

**BIODEGRADACIÓN ANAEROBIA DE UNA PELÍCULA FLEXIBLE Y UNA
BANDEJA SEMIRRÍGIDA BASADAS EN ALMIDÓN DE YUCA (*Manihot
esculenta sp*)**



Universidad
del Cauca

**JENNY YISELA GENOY ARMERO
MIGUEL ARMANDO AZA AGUIRRE**

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
PROGRAMA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL
POPAYÁN
2017**

**BIODEGRADACIÓN ANAEROBIA DE UNA PELÍCULA FLEXIBLE Y UNA
BANDEJA SEMIRRÍGIDA BASADAS EN ALMIDÓN DE YUCA (*Manihot
esculenta sp*)**

**JENNY YISELA GENOY ARMERO
MIGUEL ARMANDO AZA AGUIRRE**

Trabajo de grado en la modalidad de investigación para optar al título de
Ingenieros agroindustriales

Director.
MSc. José Luis Hoyos Concha

Director.
Ing. Ricardo Camacho Muñoz

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
PROGRAMA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL
POPAYÁN
2017**

Nota de aceptación:

Los Directores y los jurados han leído el presente documento, escuchado la sustentación del mismo por su autor y lo encuentran satisfactorio.

José Luis Hoyos Concha, MSc.
Director

Ricardo Camacho Muñoz, Ing.
Director

Héctor Samuel Villada, Ph. D.
Presidente del jurado

Margarita Salazar Sanchez, MS.c.
Jurado

Popayán, 01 de Noviembre de 2017

DEDICATORIA

A nuestras madres y hermanos, por estar siempre a nuestro lado y por brindarnos su apoyo incondicional durante todo este tiempo. Gracias por creer en nosotros y ofrecernos la calidez y el amor de una familia.

AGRADECIMIENTOS

Expresamos nuestros sinceros agradecimientos al ingeniero Ricardo Camacho por la paciencia, enseñanzas y colaboración constante a lo largo del desarrollo de este proyecto.

Al grupo de investigación CYTBIA por su colaboración.

CONTENIDO

	pág.
RESUMEN	12
ABSTRACT	13
INTRODUCCIÓN	14
1. MARCO TEÓRICO	16
1.1 DIGESTIÓN ANAEROBIA	16
1.1.1 Variables de operación del proceso anaerobio	17
1.1.1.1 Temperatura	17
1.1.1.2 Contenido de sólidos	17
1.1.1.3 Tiempo de retención y velocidad de carga orgánica	18
1.1.1.4 Alcalinidad, pH y acidez	18
1.1.1.5 Biogás	19
1.2 POLÍMEROS BIODEGRADABLES	19
1.2.1 Definición	19
1.2.2 Clasificación	20
1.2.3 Requisitos para la biodegradabilidad de polímeros	20
1.2.4 Métodos para medir la biodegradación	22
1.2.4.1 Ensayos enzimáticos	23
1.2.4.2 Ensayos en placa	23
1.2.4.3 Ensayos respirométricos	23
1.2.4.4 Pruebas por producción de gas (CO ₂ y CH ₄)	23

1.2.4.5 Degradación acelerada en ambientes simulados en laboratorio	23
1.2.4.6 Pruebas de campo en ambientes naturales	23
1.3 PRINCIPIO DE LA NORMA ISO 13975: 2012	24
1.4 MÉTODOS DE OBTENCIÓN DEL INÓCULO	24
1.5 RESULTADOS EMPÍRICOS DE LA DEGRADACIÓN ANAEROBIA DE POLIMEROS BIODEGRADABLES	26
2. METODOLOGÍA	29
2.1 OBTENCIÓN DEL INÓCULO METANOGENICO	29
2.1.1 Descripción general del biorreactor utilizado en el arranque	29
2.1.2 Acondicionamiento de la materia orgánica (Residuos sólidos urbanos)	30
2.1.3 Acondicionamiento del estiércol bovino	30
2.1.4 Arranque del reactor anaerobio	31
2.1.5 Seguimiento del proceso de digestión anaerobia	31
2.2 MONTAJE Y SEGUIMIENTO DEL ENSAYO DE BIODEGRADACIÓN	33
2.2.1 Descripción del equipo de biodegradación	33
2.2.2 Acondicionamiento del material de prueba y la referencia positiva	34
2.2.3 Montaje de los tratamientos para el ensayo de biodegradación	34
2.2.4 Seguimiento del proceso de biodegradación anaerobia	35
2.2.5 Finalización del experimento	35
2.2.6 Porcentaje de biodegradación	35
2.2.7 Diseño experimental	36
2.2.7.1 Análisis estadístico	36
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	38

3.1 OBTENCIÓN DEL INÓCULO METANOGENICO	38
3.1.1 Caracterización de los residuos orgánicos	38
3.1.2 Arranque y seguimiento de la digestión anaerobia de los residuos sólidos urbanos	39
3.1.2.1 Evolución del pH en el medio	41
3.1.2.2 Seguimiento de la producción de biogás y porcentaje de metano	43
3.1.2.3 Seguimiento de la alcalinidad y acidez volátil total	44
3.1.2.4 Seguimiento de los sólidos totales y sólidos volátiles	48
3.1.3 Caracterización final del inóculo metanogénico	50
3.2 MONTAJE Y SEGUIMIENTO DEL ENSAYO DE BIODEGRADACIÓN	51
3.2.1 Caracterización de los materiales de estudio y montaje de la prueba de biodegradación	51
3.2.2 Seguimiento del proceso de biodegradación anaerobia de los materiales de prueba y de referencia	52
3.2.2.1 Seguimiento del volumen de biogás	52
3.2.2.2 Seguimiento del porcentaje de metano	55
3.2.2.3 Seguimiento del porcentaje de biodegradación	57
4. CONCLUSIONES	62
5. RECOMENDACIONES	63
BIBLIOGRAFÍA	64
ANEXOS	81

LISTA DE CUADROS

	pág.
Cuadro 1. Composición promedio del biogás durante la fase de estabilización	19
Cuadro 2. Formulación de los desechos orgánicos utilizados en el birreactor	30
Cuadro 3. Parámetros de operación del sistema anaerobio	31
Cuadro 4. Técnicas analíticas aplicadas para el seguimiento del proceso anaerobio	32
Cuadro 5. Diseño experimental completamente aleatorizado para la evaluación del volumen y el porcentaje de biodegradación.	37
Cuadro 6. Características físico-químicas de los residuos orgánicos empleados para la preparación del inóculo metanogénico	39
Cuadro 7. Características bioquímicas del inóculo para la prueba de biodegradación anaerobia y parámetros basados en normas ISO y otras referencias bibliográficas	50
Cuadro 8. Caracterización de los materiales para la prueba de biodegradación anaeróbica	51
Cuadro 9. Cantidades de materiales e inóculos en el montaje de los reactores anaerobios	52

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Clasificación de los biopolímeros según su proceso de síntesis	21
Figura 2. Biorreactor y montaje para la realización de ensayos de digestión anaerobia	29
Figura 3. Respirómetro Micro-Oxymax 20 utilizado en las pruebas de biodegradación	34
Figura 4. Evolución del pH durante el tiempo de operación.	41
Figura 5. Biogás acumulado y porcentaje de metano	43
Figura 6. Alcalinidad total (AT), parcial (AP), intermedia (AI) y ácidos grasos volátiles (AGV)	45
Figura 7. Índices alcalinidad intermedia / alcalinidad parcial (AI/AP), ácidos grasos volátiles / alcalinidad total (AGV/AT) y alcalinidad parcial / alcalinidad total (AP/AT)	47
Figura 8. Sólidos totales y sólidos volátiles	49
Figura 9. Volumen promedio de biogás acumulado producido durante la biodegradación anaerobia de los materiales de estudio	53
Figura 10. Porcentaje de metano promedio en la biodegradación anaerobia de los materiales de estudio	56
Figura 11. Porcentaje de biodegradación promedio en la biodegradación anaerobia de los materiales de estudio	57

