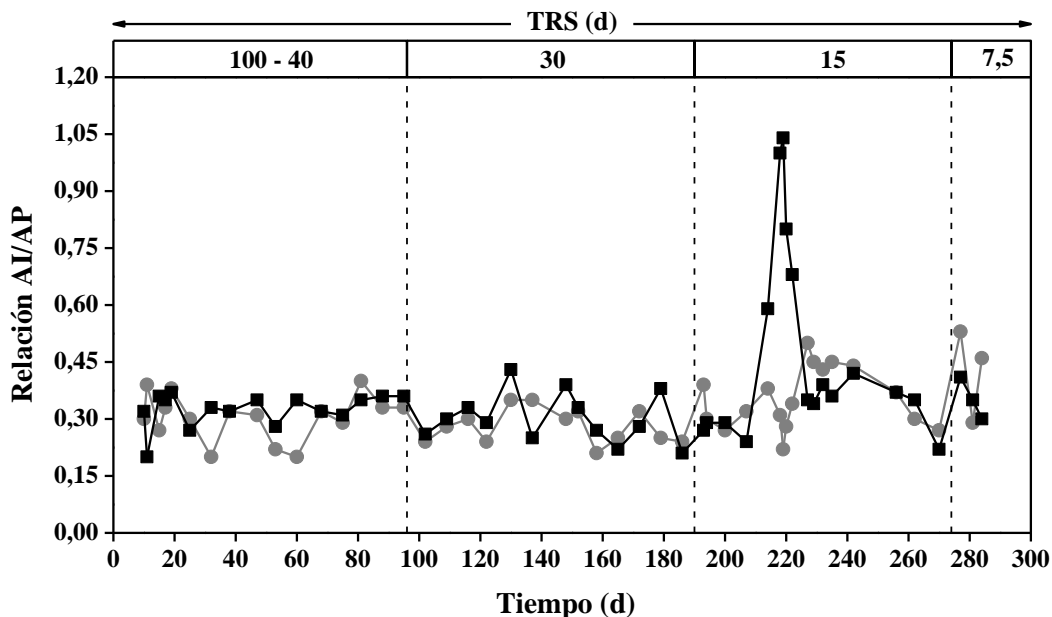


Figura 13. Relación entre alcalinidad intermedia y parcial. ● RC y ■ RPT.

La Figura 14 presenta los resultados de las concentraciones de los diferentes AGVs determinada en el efluente de ambos reactores.

Las concentraciones de: ácido acético fluctuaron entre 0,03-0,20 y 0,02-0,10 g/L, propiónico 0,01-0,13 y 0,02-0,12 g/L, butírico 0,01-0,06 y 0,01-0,06 g/L y N-valérico 0,01-0,06 y 0,01-0,08 g/L en RC y RPT entre las etapas con TRS de 30, 15 y 7,5 d, respectivamente.

En la etapa en que se observó la inhibición se alcanzaron concentraciones promedio de ácido acético equivalentes a 0,62 y 0,60 g/L en RC y RPT, respectivamente.

En la última etapa de operación con TRS de 7,5 d los valores de ácido acético y propiónico aumentaron 1,3 y 1,8 veces en RC, respectivamente, mientras que en RPT se observó una disminución de 1,2 y 1,6 veces, respectivamente en relación a la etapa operada con TRS de 15 d. Las concentraciones de ácido butírico y N-valérico en RC disminuyeron 1,8 y 1,9 veces respectivamente, en cambio en RPT se observó una

disminución de 3,5 y un aumento de 3 veces, respectivamente en relación al período con TRS de 15 d.

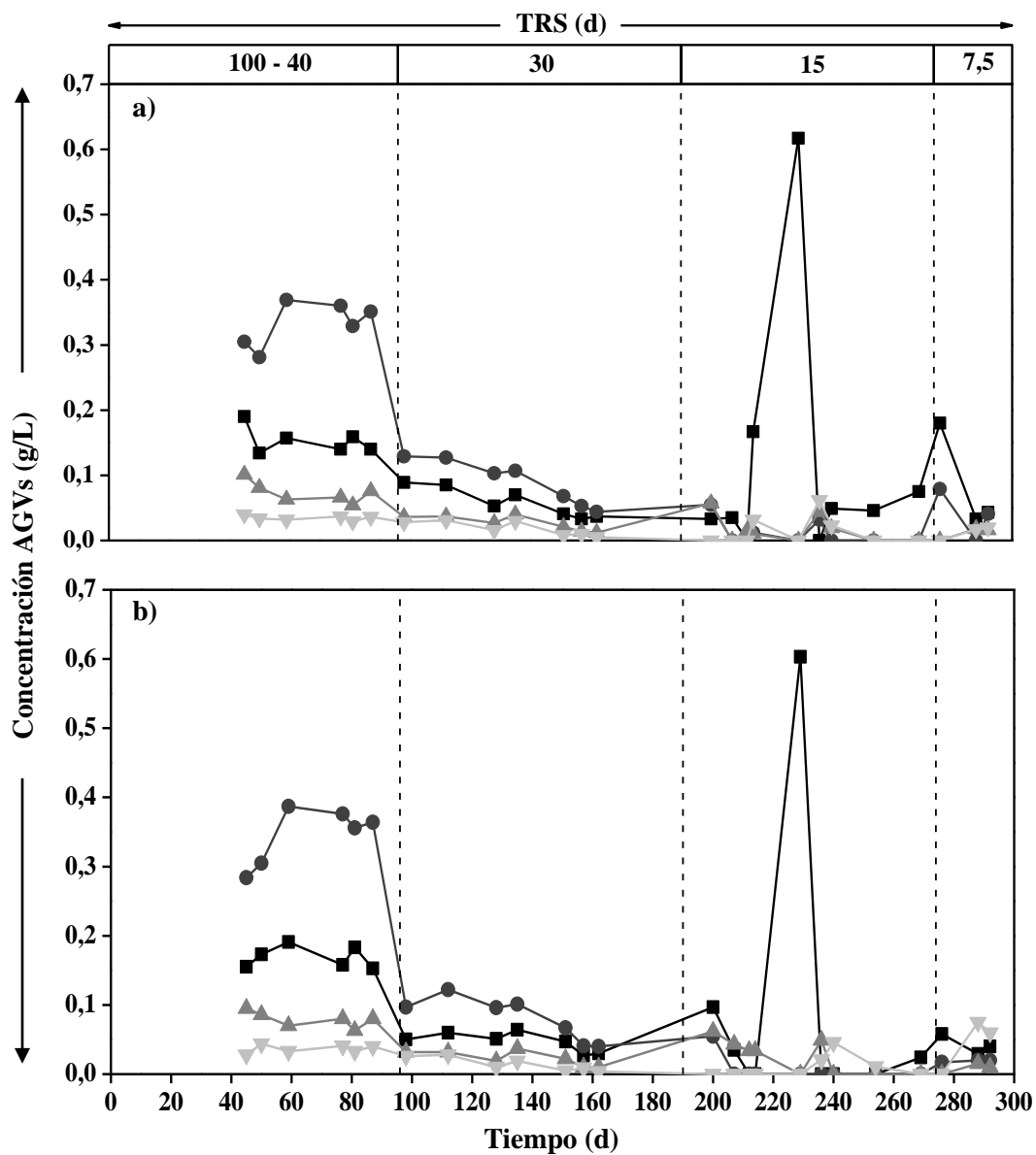


Figura 14. Concentración de ácidos grasos volátiles en efluente de ambos reactores. a) RC y b) RPT. ■ Acido acético, ● Acido propiónico, ▲ Acido butírico y ▼ Acido N-valérico.

4.3 Eficiencias de transformación de materia orgánica

4.3.1 Eficiencia de eliminación de DQOt y SV

La Figura 15 ilustra el rendimiento del reactor en base a la capacidad de transformación de materia orgánica biodegradable presente en los influentes de LC y LINC para ambos reactores. Respecto a lo anterior, en la Figura 14a se observa una eliminación de DQOt en la etapa de puesta en marcha operada con TRS de 100-40 d en intervalos de 10,8-49,3 y 17,8-54,8% en RC y RPT, respectivamente. Mientras que durante las etapas con TRS de 30, 15 y 7,5 d se alcanzaron valores promedios de 36 ± 11 , 33 ± 12 y $24\pm 15\%$ en RC y 46 ± 9 , 40 ± 12 y $33\pm 23\%$ en RPT, respectivamente.

En la Figura 15b, se presentan los resultados de la eficiencia de eliminación de materia orgánica particulada en forma de SV. Durante la puesta en marcha se registraron valores de eliminación de 21,3-57,4 y 23-53,9% en RC y RPT, respectivamente.

Durante la etapa operada con TRS de 30 d se observaron rangos de eliminación de SV entre 32,9-56,1 y 31,4-57,4% en RC y RPT, respectivamente. Durante la etapa operada con TRS de 15 d se observaron eficiencias de eliminación equivalentes a 27,1-56,5 y 25-60,3% en RC y RPT, respectivamente. En tanto, para la última etapa operada con TRS de 7,5 d, se alcanzaron intervalos de eliminación de SV entre 37,5-43,4 y 34,3-55,7% en RC y RPT, respectivamente. La eliminación de SV presentó valores promedios de 46, 41 y 31% en RC y 48, 43 y 39% en RPT, durante las etapas con TRS de 30, 15 y 7,5 d.

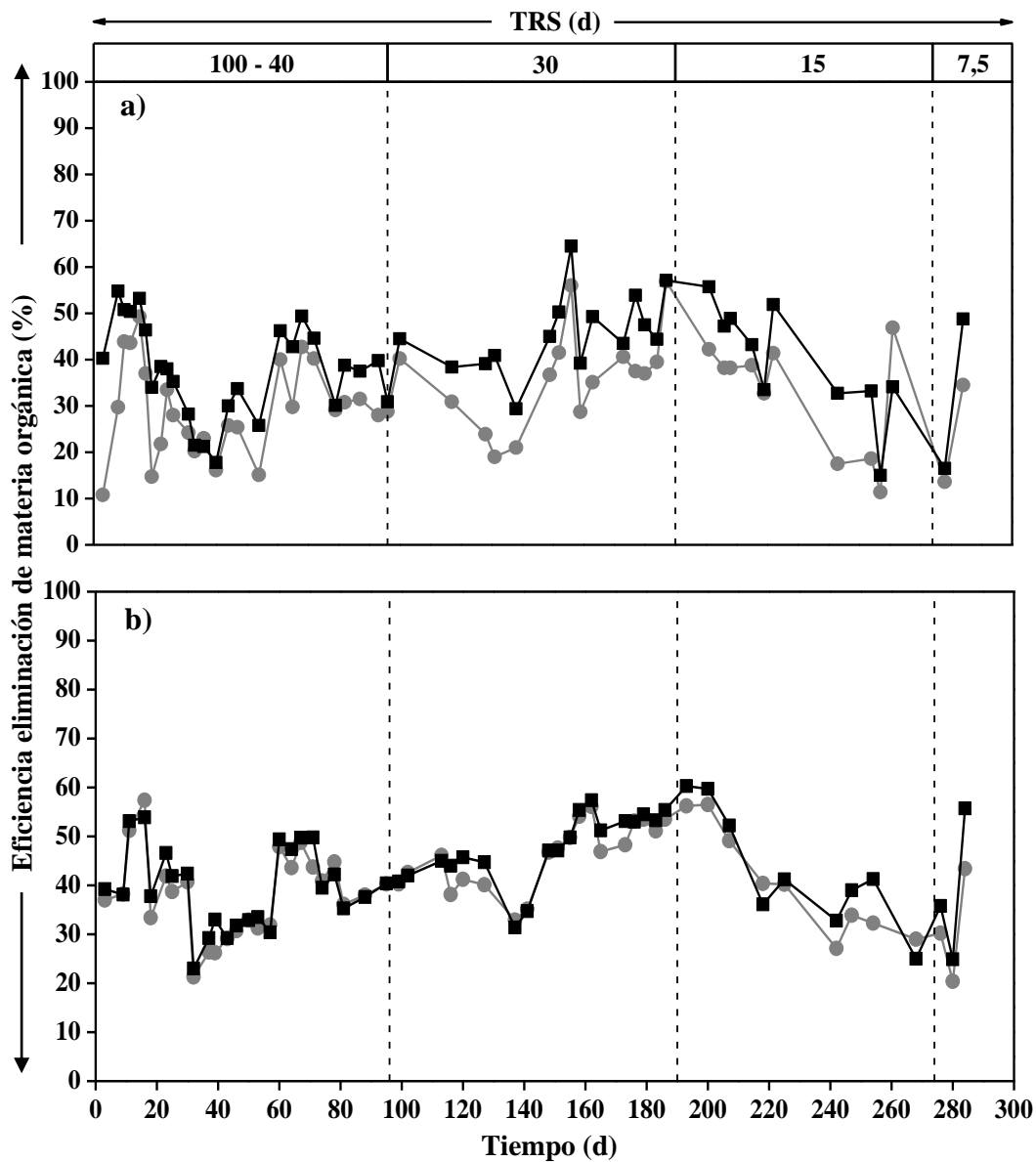


Figura 15. Eficiencia eliminación de materia orgánica en ambos reactores. Eficiencia eliminación de a) Demanda química de oxígeno total y b) Sólidos volátiles. ● RC y ■ RPT.

4.3.2 Producción de metano

En la Figura 16 se observa el volumen diario producido de metano en ambos reactores y durante todo el período experimental. Durante la etapa de puesta en marcha se registraron volúmenes de CH_4 producidos comprendidos entre 100-1240 y 133-1380 mL/d en RC y RPT, respectivamente. En tanto, en la etapa operada con TRS de 30 d, los

valores alcanzaron volúmenes en un intervalo de 649-1901 y 548-2038 mL/d con valores promedios equivalentes a 1076 ± 266 y 1278 ± 335 mL/d en RC y RPT, respectivamente.

En relación a la operación con TRS de 15 d se obtuvieron producciones diarias comprendidas entre 1047-5128 y 1382-5558 mL/d y valores promedios de 3172 ± 1307 y 3743 ± 1480 mL/d en RC y RPT, respectivamente. Durante el período de inhibición observado se disminuyó la VCO desde 2,47 a 1,22 y 2,38 a 1,20 gSV/L•d en RC y RPT, respectivamente, lo que causó una disminución en la producción de metano alcanzando un valor promedio de 1230 ± 290 y 1719 ± 316 mL/d en RC y RPT, respectivamente durante los días 230 y 237 de operación.

En tanto, en la última etapa con TRS de 7,5 d se obtuvieron valores promedios de 3421 ± 1370 y 4253 ± 1238 mL/d en RC y RPT, respectivamente.

El RPT presentó una mayor producción diaria equivalente a un incremento entre 21-25-31% en las etapas con TRS de 30, 15 y 7,5 d, respectivamente. Los incrementos observados durante la etapa con TRS de 30 y 15 d, presentan diferencias significativas ($p<0,05$) de producción entre el RC y RPT. En tanto, el incremento observado en la etapa con TRS de 7,5 d no presenta diferencia estadísticamente significativa ($p>0,05$), lo que podría estar atribuido a la baja cantidad de datos (5) recopilados durante esta etapa lo que podría conducir a un error estadístico tipo 2 el que por la baja cantidad de datos conlleva a que el test estadístico aplicado tienda a entregar diferencias no significativas entre las muestras comparadas.

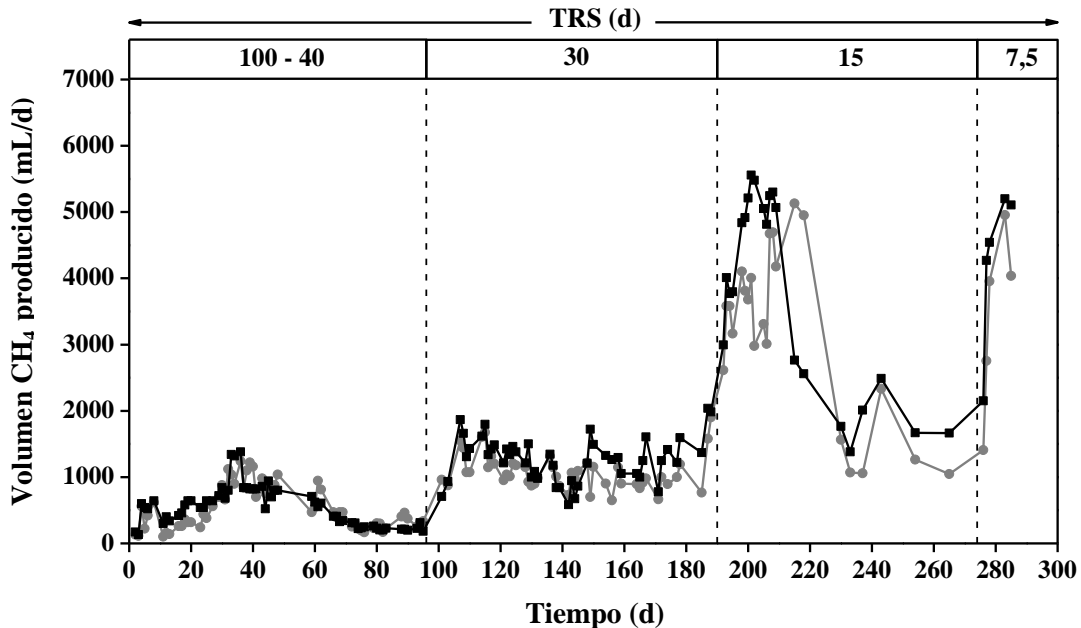


Figura 16. Producción diaria de metano en ambos reactores. ● RC y ■ RPT.

En tanto, el rendimiento se registró como volumen de CH_4 producido respecto a SV alimentados ($\text{mL/gSV}_{\text{alimentado}}$) en cada reactor. En la etapa operada con TRS de 30 d se registraron rendimientos equivalentes a 212 ± 47 y 249 ± 51 $\text{mL/gSV}_{\text{alimentado}}$ en RC y RPT, respectivamente. Mientras que durante la etapa con TRS de 15 d, se registraron valores promedios de 205 ± 45 y 252 ± 52 $\text{mL/gSV}_{\text{alimentado}}$ en RC y RPT, respectivamente. Finalmente, durante la etapa con TRS de 7,5 d los rendimientos alcanzaron los 150 ± 19 y 199 ± 14 $\text{mL/gSV}_{\text{alimentado}}$. De tal forma, el RPT presentó mayores rendimientos que el RC equivalentes a 18, 28 y 33% más durante las etapas con TRS de 30, 15 y 7,5 d, respectivamente.