LISTA DE ANEXOS

	pág.
ANEXO A. Análisis estadístico para el volumen de biogás	81
ANEXO B. Análisis estadístico para el porcentaje de biodegradación	83
ANEXO C. Datos de la evolución de los principales parámetros de seguimiento en la obtención del inóculo metanogénico	85
ANEXO D. Datos del biogás acumulado y porcentaje de metano del blanco	87
ANEXO E. Datos del biogás acumulado, porcentaje de metano y porcentaje de biodegradación de la celulosa	88
ANEXO F. Datos del biogás acumulado, porcentaje de metano y porcentaje de biodegradación de la película flexible	89
ANEXO G. Datos del biogás acumulado, porcentaje de metano y porcentaje de biodegradación de la bandeja semirrígida	90

RESUMEN

Debido a su alta biodegradabilidad, bajo costo y amplia disponibilidad, el almidón se ha postulado como una alternativa potencial para la elaboración de plásticos bio-basados, los cuales pueden ser degradados al final de su vida útil junto con la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos en plantas de digestión anaerobia. En este trabajo se evaluó el porcentaje de biodegradación anaerobia de un plástico flexible elaborado por extrusión de almidón de yuca y ácido poliláctico, así como de una bandeja moldeada por compresión fabricada a partir de harina de yuca y fibra de fique, siguiendo las pautas de la norma ISO 13975:2012. Inicialmente se obtuvo un inóculo metanogénico bajo condiciones termófilas (55 °C) a partir de residuos sólidos urbanos y estiércol bovino, el cual fue monitoreado mediante las variables de pH, acidez, alcalinidad y concentración de metano. Posteriormente se determinó la biodegradabilidad midiendo el carbono mineralizado (como CO₂ y CH₄). Para el montaje de biodegradación se utilizaron 6 reactores y se cargaron por duplicado con inóculo más las muestras de ensayo (película flexible y bandeja) y celulosa (como referencia positiva), además de 2 blancos (reactores solamente con inóculo). El pH, la acidez, la alcalinidad parcial y la concentración final de metano en el inóculo fueron de 7,92, 0,75 g AcH⁺/kg, 4,97 g CaCO₃/kg y 55% respectivamente. Los porcentajes de biodegradación obtenidos tras 31 días de digestión para la celulosa, la película flexible y la bandeja semirrígida fueron de 79,6%, 64,8% y 54,5% respectivamente. El nivel de biodegradación de la celulosa al final del ensayo, además del pH, la acidez, la alcalinidad y la proporción de metano logrado, confirman la actividad metanogénica del inóculo. Los porcentajes de biodegradación alcanzados por las muestras de ensayo junto con una concentración de metano generado por encima del 50% exhiben la viabilidad de la película flexible y la bandeja para ser biodegradadas anaeróbicamente bajo condiciones termofílicas y con bajo contenido de sólidos según los criterios establecidos en la norma EN 13432.

Palabras clave: biodegradabilidad anaerobia, plástico biodegradable, almidón de yuca, inóculo metanogénico.

ABSTRACT

Due to its high biodegradability, low cost and wide availability, starch has been postulated as a potential alternative for the production of bio-based plastics, which can be degraded at the end of their useful life together with the organic fraction of municipal solid waste in anaerobic digestion plants. This work evaluated the percentage of anaerobic biodegradation of a flexible plastic made by extrusion of Cassava starch and polylactic acid, as well as a compression molded tray made from Cassava flour and fique's fiber, following the guidelines Of ISO 13975: 2012 standard. Initially a methanogenic inoculum was obtained under thermophilic conditions (55 °C) from urban solid waste and bovine manure, which was monitored by pH, acidity, alkalinity and methane concentration variables. Subsequently the biodegradability was determined by measuring the mineralized carbon (as CO₂ and CH₄). For the assembly of the biodegradation test, 6 reactors were used which were loaded in duplicate with inoculum and test samples (flexible film and tray) and cellulose (positive reference), also 2 blanks were used (reactors with inoculum only). The pH, acidity, partial alkalinity and final concentration of methane in the inoculum were 7.92, 0.75 g AcH + / kg, 4.97 g CaCO₃ / kg and 55% respectively. The percentages of biodegradation obtained after 31 days of digestion for cellulose, flexible film and semi-rigid tray were 79.6%, 64.8% and 54.5% respectively. The level of cellulose biodegradation at the end of the test, in addition pH, acidity, alkalinity and methane concentration achieved confirm the methanogenic activity of the inoculum. The percentages of biodegradation achieved by the test samples together with a methane concentration generated above 50% exhibit the viability of the flexible film and the tray to be biodegraded anaerobically under thermophilic and low solids conditions according the specification standard EN 13432.

Keywords: anaerobic biodegradability, biodegradable plastic, cassava starch, methanogenic inoculum.

INTRODUCCIÓN

Debido al progresivo incremento de la industria del plástico, en empaques destinados a diversas aplicaciones, una importante cantidad de estos materiales petroquímicos se ha acumulado en el medio ambiente, generando serios problemas de contaminación a nivel global. La producción mundial de plásticos supera las 300 millones de toneladas anuales desde el 2014 (Lebreton *et al.*, 2017) y se estima que de este total alrededor del 50% se acumula en rellenos sanitarios y ambientes marinos (UNEP, 2014). La acumulación de estos materiales radica en la estabilidad de su estructura química, la cual no permite que entren con facilidad en los ciclos de degradación ambiental, por lo tanto al ser desechados permanecen largos periodos en el medio sin descomponerse (Mendoza, 2009).

Atendiendo a esta problemática, en los últimos años se ha llevado a cabo el desarrollo de una nueva generación de plásticos con propiedades comparables a la de los polímeros convencionales y además susceptibles a la biodegradación microbiana. Algunos de estos plásticos se fabrican con mezclas a base de almidón, un carbohidrato que gracias a su composición, se puede transformar en un material termoplástico mediante el cambio de su estructura utilizando un plastificante (Ruíz *et al.*, 2009). Actualmente existen compuestos poliméricos biodegradables con una composición entre 6 y 50% en almidón (Merchán *et al.*, 2009).

Estos polímeros pueden ser degradados junto con residuos orgánicos domésticos o estiércol animal en plantas de compostaje o de digestión anaerobia (Yagi, *et al.*, 2009). Durante el proceso de biodegradación, estos materiales son transformados por microorganismos o por las enzimas que estos generan, convirtiendo el carbono orgánico presente en las moléculas del mismo, en compuestos simples como el dióxido de carbono (CO₂) y el metano (CH₄), según el método de biodegradación aplicado (Vázquez *et al.*, 2015).

La degradación de plásticos bajo entornos anaerobios se postula como una opción prometedora, ya que es un proceso diseñado para degradar los desechos y a diferencia de la biodegradación aerobia (compostaje) es un proceso de producción de energía (biogás). La razón básica del empleo de la biodegradación anaerobia, es la capacidad de ésta técnica para minimizar y aprovechar los desechos orgánicos debido a los elevados porcentajes de eliminación de materia volátil y a la baja generación de sólidos biológicos (Forster, 2005).

Existen expectativas que en el futuro, la mayor parte de los plásticos serán degradables, para tal propósito el primer requerimiento debe ser la valoración de las propiedades biodegradables. La necesidad de estimar estas propiedades ha dado lugar a la creación de normas por parte de diversos organismos internacionales (ISO, ASTM, JIS, etc), en las cuales se establecen métodos y criterios de evaluación adecuados para los plásticos biodegradables en diferentes condiciones ambientales específicas (Müller, 2005).