4.3.3 Caracterización físico-química del efluente

En la Tabla 3, se resumen las características físico-químicas del efluente de ambos reactores en las distintas etapas de operación. La materia orgánica medida como DQOt en el efluente de RC entre las etapas operadas con TRS de 30, 15 y 7,5 d, presentaron valores promedios de $30,0 \pm 3,4$, $37,0 \pm 6,9$ y $43,4 \pm 8,4$ g/L, respectivamente, mientras que el efluente de RPT presentó promedios de $28,9 \pm 3,9$, $36,4 \pm 7,3$ y $39,1 \pm 13,3$

g/L, respectivamente. En cuanto a la DQOs, se observaron valores promedios de $2,0 \pm 0,5$, $3,0 \pm 1,0$ y $3,1 \pm 0,7$ g/L en efluente de RC y $2,1 \pm 0,3$, $3,6 \pm 1,6$ y $3,2 \pm 1,1$ g/L en efluente de RPT, durante las etapas con TRS de 30, 15 y 7,5 d, respectivamente.

Entre las etapas de TRS 30, 15 y 7,5 d se presentaron concentraciones promedios de SV de $14,1 \pm 1,5$, $18,8 \pm 3,4$ y $20,4 \pm 3,0$ g/L en efluente de RC y $13,6 \pm 1,4$, $17,7 \pm 3,4$ y $17,3 \pm 4,5$ g/L en efluente de RPT.

En cuanto a los AGVs totales se observaron concentraciones de $0,28 \pm 0,12$ y $0,24 \pm 0,10$, $0,14 \pm 0,10$ y $0,10 \pm 0,09$, $0,25 \pm 0,11$ y $0,22 \pm 0,08$ gDQO/L en RC y RPT durante las etapas con TRS de 30, 15 y 7,5 d, respectivamente.

Finalmente la concentración de N-NH_4^+ mostró un aumento desde $0,9 \pm 0,1$ a $1,1 \pm 0,1$ y $1,0 \pm 0,1$ a $1,2 \pm 0,2$ g/L en los efluentes de RC y RPT, respectivamente entre las etapas con TRS de 30 y 15 d. Durante la etapa con TRS de 7,5 d, se observaron concentraciones de $1,0 \pm 0,1$ y $1,1 \pm 0,1$ en RC y RPT, respectivamente.

Tabla 3. Caracterización físico-química del efluente de ambos reactores.

Parámetro ^N	Unidad		TRS (d)							
			100 – 40		30		15		7,5	
			Rango	Promedio	Rango	Promedio	Rango	Promedio	Rango	Promedio
pH ²¹⁶	-	RC	6,9 - 7,8	7,4 ± 0,2	7,2 - 7,7	7,4 ± 0,1	7,1 - 7,5	7,3 ± 0,1	7,2 - 7,5	7,4 ± 0,1
		RPT	6,9 - 7,8	7,4 ± 0,2	7,1 - 7,6	7,4 ± 0,1	7,1 - 7,6	7,4 ± 0,1	7,0 - 7,6	7,3 ± 0,2
Conductividad ⁵⁷	mS/cm	RC	4,0 - 8,1	7,0 ± 1,1	5,2 - 6,3	5,7 ± 0,4	5,1 - 7,5	6,2 ± 0,8	4,9 - 5,0	4,9 ± 0,1
		RPT	3,8 - 8,2	7,1 ± 1,1	5,7 - 6,4	6,1 ± 0,3	5,3 - 8,2	6,9 ± 1,1	5,7 - 5,8	5,7 ± 0,1
DQOt ⁵³	g/L	RC	32,2 - 65,5	39,3 ± 7,3	20,6 - 35,8	30,0 ± 3,4	20,4 - 43,9	37,0 ± 6,9	37,5 - 49,4	43,4 ± 8,4
		RPT	30,2 - 61,6	37,4 ± 6,7	18,7 - 35,9	28,9 ± 3,9	23,3 - 45,9	36,4 ± 7,3	29,8 - 48,5	39,1 ± 13,3
DQOs ⁵³	g/L	RC	2,0 - 4,1	2,7 ± 0,5	1,4 - 3,6	2,0 ± 0,5	1,5 - 4,7	3,0 ± 1,0	2,6 - 3,6	3,1 ± 0,7
		RPT	1,9 - 4,3	2,7 ± 0,6	1,6 - 2,6	2,1 ± 0,3	1,8 - 5,4	3,6 ± 1,6	2,4 - 4,0	3,2 ± 1,1
S. Totales ⁵⁵	g/L	RC	23,3 - 32,2	26,8 ± 3,1	18,3 - 24,5	20,9 ± 2,2	18,6 - 34,2	26,9 ± 5,0	31,6 - 32,0	31,8 ± 0,3
		RPT	22,2 - 31,4	26,0 ± 2,9	18,2 - 25,1	20,9 ± 2,9	18,3 - 34,0	25,7 ± 5,1	20,7 - 31,0	25,9 ± 7,3
S. Volátiles ⁵⁵	g/L	RC	15,4 - 22,6	18,5 ± 2,3	11,8 - 16,6	14,1 ± 1,5	12,5 - 23,2	18,8 ± 3,4	18,3 - 22,6	20,4 ± 3,0
		RPT	15,2 - 22,0	17,9 ± 2,3	11,7 - 16,1	13,6 ± 1,4	12,3 - 22,8	17,7 ± 3,4	14,2 - 20,5	17,3 ± 4,5
A. acético ²⁴	g/L	RC	0,13 - 0,19	0,15 ± 0,02	0,03 - 0,09	0,06 ± 0,02	0,03 - 0,17	0,07 ± 0,05	0,03 - 0,20	0,09 ± 0,08
		RPT	0,15 - 0,19	0,17 ± 0,02	0,03 - 0,06	0,05 ± 0,01	0,02 - 0,10	0,05 ± 0,04	0,03 - 0,06	0,04 ± 0,02
A. propiónico ²⁴	g/L	RC	0,28 - 0,37	0,33 ± 0,03	0,04 - 0,13	0,09 ± 0,04	0,01 - 0,06	0,03 ± 0,02	0,04 - 0,08	0,06 ± 0,03
		RPT	0,28 - 0,39	0,35 ± 0,04	0,04 - 0,12	0,08 ± 0,03	0,06	0,06 ± 0,00	0,02 - 0,08	0,02 ± 0,00
A. butírico ²⁴	g/L	RC	0,05 - 0,10	0,07 ± 0,02	0,01 - 0,04	0,03 ± 0,01	0,01 - 0,06	0,03 ± 0,02	0,02 - 0,03	0,02 ± 0,00
		RPT	0,06 - 1,00	0,08 ± 0,01	0,01 - 0,04	0,02 ± 0,01	0,03 - 0,06	0,04 ± 0,01	0,01 - 0,02	0,01 ± 0,00
A. N-valérico ²⁴	g/L	RC	0,03 - 0,04	0,04 ± 0,00	0,01 - 0,03	0,02 ± 0,01	0,02 - 0,06	0,04 ± 0,02	0,02	0,02 ± 0,00
		RPT	0,03 - 0,04	0,04 ± 0,00	0,01 - 0,03	0,01 ± 0,01	0,01 - 0,05	0,03 ± 0,02	0,06 - 0,08	0,07 ± 0,01
AGV total	gDQO/L	RC	0,79 - 0,93	0,87 ± 0,05	0,14 - 0,41	0,28 ± 0,12	0,01 - 0,30	0,14 ± 0,10	0,10 - 0,31	0,20 ± 0,11
		RPT	0,83 - 0,98	0,92 ± 0,06	0,12 - 0,36	0,24 ± 0,10	0,02 - 0,30	0,10 ± 0,09	0,09 - 0,24	0,18 ± 0,09
N-NH ₄ ⁺ ⁴²	g/L	RC	0,9 - 1,4	1,1 ± 0,1	0,8 - 1,0	0,9 ± 0,1	1,0 - 1,3	1,1 ± 0,1	0,9 - 1,1	1,0 ± 0,1
		RPT	0,7 - 1,3	1,1 ± 0,2	0,9 - 1,1	1,0 ± 0,1	0,8 - 1,5	1,2 ± 0,2	1,0 - 1,2	1,1 ± 0,1

N: Número de determinaciones realizadas, A: Acido, S: Sólidos, RC: Reactor control y RPT: Reactor con pre-tratamiento.

4.3.4 Balance de materia orgánica

La Figura 17 presenta el balance de materia realizado con el objetivo de verificar el desempeño de la transformación de materia orgánica experimental con la teórica.

El balance de materia se efectuó para las dos etapas comparativas de operación con TRS de 30 y 15 d, considerando el flujo másico de DQOt (g/d) que ingresa a ambos sistemas de estabilización (digestión y pre-tratamiento más digestión).

En relación a los volúmenes teóricos de CH₄ calculados a través del balance, estos siempre arrojaron mayores valores que los volúmenes reales reportados para cada reactor en cada una de las etapas comparadas. De tal forma, el balance teórico entrega una producción de 1263 y 1331 mLCH₄/d para RC y RPT, respectivamente durante la etapa con TRS de 30 d, mientras que para la etapa con TRS de 15 d entrega valores teóricos de 3940 y 4031 mLCH₄/d para RC y RPT, respectivamente.

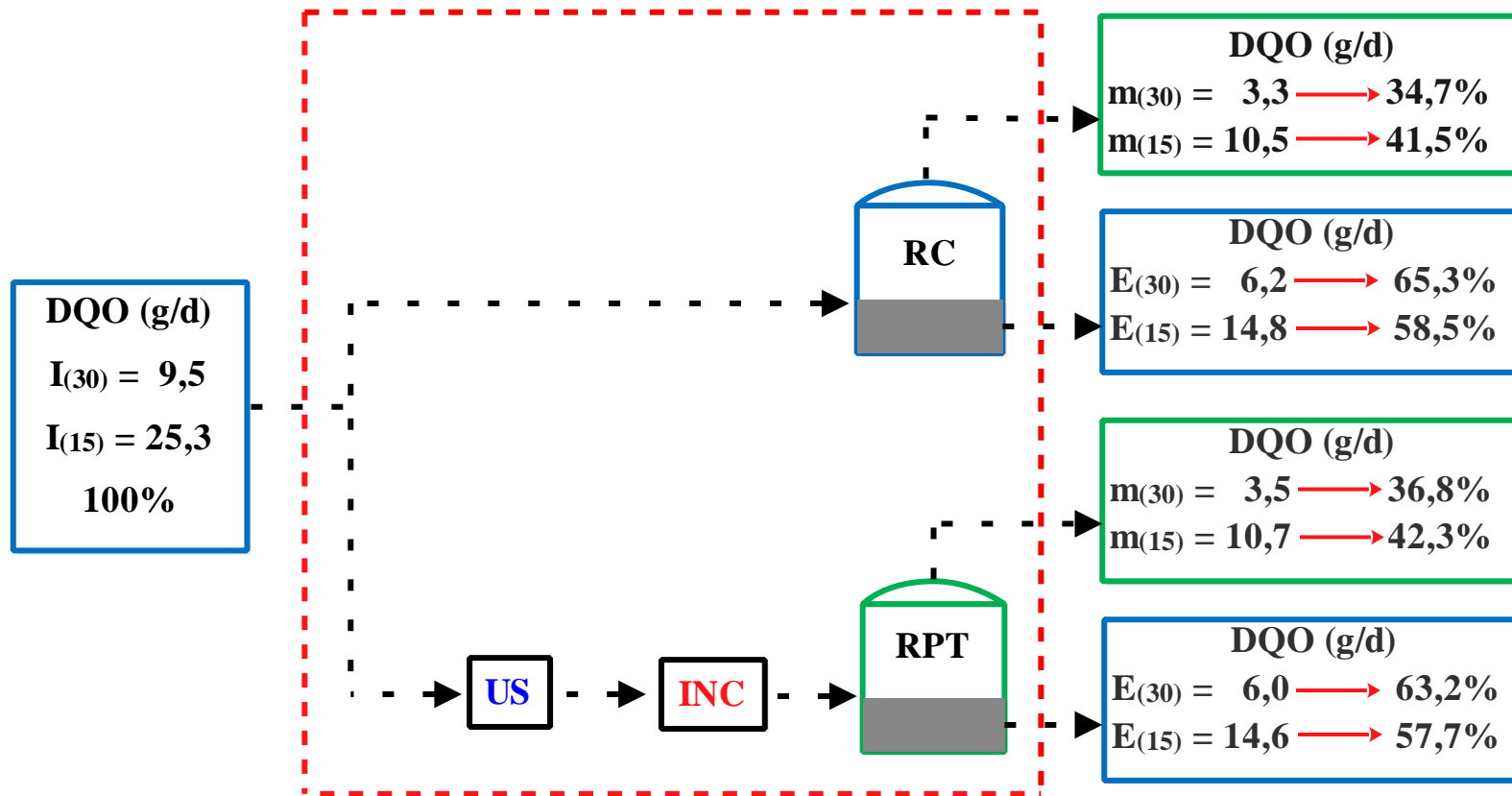


Figura 17. Balance de materia orgánica. DQO: Demanda química de oxígeno, I: Influyente, m: Metano, E: Efluente, US: Pre-tratamiento de ultrasonido, INC: Pre-tratamiento de incubación, RC: Reactor control, RPT: Reactor con pre-tratamiento y Entre paréntesis: TRS.

4.3.5 Deshidratabilidad de lodos posterior a DA

En la Tabla 4, se presentan los valores de porcentajes de líquido y sólido separado posterior a la centrifugación de los efluentes provenientes de ambos sistemas de digestión. Durante la etapa operada con TRS fijo de 30 d y centrifugación durante 3 min se obtuvo un ML de $74,00 \pm 1,91$ y $70,87 \pm 2,03\%$, mientras que cuando se centrifugó el efluente durante 10 min se obtuvieron valores de $79,69 \pm 0,54$ y $79,51 \pm 0,39\%$ en RC y RPT, respectivamente. En consecuencia, desde el efluente del RC se logró separar un porcentaje de líquido 4,00 y 0,23% mayor en efluente de RC y RPT, respectivamente.

En tanto, durante la etapa con TRS de 15 d y centrifugación durante 3 min se obtuvo un ML de $58,48 \pm 7,19$ y $56,37 \pm 8,03\%$, mientras que cuando el efluente se centrifugó durante 10 min se obtuvieron valores de $68,64 \pm 5,55$ y $68,87 \pm 5,40\%$ en RC y RPT, respectivamente. En este caso el efluente proveniente desde el RC presentó un 3,74% mayor cantidad de líquido separado que el proveniente del RPT durante la etapa operada con TRS de 15 d y 3 min de centrifugación. Sin embargo, el efluente del RPT obtenido durante la misma etapa y 10 min de centrifugación presentó un 0,34% más de líquido separado que el de RC.

En relación al MS en la fracción decantada del efluente de RC y RPT se obtuvo un $96,45 \pm 2,20$ y $96,25 \pm 2,72\%$, respectivamente durante la etapa con TRS de 30 d y 3 min de centrifugación. Mientras que desde el efluente obtenido durante la etapa con TRS de 15 d se logró separar un $97,34 \pm 0,40$ y $98,47 \pm 0,89\%$ de sólido seco, respectivamente cuando se centrifugó durante 3 min.

En la etapa operada con TRS de 30 d se obtuvo un MS equivalente a un $99,07 \pm 0,06$ y $98,60 \pm 0,04\%$ en efluente de RC y RPT, respectivamente cuando se sometió a centrifugación durante 10 min. Desde el efluente obtenido durante la etapa con TRS de 15 d y centrifugación durante 10 min se obtuvo un MS de $98,02 \pm 0,20$ y $98,63 \pm 0,35\%$.

Tabla 4. Porcentajes de líquido y sólido separados por centrifugación de efluentes.

Parámetro ^N	Unidad	t (min)		TRS (d)			
				30		15	
				Rango	Promedio	Rango	Promedio
ML ²⁰	%	3	RC	71,95 - 76,32	74,00 ± 1,91	49,95 - 65,97	58,48 ± 7,19
			RPT	68,47 - 73,41	70,87 ± 2,03	44,58 - 63,84	56,37 ± 8,03
		10	RC	79,22 - 80,16	79,69 ± 0,54	63,29 - 74,45	68,64 ± 5,55
			RPT	79,18 - 79,97	79,51 ± 0,39	62,60 - 74,20	68,87 ± 5,40
MS ²⁰	%	3	RC	93,21 - 98,14	96,45 ± 2,20	97,00 - 98,02	97,34 ± 0,40
			RPT	92,22 - 98,06	96,25 ± 2,72	96,92 - 99,07	98,47 ± 0,89
		10	RC	98,98 - 99,10	99,07 ± 0,06	97,84 - 98,36	98,02 ± 0,20
			RPT	98,56 - 98,64	98,60 ± 0,04	98,24 - 98,92	98,63 ± 0,35

N: Número de determinaciones realizadas, ML: % de líquido separada con respecto a la masa total centrifugada, MS: % de sólido seco recuperado en decantado, t: tiempo de centrifugación, RC: Reactor control y RPT: Reactor con pre-tratamiento.

4.4 Estado de la materia orgánica dentro de los reactores

En la Tabla 5, se resume el estado de la conversión de la materia orgánica dentro de los reactores en cada uno de los sistemas de DA. Los valores medidos (en porcentaje) con respecto a la materia orgánica hidrolizada, acidogenizada y metanogenizada permiten establecer una evaluación comparativa entre los reactores durante los períodos operacionales en que se manejaron TRS fijos.

Entre las etapas operadas con TRS de 30 y 7,5 d, se observó una disminución desde 37-30%, 33-27% y 33-25% aproximadamente de la materia orgánica hidrolizada, acidogenizada y metanogenizada, respectivamente en el RC.

Mientras en RPT se observaron incrementos desde 38-43%, 34-38% y 33-38% aproximadamente, en relación a la materia orgánica hidrolizada, acidogenizada y metanogenizada, respectivamente entre las etapas con TRS de 30 y 15 d. Sin embargo, entre las etapas con TRS de 15 y 7,5 d, los porcentajes presentaron disminuciones desde 43-35%, 38-30% y 38-30% aproximadamente respecto de materia orgánica en estado de hidrólisis, acidogénesis y metanogénesis, respectivamente.

Tabla 5. Resumen del estado de la materia orgánica en ambos reactores.

Parámetro	Unidad		TRS (d)					
			30		15		7,5	
			Rango	Promedio	Rango	Promedio	Rango	Promedio
H ¹³	%	RC	29,2 - 45,7	37,4 ± 5,7	23,6 - 48,7	36,6 ± 12,8	23,6 - 48,7	30,3 ± 12,8
	%	RPT	22,9 - 46,0	37,5 ± 8,6	28,8 - 53,6	42,7 ± 11,2	28,8 - 53,6	35,2 ± 11,2
A ¹³	%	RC	25,5 - 41,2	33,4 ± 5,4	19,7 - 43,8	32,0 ± 12,8	19,7 - 43,8	27,0 ± 12,8
	%	RPT	20,2 - 43,1	33,8 ± 8,5	24,4 - 49,5	38,1 ± 11,3	24,4 - 49,5	30,1 ± 11,3
M ¹³	%	RC	25,2 - 40,3	32,8 ± 5,3	19,5 - 43,8	31,9 ± 12,8	19,5 - 43,8	25,0 ± 12,8
	%	RPT	19,6 - 42,4	33,3 ± 8,4	24,3 - 49,1	38,0 ± 11,2	24,3 - 49,1	29,7 ± 11,2

N: Número de determinaciones realizadas, H: Hidrólisis, A: Acidogénesis, M: Metanogénesis, RC: Reactor control y RPT: Reactor con pre-tratamiento.

4.5 Actividades microbiológicas

En la Figura 18 se presentan los resultados de los test de actividades microbiológicas hidrolíticas presentadas por la biomasa de ambos reactores. Los blancos no presentaron disminución en la concentración de sustrato (datos no mostrados).

Durante el TRS de 30 d, la actividad hidrolítica entregó valores equivalentes a $1,63\pm 0,58$ y $1,67\pm 0,31$ gDQO/gSV•d correspondiente a la biomasa extraída desde el RC y RPT, respectivamente. En tanto, en la etapa operada con TRS de 15 d, la actividad en RC y RPT alcanzó valores de $1,80\pm 0,35$ y $2,28\pm 0,59$ gDQO/gSV•d, respectivamente.

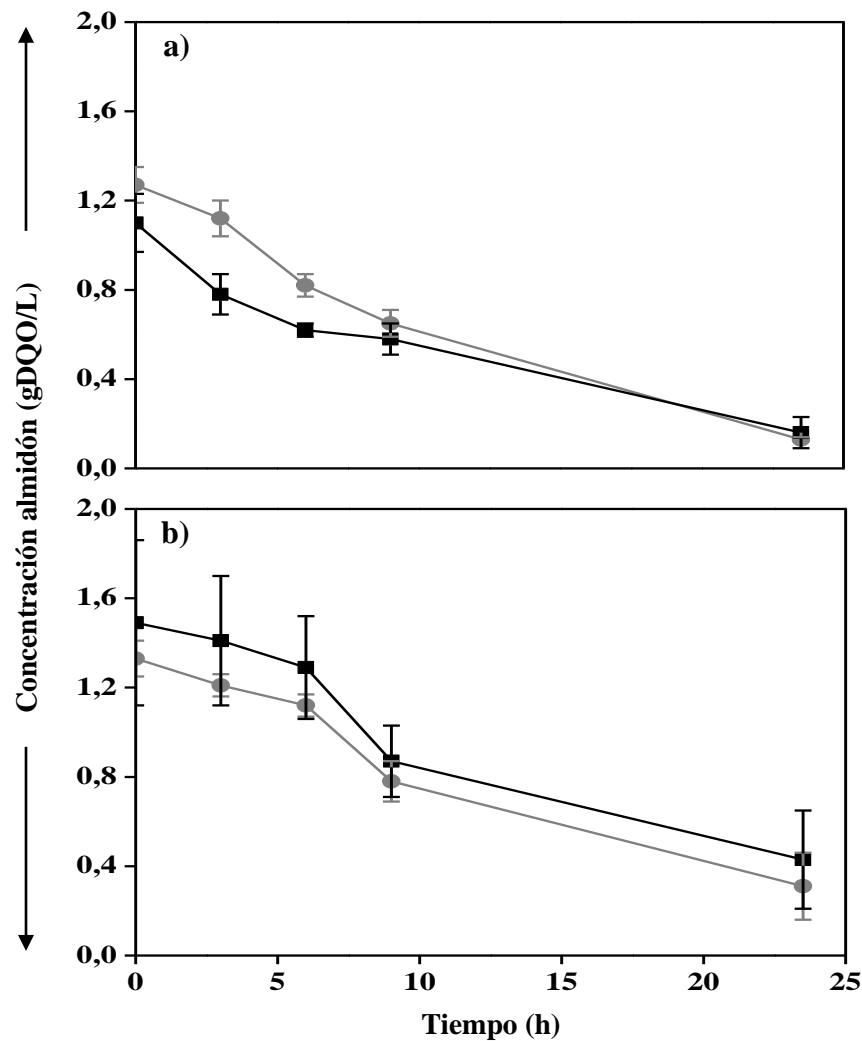


Figura 18. Concentración de almidón en función del tiempo durante los ensayos de actividad hidrolítica específica. Barras de error representan la desviación estándar de los ensayos. a) TRS: 30 d y b) TRS: 15 d. ● RC y ■ RPT.

La Figura 19 ilustra los resultados de las actividades microbiológicas acidogénicas presentadas por la biomasa de ambos reactores. Los ensayos blancos no presentaron disminución en la concentración de sustrato (datos no mostrados).

En la tapa con TRS de 30 d, se obtuvo una actividad acidogénica de $1,58 \pm 0,1$ y $1,74 \pm 0,05$ gDQO/gSV•d correspondiente al desempeño de la biomasa del RC y RPT, respectivamente. Mientras que los ensayos realizados durante la etapa con TRS de 15 d, entregaron valores promedios de $1,45 \pm 0,20$ y $1,88 \pm 0,19$ gDQO/gSV•d para RC y RPT, respectivamente.

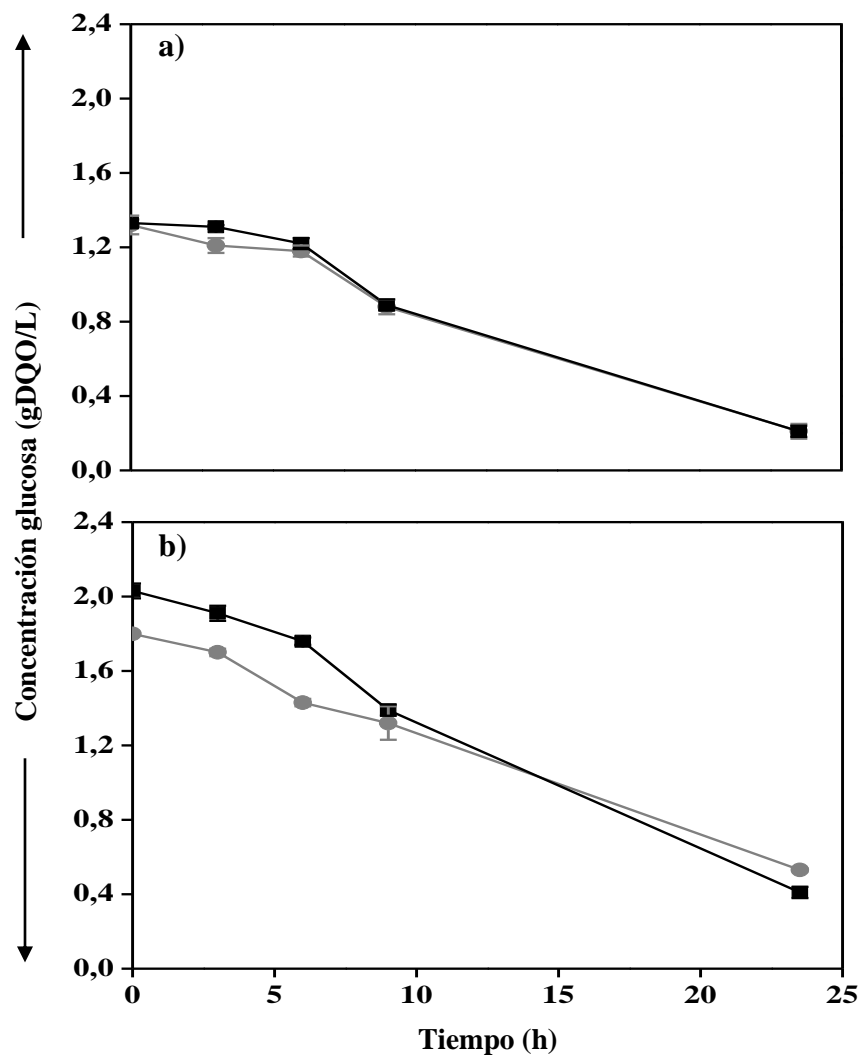


Figura 19. Concentración de glucosa en función del tiempo durante los ensayos de actividad acidogénica específica. Barras de error representan la desviación estándar de los ensayos. a) TRS: 30 d y b) TRS: 15 d. ● RC y ■ RPT.

Finalmente, se midió el desempeño de la biomasa de ambos reactores en relación a la capacidad de transformación del sustrato (solución de AGVs) en CH_4 , a través de la actividad microbiológica metanogénica, cuyos resultados se presentan en la Figura 20.

La biomasa del RC y RPT presentaron actividades metanogénicas de $0,33 \pm 0,08$ y $0,31 \pm 0,05$ gDQO/gSV•d, respectivamente en la etapa con TRS de 30 d. En tanto, los ensayos realizados en la etapa operada con TRS de 15 d entregaron valores de $0,09 \pm 0,01$ y $0,16 \pm 0,02$ gDQO/gSV•d correspondientes al desempeño de la biomasa del RC y RPT, respectivamente.

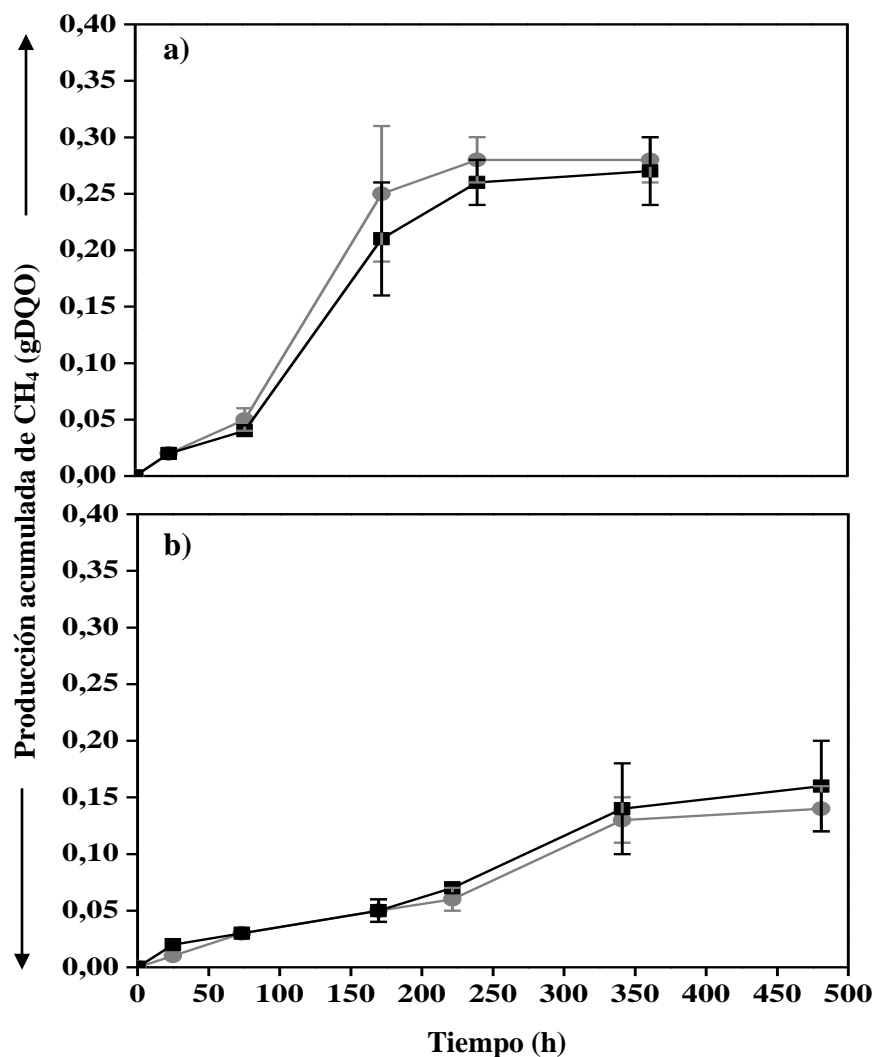


Figura 20. Volumen de metano acumulado durante los ensayos de actividad metanogénica específica. Barras de error representan la desviación estándar de los ensayos. a) TRS: 30 d y b) TRS: 15 d. ● RC y ■ RPT.

5 DISCUSION

5.1 Caracterización del influente

El pH del LC, LUS y LINC se mantuvo constante en un rango entre 5,8-5,85 valores que se encuentran dentro de los valores característicos reportados tanto para lodos primarios y secundarios en intervalos entre 5-8 y 6-8, respectivamente (Metcalf y col., 2003).

Valores promedios para la concentración de materia orgánica en términos de DQOt del LC, LUS y LINC fluctuaron entre 56-62 g/L valores cercanos a la caracterización de lodo mixto realizada por Islam (2015) quien reportó una concentración de DQOt de 58,6 g/L para lodo mixto crudo y sonicado con E.E. de 2042 kJ/kgST. Estos resultados concuerdan con lo descrito por Gonçalves y col. (2013) quienes determinaron concentraciones equivalentes a 62,0 y 60,2 g/L, para lodo mixto crudo y pre-tratado mediante aplicación de 170°C durante 40 min.

El objetivo principal del pre-tratamiento secuencial fue incrementar la disponibilidad en fase soluble de materia orgánica particulada constituyente del lodo mixto. El pre-tratamiento con US promovió un incremento de materia orgánica en la fase soluble en forma de DQOs equivalente a 2,16 veces observando diferencia significativa ($p < 0,05$) respecto de la DQOs del LC. El efecto antes descrito concuerda con el rango reportado por Dhar y col. (2012) quienes al aplicar US a lodo secundario con una EE de 1000 y 5000 kJ/kgST obtuvieron un incremento en la DQOs de 1,8 y 3,2 veces, respectivamente en relación a la DQOs del lodo sin pre-tratamiento. Por otra parte, un estudio basado en un método de pre-tratamiento diferente mediante la aplicación de microondas (500 W durante 140 s) reportó un incremento de 2,5 veces (Yu y col. 2010).

En tanto, posterior al pre-tratamiento de incubación, el promedio de DQOs correspondiente al LINC demostró ser 3 veces mayor que la concentración presentada por el LC, valor inferior al reportado por Dhar y col. (2012) quienes al aplicar US (1000 kJ/kgST) e incubación (50°C durante 30 min) obtuvieron una DQOs 4 veces mayor con respecto al lodo sin pre-tratamiento. Mientras que en otro estudio realizado por Appels y col. (2013) quienes aplicaron un pre-tratamiento diferente a lodo secundario consistente

en microonda (800 W durante 3,5 min) obtuvieron un valor similar al de este estudio con una concentración de DQOs del lodo pre-tratado 3 veces mayor con respecto a la del lodo sin pre-tratamiento.

El factor de solubilización de DQO para el LUS equivalente a un 6% aproximadamente se encuentra dentro del rango reportado al aplicar US con EE variable entre 1000-5000 kJ/kgST, para lo cual se han obtenido valores entre 3-9%, respectivamente (Braguglia y col., 2011; Cesaro y col., 2012; Zhang y col., 2013). En tanto, el factor de solubilización obtenido para LINC equivalente a un 9% aproximadamente presenta diferencia significativa ($p < 0,05$) respecto del obtenido para el LUS, y es similar al reportado por Appels y col. (2010) quienes aplicaron pre-tratamiento de incubación a lodo activado obteniendo factores entre 2,98-14,10 (80°C durante 30 y 60 min, respectivamente) y 2,17-12,30% (90°C durante 15 y 30 min, respectivamente).

El grado de solubilización de DQO para el LC (4,5%) y LINC (15%) resulta similar a lo obtenido en un estudio en que se sometió lodo a pre-tratamiento térmico a 50°C durante 12 h obteniendo un grado de solubilización equivalente a un 14,6% (Nges y Liu, 2009).

La concentración de AGVs posterior a cada pre-tratamiento se mantuvo constante entre 0,97-1,00 gDQO/L, para el LC, LUS y LINC, respectivamente, lo que coincide con lo reportado por Wilson y Novak (2009), quienes concluyen que el incremento en la concentración de AGVs sólo comenzaría a ser significativamente mayor a temperaturas sobre los 160°C, lo que se debería a una transformación de aminoácidos en AGVs. Resultados similares fueron descritos por Xue y col. (2015) quienes observaron concentraciones estables posteriores al pre-tratamiento con 70-90°C durante 72 h. Sin embargo, cuando aplicaron pre-tratamiento a 60°C, observaron concentraciones estables sólo durante las primeras 24 h pero luego de 72 h de pre-tratamiento observaron un incremento cercano a 2,0 y 4,2 veces en las concentraciones de acetato e isovalerato (Xue y col., 2015).