El grupo de investigación “Ciencia y Tecnología de Biomoléculas de Interés Agroindustrial”-CYTBIA- ha desarrollado un plástico flexible fabricado a partir de una mezcla de almidón de yuca con plastificante y ácido poliláctico, así como una bandeja semirrígida a partir de harina de yuca, fibra de fique y plastificante (Navia y Villada, 2013). Pese a las múltiples investigaciones realizadas en torno al mejoramiento de las propiedades de estos materiales, su comportamiento de biodegradación no se ha estudiado a profundidad. Por tal razón, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el porcentaje de biodegradación de estos plásticos. Debido a las diversas ventajas de la digestión anaerobia termófila (55 °C) húmeda (5% de sólidos totales), se preparó un inóculo metanogénico bajo estas condiciones y se procedió a determinar la biodegradabilidad de los materiales mediante el método descrito por la norma ISO 13975:2012, la cual puntualiza las pautas necesarias para la biodegradación de polímeros en este tipo de ambientes.

1. MARCO TEÓRICO

1.1 DIGESTIÓN ANAEROBIA

La digestión anaerobia es un proceso de degradación de la materia orgánica que ocurre en una serie de etapas consecutivas, en el que un consorcio de bacterias y arqueas metanógenas en ausencia de oxígeno y en condiciones ambientales adecuadas (Ferrer y Pérez, 2010), transforma por medio de complejas reacciones bioquímicas un sustrato orgánico en una mezcla de gases y en una suspensión acuosa o lodo. La mezcla de gases está constituida principalmente por metano (CH_4) y dióxido de carbono (CO_2) con trazas de otros compuestos (H_2S , H_2 , N_2 , etc.); esta mezcla es conocida como biogás (Acosta y Abreu, 2005).

Entre las cepas microbianas involucradas en un sistema anaerobio hay una estrecha interdependencia fisiológica, que compromete la necesidad nutricional de un grupo microbiano respecto al producto metabólico de otro (Ferrer y Pérez, 2010). De esta manera, mediante una secuencia de fases, los metabolitos producidos por una cepa son utilizados por otra a través del catabolismo molecular. La estabilidad del proceso anaerobio exige un equilibrio que impida la acumulación de compuestos intermedios inhibidores (IDAE, 2007).

De acuerdo con los estudios bioquímicos y microbiológicos efectuados hasta hoy, el proceso de degradación anaerobia de la materia orgánica se divide en cuatro etapas: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis (Varnero, 2011). En la hidrólisis, las moléculas grandes y complejas de los compuestos orgánicos son convertidas paulatinamente en compuestos orgánicos más simples (aminoácidos, azúcares y ácidos grasos de cadena larga), a través de enzimas secretadas por bacterias hidrolíticas que actúan en el exterior celular (Fernández, 2010). La hidrólisis es, entonces, la transformación de los polímeros en sus correspondientes monómeros (Capson-Tojo *et al.*, 2016).

En la etapa acidogénica, los productos de bajo peso molecular (azúcares, aminoácidos, ácidos grasos y alcoholes) generados durante la hidrólisis son transportados por medio de la membrana celular en donde son fermentados a ácidos grasos con bajo número de carbonos (ácido acético, fórmico, propiónico y butírico), del mismo modo que a compuestos reducidos como el etanol, también a H_2 y CO_2 (Del Río, 2014). Para lograr una metanogénesis eficiente, se requiere que los productos de fermentación como el propionato y el butirato sean oxidados a acetato, CO_2 e H_2 . Esta oxidación es realizada por un grupo denominado organismos acetógenos productores obligados de hidrógeno (OHPA, Obligate

Hydrogen Producing Acetogens), mediante el proceso de acetogénesis. El metabolismo de las bacterias acetogénicas es cohibido por el ácido acético y el hidrógeno, por lo cual es fundamental una continua eliminación de estos compuestos a través de la metanogénesis (Amani *et al.*, 2010). La última fase del proceso de descomposición anaerobia de la materia orgánica, es la metanogénesis. En esta etapa, un extenso grupo de bacterias anaeróbicas estrictas pertenecientes al dominio *Archea*, actúan sobre los productos provenientes de las etapas previas. El proceso de digestión anaerobia es concluido por los microorganismos metanogénicos a través de la formación de metano a partir de sustratos monocarbonados o con dos átomos de carbono unidos por un enlace covalente como el acetato, hidrógeno/dióxido de carbono, metanol, formiato y algunas metilaminas (González, 2006).

1.1.1 Variables de operación del proceso anaerobio. Las variables de operación constituyen factores externos que afectan la dinámica de los procesos anaerobios y deben ser controlados de manera estricta debidos a que la cinética anaerobia supone un delicado equilibrio de múltiples comunidades microbianas. (Fernández, 2008).

1.1.1.1 Temperatura. La temperatura está relacionada con la velocidad de las reacciones involucradas en el proceso. Este parámetro operacional interviene en la supervivencia, crecimiento y competición de las especies microbianas (Rosenkranz, 2013). De acuerdo con el rango óptimo para el crecimiento de los microorganismos, la temperatura se clasifica en tres grandes grupos: Psicofílicas (< 15 °C, con un óptimo a 15 °C), Mesofílicas (> 15 °C y < 45 °C, con un óptimo a 35°C) y termofílicas (> 50 °C y < 80 °C, con un óptimo a 55 °C) (Fernández, 2008). El desequilibrio de las velocidades de producción y de utilización de cierto producto, pueden ser provocados por mínimas variaciones en la temperatura del orden de 2 °C (Forster, 2005); temperaturas fuera de los intervalos producirán una caída en la actividad metabólica debido a degradación de enzimas por efecto de altas temperaturas o reducción de la cinética bioquímica debido a bajas temperaturas (Rivera, 2002).

1.1.1.2 Contenido de sólidos. El proceso de digestión anaerobia se puede clasificar de acuerdo con el contenido de sólidos en digestión anaerobia húmeda o de bajo contenido de sólidos cuando el contenido de sólidos totales no excede del 15% y en digestión anaerobia seca o de alto contenido de sólidos en donde el contenido total de sólidos se encuentra entre el 15% y 30% (Yang *et al.*, 2015).

1.1.1.3 Tiempo de retención y velocidad de carga orgánica. El tiempo de retención se define como el tiempo requerido para renovar totalmente el contenido del biorreactor (López y López, 2009). El tiempo de retención incluye el tiempo de retención hidráulica (THR) y el tiempo de retención de sólidos (TRS), que se refieren al volumen del reactor y al tiempo de permanencia de los microorganismos (Khan *et al.*, 2016). El tiempo de retención debe ser suficientemente largo para asegurar una buena degradación del material a tratar, dado que es imprescindible que las bacterias tengan tiempo suficiente para reproducirse y metabolizar los sólidos volátiles (Martínez y Mosquera, 2012). El tiempo de retención varía dependiendo del tipo de sustrato. Los sustratos ricos en azúcar y almidón típicamente se descomponen fácilmente y requieren tiempos de retención más cortos. Para la degradación de estos materiales, no es necesaria la hidrólisis y la degradación comienza directamente en la segunda etapa de degradación, la fermentación. Sin embargo, se requieren tiempos mucho más largos para la degradación microbiana de material vegetal rico en fibra y celulosa. Para tales materiales es a menudo el paso a la hidrólisis y no a la metanogénesis el que limita la velocidad de descomposición (Schürer, 2016). Por otra parte, la carga orgánica debe ser controlada, ya que ésta determina la concentración de sustrato y la generación de biomasa. Existe una incidencia común entre el tiempo de retención y la carga orgánica, denominada velocidad de carga orgánica. La velocidad de carga orgánica (VCO), es la relación entre la carga orgánica y el tiempo de retención (Agencia Andaluza de Energía, 2011) y generalmente se expresa en g sólidos volátiles (SV)/ L día o Kg DQO/m³ día (Martínez y Mosquera, 2012).

1.1.1.4 Alcalinidad, pH y acidez. La alcalinidad es un indicador de la capacidad del sistema para neutralizar ácidos y mantener el pH en rangos adecuados. La alcalinidad total de un digestor anaerobio está conformada por la alcalinidad parcial y la alcalinidad intermedia (Martín-González *et al.*, 2013). La primera (alcalinidad parcial) depende de la proporción de carbonato y bicarbonato amónicos presentes en el medio, formados a partir del dióxido de carbono disuelto junto con el amonio derivado de la desaminación de los compuestos nitrogenados. La existencia de estos productos alcalinos produce un equilibrio que otorga alta capacidad tampón que contribuye a sostener el pH (6-8) en un rango apropiado para el crecimiento de metanogénicas (Forster, 2005). La segunda (alcalinidad intermedia), corresponde a la alcalinidad generada por las formas no protonadas de ácidos grasos volátiles y se considera como una medida indirecta de la acidez del medio (Martín-González *et al.*, 2013).

A través de la descomposición de la materia orgánica se producen ácidos grasos como: ácido acético, propiónico, butírico, valérico, entre otros. En la digestión anaerobia estos son productos intermedios y su acumulación refleja un desequilibrio cinético entre la velocidad de producción y consumo de estos metabolitos. En caso de que haya una acumulación de ácidos grasos volátiles y el sistema no tenga suficiente alcalinidad, el pH desciende y puede provocar la desestabilización del proceso por acidificación del reactor. Por esta razón, la concentración de ácidos grasos volátiles en digestores anaerobios es un fiel indicativo de las dinámicas acaecidas en el reactor convirtiéndose en uno de los principales parámetros de control (Serrano, 2015).

1.1.1.5 Biogás. El compuesto gaseoso producto de la degradación anaerobia se conoce como biogás. Este gas está conformado esencialmente por metano, dióxido de carbono y pequeñas cantidades de hidrógeno, oxígeno, nitrógeno, sulfuro de hidrógeno y trazas de compuesto indeseables como silanos (Foster, 2005). En el cuadro 1 se presenta la composición del biogás.

Cuadro 1. Composición promedio del biogás durante la fase de estabilización

Componente	Porcentaje
Metano	50 - 80%
Dióxido de carbono	30 - 50 %
Nitrógeno	0 - 1 %
Monóxido de carbono	0 - 1%
Oxígeno	0 - 1%
Sulfuro de hidrogeno	Trazas (<1000 ppm)

Fuente: Agencia andaluza de la energía (2011)

Debido su elevado contenido en metano, el biogás posee un alto poder calorífico y puede emplearse energéticamente de múltiples formas dependiendo de los tratamientos posteriores de purificación, como eliminación de sulfuro de hidrógeno, siloxanos y dióxido de carbono, para evitar problemas en los equipos y aumentan su poder calorífico (El-Fadel, 2001).

1.2 POLÍMEROS BIODEGRADABLES

1.2.1 Definición. Existen diferentes definiciones para un polímero biodegradable, pero la más general explica que los polímeros biodegradables son aquellos en los cuales la degradación resulta de una acción natural en la presencia de

microorganismos (Mendoza, 2009). Algunas de las definiciones para un polímero biodegradable son las siguientes:

De acuerdo con el comité europeo de normalización (CEN) un polímero biodegradable es aquel que es capaz de descomponerse en dióxido de carbono, metano, agua compuestos inorgánicos o biomasa, siendo el mecanismo dominante de descomposición la acción enzimática de los microorganismos y que los productos resultantes puedan ser obtenidos y medidos en un periodo determinado de tiempo” (Mudgal *et al.*, 2012).

El centro de información técnica define a los polímeros biodegradables como “materiales capaces de desarrollar una descomposición aeróbica o anaeróbica por acción de microorganismos tales como bacterias, hongos y algas bajo condiciones que naturalmente ocurren en la biosfera. Son degradados por acción enzimática de los microorganismos bajo condiciones normales del medio ambiente” (Centro de información técnica, 2009).

Según la ISO 472:2013, un polímero biodegradable es aquel plástico diseñado para sufrir un cambio significativo en su estructura química bajo condiciones ambientales específicas resultando en la pérdida de algunas propiedades, medidas por métodos estándar. Los cambios resultan de la acción de microorganismos de ocurrencia natural (International Organization for Standardization, 2013).

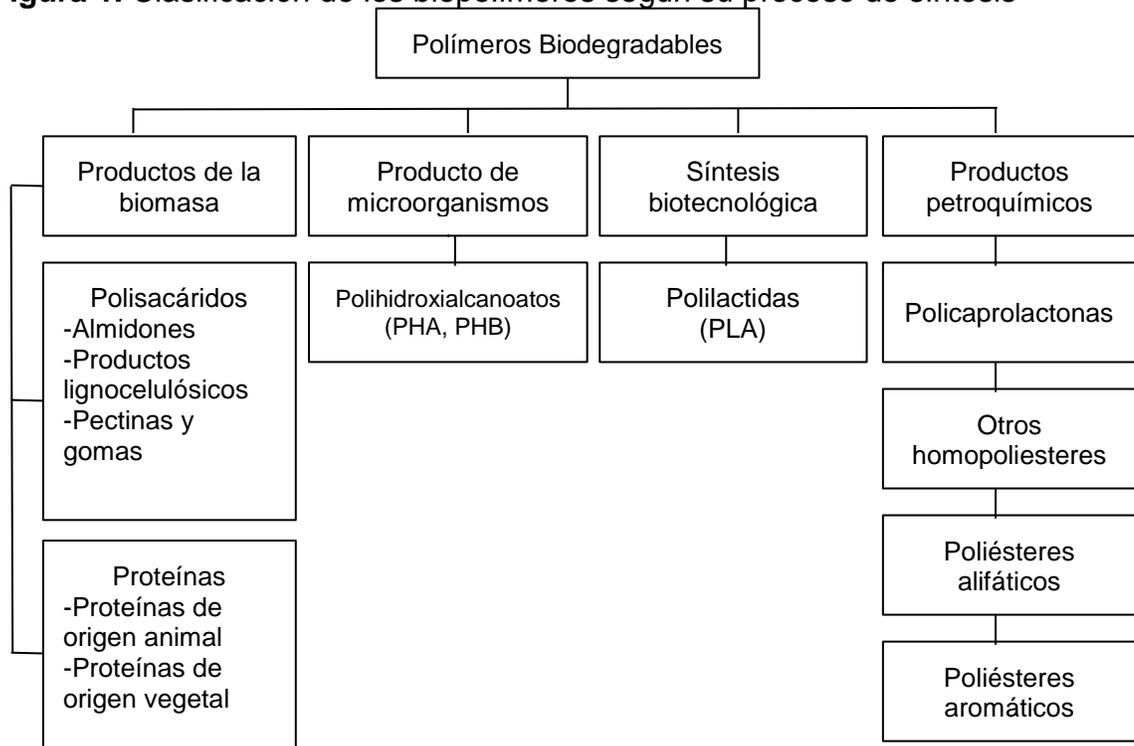
Conforme a la DIN 103.2-1993, los polímeros biodegradables se consideran material plásticos en los cuales todos sus componentes orgánicos sufren un proceso completo de biodegradación. Las condiciones ambientales y las tasas de biodegradación son determinadas por métodos estandarizados (Deutsches Institut für Normung, 1993).

1.2.2 Clasificación. Se han propuesto diferentes clasificaciones de diferentes polímeros biodegradables. Según Avéuros y Pollet (2012), los polímeros biodegradables se clasifican de acuerdo al proceso de síntesis como lo muestra la Figura 1.

1.2.3 Requisitos para la biodegradabilidad de polímeros. La biodegradación se define generalmente como el cambio en la estructura química de un plástico causada por la actividad biológica, especialmente por la acción enzimática. Para que la biodegradación de polímeros se lleve a cabo se deben considerar las

propiedades mecánicas requeridas y el tiempo de degradación (Bastioli, 2011). De esta manera, la elección del polímero, la presencia de aditivos y las condiciones del proceso pueden afectar a las propiedades mecánicas del plástico. A su vez, las condiciones del medio (temperatura, humedad, pH), las características del polímero (presencia de enlaces químicos susceptibles a la hidrólisis, hidrofiliidad, cristalinidad, temperatura de transición vítrea) y las características de los microorganismos influyen en la velocidad de degradación (Sen y Raut, 2015).