La aplicación del pre-tratamiento secuencial generó un incremento en la concentración promedio de N-NH_4^+ equivalentes a un 3,4 y 89,7% en LUS y LINC,

respectivamente comparado con el LC. El incremento en la concentración del LINC respecto del LC concuerda con lo propuesto por Xue y col. (2015) quienes al aplicar pre-tratamiento térmico individual con temperaturas de 60°C durante 12, 24 y 36 h, observaron un incremento de un 38, 54 y 92%, respectivamente, concluyendo que el pre-tratamiento térmico a una temperatura de 60°C durante largos períodos de tiempo favorecería la actividad de bacterias termofílicas e hipertermofílicas, promoviendo la hidrólisis enzimática y logrando generar una etapa de pre-digestión de compuestos nitrogenados como proteínas y urea. Tal efecto coincidiría con lo reportado por Carvajal y col. (2013) quienes concluyeron que al aplicar pre-tratamiento térmico a 55°C, se obtuvo una solubilización de proteínas de un 25% después de 12 h.

5.2 Operación reactores anaeróbicos

El pH se mantuvo constante en torno a 7,35 en ambos reactores, valor cercano al pH óptimo reportado para el desarrollo exitoso de bacterias metanogénicas comprendido entre 6,5 y 7,2 (Boe, 2006; Turovskiy y Mathai, 2006).

Por otra parte el monitoreo del POR durante toda la experimentación entregó valores promedios de -255 ± 28 y -266 ± 32 mV en RC y RPT, valores que concuerdan con lo propuesto por Appels y col. (2008) quienes indican que para que ocurra la DA el POR debe mantenerse por debajo de -200 mV. Sin embargo, otros autores indican que el valor óptimo para la digestión estaría por debajo de los -300 mV (Gerardi, 2003; Amani y col., 2010).

El NH_4^+ y NH_3 libre son las dos formas principales del nitrógeno amoniacal total, siendo el NH_3 el más tóxico debido a que constituye un tipo de molécula hidrofóbica capaz de difundir pasivamente a través de la membrana celular (Chen y col., 2008; Belmonte y col., 2011). En general, se considera que concentraciones de NH_3 libre comprendidas entre 0,053 y 1,45 g/L serían causa de inhibición parcial del proceso de la DA (Rodríguez y col., 2011; Rajagopal y col., 2013). Durante los días 214 y 242, ambos reactores habrían desarrollado un evento de inhibición parcial, debido a que se obtuvieron concentraciones promedios de NH_3 equivalentes a $0,093\pm 0,081$ y $0,080\pm 0,022$ g/L en RC y RPT, respectivamente. El efecto de acumulación de NH_3 libre en la etapa con TRS de 15 d, estaría asociado al incremento en la concentración de N-

NH_4^+ de la alimentación la cual incrementó 2,4 y 3,1 veces en LC y LINC, respectivamente en relación al promedio calculado durante todo el período de estudio. Este efecto es similar al observado por Shi y col. (2016) quienes al aumentar 3 veces la concentración de residuos de comida (basado en contenido de SV) en la alimentación, conllevó a la acumulación gradual de NH_3 libre de un 0,009 hasta 0,097 g/L, respectivamente.

Las concentraciones promedios de N-NH_4^+ registradas en ambos reactores durante toda la etapa de operación y la cual fluctuó entre 0,9-1,0 y 1,0-1,2 g/L en RC y RPT, respectivamente coinciden con los rangos óptimos reportados en literatura con intervalos recomendados entre 0,5 y 1,5 g/L (Angelidaki y Ahring, 1993; Procházka y col., 2012).

Sin embargo, Angelidaki y Ahring (1993), indican que concentraciones de N-NH_4^+ en un rango de 1,5 a 3 (g/L), generarían una inhibición parcial de la metanogénesis, lo que coincidiría con las concentraciones determinadas entre los días 214 y 240 con concentraciones que alcanzaron los 2,5 g/L en ambos reactores.

La estabilidad del proceso de DA se puede seguir a través de la relación de alcalinidad que permite detectar la capacidad tampón del sistema, por consiguiente tal parámetro se propone como una forma precisa de determinar algún desequilibrio en la acumulación de AGVs (Méndez-Acosta y col., 2010).

La relación de AI/AP estuvo comprendida entre 0,28-0,43 y 0,30-0,35 en RC y RPT, respectivamente valores similares al intervalo óptimo reportado de 0,3-0,4, como una forma de evitar la acidificación del reactor (CSIC, CTC y AGRUPAL, 2013). Sin embargo, durante el período de inhibición parcial, el valor promedio de tal relación incrementó 1,48 y 2,34 veces, en RC y RPT, respectivamente lo que se asociaría con una acumulación de AGVs dentro de los reactores.

La concentración de AGVs se mantuvo constante entre las etapas de operación con 30-7,5 d, con valores promedios de ácido acético entre 0,06-0,09 y 0,04-0,05 g/L en RC y RPT, respectivamente. Valores por debajo del límite reportado por Wang y col. (2009) quienes proponen que concentraciones bajo 3 g/L no existe inhibición significativa de la actividad de bacterias metanogénicas.

Los efectos inhibitorios de la concentración de NH_3 libre fueron reflejados en el incremento de la concentración de ácido acético, en el día 229 de operación, tal valor alcanzó los 0,617 y 0,603 g/L, para RC y RPT. Valores inferiores a los reportados por Xu y col. (2014) quienes observaron concentraciones de ácido acético entre 1,5 y 2,5 g/L durante un período de inhibición parcial.

Sin embargo, el evento de inhibición parcial observado en este estudio coincide con el descrito por Shi y col. (2016) quienes utilizaron residuos de comida como sustrato y un aumento en la carga orgánica para observar el efecto del aumento en la concentración de amonio en el influente. Al incrementar la concentración del sustrato desde 67 a 100% (como SV), reportaron incrementos de NH_3 libre desde 0,063 hasta 0,077 g/L, con una consecuente acumulación de ácido acético desde 0,15 a 0,40 g/L, concluyendo que la inhibición a causa del incremento en la concentración de NH_3 libre resultó en la acumulación de AGV especialmente de ácido acético. Tal efecto causó un desbalance en la utilización y rápida acumulación de AGVs alcanzando un incremento de 8,3 veces respecto de la concentración de AGVs totales (Shi y col., 2016) valor que está sobre lo observado en este estudio, con un aumento en la concentración de AGVs totales de 4,7 y 4,9 veces en LC y LINC, respectivamente en el día 229 en relación al promedio calculado antes del comienzo de la inhibición en la etapa con TRS de 15 d.

5.3 Eficiencias de transformación de materia orgánica

5.3.1 Eficiencia de eliminación de DQOt y SV

En RPT se obtuvo un incremento en la eficiencia de eliminación equivalente a 28, 21 y 38%, existiendo una diferencia significativa en etapa con TRS de 30 d ($p < 0,05$) y no significativa para las etapas con TRS de 15 y 7,5 d ($p > 0,05$). Los incrementos obtenidos en este estudio, concuerdan con los rangos reportados en literatura (Tabla 6) comprendidos entre 18-36%.

Tabla 6. Incrementos en eliminación de DQOt en digestión anaeróbica de lodos sanitarios pre-tratados con diferentes métodos.

Lodo	Pre-tratamiento	Condiciones DA	Incremento remoción DQOt (%)	Referencias
Secundario	Oxidación KOH 130°C, pH: 10	Continuo TRS: 20 d T: 35°C	36	Valo y col., 2004
Mixto	2 g H ₂ O ₂ /gSSV 90°C, 24 h	CSTR TRS: 30 d T: 37°C	34	Rivero y col., 2006
Secundario	Microaeróbico 65°C, 1 d	CSTR TRS: 21-42 d T: 35°C	30	Dumas y col., 2010
Secundario	Electrocinética 34 kWh/m ³	CSTR TRS: 20 d T: 37°C	18	Lee y Rittmann, 2011
Secundario	Químico 8 gNaOH/m ³ pH: 8	CSTR TRS: 21 d T: 55°C	18	Wonglertarak y Wichitsathian, 2014
Mixto	US EE: 2000 kJ/kgST + Térmico: 55°C durante 8 h	CSTR TRS: 30-15-7,5 d T: 37°C	28-21-38	Este estudio

US: Ultrasonido, EE: Energía específica, CSTR: Reactor de mezcla continua, TRS: Tiempo de retención de sólidos y T: Temperatura.

El efecto del TRS sobre los porcentajes de eliminación de DQOt coincide con lo observado respecto a SV lo que se discutirá en la siguiente sección.

El desempeño del proceso de DA también se evaluó con respecto a la eficiencia de eliminación de materia orgánica en forma de SV como muestra la Figura 15b. El incremento presentado alcanza un 3 y 6,4% más en el RPT con respecto al RC, durante las etapas de 30 y 15 d, respectivamente en las que no existen diferencias significativas

($p > 0,05$) en eliminación de SV. Tales incrementos, concuerdan con lo reportado por Islam (2015), quien observó un incremento equivalente a un 5% más en un reactor alimentado con lodo sonicado (4163 kJ/kgST y TRS: 20 d). En otro estudio, Braguglia y col. (2011), observaron un incremento cercano al de este estudio equivalente a un 8% más en reactor alimentado con lodo sonicado (5000 kJ/kgST y TRS: 20 d). En un estudio en que se aplicó un pre-tratamiento térmico (50°C durante 12 h) se obtuvo un incremento equivalente a un 7,6% más en reactor alimentado con lodo pre-tratado (Nges y Liu, 2009).

Sin embargo, los valores discutidos anteriormente están por debajo del rango de incrementos en la eliminación de SV observadas en reactores alimentados con diferentes pre-tratamientos respecto a reactores alimentados con lodo sin pre-tratamiento reportado en bibliografía (Tabla 7), que va desde 10-19% más de eliminación de SV.

La eliminación de SV durante la etapa de operación con TRS de 7,5 d no presentó diferencias significativas entre el desempeño presentado por RC y RPT. Sin embargo, durante esta misma etapa el RPT presentó un incremento de 23,9% más en eliminación de SV que el RC, valor superior al reportado por Islam (2015), quien observó un incremento de un 17% en un reactor alimentado con lodo sonicado (2042 kJ/kgST y TRS: 5 d), respecto de uno alimentado con lodo crudo. El valor observado durante esta etapa coincidiría también con lo observado por Riau y col. (2015), como se observa en la Tabla 7.

Tabla 7. Incrementos en eliminación de SV en digestión anaeróbica de lodos sanitarios pre-tratados con diferentes métodos.

Lodo	Pre-tratamiento	Condiciones DA	Incremento remoción SV (%)	Referencias
Mixto	Térmico 70°C, 9 h	Batch t: 40 d T: 55°C	10	Ferrer y col., 2008
Secundario	US EE: 2500 kJ/kgST	CSTR TRS: 10 d T: 37°C	19	Braguglia y col., 2012
Secundario	Térmico 55°C, 12 h	Batch t: 30 d T: 35°C	18	Carvajal y col., 2013
Secundario	US EE: 3380 kJ/kgST	DA en fases T: 55-35°C	13	Riau y col., 2015
Secundario	US EE: 5742 kJ/kgST	Batch t: 30 d T: 35°C	17	Pilli y col., 2016
Mixto	US EE: 2000 kJ/kgST, + Térmico: 55°C durante 8 h	Semi-continuo TRS: 30-15-7,5 d T: 37°C	3-6-24	Este estudio

US: Ultrasonido, EE: Energía específica, t: Tiempo de operación, T: Temperatura, CSTR: Reactor de mezcla continua, TRS: Tiempo de retención de sólidos y DA: Digestión anaeróbica.

En la Figura 21, se observa una tendencia en la eliminación de SV del lodo que presentaron ambos reactores durante las tres etapas de operación con TRS de 30, 15 y 7,5 d. Las eficiencias de eliminación observadas en este estudio concuerdan con los rangos reportados por Islam (2015) comprendidos entre 48-30% en un sistema control de DA alimentado con lodo mixto y operado con TRS de 20-5 d, respectivamente.

Entre las etapas operadas con TRS de 30 y 15 d, las eficiencias de eliminación disminuyeron un 12 y 9,6% en RC y RPT, respectivamente.

De la misma forma, al reducir nuevamente el TRS desde 15 a 7,5 d, se observó una disminución en la capacidad de remoción de SV equivalente a 22,7 y 10% en RC y RPT, respectivamente. Las disminuciones observadas en este estudio concuerdan con lo observado por Islam (2015), quien reportó una disminución de un 10 y 36% en un reactor alimentado sin pre-tratamiento y un 9 y 10% en un reactor alimentado con lodo pre-tratado con US (4163 kJ/kgST) entre etapas en que se disminuyó el TRS de 20 a 10 d y de 10 a 5 d, respectivamente. En tal estudio se concluyó que en general, la transformación de materia orgánica o eficiencia de eliminación presentada es mayor cuando se operó con altos TRS ($\text{TRS} > 5$ d), debido al largo tiempo provisto para que las bacterias formadoras de CH_4 ejecutaran la transformación de materia (Islam, 2015), hecho que concuerda con lo observado en este estudio.

En efecto, al operar con TRS de 7,5 d se observó una mayor disminución en la remoción en ambos reactores lo que estaría dado por un posible lavado de microorganismos y por lo tanto una reducción en la cantidad de biomasa activa dentro de ambos sistemas de reacción. Tal observación concuerda con lo predicho por Appels y col. (2008) quienes destacan que el mínimo TRS recomendado para llevar a cabo la DA mesofílica es de 10 d, para prevenir el lavado de los microorganismos responsables de la conversión de la materia orgánica. Además ellos reportan una disminución típica en la destrucción de SV equivalente a un 14% al momento de reducir el TRS desde 30 a 15 d (Metcalf y col., 2003; Appels y col., 2008), valor cercano a lo obtenido en este estudio.

Por otra parte, Nickel y Neis (2007) afirman que la aplicación de pre-tratamientos puede lograr potenciar la conversión de materia orgánica en reactores alimentados con lodo pre-tratado sobre el control operados con TRS de 7 d o menos.

Tal efecto, se atribuye a la dificultad que enfrentan los sistemas de digestión convencionales (sin pre-tratamiento), ante altas VCO y bajos TRS que disminuyen la extensión destinada a la etapa de hidrólisis lo cual se contrapone a sistemas de DA con lodos pre-tratados en que se requiere menor tiempo destinado a la desintegración del

lodo, el que muchas veces no requiere de una reacción de hidrólisis dentro del reactor por efecto de pre-digestión logrado a causa del pre-tratamiento (Nickel y Neis, 2007).

Lo anterior coincidiría con la mayor remoción de SV presentada por el RPT sobre RC equivalente a un 25% más aproximadamente, en la etapa operada con TRS de 7,5 d. La diferencia antes reportada se debería exclusivamente al menor porcentaje de eliminación de SV presentado en RC durante esta misma etapa, lo que coincidiría con lo propuesto por Nickel y Neis, (2007) asociado al efecto de reducción del TRS similar a lo observado en relación a la eliminación de DQOt.

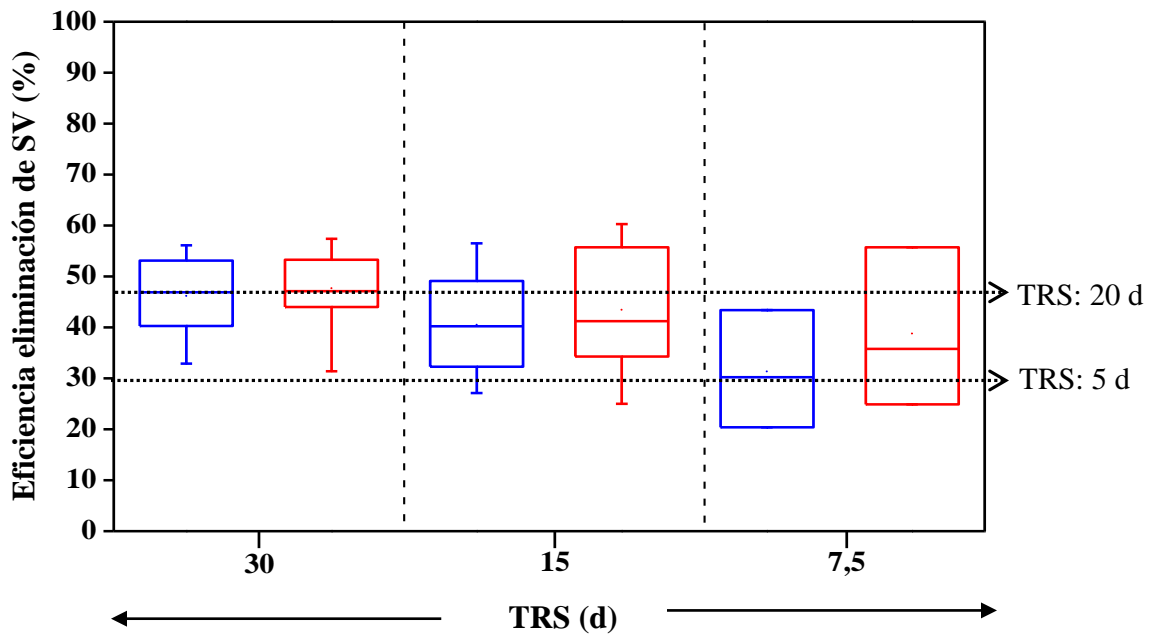


Figura 21. Eficiencia de eliminación de sólidos volátiles en diferentes etapas de operación. \square RC, \square RPT y $\cdots \rightarrow$ Eficiencia de eliminación de sólidos volátiles reportada en literatura (Islam, 2015). Barrera externa del bigote superior e inferior representan los valores máximos y mínimos observados, respectivamente, Puntos ubicados sobre o bajo los bigotes superior e inferior, respectivamente representan puntos atípicos, Cuadrado central de la caja representa la media y Línea horizontal en el centro de la caja representa la mediana.