Figura 1. Clasificación de los biopolímeros según su proceso de síntesis



Fuente: Avéuros y Pollet, 2012

Hay diferentes mecanismos de degradación que se combinan de forma sinérgica en la naturaleza para degradar los polímeros, según Lucas *et al.* (2008) se aceptan cuatro mecanismos: degradación mecánica, fotodegradación, degradación térmica y biodegradación.

La degradación mecánica se produce debido a fuerzas de cizallamiento, tensión y/o compresión. La molienda, agitación y extrusión son generalmente consideradas las principales causas de la degradación mecánica durante el procesamiento de los polímeros. La degradación mecánica reduce el peso

molecular del polímero y, en consecuencia, acelera la biodegradación (Niaounakis, 2013).

La fotodegradación de una molécula es causada por la absorción de fotones, particularmente las longitudes de onda que se encuentran en la luz solar, tales como la radiación infrarroja, la luz visible y la luz ultravioleta. La energía conducida por los fotones produce inestabilidad de las moléculas del polímero. Lo anterior puede causar ruptura de la cadena polimérica (reacción de Norrish tipo dos) o la formación de radicales libres, pero sin escisión de la cadena (reacción de Norrish tipo uno) (Niaounakis, 2013). La fotodegradación se desarrolla en distintas etapas: iniciación (absorción de luz, ruptura y producción de radicales), propagación y terminación (formación de productos inactivos por la combinación entre dos radicales poliméricos) (Yousif y Haddad, 2013).

La degradación térmica se produce cuando el polímero alcanza su temperatura de fusión, es decir, cuando éste se convierte de sólido a líquido. La temperatura influye en la organización molecular. Así, por encima de la temperatura de transición vítrea (T_g) se modifican la movilidad y el volumen de las cadenas poliméricas, facilitando las degradaciones químicas y biológicas (Posada, 2012).

La biodegradación es la asimilación del material por parte de microorganismos. Dos etapas son claves en el proceso de degradación microbiana de los polímeros: primero, una etapa de despolimerización, y segundo la mineralización. El primer paso se produce normalmente fuera del organismo, debido al tamaño de la cadena de polímero y la naturaleza insoluble de muchos de los polímeros. Las enzimas extracelulares son responsables de este paso (Bastioli, 2011). Una vez que los polímeros se han transformado en fragmentos más pequeños como oligómeros, dímeros o monómeros, se transportan al interior de la célula donde serán mineralizados. Los productos de este proceso, aparte de trifosfato de adenosina (ATP), son gases, (CO_2 , CH_4 , N_2 , H_2), agua, sales, minerales, y biomasa (Lucas *et al.*, 2008).

1.2.4 Métodos para medir la biodegradación. En principio, las pruebas pueden subdividirse en tres categorías: las pruebas de campo; pruebas de simulación; y pruebas de laboratorio (Müller, 2005). Antes de elegir un método de biodegradación, es fundamental tener en cuenta la configuración que el ensayo proporciona entre el sustrato, microorganismos o enzimas y la aplicación o entorno en el que la biodegradación debe llevarse a cabo (Bastioli, 2011). Generalmente, las propiedades biodegradables de un polímero son evaluadas bajo los siguientes métodos:

1.2.4.1 Ensayos enzimáticos. Consiste en añadir el polímero a un sistema buffer o de pH controlado, que contiene uno o varios tipos de enzimas purificadas. Estos ensayos son muy útiles para evaluar la cinética de despolimerización, o la liberación de los monómeros de una cadena de polímero bajo diferentes condiciones (Ren, 2010).

1.2.4.2 Ensayos en placa. Es un método semi-cuantitativo, en el que el polímero se dispersa en forma de partículas muy finas en un medio de agar sintético. Después de la inoculación con microorganismos, la formación de un halo claro alrededor de la colonia indica que los organismos son al menos capaces de despolimerizar el polímero, que es la primera etapa de biodegradación. Este método se aplica generalmente a los organismos que pueden degradar un cierto polímero, pero también puede ser usada para obtener resultados semi-cuantitativos mediante el análisis del crecimiento en placa (Mahalakshmi, 2014).

1.2.4.3 Ensayos respirométricos. La cantidad de oxígeno utilizado durante la biodegradación aeróbica para la oxidación de compuestos a sus constituyentes minerales, también llamado demanda bioquímica (o biológica) de oxígeno (DBO) es una medida del grado de biodegradación (Bastioli, 2011).

1.2.4.4 Pruebas por producción de gas (CO₂, CH₄). La producción de dióxido de carbono o metano a partir de un sustrato representa un parámetro directo de mineralización. El seguimiento de las pruebas de biodegradación anaerobia se evalúan mediante la medición del aumento de la presión y / o volumen debido a la producción de gas (Bastioli, 2011).

1.2.4.5 Degradación acelerada en ambientes simulados en laboratorio. En la biodegradación de un polímero, las condiciones bióticas pueden ser diseñadas específicamente a escala de laboratorio para imitar los sistemas naturales, pero con un control máximo de variables tales como la temperatura, el pH, la comunidad microbiana, y el suministro de oxígeno. La regulación de estas variables mejora la reproducibilidad y puede acelerar el proceso de degradación (Chiellini y Solaro, 2003).

1.2.4.6 Pruebas de campo en ambientes naturales. Las exposiciones en ambientes naturales proporcionan la mejor medida verdadera del destino ambiental de un polímero. Sin embargo, los resultados de la exposición sólo son relevantes para el medio ambiente específico estudiado. Es probable que difieran sustancialmente de muchos otros entornos. Un problema adicional es la escala de tiempo para este método, ya que el proceso de degradación, dependiendo del

entorno, puede ser muy lento (meses a años). Sin embargo, los ensayos de campo en ambientes naturales todavía se utilizan para extrapolar los resultados adquiridos en pruebas de laboratorio con el comportamiento de biodegradación en condiciones al aire libre (Mahalakshmi, 2014).

1.3 PRINCIPIO DE LA NORMA ISO 13975:2012

Este método de ensayo está diseñado para determinar la biodegradabilidad de materiales plásticos en condiciones anaerobias en sistemas con bajo contenido de sólidos (< 15%). Para ello se utiliza un inóculo metanogénico que se obtiene a partir de un digestor anaerobio que opera con residuos orgánicos tales como heces de ganado o desechos orgánicos, un material de ensayo y una referencia positiva. El material de prueba es mezclado con el inóculo y se incuba anaeróticamente en un recipiente de ensayo a una temperatura constante (55°C) durante un periodo normalmente de 60 días. Durante la biodegradación del material de prueba y la referencia positiva se genera dióxido de carbono, metano, sales, agua y biomasa (International Organization for Standardization, 2012).

El biogás generado durante la digestión se mide diariamente, y se le sustrae la cantidad de gas generada por un blanco. Con la cantidad de biogás y los porcentajes de metano y dióxido de carbono, se puede calcular la cantidad de carbono presente en el gas formado por el metabolismo microbiano. Los porcentajes de biodegradación se calculan como la relación entre la cantidad de carbono en el gas y la cantidad de carbono inicial presente en las muestras, medido como carbono orgánico total. Este procedimiento no incluye el carbono empleado por el sistema para la producción de biomasa (International Organization for Standardization, 2012).