5.3.2 Producción de metano

Los resultados obtenidos en este estudio asociados a los incrementos en la producción de CH₄ (Tabla 8) observados durante las etapas con TRS de 30 y 15 d estarían cercanos a lo reportado por Souza y col. (2013b) quienes aplicaron un pre-tratamiento térmico (55°C durante 12 h) obteniendo un incremento de un 24% en un reactor anaeróbico tipo CSTR a escala de laboratorio con volumen de reacción de 30 L y bajo condición mesofílica (35°C y TRS: 20 d). Los resultados obtenidos durante la etapa con TRS de 15 d sería similar a lo reportado por Braguglia y col. (2012) equivalente a un 26% obtenido en un reactor semi-continuo (TRS: 10 d) alimentado con lodo sonicado (2500 kJ/kgST). Mientras que el incremento obtenido durante la etapa con TRS de 7,5 d estaría por sobre el resultado obtenido en el estudio antes descrito. El incremento en la producción de CH₄ en reactor alimentado con lodo pre-tratado estaría atribuido a la liberación de enzimas específicas durante el pre-tratamiento de US (Braguglia y col., 2012).

En tanto, el incremento observado en la etapa con TRS de 7,5 d sería similar al descrito por Dhar y col. (2012) quienes describieron un incremento en la producción total equivalente a un 29% en un reactor batch alimentado con lodo secundario pre-tratado con ultrasonido e incubación (5000 kJ/kgSST y 50°C durante 30 min, respectivamente), con respecto al sistema de digestión alimentado con lodo sin pre-tratamiento.

Los incrementos observados en este estudio se encuentran dentro del rango reportado en literatura comprendido entre 10-38% (Tabla 8), sin embargo se debe considerar tanto la variabilidad de las características del lodo utilizado como el tipo y las condiciones del pre-tratamiento y DA efectuada (Donoso-Bravo y col., 2011).

Previo a este estudio se realizó un experimento en batch, el cual se focalizó en estudiar los incrementos en la producción de biogás en sistema alimentado con lodo sanitario pre-tratado secuencialmente con US e incubación (55°C) bajo diferentes condiciones de EE y tiempo de incubación. Los resultados mostraron incrementos en la producción de biogás equivalentes a 16 y 32% más en los ensayos de DA con lodo pre-tratado con US con EE de 500 kJ/kgST e incubación a 55°C durante 3 y 13 h,

respectivamente. En ambas combinaciones se obtuvo un balance de energía térmica y eléctrica positiva de 3,8-6,3 MW•h/d y 15,7-7,2 MW•h/d, respectivamente (Neumann y col., 2017) lo que indicó la factibilidad energética que involucra el desarrollo del pre-tratamiento bajo las condiciones utilizadas en este estudio. Sin embargo, otro estudio similar pero con la utilización de US de forma individual y EE de 5040 kJ/kgST se obtuvo un incremento en la producción de biogás de 6% respecto del sistema alimentado con lodo sin pre-tratamiento (Pérez-Elvira y col., 2009) con un balance energético positivo (1,0). Por otra, parte Carvajal y col. (2013) al aplicar pre-tratamiento térmico a 55°C durante 12 h obtuvieron un 23% más de biogás en el sistema alimentado con lodo pre-tratado equivalente a un balance energético positivo de 53,4. Estos resultados, respaldan que las condiciones utilizadas en este estudio son factibles de ser aplicables a mayor escala y serían energéticamente sustentables.

Tabla 8. Incrementos en producción de metano en digestión anaeróbica de lodos sanitarios pre-tratados con diferentes métodos.

Lodo	Pre-tratamiento	Condiciones DA	Incremento producción CH ₄	Referencias
Mixto	Térmico 70°C, 24 h	Batch t: 40 d T: 55°C	10	Ferrer y col., 2008
Secundario	80°C, 30 min	Batch t: 20 d T: 37°C	38	Appels y col., 2010
Secundario	Ultrasonido 5000 kJ/kgST	Semi-continuo TRS: 20 d T: 37°C	30	Braguglia y col., 2011
Secundario	2500 kJ/kgST	Semi-continuo TRS: 10 d T: 37 °C	26	Braguglia y col., 2012
Mixto	1685 kJ/kgST	Semi-continuo TRS: 16 d T: 35-40°C	24	Cesaro y col., 2012
Secundario	Térmico 90°C, 30 min	Batch t: 28 d T: 37°C	19	Dhar y col., 2012
Secundario	Térmico 55°C, 12 h	Batch t: 25 d T: 35°C	23	Carvajal y col., 2013
Mixto	US EE: 2000 kJ/kgST + Térmico: 55°C durante 8 h	Semi-continuo TRS: 30-15-7,5 d T: 37°C	21-25-31	Este estudio

DA: Digestión anaeróbica, t: Tiempo, T: Temperatura y TRS: Tiempo de retención de sólidos

La Figura 22 ilustra el rendimiento específico de CH_4 para ambos sistemas y presenta rangos similares a los reportados por Islam (2015) comprendidos entre 339-115 $\text{mL/gSV}_{\text{alimentado}}$ en un reactor control alimentado con lodo mixto y operado con TRS de 20-5 d, respectivamente. En más, los rendimientos reportados entre las etapas con TRS de 30 y 15 d están cercanos al rendimiento de la DA de lodos sanitarios llevada a cabo en la PTAS (ESSBIO, Concepción) equivalente a 234 $\text{mL/gSV}_{\text{alimentado}}$ al operar con TRS de 30 d, lo que permite concluir que el desempeño en la operación de los reactores a escala de laboratorio fue equivalente al presentado a escala real, hecho que deriva de la similitud de las características del lodo influente que se utilizó en este estudio con el que se utiliza en la DA llevada a cabo en la PTAS.

El incremento en el rendimiento observado en RPT comprendido entre 18-33% más que el RC también concuerda con diferentes estudios reportados en literatura. Los resultados obtenidos en las etapas con TRS de 30 y 15 d coincidiría con Dhar y col. (2012) quienes reportan rangos de incremento en el rendimiento específico de CH_4 entre 19 y 22% más en un sistema de DA (batch) alimentado con lodo pre-tratado en forma secuencial con US bajo EE de 1000 y 5000 kJ/kgST , respectivamente seguido de incubación a 50°C durante 30 min.

El incremento presentado entre las etapas con TRS de 15 y 7,5 d resulta cercano al obtenido por Braguglia y col. (2012) quienes obtuvieron un incremento en el rendimiento específico equivalente a un 27% en un reactor anaeróbico semi-continuo alimentado con lodo posterior a un pre-tratamiento de US (2500 kJ/kgST).

Por otra parte, existen estudios que presentan resultados similares al aplicar métodos de pre-tratamiento diferentes. Por ejemplo, Jelcic y col. (2006) reportaron un incremento en el rendimiento de 17% en un reactor alimentado con lodo mixto pre-tratado con microonda (2450 Hz, 1000 W y durante 110 s) respecto de un sistema control alimentado con lodo sin pre-tratamiento, en DA con TRS de 25 d. En tanto, Kuglarz y col. (2013) obtuvieron un rendimiento 35% mayor en un reactor alimentado con lodo secundario pre-tratado con microonda (900 W, durante 212 s) respecto de otro alimentado con lodo sin pre-tratamiento, en etapas de operación con TRS de 17 y 20 d.

El incremento presentado por el RPT, entre las etapas de 30 y 7,5 d coincidiría con lo propuesto en literatura asociado a que el pre-tratamiento incrementa el rendimiento de la DA (Cesaro y Belgiorno, 2014) debido a la desintegración de la estructura flocular y ruptura de la pared celular, lo cual resulta en la lisis o desintegración de las bacterias que componen principalmente el lodo secundario (Appels y col., 2008). De tal forma, se logra que la materia orgánica lentamente biodegradable, se transforme en compuestos de menor peso molecular y rápidamente biodegradables por parte de la biomasa en el proceso de DA (Patil y col., 2016), permitiendo reducir los altos tiempos de retención, comúnmente entre 20-50 d, debido a la dificultad presentada por la etapa de hidrólisis (Kim y col., 2010).

La tendencia observada es similar al efecto observado respecto a la eliminación de SV (Figura 21), ya que al disminuir el TRS el RC presentó un 4,7 y 26% menor rendimiento entre las etapas operadas con 30-15 y 15-7,5 d, respectivamente. Sin embargo, el RPT presentó un rendimiento mayor equivalente al 8% en la etapa con TRS de 15 d respecto del observado en la etapa con TRS de 30 d, mientras que presentó una disminución similar a un 26% entre las etapas con TRS de 15-7,5 d. La disminución constante presentada por el RC a través de todo el período experimental coincidiría con lo propuesto por Islam (2015) respecto a que la disminución del TRS ejerce un efecto significativo sobre el tiempo que disponen las bacterias para ejecutar el proceso de transformación de materia orgánica.

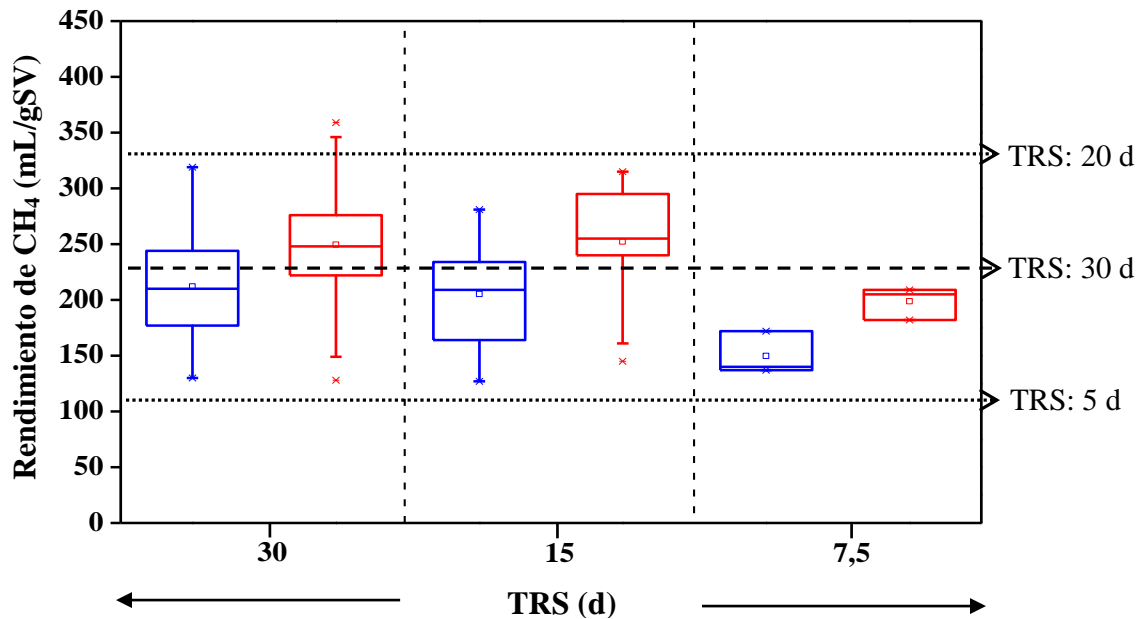


Figura 22. Rendimiento de metano. \square RC, \square RPT, $\cdots \rightarrow$ Rendimiento reportado en literatura (Islam, 2015) y $- \rightarrow$ Rendimiento promedio reportado en PTAS (ESSBIO, Concepción). Barrera externa del bigote superior e inferior representan los valores máximos y mínimos observados, respectivamente, Puntos ubicados sobre o bajo los bigotes superior e inferior, respectivamente representan puntos atípicos, Cuadrado central de la caja representa la media y Línea horizontal en el centro de la caja representa la mediana.

5.3.3 Caracterización del efluente

La DQOs presentada por el RPT siempre mostró una mayor concentración equivalente a 5, 7 y 10% más con respecto a RC, lo que podría estar dado por el incremento en la DQOs del lodo a raíz del pre-tratamiento, efecto que concuerda con lo reportado por Xue y col. (2015) quienes al pre-tratar lodo secundario deshidratado (60, 70 y 80°C durante 24 h) y luego someterlo a DA, obtuvieron incrementos de la DQOs en el efluente equivalente a 7, 10 y 14%, respectivamente sobre el reactor control (alimentado con lodo sin pre-tratamiento).

El DS 4 que establece el reglamento para el manejo de lodos generados en plantas de tratamiento de aguas servidas y define lodo estabilizado al que presenta una reducción del potencial de atracción de vectores sanitarios conforme a una reducción

mínima de un 38% de SV en la unidad de tratamiento (MINSEGPRES, 2009). La eliminación de SV comprendida entre 46-31% en RC y 48-39% en RPT, muestra que según esta norma los lodos provenientes desde el RC solo durante las etapas con TRS de 30 y 15 d, constituirían un residuo con bajo potencial de atracción de vectores. En contraste, el efluente proveniente del mismo reactor durante la etapa con TRS de 7,5 d no cumpliría tal característica. Sin embargo, lodos provenientes del RPT habrían alcanzado una eficiente estabilización bajo todas las etapas y condiciones operacionales lo que otorgaría una ventaja al sistema de DA con pre-tratamiento, conforme al tipo de efluente y cantidad de biogás capaz de producir.

Al comparar las concentraciones de AGVs del influente y efluente de ambos reactores, se demuestra que hubo un 8, 3 y 9% más de eliminación en RPT que en RC durante las etapas operadas con TRS de 30, 15 y 7,5 d, respectivamente, sin embargo las diferencias no son estadísticamente significativas ($p > 0,05$). Xue y col. (2015) observaron un incremento en la eliminación de AGVs equivalente a un 3% del lodo efluente del reactor alimentado con lodo incubado (80°C durante 24 h) respecto al del reactor control.

Los mismos autores concluyen que el incremento en la eliminación de AGVs presentado por los sistemas de digestión con pre-tratamiento estaría atribuido a que en reactores alimentados con lodo sin pre-tratamiento habría presencia de materia orgánica exclusivamente lípidos en forma de polímeros que requieren una etapa de hidrólisis previo a su conversión en CH₄ (Xue y col., 2015), lo que se lograría más rápidamente en sistemas alimentados con lodo pre-hidrolizado, presentando incrementos en las capacidades de transformación (Chowdhury y col., 2007; Appels y col., 2010; Cesaro y Belgiorno, 2014).

5.3.4 Balance de materia orgánica

Como se describió en la sección de resultados, el balance de materia orgánica entregó producciones teóricas de CH₄ superiores a las obtenidas experimentalmente. En cuanto al RC, se observan producciones teóricas de un 17 y 24% más respecto al promedio real reportado durante las etapas con TRS de 30 y 15 d, respectivamente.

Mientras que en RPT se observan incrementos en la producción teórica calculada a través del balance equivalente a un 4 y 8%, respectivamente.

Tales observaciones se podría deber tanto a problemas operacionales como a lo propuesto por Van Lier y col. (2008) quienes proponen que las eficiencias de tratamiento globales en sistemas experimentales reales serían inferiores a los cálculos bajo condiciones teóricas, debido a la posible presencia de aceptores de electrones alternativos como nitrato, sulfato o sulfito lo que desencadenaría una disminución en la producción de CH_4 en sistemas reales.

5.3.5 Deshidratabilidad de lodos posterior a DA

En cuanto a la capacidad de separación de agua (Tabla 4) desde los efluentes provenientes de la DA llevada a cabo en ambos reactores, se determinó que el porcentaje aproximado de líquido separado respecto a la masa total centrifugada fue de 74 y 71% correspondiente al efluente del RC y RPT durante la etapa con TRS de 30 d y tiempo de centrifugación de 3 min. Al aplicar el mismo tiempo de centrifugación anterior a los efluentes obtenidos durante la etapa con TRS de 15 d el porcentaje aproximado de líquido separado fue 58 y 56% correspondiente al RC y RPT, respectivamente. Cuando los efluentes se sometieron a tiempo de centrifugación de 10 min se obtuvieron porcentajes aproximados de separación de líquido similares entre los reactores equivalentes a un 80 y 69% en las etapas operadas con TRS de 30 y 15 d, respectivamente.

En general, según los resultados presentados en la Tabla 4 se observa que los lodos provenientes del RPT presentan menor capacidad de deshidratabilidad que el sistema control. Esta observación coincidiría con lo observado por Bagruglia y col. (2012) quienes reportaron un CST de $11 \text{ s}\cdot\text{L}/\text{gST}$ en un lodo sometido a un pre-tratamiento ultrasónico (24 kHz y 2500 kJ/kgST) y posteriormente digerido anaeróticamente, respecto del lodo sin pre-tratamiento y digerido anaeróticamente el cual presentó un CST de $7 \text{ s}\cdot\text{L}/\text{gST}$. Ellos concluyen, que si bien la DA de lodo pre-tratado, incrementa la deshidratabilidad (CST lodo sonificado antes de DA: $15 \text{ s}\cdot\text{L}/\text{gST}$) de igual manera se observa una menor capacidad de desaguado con respecto al lodo

digerido no pre-tratado debido al efecto significativo que ejerce el pre-tratamiento sobre el incremento de partículas coloidales.

Los resultados encontrados en este estudio podrían también estar relacionados con lo propuesto por Murthy y col. (1998) quienes consideraron que iones monovalentes como amonio y sodio solubles podrían deteriorar las propiedades de deshidratación del lodo. Lo anterior, se reflejaría en aumento de la fracción coloidal producto de la hidrólisis parcial a causa del pre-tratamiento y posterior DA lo que impide una eficiente floculación que permita la decantación mediante el proceso de centrifugación (Murthy y col., 1998; Sobeck y Higgins, 2002; Yin y col., 2004). Tal efecto podría estar asociado a la mayor concentración de N-NH_4^+ equivalente a un 10% más aproximadamente observada en el efluente del RPT respecto de RC a lo largo de todo el período experimental, lo que justificaría la menor capacidad de separación de agua del efluente proveniente del sistema de digestión con pre-tratamiento.

A menudo lodos digeridos anaeróbicamente con un mayor grado de desintegración muestran menores capacidades de deshidratabilidad lo que conlleva a una mayor demanda de polímero para lograr los niveles óptimos de humedad para la disposición (Winter, 2002; Bolzonella y col., 2005). Tal efecto, concuerda con Braguglia y col. (2009) quienes afirman que la degradación del lodo durante la digestión, genera cambios en las propiedades físico-químicas del flóculo, liberando componentes intracelulares, cambiando la morfología e incrementando el contenido coloidal que contribuiría a la colmatación del filtro y por lo tanto una menor capacidad de separación de agua.

5.4 Estado de la materia orgánica dentro de los reactores

De acuerdo con los valores (en porcentajes) de hidrólisis, acidogénesis y metanogénesis de la DQOt, presentados en la Tabla 5, se observa que al comparar ambos reactores el porcentaje de materia orgánica hidrolizada, acidogenizada y metanogenizada en la etapa con TRS de 30 d fue 0,3-1,2-1,5% mayor en RPT que en RC, respectivamente. Sin embargo, en la etapa con TRS de 15 d, se registró un incremento equivalente a un 18% aproximadamente en relación a todos los estados en RPT con respecto a RC. En cuanto a la etapa operada con TRS de 7,5 d, se observó que

los valores promedios incrementaron un 16,0, 11,5 y 19,0% en RPT respecto del RC, para los porcentajes de la materia orgánica en estado de monómero, ácidos grasos y metano, respectivamente. Lo anterior sugiere que un sustrato pre-hidrolizado por aplicación de un pre-tratamiento induciría una mayor tasa de conversión de materia orgánica dentro del reactor alimentado con pre-tratamiento respecto del control.

Entre las etapas operadas con TRS de 30 y 15 d, se observó una disminución de 2,1, 4,2 y 2,7%, de la materia orgánica hidrolizada, acidogenizada y metanogenizada, respectivamente en el RC, mientras que en RPT se observaron incrementos equivalentes a 14,0, 12,7 y 14,1%, respectivamente entre las mismas etapas. Sin embargo, entre las etapas con TRS de 15 y 7,5 d, los porcentajes de materia orgánica hidrolizada, acidogenizada y metanogenizada presentaron disminuciones equivalentes a 17,2-15,6-21,6% y 17,6-21,0-21,8% tanto en RC como RPT, respectivamente. La tendencia observada por disminución de cada uno de los porcentajes es esperada al momento de reducir el TRS, lo que podría deberse a que el porcentaje de recambio de biomasa es mayor y por tanto la concentración de microorganismos activos dentro de los digestores tendería a disminuir, con lo que la transformación de materia orgánica también disminuiría (Zeeman, 1991).

En cuanto a la acidogénesis se observó una disminución equivalente a 16 y 21% en RC y RPT, respectivamente entre las etapas con TRS de 15 y 7,5 d lo que podría coincidir con la acumulación de NH_3 libre en esta misma etapa equivalente a un 7% aproximadamente en ambos reactores, ya que El-Mashad y col. (2004) concluyeron que la acumulación de tal compuesto afecta a las bacterias acidogénicas. La tendencia en la disminución del porcentaje de acidogénesis presentado entre las etapas de 30 y 7,5 d, podría estar asociada también a la acumulación en la concentración de N-NH_4^+ observada en rangos entre 0,8-1,1 y 0,9-1,2 g/L en RC y RPT, lo que coincide con lo propuesto por Rollon (1999) quien concluyó que al aumentar la concentración de N-NH_4^+ desde 0 a 1,5 g/L en DA de agua residual de pescado se obtenía una leve pero creciente inhibición de la acidogénesis.

Finalmente, la metanogénesis también presentó una tendencia a disminuir conforme a la disminución del TRS, efecto dado posiblemente por aumento en la

concentración de NH_3 libre en rangos de 0,018-0,036 y 0,017-0,047 g/L entre las etapas de 30 y 7,5 d en RC y RPT, respectivamente lo que coincidiría con la conclusión descrita por El-Mashad y col. (2004) quienes mencionan que la metanogénesis es igualmente afectada por el incremento en la concentración de NH_3 libre.

Lo anterior demuestra que si bien la concentración de N- NH_3 libre fue mayor dentro del RPT y presentó una acumulación conforme a la reducción del TRS, esta no alcanza rangos inhibitorios que afecten a los microorganismos responsables de la conversión de materia orgánica dentro del reactor alimentado con LINC.

5.5 Actividades microbiológicas

Algunos resultados reportados en bibliografía, provenientes de actividades microbiológicas presentadas por biomasa anaeróbica tratando lodo sanitario reportan valores equivalentes a 1,34, 2,21 y 0,20 gDQO/gSSV•d para las diferentes actividades (hidrolítica, acidogénica y metanogénica, respectivamente) difieren de los rangos obtenidos en este estudio (Tabla 9), lo que se atribuye a la diferencia que existe entre las condiciones de operación e influente alimentado a los reactores en los diferentes estudios.

Entre las etapas con TRS de 30 y 15 d la biomasa del RPT presentó una actividad hidrolítica específica equivalente a un 3 y 27% más que los microorganismos anaeróbicos provenientes del RC. La menor diferencia observada en TRS de 30 d, podría atribuirse al suficiente tiempo con el que cuentan los microorganismos del RC para desarrollar la actividad hidrolítica sobre el sustrato complejo alimentado presentando una actividad similar a la observada en RPT. Sin embargo, el incremento en la actividad hidrolítica del RPT coincidiría con lo reportado por Song y col. (2004) quienes al aplicar DA de lodo residual en dos fases (55°C y 35°C) observaron una tasa hidrolítica específica de 19% mayor a la presentada por la biomasa de un reactor anaeróbico convencional a 35°C. Los autores atribuyeron la mayor actividad a la generación de productos intermediarios como alcalinidad y otros nutrientes durante la pre-digestión a 55°C, lo que fue transferido al reactor mesofílico favoreciendo la actividad enzimática y de los microorganismos anaeróbicos responsables de la depolimerización dentro del reactor (Song y col., 2004).

El incremento en la actividad acidogénica específica fue equivalente a un 10 y 30% más presentada por los microorganismos anaeróbicos provenientes del RPT respecto a los desarrollados dentro de RC durante las etapas con TRS de 30 y 15 d, respectivamente. Lo anterior coincidiría con lo indicado por Lu y col. (2008) quienes concluyen que la mayor actividad se debería al efecto de hidrólisis parcial a causa del pre-tratamiento lo que potenciaría las siguientes etapas de la DA, ya que la materia orgánica hidrolizada constituiría un sustrato fácilmente disponible para la acción de bacterias acidogénicas (Lu y col., 2008).

En relación a la actividad metanogénica específica, durante la etapa con TRS de 30 d la biomasa del RC presentó un 6% más que la de RPT, sin embargo la producción de CH₄ en RPT durante esta misma etapa fue un 21% mayor respecto a la observada en RC. Respecto a lo anterior, se ha reportado que la actividad metanogénica calculada en relación a la biomasa total constituye una medición que no discrimina entre microorganismos activos o no activos (Regueiro y col., 2012) por lo que no siempre reflejaría lo que realmente ocurre en el sistema de digestión experimental.

Mientras que durante la etapa con TRS de 15 d, la actividad metanogénica alcanzó un 78% más en RPT respecto RC. Tal resultado, estaría cercano a lo obtenido por Lu y col. (2008) quienes obtuvieron una actividad metanogénica equivalente a un 80% más en la biomasa proveniente de un sistema de digestión anaeróbica termofílica en dos fases (pre-tratamiento a 70°C y DA a 55°C) de lodo primario como sustrato respecto de un sistema de DA termofílica individual a 55°C, ambos con TRS de 15 d.

El potenciamiento de la actividad microbiológica en digestores alimentados con lodo pre-tratado sugiere que es posible operar con menores TRS respecto a sistemas alimentados con lodo sin pre-tratamiento (Lu y col., 2008) los que requieren mayores tiempos destinados a la estabilización debido a la complejidad presentada por la materia orgánica del influente.

Tabla 9. Actividades microbiológicas de biomasa proveniente de diferentes tratamientos anaeróbicos.

Condiciones DA	Sustrato	AM	Resultados	Unidad	Referencias
CSTR TRS: 27 d; T: 36°C I: Lodo sanitario	Almidon	Hidrolítica	1,34	gDQO/gSSV•d	Regueiro y col., 2012
	Glucosa	Acidogénica	2,21		
	AGVs	Metanogénica	0,2		
UASB TRH: 0,4 d, T: 30°C VCO: 10 (gDQO/L•d) I: R. industria de cerveza	Almidon	Hidrolítica	1,65	gDQO/gSSV•d	Regueiro y col., 2012
	Glucosa	Acidogénica	1,74		
	AGVs	Metanogénica	0,48		
Batch t: 30 d; T: 35°C I: Estiércol de cerdo	Mezcla	Metanogénica	0,27	gDQO/gSSV•d	Jiménez y col., 2015
CSTR TRS: 30-15 I: Lodo sanitario	Almidón	Hidrolítica	RC: 1,63-1,80 RPT: 1,67-2,28	gDQO/gSV•d	Este estudio
	Glucosa	Acidogénica	RC: 1,58-1,45 RPT: 1,74-1,88		
	AGVs	Metanogénica	RC: 0,33-0,09 RPT: 0,31-0,16		

DA: Digestión anaeróbica, AM: Actividad microbiológica, SSV: Sólidos suspendidos volátiles; UASB: Reactor anaeróbico de flujo ascendente, CSTR: Reactor de mezcla continua, TRS: Tiempo de retención de sólidos, I: Influyente, TRH: Tiempo de retención hidráulico, VCO: Velocidad de carga orgánica y t: tiempo.

5.6 Proyecciones

La incorporación de un pre-tratamiento a lodo sanitario permitiría incrementar el desempeño operacional del sistema de digestión ya existente en las PTAS actualmente en operación, debido a los incrementos en la transformación de materia orgánica residual en CH₄ una fuente de energía renovable que al ser producido en mayor volumen contribuiría a contrarrestar los costos asociados al sistema de tratamiento de lodos.

Por otra parte, el pre-tratamiento favorece la reducción del tiempo necesario para la estabilización respecto de sistemas alimentados con lodo sin pre-tratamiento lo que conllevaría a una reducción de los volúmenes de operación de los digestores y menores costos de capital asociado a la puesta en marcha de sistemas de tratamiento anaeróbico de lodos. Lo anterior facilitaría el desarrollo de una operación autosustentable basada en la descontaminación de un residuo altamente putrescible pero con un importante potencial energético.

Desde un punto de vista práctico, las proyecciones de este estudio se enfocan hacia el escalamiento de los resultados obtenidos en escala piloto y posteriormente industrial. Sin embargo, conocer en profundidad y contrastar la comunidad microbiológica desarrollada en el reactor alimentado con lodo pre-tratado respecto a la del control, contribuiría a entender y confirmar los resultados obtenidos en este estudio, previo al desarrollo del proceso a una mayor escala. Para tal efecto, se propone aplicar diferentes técnicas de biología molecular como DGGE, FISH y secuenciación de genes, para establecer la presencia, actividad y tipos de bacterias desarrolladas, respectivamente.

6 CONCLUSIONES

- Este estudio demostró que el pre-tratamiento secuencial de lodo mixto no altera la estabilidad de la DA. Durante todo el período operacional se obtuvo un pH de 7,35 en ambos reactores, mientras que la relación AI/AP estuvo comprendida entre 0,28-0,43 y 0,30-0,35 en RC y RPT, respectivamente. En tanto, la concentración de N-NH_4^+ fluctuó entre 0,9-1,0 y 1,0-1,2 g/L en RC y RPT, respectivamente.
- El RPT presentó incrementos en la generación de CH_4 entre 21-35% más respecto a RC. El efluente del RC presentó mayor capacidad de separación de líquido entre un rango equivalente a 0,23-3,70% mayor que el de RPT.
- La actividad microbiológica hidrolítica, acidogénica y metanogénica presentada por la biomasa desarrollada en RPT fue 3-27%, 10-30% y 18% mayor respecto a la desarrollada en RC, respectivamente.
- De acuerdo a los resultados obtenidos se acepta la hipótesis planteada en este trabajo.

7 AGRADECIMIENTOS

En esta sección quisiera dar mis más sinceros agradecimientos a la Doctora Gladys Vidal, primero por haberme integrado en su grupo de trabajo, en el cual pude ampliar en gran medida mi conocimiento a través de diferentes cursos, charlas y jornadas de aprendizaje, pero también por la confianza y reconocimiento otorgado hacia mi trabajo. Por otra parte, quisiera agradecer al Doctor (c) Patricio Neumann por todo el apoyo entregado, tanto teórico como práctico y por su respaldo permanente durante mi trabajo.

También quisiera agradecer a todas las personas que conforman al Grupo de Ingeniería y Biotecnología Ambiental (GIBA), por haber contribuido en el aprendizaje multidisciplinario adquirido durante este período de mi carrera. En especial, quisiera agradecer profundamente a María José Ortega por su apoyo incondicional, confianza y conocimiento entregado durante todo el período de realización de mi trabajo para lograr la finalización exitosa de esta Tesis.

De igual manera quisiera agradecer a la Planta de Tratamiento de Aguas Servidas, ESSBIO S.A., Concepción, especialmente a Don Carlos González por permitir el ingreso y muestreo en la planta, pero también mis más sinceros agradecimientos van dirigidos hacia Don Rubén Malgüe quien colaboró incondicionalmente con el proceso de muestreo y apoyo en la empresa.

Continuando, quisiera agradecer a todos los docentes que fueron parte de mi formación de pre-grado de quienes pude adquirir conocimientos valiosos que contribuirán fuertemente a mi desarrollo profesional.

Finalmente mis agradecimientos van dirigidos a las dos instituciones que financiaron este trabajo, primero al Centro de Recursos Hídricos para la Agricultura y la Minería (CRHIAM) de la Universidad de Concepción, por el soporte económico entregado y por otra parte a la Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica a través del Proyecto CONICYT PAI/2014 No.781413004, CONICYT-PCHA/Doctorado Nacional/2013-2113005 y Proyecto CONICYT/FONDAP 15130015.

8 REFERENCIAS

Aguilera, S.M., Borie, G., Peirano, P., Rodriguez, M., Grez, I. y Zunino, H. (2007) Chemical Characterization of Sewage Sludges in Chile and Their Potential Utilization as Amendment to Reclaim Soils for Forestation Purposes. *J. Plant Nutr.* 30:1993–2003.

Alarcón, R. (2009) Localización de plantas de tratamiento de lodos de la Empresa de Servicios Sanitarios del BíoBío. Tesis para obtener el Título de Ingeniero Civil Industrial, Mención Gestión, Universidad del BíoBío, Chile. 170 pp.

Amani, T., Nosrati, M. y Sreekrishnan, T.R. (2010) Anaerobic digestion from the viewpoint of microbiological, chemical, and operational aspects - a review. *Environ. Res.* 18:255-278.

Anderson, K., Sallisp, P., y Uyanik, S. (2003). Anaerobic treatment processes. *Handbook of water and wastewater microbiology*, 391 pp.

Angelidaki, I. y Ahring, B. (1993) Thermophilic anaerobic digestion of livestock waste: the effect of ammonia. *Appl. Microbiol. Biot.* 38:560–564.

Angelidaki, I., Karakashev, D., Batstone, D. J., Plugge, C. M., y Stams, A. J. (2011). Biomethanation and its potential. *Methods Enzymol.* 494:327-351.

APHA-AWWA-WEF (1998) Standard methods for the examination of water and wastewater, 20th ed., Washington.

APHA-AWWA-WEF (2005) Standard methods for examination of water and wastewater, 21st ed., Washington.

Appels, L., Baeyens, J., Degrève, J. y Dewil, R. (2008) Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge. *Prog. Energy Combust. Sci.* 34:755-781.

Appels, L., Degrève, J., Van der Bruggen, B., Van Impe, J. y Dewil, R. (2010) Influence of low temperature thermal pre-treatment on sludge solubilisation, heavy metal release and anaerobic digestion. *Bioresour. Technol.* 101:5743-5748.

Appels, L., Houtmeyers, S., Degrève, J., Van Impe, J. y Dewil, R. (2013) Influence of microwave pre-treatment on sludge solubilization and pilot scale semi-continuous anaerobic digestion. *Bioresour. Technol.* 128:598-603.

Apul, O.G. y Sanin, F.D. (2010) Ultrasonic pretreatment and subsequent anaerobic digestion under different operational conditions. *Bioresour. Technol.* 101:8984-8992.

Aydin, B. y Civelekoğlu, G. (2010) Effects of ultrasonic treatment on the waste activated sludge. *J. Eng. Sci. Design.* 1:28–32.

Barañaño, P y Tapia, L. (2004) Tratamiento de Aguas Servidas: Situación en Chile. *Cienc. Trab.* 13:111-117.

Batimelli, A., Millet, C., Delgenès, J.P. y Moletta, R. (2003) Anaerobic digestion of waste activated sludge combined with ozone post-treatment and recycling. *Water Sci. Technol.* 48:61-68.

Belmonte, M., Hsieh, C.F., Figueroa, C., Campos, J.L. y Vidal, G. (2011) Effect of free ammonia nitrogen on the methanogenic activity of swine wastewater. *Electron. J. Biotechnol.* 14:1-9.

Benabdallah El-Hadj T., Dosta J., Márquez-Serrano R. y Mata-Alvarez J. (2007) Effect of ultrasound pretreatment in mesophilic and thermophilic anaerobic digestion with emphasis on naphthalene and pyrene removal. *Water Res.* 41:87–94

Boe, K. (2006) Online monitoring and control of the biogas process. Tesis para optar al grado de Doctor, University of Denmark, Denmark. 47 pp.

Bolzonella, D., Pavan, P., Battistoni, P. y Cecchi, F. (2005) Mesophilic anaerobic digestion of waste activated sludge: influence of the solid retention time in the wastewater treatment process. *Process Biochem.* 40:1453-1460.

Bougrier, C., Carrère, H. y Delgènes, J.P. (2005) Solubilization of waste-activated sludge by ultrasound treatment. *Chem. Eng. J.* 106:163–169.

Bougrier, C., Albasi, C., Delgènes, J.P., Carrère, H. (2006) Effect of ultrasonic, thermal and ozone pre-treatments on waste activated sludge solubilisation and anaerobic biodegradability. *Chem. Eng. Process.* 45:711-718.

Bougrier, C., Delgenès, J.P. y Carrère, H. (2007) Impacts of thermal pre-treatments on the semi-continuous anaerobic digestion of waste activated sludge. *Biochem. Eng. J.* 34:20-27.

Bougrier, C., Delgenès, J.P. y Carrère, H. (2008) Effects of thermal treatments on five different waste activated sludge samples solubilisation, physical properties and anaerobic digestion. *Chem. Eng. J.* 139:236-244.