1.4 MÉTODOS DE OBTENCIÓN DEL INÓCULO

La obtención del inóculo metanogénico se basó en la metodología aplicada por Angelidaki *et al.*, 2006 en su trabajo de digestión anaerobia termófila de residuos sólidos urbanos. Estos autores evaluaron dos estrategias de alimentación con materia orgánica para el arranque de reactores continuamente agitados. Para ello, pusieron en marcha dos reactores con una cantidad de inóculo equivalente al 10% de la capacidad total (en volumen) del reactor. Posteriormente, uno de los reactores se empezó a alimentar con residuos orgánicos a una velocidad constante (11,4 g de sólidos volátiles/día) y el otro se alimentó a una velocidad progresiva (de 1,7 a 15 g de sólidos volátiles/día). Ambos reactores se operaron hasta completar su capacidad máxima (30 días). Los resultados del experimento

mostraron un rendimiento superior del proceso cuando se alimentó con una velocidad gradual, produciéndose 0,32 m³ CH₄ /kg de sólidos volátiles. Mientras que al suministrar la materia orgánica a una velocidad constante, se observó una inhibición significativa debida a la acumulación de ácidos grasos volátiles. Por lo tanto, los autores concluyen que una baja tasa inicial y progresiva de la carga orgánica en el inóculo, podría utilizarse como una estrategia de arranque exitosa para reactores anaerobios termófilos que tratan residuos sólidos urbanos, ya que permiten una aclimatación gradual de la biomasa y evitan el riesgo de acidificación.

El empleo del estiércol de vaca como inóculo se fundamentó en los resultados exitosos obtenidos por varios autores en la digestión de residuos sólidos urbanos, por ejemplo, Dhamodharan *et al.* (2015) evaluaron el efecto de diferentes inóculos sobre la digestión de residuos alimentarios. Los inóculos incluían estiércol de pollo, cabra, vaca, cerdo y rinoceronte. Para el montaje de la prueba se usaron reactores de 1 L. En cada estudio de inóculo se utilizaron 15 reactores discontinuos, 12 reactores se alimentaron con diferentes cantidades de residuos con macro y micro nutrientes esenciales además de 100 g de inóculo. Finalmente todos los 15 reactores se llenaron hasta un volumen de 500 mL usando agua destilada y se incubaron a 30 °C. Todos los parámetros se controlaron adecuadamente, tales como temperatura, pH, intensidad de agitación y características físicas y químicas de los sustratos. Para mantener la condición anaerobia se purgó gas nitrógeno dentro de los 15 reactores. Después de esto, los 15 reactores se conectaron a botellas de aspirador que tenían NaOH 1,5 N para medir el metano producido. El experimento se realizó durante 30 días. Los resultados de este estudio demostraron que existían diferencias significativas entre los diferentes inóculos. Los reactores inoculados con estiércol de vaca tuvieron un tiempo inicial más corto y alcanzaron una mayor producción de metano que los otros inóculos, especialmente los estiércoles de cabra y rinoceronte, en los cuales se observó una producción baja e inestable de metano. Adicionalmente, los estudios cinéticos realizados también demostraron una alta actividad en el estiércol de vaca.

Macias-Corral *et al.* (2008), investigaron la co-digestión anaerobia del estiércol de vaca y la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos (OFMSW) con un sistema de digestión en dos fases. Los residuos sólidos y el estiércol de vaca fueron digeridos como desechos individuales y combinados. Para este experimento, un reactor se cargó con 182 kg de OFMSW (82% de masa seca. La composición de los OFMSW era aproximadamente 70% de papel, 20% de residuos de alimentos y 10% de recortes de hierba. Se añadió a la mezcla dieciocho kg de estiércol de vaca (25% de masa seca) como capa adicional. La proporción de estiércol a OFMSW se determinó de tal manera que se obtuvo una relación C/N de 20/1. Se añadieron 450 L de agua del grifo a la fase sólida. La

digestión de un solo desecho de OFMSW produjo 37 m³ de metano / tonelada de residuos secos. La co-digestión de OFMSW y estiércol de vaca dio como resultado 172 m³ de metano/tonelada de residuos secos. Comparando las digestiones de residuos individuales con co-digestión de desechos combinados, se demostró que la co-digestión dio lugar a rendimientos más altos de metano. Además, la co-digestión de OFMSW y estiércol de vaca promueve efectos sinérgicos que resultan en una mayor conversión de masa, menor peso y volumen de residuo digerido.

1.5 RESULTADOS EMPÍRICOS DE LA DEGRADACIÓN ANAEROBIA DE POLIMEROS BIODEGRADABLES

Cho *et al.* (2011), determinaron el porcentaje de biodegradación de un polímero compuesto de 30 % de almidón, 50% de policaprolactona (PCL) y 15% de poliésteres alifáticos. El ensayo se realizó mediante el cálculo del potencial bioquímico de metano (PBM), el cual se define como la capacidad de biodegradabilidad de un sustrato, expresado en cantidad de metano producido por peso de biopolímero. El experimento fue llevado a cabo siguiendo el método de ensayo estándar ASTM E1196-92. Para ello, fueron mezclados en un reactor e incubados a 35°C, 2 g Sólidos volátiles (SV) de muestra / L con 80 ml de un inóculo enriquecido con nutrientes (KH₂PO₄, NH₄Cl, MgCl₂.6H₂O, MgCl₂.6H₂O, CaCl₂.2H₂O y FeCl₃.6H₂O). El volumen de gas producido se midió mediante jeringas y la composición de metano se estimó por cromatografía de gases. Dando como resultado un rendimiento en metano de 554 mL/gSV en 139 días, correspondiente a un porcentaje de biodegradación del 83%. Por consiguiente, los autores concluyen que la mezcla de almidón y PCL se degrada fácilmente bajo condiciones anaeróbicas, siendo este tipo de sistemas una opción adecuada para el tratamiento al final de su vida útil.

Guo *et al.* (2011), evaluaron la digestibilidad anaerobia de un material polimérico basado en almidón (80-90% de almidón y 10-20% de alcohol poli vinílico). La estimación de la biodegradación se hizo a partir del potencial bioquímico de metano teórico, para lo cual se cargaron 3 reactores con inóculo y muestra del biopolímero a una relación I: S (inóculo: sustrato) de 1, incubándose a 37 °C con una agitación a 200 rpm durante 115 días. Adicionalmente, comprobaron la actividad hidrolítica, acetogénica y metanogénica del inóculo empleando celulosa, ácido propiónico y butírico como sustratos. Al final del ensayo obtuvieron un contenido máximo de metano del 45% y una producción de 293,7 ± 6,7 ml CH₄ / g VS alimentado, equivalente a un porcentaje promedio de biodegradación de 58,3 ± 2,9% con respecto al potencial bioquímico teórico del material. Llegando a la conclusión de que con inóculos altamente activos, se puede conseguir una

biodegradación del 58 al 62% de biopolímeros basados en almidón y alcohol poli vinílico bajo condiciones de digestión anaerobia.

Mohee *et al.* (2008), evaluaron la biodegradabilidad de un material plástico basado en almidón (más del 60% de almidón y 40% de resina sintética biodegradable), siguiendo el método anaeróbico propuesto en la norma ASTM D5526 - 94d. El montaje de la prueba consistió en el mezclado del material y la celulosa (referencia positiva) con el lodo anaeróbico, a una relación de 100 g de inóculo en peso seco a 60-100 g de sustrato (material de prueba). El ensayo se hizo por triplicado a una temperatura de 37 °C durante 32 días. Los parámetros monitorizados fueron el metano (se midió mediante el método de desplazamiento de agua), pH, temperatura y sólidos volátiles. Se observó para el material basado en almidón y la celulosa, un periodo de latencia de 2 días, una producción de metano a partir del tercer día (10,5 mL y 8,5 mL, respectivamente) y una alta producción (cantidad acumulada de 220,8 mL y 160,5 mL respectivamente) hasta el día 17, lo que indicó una alta actividad microbiana que se corroboró con la disminución de los sólidos volátiles.