Braguglia, C.M., Gianico, A. y Mininni, G. (2009) Effect of ultrasound on particle surface charge and filterability during sludge anaerobic digestion. *Water Sci. Technol.* 60:2025-2033.

Braguglia, C.M., Gianico, A. y Mininni, G. (2011) Laboratory-scale ultrasound pre-treated digestion of sludge: Heat and energy balance. *Bioresour. Technol.* 102:7567-7573.

Braguglia, C.M., Gianico, A. y Mininni, G. (2012) Comparison between ozone and ultrasound disintegration on sludge anaerobic digestion. *J. Environ. Manage.* 95:139–143.

Burgess, J. y Pletschke, B. (2008) Hydrolytic enzymes in sewage sludge treatment: a mini-review. *Water SA.* 34:343-349.

Cano, R., Pérez-Elvira, S.I. y Fdz-Polanco, F. (2015) Energy feasibility study of sludge pretreatments: A review. *Appl. Energy.* 149:176-185.

Carballa, M., Omil, F. y Lema, J.M. (2009) Influence of different pretreatments on anaerobically digested sludge characteristics: suitability for final disposal. *Water Air Soil Poll.* 199:311-321.

Carrère, H., Dumasa, C., Battimelli, A., Batstone, D.J., Delgenes, J.P., Steyer, J.P. y Ferrer, I. (2010) Pretreatment methods to improve sludge anaerobic degradability: A review. *J. Hazard. Mater.* 183:1-15.

Carvajal, A. (2012) Study of the autohydrolysis pretreatment of secondary sludge and its influence on the anaerobic digestion. Tesis para obtener el grado de Doctor, Universidad de Valladolid, España. 142 pp.

Carvajal, A., Peña, M. y Pérez-Elvira, S. (2013) Autohydrolysis pretreatment of secondary sludge for anaerobic digestion. *Biochem. Eng. J.* 75:21-31.

Castillo, J. (2001) Uso de biodigestores en el tratamiento de desechos orgánicos. *Revista Energía.* 35:9-12.

Cesaro, A., Naddeo, V., Amodio, V. y Belgiorno, V. (2012) Enhanced biogas production from anaerobic codigestion of solid waste by sonolysis. *Ultrason. Sonochem.* 19:596-600.

Cesaro, A. y Belgiorno, V. (2014) Pretreatment methods to improve anaerobic biodegradability of organic municipal solid waste fractions. *Chem. Eng. J.* 240:24-37.

Chen, Y., Yang, H. y Gu, C. (2001) Effect of acid and surfactant treatment on activated sludge dewatering and settling. *Water Res.* 35:2615-2620.

Chen, Y., Cheng, J.J. y Creamer, K.S. (2008) Inhibition of anaerobic digestion process: a review. *Bioresour. Technol.* 99:4044-4064.

Chowdhury, N., Lalman, J.A., Seth, R. y Ndegwa, P. (2007) Biohydrogen production by mesophilic anaerobic fermentation of glucose in the presence of linoleic acid. *J. Environ. Eng.* 133:1145-1152.

Climent, M., Ferrer, I., Baeza, M.D., Artola, A., Vazquez, F. y Font, X. (2007) Effects of thermal and mechanical pre-treatments of secondary sludge on biogas production under thermophilic conditions. *Chem. Eng. J.* 133:335-342.

CSIC, CTC y AGRUPAL. (2013) Digestión anaerobia. <http://www.agrowaste.eu/wp-content/uploads/2013/02/digestion-anaerobia.pdf>

Davis, R.D. y Hall, J.E. (1997) Production, treatment and disposal of wastewater sludge in Europe from a UK perspective. *Eur. Water Pollut. Control.* 7:9-17.

De Baere, L. (2006) Will anaerobic digestion of solid waste survive in the future?. *Water Sci. Technol.* 53:187-194.

Maria, I.C., Chiba, M.K., Costa, A. y Berton, R.S. (2010) Sewage sludge application to agricultural land as soil physical conditioner. *Rev. Bras. Ciência do Solo* 34:967-974.

De Souza Pereira, M. y Kuch, B. (2005) Heavy metals, PCDD/F and PCB in sewage sludge samples from two wastewater treatment facilities in Rio de Janeiro State, Brazil. *Chemosphere* 60:844-853.

Dehghani, H.M. (2005) Effectiveness of ultrasound on the Destruction of *E. coli*. *Am. J. Environ. Sci.* 1:187-189.

Departamento de Ingeniería Química y Tecnología de Medio Ambiente (2009) Procedimiento de ensayo: Centrifugabilidad. Universidad de Valladolid, España. 4 pp.

Dhar, B.P., Nakhla, G. y Ray, M.B. (2012) Techno-economic evaluation of ultrasound and thermal pretreatments for enhanced anaerobic digestion of municipal waste activated sludge. *Waste Manage.* 32:542–549.

Díaz-Báez, M., Vargas, S. y Pérez, F. (2002) Digestión Anaerobia: una aproximación a la tecnología. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, 167 pp.

Dohányos, M., Zábranská, J., Kutil, J. y Jeníček, P. (2004) Improvement of anaerobic digestion of sludge. *Water Sci. Technol.* 49:89 – 96.

Dong, B., Liu, X., Dai, L., y Dai, X. (2013) Changes of heavy metal speciation during high-solid anaerobic digestion of sewage sludge. *Bioresour. Technol.* 131:152-158.

Donoso-Bravo, A., Pérez-Elvira, S., Aymerich, E. y Fdz-Polanco, F. (2011) Assessment of the influence of thermal pre-treatment time on the macromolecular composition and anaerobic biodegradability of sewage sludge. *Bioresour. Technol.* 102: 660-666.

Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K. y Smith, F. (1956) Colorimetric method for determination of sugar and related substances. *Anal. Chem.* 28:350-355.

Dumas, C., Perez, S., Paul, E. y Lefebvre, X. (2010) Combined thermophilic aerobic process and conventional anaerobic digestion: Effect on sludge biodegradation and methane production. *Bioresour. Technol.* 101:2629-2636.

El-Mashad, H.M., Zeeman, G., Van Loon., W., Bot, G. y Lettinga, G. (2004) Effect of temperature and temperature fluctuation on thermophilic anaerobic digestion of cattle manure. *Bioresour. Technol.* 95:191-201.

Elbeshbishy, E., Aldin, S., Hafez, H., Nakhla, G. y Ray, M. (2011) Impact of ultrasonication of hog manure on anaerobic digestability. *Ultrason. Sonochem.* 18:164-171.

Erden, G. y Filibeli, A. (2010) Improving anaerobic biodegradability of biological sludges by Fenton pre-treatment: Effects on single stage and two-stage anaerobic digestion. *Desalination.* 251:58–63.

Feng, X., Deng, J., Lei, H., Bai, T., Fan, Q. y Li, Z. (2009) Dewaterability of waste activated sludge with ultrasound conditioning. *Bioresour. Technol.* 100:1074–1081.

Ferrer, I., Ponsa, S., Vazquez, F. y Font, X. (2008) Increasing biogas production by thermal (70°C) sludge pre-treatment prior to thermophilic anaerobic digestion. *Biochem. Eng. J.* 42:186-92.

Foladori, P., Laura, B., Andreottola, G. y Zigliio, G. (2007) Effects of sonication on bacteria viability in wastewater treatment plants evaluated by flow cytometry: fecal indicators, wastewater and activated sludge. *Water Res.* 41:235– 243.

Foladori, P., Andreottola, G. y Zigliio, G. (2010) *Sludge Reduction Technologies in Wastewater Treatment Plants*. IWA Publishing, London, 361 pp.

Frølund, B., Griebe, T. y Nieleesen, P.H. (1995) Enzymatic activity in the activated-sludge floc matrix. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 43:755-761.

Frølund, B., Palmgren, R., Keiding, K., Nielsen, P.H. (1996) Extraction of extracellular polymers from activated sludge using a cation exchange resin. *Water Res.* 30:1749-1758.

Gerardi, M. H. (2003) *The microbiology of anaerobic digesters*. John Wiley & Sons, New Jersey, 192 pp.

Gessesse, A., Dueholm, T., Petersen, S.B. y Nielsen, P.H. (2003) Lipase and protease extraction from activated sludge. *Water Res.* 37:3652–3657.

Gonçalves, L. (2013) *Evaluación de la biodegradabilidad anaerobia de residuos orgánicos pre-tratados térmicamente*. Tesis para obtener el grado de Doctor, Universidad de Valladolid, España. 264 pp.

Gonze, E., Pillot, S., Valette, E., Gonthier, Y. y Bernis, A. (2003) Ultrasonic treatment of an aerobic activated sludge in a batch reactor. *Chem. Eng. Process.* 42:965–975.

Grönroos, A., Kyllönen, H., Korpijärvi, K., Pirkonen, P., Paavola, T., Jokela, J. y Rintala, J. (2005) Ultrasound assisted method to increase soluble chemical oxygen demand (SCOD) of sewage sludge for digestion. *Ultrason. Sonochem.* 12:115–20.

Guellil, A., Boualam, M., Quiquampoix, H., Ginestet, P., Audic, J.M. y Block, J.C. (2001) Hydrolysis of wastewater colloidal organic matter by extracellular enzymes extracted from activated sludge flocs. *Water Sci. Technol.* 43:33-40.

Hansen, K.H., Angelidaki, I. y Ahring, B.K. (1998) Anaerobic digestion of swine manure: inhibition of ammonia. *Water Res.* 32:5-12.

Hartmann, H., Angelidaki, I. y Ahring, B.K. (2000) Increase of anaerobic degradation of particulate organic matter in full-scale biogas plants by mechanical maceration. *Water Sci. Technol.* 41:145-153.

Hua, I. y Hoffmann, M.R. (1997) Optimization of ultrasonic irradiation as an advanced oxidation technology. *Environ. Sci. Technol.* 31:2237-2243.

Hutňan, M., Mrafková, I., Dřtil, M. y Derco, J. (1999) Methanogenic and nonmethanogenic activity of granulated sludge in anaerobic baffled reactor. *Chem. Papers.* 53:374-378.

Hwang, M.H., Jang, N.J., Hyum, S.H. y Kim, I.S. (2004) Anaerobic bio-hydrogen production from ethanol fermentation: the role of pH. *J. Biotechnol.* 111:297-309.

Instituto para la Diversificación y Ahorro de la Energía (IDAE) (2007) *Biomasa: Digestores anaerobios*. IDAE, Madrid, 43 pp.

Islam, F. (2015) Evaluation of low power sonication on anaerobic digestion of municipal waste sludge and energy recovery. Tesis para optar al grado de Master of Applied Science, University of British Columbia, Canada. 130 pp.

Jiménez, J., Guardia-Puebla, Y., Cisneros-Ortiz, M.E., Morgan-Sagastume, J.M., Guerra, G. y Noyola, A. (2015) Optimization of the specific methanogenic activity during the anaerobic co-digestion of pig manure and rice straw, using industrial clay residues as inorganic additive. *Chem. Eng. J.* 259:703-714.

Jin, B., Whilen, B.M. y Lant, P. (2004) Impacts of morphological, physical and chemical properties of sludge flocs on dewaterability of activated sludge. *Chem. Eng. J.* 98:115-126.

Jin, Y., Li, H., Mahar, R.B., Wang, Z. y Nie, Y. (2009) Combined alkaline and ultrasonic pretreatment of sludge before aerobic digestion. *J. Environ. Sci.* 21:279-284.

Johannesson, G. (1999) Sewage sludge characterization and evaluation of P availability under greenhouse conditions. Tesis para obtener el grado de Máster en Ciencia. University of Guelph, Canadá. 136 pp.

Khanal, S.K., Grewell, D., Sung, S. y Van Leeuwen, J.H. (2007) Ultrasound applications in wastewater sludge pretreatment: a review. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 37:277-313.

Kim, J., Park, C., Kim, T.H., Lee, M., Kim, S., Kim, S.W. y Lee, J. (2003) Effects of various pretreatment for enhanced anaerobic digestion with waste activated sludge. *J. Biosci. Bioeng.* 95:271-275.

Kim, D.H., Jeong, E., Oh, S.E. y Shin, H.S. (2010) Combined (alkaline D ultrasonic) pretreatment effect on sewage sludge disintegration. *Water Res.* 44:3093-3100.

Klavon, K., Lansing, S., Mulbry, W., Moss, A. y Felton, G. (2013) Economic analysis of small-scale agricultural digesters in the United States. *Biomass Bioenerg.* 54:36-45.

Kuglarz, M., Karakashev, D. y Angelidaki, I. (2013) Microwave and thermal pretreatment as methods for increasing the biogas potential of secondary sludge from municipal wastewater treatment plants. *Bioresour. Technol.* 134:290-297.

Kwiatowska, B., Bennet, J., Akunna, J., Walker, G.M. y Bremner, D.H. (2011) Stimulation of bioprocess by ultrasound. *Biotechnol. Adv.* 29:768-780.

Lafitte-Troqué, S. y Forster, C.F. (2002) The use of ultrasound and γ -irradiation as pre-treatments for the anaerobic digestion of waste activated sludge at mesophilic and termophilic temperatures. *Bioresour. Technol.* 84:113-118.

Lee, D.J., Chen, Y.Y., Show, K.Y., Whiteley, C.G. y Tay, J.H. (2010) Advances in aerobic granule formation and granule stability in the course of storage and reactor operation. *Biotechnol. Adv.* 28:919-934.

Lee, I.S. y Rittmann, B.E. (2011) Effect of low solids retention time and focused pulsed pretreatment on anaerobic digestion of waste activated sludge. *Bioresour. Technol.* 102:2542-2548.

Leitao, R.C., Van Haandel, A.C., Zeeman, G. y Lettinga, G. (2006) The effects of operational and environmental variations on anaerobic wastewater treatment systems: A review. *Bioresour. Technol.* 97:1105-1118.

Leiva, C., Ahumada, I., Sepúlveda, B. y Richter, P. (2010) Polychlorinated biphenyl behavior in soils amended with biosolids. *Chemosphere* 79:273-277.

Liu, T. y Sung, S. (2002) Ammonia inhibition on thermophilic aceticlastic methanogens. *Water Sci. Technol.* 45:113-120.

Liu, X., Liu, H., Chen, J., Du, G. y Chen, J. (2008) Enhancement of solubilization and acidification of waste activated sludge by pretreatment. *Waste Manage.* 28:2614-2622.

Liu, X., Wang, W., Gao, X., Zhou, Y. y Shen, R. (2012) Effect of thermal pretreatment on the physical and chemical properties of municipal biomass waste. *Waste Manage.* 32:249-255.

Lu, J., Gavala, H., Skiadas, I., Mladenovska, Z. y Ahring, B. (2008) Improving anaerobic sewage sludge digestion by implementation of a thermophilic prehydrolysis step. *J. Environ. Manage.* 88:881-889.

Lu, Q., He, Z.L. y Stoffella, P.J. (2012) Land application of biosolids in the USA: a review. *Appl. Environ. Soil Sci.* 2012:1-11.

Ma, J., Duong, T.H., Smits, M., Verstraete, W. y Carballa, M. (2010) Enhanced biomethanation of kitchen waste by different pre-treatments. *Bioresour. Technol.* 102:592-599.

Mason, T.J. y Peters, D. (2002) *Practical Sonochemistry: Power Ultrasound uses and Applications*. Woodhead Publishing, Chinchener, 166 pp.

Mata-Alvarez, J., Dosta, J., Romero-Guiza, M.S., Fonoll, X., Peces, M. y Astals, S. (2014) A critical review on anaerobic co-digestion achievements between 2010 y 2013. *Renew. Sust. Energ. Rev.* 36:412-427.

Mechichi, T. y Sayadi, S. (2005) Evaluating process imbalance of anaerobic digestion of olive mill wastewaters. *Process Biochem.* 40:139-145.

Méndez-Acosta, H.O., Palacios-Ruiz, B., Alcaraz-González, V., González-Álvarez, V. y García-Sandoval, J.P. (2010) A robust control scheme to improve the stability of anaerobic digestion processes. *J. Process Control*. 20:375-383.

Metcalf, L., Eddy, H.P., Tchobanoglous, G., Burton, F.L. y Stensel, H.D. (2003) *Wastewater engineering: treatment and reuse*. McGraw-Hill, New York, 1830 pp.

Mikkelsen L.H., Keiding K (2002). Physico-chemical characteristics of full scale sewage sludges with implications to dewatering. *Water Res.* 36: 2451-2462.

Ministerio Secretaría General de la Presidencia (MINSEGPRES), Gobierno de Chile. 2001. Norma: Decreto 90. Norma de emisión para la regulación de contaminantes asociados a las descargas de residuos líquidos a aguas marinas y continentales superficiales. <http://leychile.cl/Navegar?idNorma=182637>.

Ministerio Secretaría General de la Presidencia (MINSEGPRES), Gobierno de Chile. 2009. Norma: Decreto 4. Reglamento para el manejo de lodos generados en plantas de tratamiento de aguas servidas. <http://www.leychile.cl/Navegar/?idNorma=1007456&idVersion=2010-04-26&idParte>.

Mohapatra, D.P., Brara, S.K., Tyagi, R.D. y Surampalli, R.Y. (2011) Parameter optimization of ferro-sonication pre-treatment process for degradation of bisphenol A and biodegradation from wastewater sludge using response surface model. *J. Hazard. Mater.* 189:100-107.

Moncayo, G. y Arrue, R. (2007) Construcción de biodigestores para el aprovechamiento del estiércol de animales para producción de biogás y energía eléctrica. Colegio de Ingenieros Agrónomos de Chile. <http://www.agronomos.cl/2007/feb/htm/construccion.htm>

Mowla, D., Tran, H.N. y Allen, D.G. (2013) A review of the properties of biosludge and its relevance to enhanced dewatering processes. *Biomass Bioenerg.* 58:365-378.

Muller, C.D., Abu-Orf, M., Blumenschein, C.D. y Novak, J.T. (2009) A comparative study of ultrasonic pretreatment and an internal recycle for the enhancement of mesophilic anaerobic digestion. *Water Environ. Res.* 81:2398-2410.