Shi *et al.* (2011), calcularon el porcentaje de biodegradación anaerobia del almidón nativo de maíz y el ácido poliláctico (PLA). El estudio de biodegradación se llevó a cabo de acuerdo con la norma ASTM D5210 con celulosa como referencia positiva. La temperatura de digestión para el almidón fue de 35 °C, mientras que para el PLA fue de 35°C, 50 °C y 65 °C. Las altas temperaturas (50 °C y 65 °C) sirvieron como selector para un consorcio de microorganismos de la población de bacterias mesófilas (25-40 °C) a termófilas (55-65 °C). El periodo de operación fue de 72 días y 350 días para el almidón y el PLA respectivamente. El porcentaje máximo de biodegradación alcanzado por la celulosa fue de 75%, lo que indicó la fiabilidad del protocolo de prueba para la recogida de datos. El almidón logró una biodegradación completa (>80%) en 30 días. En tanto, el PLA se degradó 89 % en 3 meses cuando la temperatura de operación fue de 65°C. Sin embargo, se tardó unos nueve meses en que la muestra de PLA alcanzara un nivel similar de biodegradación cuando la temperatura de degradación se fijó a 50°C, que estaba por debajo de la temperatura de transición vítrea (Tg) del PLA. Además, tomó alrededor de un año para lograr sólo un 30% de biodegradación de este mismo material a 35 °C. A partir de estos resultados, los autores concluyeron que el almidón puede ser asimilado y convertido en agua, metano y dióxido de carbono por los microorganismos, por lo cual tiene potencial uso en la fabricación de plásticos biodegradables. Respecto al PLA, los ensayos mostraron que la biodegradación del PLA en condiciones anaerobias es altamente afectada por la temperatura, encontrando mayores ritmos de biodegradación a temperaturas por encima de la Tg.

Yagi *et al.* (2009), realizaron ensayos de biodegradación de ácido poliláctico (PLA) a temperaturas termófila (55 °C) y mesófila (35 °C) bajo condiciones acuáticas (2,07% de sólidos totales a 55 °C y 2,24% a 35 °C), y utilizaron celulosa de grado de cromatografía de capa fina como material de referencia. Se empleó lodo anaeróbico mesofílico proveniente de una planta de tratamiento de estiércol de vaca y desechos vegetales, el cual fue pre-incubado a 55 °C para las pruebas de digestión termófila. Durante la prueba de biodegradación anaerobia a 35 °C, la celulosa se degradó 80% en 15 días. La degradación del PLA comenzó después de 55 días y la tasa de biodegradación fue muy lenta (aproximadamente 2,9 % / semana). Por lo tanto, la prueba de biodegradación anaeróbica de los reactores con PLA a 35 °C se interrumpió. Durante la prueba de biodegradación anaeróbica a 55 °C, la celulosa se degradó un 80% en 13 días y el PLA alrededor del 60% en 30 días, 80% en 40 días, y 90% en 60 días.

Iwańczuk *et al.* (2014), estudiaron la biodegradación de polímeros biodegradables reforzados con fibras (lino) naturales mediante ensayos de digestión anaerobia en régimen mesofílico y bajo condiciones húmedas. Los materiales biodegradables reforzados con fibra fueron: ácido poliláctico (PLA) y polihidroxibutirato-co-polihidroxivalerato (PHB/PHV). La proporción de las matrices para fibras naturales era de 70/30 en peso (30% fibras). Se utilizó lodo anaeróbico de una planta de aguas residuales como inóculo y se analizó la cinética de producción de biogás. Los ensayos de digestión anaerobia se hicieron en reactores de vidrio de 120 mL. Después de que se vertieron 60 mL de un lodo anaeróbico (contenido en peso seco de 55,3 g/L) en los biorreactores, estos se pre-incubaron a una temperatura de 36 °C durante 48 horas y pasado este tiempo se introdujeron muestras de plástico en las botellas. Los recipientes de fermentación se mezclaron manualmente antes de la medición de gas. El gas producido se midió con un dispositivo de desplazamiento de agua cada 24 h. Todas las muestras se prepararon por triplicado. El volumen de biogás se calculó para condiciones estándar (temperatura 273,15 K, presión 1.013,25 hPa). Las botellas de control no contenían muestras de plástico. Al concluir el experimento se observó que el PLA y sus compuestos con fibras de lino no fueron digeridos en condiciones anaerobias debido a la baja degradación del PLA en ambientes mesofílicos. Mientras que las muestras que contenían PHB / PHV se degradaron completamente, mostrando una alta eficiencia de producción de gas a un nivel de 936,6 mL/g. El volumen de gas para las muestras de PHB / PHV con fibras fue menor debido a la menor eficiencia de producción de gas de los materiales lignocelulósicos.

2. METODOLOGÍA

2.1 OBTENCIÓN DEL INÓCULO METANOGENICO

Para la obtención del inóculo metanogénico se empleó un método de arranque basado en el concepto de “biomasa activa”, donde la carga orgánica en el reactor se incrementó en relación con el contenido de microorganismos. De esta manera se aplicó una carga diaria incremental de residuos sólidos urbanos al reactor (que contiene estiércol de vaca como inóculo inicial), en proporción a la capacidad de degradación microbiana, evitando el riesgo de acumulación de ácidos grasos volátiles (AGV) y otros productos intermedios e inhibidores del sistema. El objetivo del uso de este sistema de arranque fue lograr una comunidad de microorganismos adaptada a la degradación de la materia orgánica, y por tanto evitar problemas de desestabilización del proceso (Angelidaki *et al.*, 2006).

2.1.1 Descripción general del biorreactor utilizado en el arranque. El reactor utilizado durante la preparación del inóculo anaerobio dirigido a la prueba de biodegradación, cuenta con chaqueta metálica y sistema de control para agitación y temperatura y un volumen útil de 20 litros (Figura 2). La temperatura del mismo se programó a 55°C y velocidad de agitación de 15 rpm (1 hora de agitación seguida de 5 horas sin agitación), manteniendo así la máxima uniformidad posible de los constituyentes en el sustrato y de la temperatura.

Figura 2. Biorreactor y montaje para la realización de ensayos de digestión anaerobia



Fuente: Los autores

2.1.2 Acondicionamiento de la materia orgánica (Residuos sólidos urbanos).

Los desechos orgánicos se recogieron de las plazas de mercado locales. Estos se trataron físicamente para hacerlos más manejables y para agilizar el proceso de biodegradación. Los procedimientos realizados fueron: cortado de los residuos en trozos, secado a temperatura ambiente por 48 horas, secado a 55°C por 24 horas para obtener residuos con 4-10 % de humedad y, finalmente, triturado de los residuos secos en un molino comercial hasta obtener un particulado de 1 a 3 mm. Adicionalmente, para la formulación de los residuos orgánicos se tuvo en cuenta que la mezcla presentara una relación carbono/nitrógeno (C/N) de 25 a 35. Este ratio es considerado el valor óptimo para una transformación biológica adecuada, ya que, en general los microorganismos suelen utilizar en su metabolismo entre 25 y 35 partes de carbono por una de nitrógeno (Fernández, 2008). En el cuadro 2 se referencia la formulación de desechos orgánicos utilizados en el arranque del digestor anaerobio.

Cuadro 2. Formulación de los desechos orgánicos utilizados en el biorreactor

Componente	Cantidad (%)
Desechos de lechuga	7
Desechos de repollo	3
Desechos de zanahoria	3
Desechos de cebolla	6
Desechos de plátano	7
Desechos de naranja	10
Desechos de piña	5
Desechos de papa criolla	8
Desechos de papa	8
Desechos de yuca	7
Desechos de arveja	12
Desechos de frijol	12
Desechos de tomate	12

Fuente: Los autores

2.1.3 Acondicionamiento del estiércol bovino. El estiércol bovino fue aclimatado con el fin de favorecer el crecimiento de las poblaciones de microorganismos útiles en el proceso anaerobio y en la obtención del metano. Para ello se cargaron 15 litros de rumen en el reactor y se mantuvieron de acuerdo a los parámetros operativos del cuadro 3 hasta que la producción de biogás cesó y la medición de las variables ($\text{pH} > 7$, $\% \text{CH}_4 > 50$) indicaron condiciones favorables para el desarrollo del proceso y actividad de bacterias metanogénicas (Varnero, 2011).