Murthy, S.N., Novak, J.T. y De Haas, R.D. (1998) Monitoring cations to predict and improve activate sludge settling and dewatering properties of industrial wastewater. *Water Sci. Technol.* 38:119-126.

Na, S., Kim, Y.U. y Khim, J. (2007) Physiochemical properties of digested sewage sludge with ultrasonic treatment. *Ultrason. Sonochem.* 14:281-285.

Nabarlitz, D., Vondrysova, J., Janicek, P., Stüber, F., Font, J. y Fortuny, A. (2010) Hydrolytic enzymes in activated sludge: extraction of protease and lipase by stirring and ultrasonication. *Ultrason. Sonochem.* 17:923-31.

Neumann, P., Pesante, S., Venegas, M. y Vidal, G. (2016) Developments in pre-treatment methods to improve anaerobic digestion of sewage sludge. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* 15:173-211.

Neumann, P., González, Z. y Vidal, G. (2017) Sequential ultrasound and low-temperature thermal pretreatment: Process optimization and influence on sewage sludge solubilization, enzyme activity and anaerobic digestion. *Bioresour. Technol.* 234:178-187.

Neyens, E., Baeyens, J., Dewill, R. y De Heyder, B. (2004) Advanced sludge treatments affects extracellular polymeric substances to improve activated sludge dewatering. *J. Hazard Mater.* 106:83-92.

Nges, I. y Liu, J. (2009) Effects of anaerobic pre-treatment on the degradation of dewatered-sewage sludge. *Renew. Energy.* 34:1795-1800.

Nickel, K. y Neis, U. (2007) Ultrasound disintegration of biosolids for improved biodegradation. *Ultrason. Sonochem.* 14:450-455.

Nielsen, P. H., Thomsen, T.R. y Nielsen, J.L. (2004) Bacterial composition of activated sludge - importance for floc and sludge properties. *Water Sci. Technol.* 49:51-58.

Organisation for Economic Co-Operation and Development (OECD). 2014. Wastewater treatment (% population connected). http://stats.oecd.org/index.aspx?datasetcode=water_treat

Oz, N.A. y Yarimtepe, C.C. (2014) Ultrasound assisted biogas production from landfill leachate. *Waste Manage.* 34:1165-1170.

Paraíba, L.C., Queiroz, S.C.N., De Souza, D.R.C. y Saito, M.L. (2011) Risk simulation of soil contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons from sewage sludge used as fertilizers. *J. Braz. Chem. Soc.* 22:1156-1163.

Patil, P.N., Gogate, P.R., Csoka, K., Dregelyi-Kiss, A. y Horvath, M. (2016) Intensification of biogás production using pretreatment based on hydrodynamic cavitation. *Ultrason. Sonochem.* 30:79-86.

Pérez-Elvira, S., Nieto, P. y Fdz-Polanco, F. (2006) Sludge minimisation technologies. *Environ. Sci. Technol.* 5:375-398.

Pérez-Elvira, S., Fdz-Polanco, M., Plaza, F.I., Garralón, G. y Fdz-Polanco, F. (2009) Ultrasound pre-treatment for anaerobic digestion improvement. *Water Sci. Technol.* 60:1525-1532.

Pilli, S., Bhunia, P., Yan, S., Le Blanc, R.J., Tyagi, R.D. y Surampalli, R.Y. (2011) Ultrasonic pretreatment of sludge: a review. *Ultrason. Sonochem.* 18:1–18.

Pilli, S., Yan, S., Tyagi, R.D. y Surampalli, R.Y. (2016) Anaerobic digestion of ultrasonicated sludge at different solids concentrations – Computation of mass-energy balance and greenhouse gas emissions. *J. Environ. Manag.* 166:374-386.

Pino-Jelcic, S.A., Hong, S.M. y Park, J.K. (2006) Enhanced anaerobic biodegradability and inactivation of fecal coliforms and *Salmonella* spp. in wastewater sludge by using microwaves. *Water Environ. Res.* 78:209-216.

Plugge, C., Van Lier, J., Stams, A. y Jeison, D. (2009). Microbial Energy Production from Biomass. *Environ. Technol.* 9:17-38.

Pratap, C.P., David, P.C., Gerasimos, L. y Spyros, A.S. (2001) Stable performance of anaerobic digestion in presence of a high concentration of propionic acid. *Bioresour. Technol.* 8:165-169.

Procházka, J., Dolejs, P., MácA, J. y Dohányos, M. (2012) Stability and inhibition of anaerobic processes caused by insufficiency or excess of ammonia nitrogen. *Appl. Microbiol. Biot.* 93:439-447.

Prorot, A., Julien, L., Christophe, D. y Patrick, L. (2011) Sludge disintegration during heat treatment at low temperature: A better understanding of involved mechanisms with a multiparametric approach. *Biochem. Eng. J.* 54:178-184.

Qasim, Syed R. (1998) Wastewater Treatment Plants: Planning, Design and operation. CRC Press, 1126 pp.

Qiao, W., Yan, X., Ye, J., Sun, Y., Wang, W. y Zhang, Z. (2011) Evaluation of biogas production from different biomass wastes with/without hydrothermal pretreatment. *Renew. Energy*. 36:3313-3318.

Rajagopal, R., Massé, D.I. y Singh, G. (2013) A critical review on inhibition of anaerobic digestion process by excess ammonia. *Bioresour. Technol.* 143:632-641.

Regueiro, L., Veiga, P., Figueroa, M., Alonso-Gutierrez, J., Stams, A., Lema, J. y Carballa, M. (2012) Relationship between microbial activity and microbial community structure in six full-scale anaerobic digesters. *Microbiol. Res.* 167:581-589.

Retamal, M., Ahumada, I., Maricán, A., Fuentes, E., Borie, G. y Richter, P. (2010) Continuous pressurized solvent extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from biosolids. Assessment of their lability in soils amended with biosolids. *Anal. Lett.* 43:2465-2476.

Riau, V., De la Rubia, M.A. y Perez, M. (2015) Upgrading the temperature-phased anaerobic digestion of waste activated sludge by ultrasonic pretreatment. *Chem. Eng. J.* 259:672-681.

Rivero, J.A.C., Madhavan, N., Suidan, M.T., Ginestet, P. y Audic, J.M. (2006) Enhancement of anaerobic digestion of excess municipal sludge with thermal and/or oxidative treatment. *J. Environ. Eng.* 132:638-644.

Rodriguez, D.C., Belmonte, M., Penuela, G., Campos, J.L. y Vidal, G. (2011) Behaviour of molecular weight distribution for the liquid fraction of pig slurry treated by anaerobic digestion. *Environ. Technol.* 32:419-425.

Rojas, R. (2002) Curso Internacional: Gestión Integral de Tratamientos de Aguas Residuales. Conferencia: Sistemas de Tratamientos de Aguas Residuales, 19 pp.

Rollon, P.A. (1999) Anaerobic digestion of fish processing wastewater with special emphasis on hydrolysis of suspended solids. Tesis para optar al grado de Doctor, Wageningen University, Netherlands, 121 pp.

Ruiz-Hernando, M., Labanda, J. y Llorens, J. (2010) Effect of ultrasonic waves on the rheological features of secondary sludge. *Biochem. Eng. J.* 52:131-136.

Ruiz-Hernando, M., Cabanillas, E., Labanda, J. y Llorens, J. (2015) Ultrasound, thermal and alkali treatments affect extracellular polymeric substances (EPSs) and improve waste activated sludge dewatering. *Process Biochem.* 50:438-446.

Salsabil, M.R., Prorot, A., Casellas, M. y Dagot, C. (2009) Pretreatment of activated sludge: effect of sonication on aerobic and anaerobic digestibility. *Chem. Eng. J.* 148:327–335.

Schlafer, O., Sievers, M., Klotzbucher, H. y Onyeche, T. (2000) Improvement of biological activity by low energy ultrasound assisted bioreactors. *Ultrasonics.* 38:711-716.

Shao, L., Wang, G., Xu, H., Yu, G. y He, P. (2010) Effects of ultrasonic pretreatment on sludge dewaterability and extracellular polymeric substances distribution in mesophilic anaerobic digestion. *J. Environ. Sci.* 22:474-480.

Shehu, M.S., Abdul, Z. y Wan, S.R. (2012) Optimization of thermo-alkaline disintegration of sewage sludge for enhanced biogas yield. *Bioresour. Technol.* 114:69-74.

Sheng, G.P., Yu, H.Q. y Li, X.Y. (2010) Extracellular polymeric substances (EPS) of microbial aggregates in biological wastewater treatment systems: A review. *Biotechnol. Adv.* 28:882-894.

Shi, X., Lin, J., Zuo, J., Li, P., Li, X. y Guo, X. (2016) Effects of free ammonia on volatile fatty acid accumulation and process performance in the anaerobic digestion of two typical bio-wastes. *J. Environ. Sci.* Article in Press: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jes.2016.07.006>.

Show, K.Y., Tay, J.H. y Hung, Y.T. (2010) Ultrasound pretreatment of sludge for anaerobic digestion, en *Handbook of environmental engineering* (Wang, L.K., Tay, J.H., Tay, S.T.L., y Hung, Y.T., eds.) pp. 53-73, Springer Humana Press, USA.

Silva Oliveira, A., Bocio, A., Beltramini, T., Magosso, A., Domingo, J. y Segura-Muñoz, S. (2007) Heavy metals in untreated/treated urban effluent and sludge from a biological wastewater treatment plant. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 14:483-489.

Sobeck, D.C. y Higgins, M.J. (2002) Examination of three theories for mechanisms of cation-induced bioflocculation. *Water Res.* 36:527-538.

Son, Y.C., Kwon, S.J. y Woo, J.H. (2004) Mesophilic and thermophilic temperature co-phase anaerobic digestion compared with single-stage mesophilic- and thermophilic digestion of sewage sludge. *Water Res.* 38:1653-1662.

Soria, M., Ferrera-Cerrato, R., Etchevers, J., Alcántar, G., Trinidad, J., Borges, L. y Pereyda, G. (2001) Producción de biofertilizantes mediante biodigestión de excreta líquida de cerdo. *Terra.* 19:353-362.

Soto, M., Méndez, R. y Lema, J.M. (1993) Methanogenic and non-methanogenic activity test. Theoretical basis and experimental set up. *Water Res.* 27:1361-1376.

Souza, M., Mezadri, E.T., Zimmerman, E., Leaes, E.X., Bassaco, M.M., Dal Prá, V., Foletto, E., Cancellier, A., Terra, L.M., Jahn, S.L. y Mazutti, M. (2013a) Evaluation of activity of a commercial amylase under ultrasound-assisted irradiation. *Ultrason. Sonochem.* 20:89-94.

Souza, T.S.O., Carvajal, A., Donoso-Bravo, A., Pena, M. y Fdz-Polanco, F. (2013b) ADM1 calibration using BMP tests for modeling the effect of autohydrolysis pretreatment on the performance of continuous sludge digesters. *Water Res.* 47:3244-3254.

Spellman, F. (1997) *Wastewater biosolids to compost* (Spellman, ed), Technomic Publishing Company, Inc., Pennsylvania, 251 pp.

Sung, S. y Liu, T. (2003) Ammonia inhibition on thermophilic anaerobic digestion. *Chemosphere.* 53:43-52.

Superintendencia de Servicios Sanitarios (SISS), Gobierno de Chile. 2014. Informe anual de coberturas urbanas de servicios sanitarios. <http://siss.gob.cl/577/w3-article-11624.html>

Superintendencia de Servicios Sanitarios (SISS), Gobierno de Chile. 2014. Informe de Gestión del Sector Sanitario. http://www.siss.gob.cl/577/articles-11844_inf_gest.pdf

Superintendencia de Servicios Sanitarios (SISS), Gobierno de Chile. 2015. Informe de coberturas sanitarias. http://www.siss.gob.cl/577/articles-15518_recurso_1.pdf

Tiehm, A., Nickel, K., Zellhorn, M. y Neis, U. (2001) Ultrasonic WAS disintegration for improving anaerobic stabilization. *Water Res.* 35:2003-2009.

Turovskiy, I.S. y Mathai, P.K. (2006) *Wastewater sludge processing*. Wiley, New York, 250 pp.

Tyagi V.K., Loa, S.L., Appels, L. y Dewil, R. (2014) Ultrasonic treatment of waste sludge: A review on mechanisms and applications. *Crit. Rev. Env. Sci. Tec.* 44-1220-1288.

Valo, A., Carrère, H. y Delgenès, J.P. (2004) Thermal, chemical and thermo-chemical pre-treatment of waste activated sludge for anaerobic digestion. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 79:1197-1203.

Van Lier, J. B., Mahmoud, N., y Zeeman, G. (2008) Anaerobic wastewater treatment, en *Biological Wastewater Treatment* (Henze, M., Van Loosdrecht, M.C.M., Ekama, G.A. y Brdjanovic, D., eds) pp. 401-442, IWA Publishing, London.

Veiga, M.C., Soto, M., Méndez, R. y Lema, J.M. (1990) A new device for measurement and control of gas production by bench scale anaerobic digesters. *Water Res.* 24:1551-1554.

Vera, I., Sáez, K. y Vidal, G. (2013) Performance of 14 full-scale sewage treatment plants: Comparison between four aerobic technologies regarding effluent quality, sludge production and energy consumption. *Environ. Technol.* 34:2267-2275.

Villar, L. y Garcia, O. (2006) Effect of Anaerobic Digestion and Initial pH on Metal Bioleaching from Sewage Sludge. *J. Environ. Sci. Heal. Part A.* 41:211-222.

Von Sperling, M. (2007) *Biological Wastewater Treatment*. IWA Publishing, London, 296 pp.

Wang, Y.Y., Zhang, Y.L., Wang, J.B. y Meng, L. (2009) Effects of volatile fatty acid concentrations on methane yield and methanogenic bacteria. *Biomass Bioenerg.* 33:848-853.

Weemaes, M. y Verstraete, W. (1998) Evaluation of current wet sludge disintegration techniques. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 73:83-92.

Wei, Y., Van Houten, R.T., Borger, A.R., Eikelboom, D.H. y Fan, Y. (2003) Minimization of excess sludge production for biological wastewater treatment. *Water Res.* 37:4453-4467.

Weiland, P. (2010) Biogas production: current state and perspectives. *Appl. Microbiol. Biot.* 85:849-860.

Wilson, C.A. y Novak, J.T. (2009) Hydrolysis of macromolecular components of primary and secondary wastewater sludge by thermal hydrolytic pretreatment. *Water Res.* 43:4489-4498.

Winter, A. (2002) Minimisation of costs by using disintegration at a full-scale anaerobic digestion plant. *Water Sci. Technol.* 46:405-412.

Wonglertarak, W. y Wichitsathian, B. (2014) Alkaline pretreatment of waste activated sludge in anaerobic digestion. *J. Clean Energy Technol.* 2:118-121.

Xie, B., Liu, H. y Yan, Y. (2009) Improvement of the activity of anaerobic sludge by low-intensity ultrasound. *J. Environ. Manage.* 90:260-264.

Xu, G., Chen, S., Shi, J., Wang, S. y Zhu, G. (2010) Combination treatment of ultrasound and ozone for improving solubilization and anaerobic biodegradability of waste activated sludge. *J. Hazard. Mater.* 180:340-346.

Xu, H., He, P., Yu, G. y Shao, L. (2011) Effect of ultrasonic pretreatment on anaerobic digestion and its sludge dewaterability. *J. Environ. Sci.* 23:1472-1478.

Xu, Z., Zhao, M., Miao, H., Huang, Z., Gao, S. y Ruan, W. (2014) In situ volatile fatty acids influence biogas generation from kitchen wastes by anaerobic digestion. *Bioresour. Technol.* 163:186-192.

Xue Y., Liu H., Chen S., Dichtl, N., Dai, X. y Li, N. (2015) Effects of thermal hydrolysis on organic matter solubilization and anaerobic digestion of high solid sludge. *Chem. Eng. J.* 264:174-180.

Yin, X., Han, P., Lu, X. y Wang, Y. (2004) A review on the dewaterability of bio-sludge and ultrasound pretreatment. *Ultrason. Sonochem.* 11:337-348.

Yu, G.H., He, P.J., Shao, L.M. y Zhu, Y.S. (2008) Extracellular proteins, polysaccharides and enzymes impact on sludge aerobic digestion after ultrasound pretreatment. *Water Res.* 42:1925-1934.

Yu, Q., Lei, H.Y., Li., Z., Li, H.L., Chen, K., Zhang, X.H. y Liang, R.L. (2010) Physical and chemical properties of waste-activated sludge after microwave treatment. *Water Res.* 44:2841-2849.

Yuan, H. y Zhu, N. (2016) Progress in inhibition mechanisms and process control of intermediates and by-products in sewage sludge anaerobic digestion. *Renew. Sust. Energ. Rev.* 58:429-438.

Zeeman, G. (1991) Mesophilic and psychrophilic digestion of liquid manure. Tesis para optar al grado de Doctor, Wageningen Agricultural University, Netherlands, 116 pp.

Zhang, B., He, P., Lü, F., Shao, L. y Wang, P. (2007) Extracellular enzyme activities during regulated hydrolysis of high-solid organic wastes. *Water Res.* 41:4468-4478.

Zhang, G., Zhang, P., Gao, J. y Chen, Y. (2008) Using acoustic cavitation to improve the bio-activity of activated sludge. *Bioresour. Technol.* 99:1497-1502.

Zhang, G., Yang, J., Liu, H. y Zhang, J. (2009). Sludge ozonation: disintegration, 562 supernatant changes and mechanisms. *Bioresour. Technol.* 100:1505-1509.

Zhang, Z.-L., Zhang, L., Zhou, Y.-L., Chen, J., Liang, Y. y Wei, L. (2013) Pilot-scale operation of enhanced anaerobic digestion of nutrient-deficient municipal sludge by ultrasonic pretreatment and co-digestion of kitchen garbage. *J. Environ. Chem. Eng.* 1:73-78.

Zhang, S., Guo, H., Du, L., Liang, J., Lu, X., Li, N., y Zhang, K. (2015) Influence of NaOH and thermal pretreatment on dewatered activated sludge solubilisation and subsequent anaerobic digestion: Focused on high-solid state. *Bioresour. Technol.* 185:171-177.