2.1.4 Arranque del reactor anaerobio. Para el arranque se empleó un sistema de alimentación gradual, el cual consistió en empezar una alimentación por lotes con residuos orgánicos acondicionados al reactor cargado con el estiércol aclimatado. De este modo se fue incrementando la cantidad diaria de materia orgánica basándose en el concepto de “biomasa activa” y al ajuste semanal ascendente en los sólidos volátiles. El arranque se inició con una velocidad de carga orgánica de 0,5 gramos de sólidos volátiles por litro de inoculo en el reactor cada día (g SV/L.d) durante la primera semana. Cada semana se ajustó la velocidad de carga de acuerdo a como respondía el sistema, hasta alcanzar una velocidad de carga orgánica de 4 g SV/L.d, un contenido en el reactor equivalente a una concentración de sólidos totales de aproximadamente 5%, además de unos valores de pH, acidez y alcalinidad estables. Los criterios para operar el biorreactor anaerobio se exponen en el cuadro 3.

Cuadro 3. Parámetros de operación del sistema anaerobio

Parámetro	Valor
Residuo	Fracción orgánica de residuos sólidos urbanos (mezcla sintética preparada en el laboratorio)
Sistema de digestión	Semi-continua
Tipo de reactor	Reactor de tanque completamente agitado
Concentración de sólidos	5% aproximadamente
Temperatura de operación	55 °C ± 3
Inóculo inicial	Fracción líquida de estiércol de vaca fresco

2.1.5 Seguimiento del proceso de digestión anaerobia. El seguimiento comprendió la aplicación de técnicas analíticas para la cuantificación de algunos parámetros durante el transcurso del experimento. Las lecturas dieron una idea del avance entre las etapas del proceso anaerobio. La estabilidad se alcanzó cuando los valores de pH se mantuvieron con poca variación y en el intervalo de 8 a 8,3, la relación de ácidos volátiles/alcalinidad fue menor a 0,3 y los porcentajes de metano fueron mayores al 50%.

En el cuadro 4 se resumen los métodos analíticos aplicados y las normas o técnicas de referencia respectivas.

Cuadro 4. Técnicas analíticas aplicadas para el seguimiento del proceso anaerobio

Parámetro	Norma o técnica de referencia	Descripción del método
Sólidos totales	APHA-AWWA-WEF 2540	Las muestras bien homogenizadas son secadas hasta peso constante a 105 °C.
Sólidos volátiles	APHA-AWWA-WEF 2540	El residuo seco del procedimiento de sólidos totales es triturado e incinerado a 550 °C hasta peso constante.
Alcalinidad	APHA-AWWA-WEF 2320B	Las especies alcalinas son tituladas con adiciones de ácido sulfúrico 0.02 N hasta el punto final correspondiente a un valor de pH de 6 y 4,3.
Acidez volátil total	APHA-AWWA-WEF 5560B	Las muestras acidificadas son depositadas y absorbidas en una columna de cromatografía con sílica gel 60 como fase estacionaria. Los ácidos retenidos en la columna son eluidos por una solución polar de 1-butanol en cloroformo y la fracción eluida es titulada empleando NaOH 0.02N en metanol.
Volumen de biogás	Flujómetro de gases	El gas es cuantificado mediante un medidor de flujo conectado a la bomba de un sensor de gas. El volumen de gas se obtiene multiplicando la velocidad de flujo por el tiempo que le toma a la bomba succionar la totalidad de gas.
% Metano	Sensor NDIR	La concentración de metano en el gas se valora mediante lectura directa del porcentaje de metano en el sensor de gas del biogás diluido o sin diluir.
pH y potencial redox	APHA-AWWA-WEF 4500B	La calibración del pH-metro se efectúa sumergiendo el electrodo sucesivamente a través de 3 soluciones tampón estándar. El pH y el potencial redox se valoran por inmersión del electrodo en la solución problema con corrección manual de temperatura.

Estabilizado el proceso, el inóculo se sometió a un periodo de post-fermentación durante 7 días bajo las condiciones de operación. Durante este tiempo no se alimentó con materia orgánica al reactor. La post-fermentación consistió en retirar el suministro de materia orgánica para lograr que los microorganismos consuman en su totalidad el carbono orgánico proveniente de los residuos sólidos urbanos. Durante las mediciones de biodegradación, el carbono degradado de la materia orgánica de los desechos puede interferir con el carbono de los biopolímeros y arrojar datos imprecisos.

2.2. MONTAJE Y SEGUIMIENTO DEL ENSAYO DE BIODEGRADACIÓN

Para realizar las pruebas de biodegradación se siguieron las pautas establecidas en la norma ISO 13975: 2012. Los tipos de muestras usadas en el ensayo fueron:

Como referencia positiva: Celulosa micro-cristalina

Como material de prueba: Dos tipos de empaques biodegradables (plástico flexible y bandeja semirrígida).

2.2.1 Descripción del equipo de biodegradación. El respirómetro Micro-Oxymax (Figura 3) mide la producción y/o consumo de varios gases simultáneamente (normalmente CO_2 , CH_4 y O_2) y es capaz de detectar cambios extremadamente pequeños en la concentración de estos. El equipo consta de una serie de biorreactores anaerobios de 2 L de capacidad, en donde se almacena la muestra a biodegradar con el inóculo. Estos son sumergidos en agua a 55 °C para mantener el régimen termofílico.

Los biorreactores cuentan con válvulas de un solo sentido, las cuales permiten que el biogás generado circule hacia las cámaras de medición pero no a la inversa. Las cámaras de medición son botellas de vidrio completamente selladas que están conectadas a cada reactor anaerobio y a la unidad de expansión. La unidad de expansión es un dispositivo que contiene diez canales diferentes, con sus respectivas electroválvulas. Las unidades de expansión se encuentran conectadas con las cámaras de medición y con la cámara de bombas.

La cámara de bombas, es capaz de bombear el gas a analizar así como el gas de purga de los sensores y a su vez contiene la cámara de referencia, sensor de presión, conexión con la sonda de temperatura y otros componentes básicos para el correcto funcionamiento del equipo y los cálculos a realizar. Desde esta cámara

se transmite toda la información al ordenador para visualizar y descargar los datos obtenidos (Ramos, 2014).

Figura 3. Respirómetro Micro-Oxymax 20 utilizado en las pruebas de biodegradación



Fuente: Los autores

2.2.2 Acondicionamiento del material de prueba y la referencia positiva. Los materiales de ensayo se acondicionaron de acuerdo con los procedimientos establecidos en la norma ISO 10210:2012. El plástico flexible se trituró y se tamizó con tamices ASTM 60 y 120, obteniendo partículas entre 250 μm y 125 μm . El material semirrígido (bandeja) se cortó en láminas de 1 cm de lado. A continuación se caracterizaron tanto los materiales de ensayo como la referencia positiva, determinando los sólidos totales, volátiles y el carbono orgánico total de las muestras. Este último se determinó mediante el método de Walkley-Black, que consiste en la oxidación del carbono orgánico presente en la muestra a través de una mezcla oxidante de dicromato de potasio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) y ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado, catalizada por el calor de dilución del H_2SO_4 en agua (Arrieche y Pacheco, 2011).

2.2.3 Montaje de los tratamientos para el ensayo de biodegradación anaerobia. Para el montaje de la prueba de biodegradación se empleó el equipo Micro-oxymax. Se utilizaron 8 reactores de vidrio (2 por cada tipo de muestra y 2 blancos) de 2 litros de capacidad, con conectores (herméticos e impermeables a los gases) dirigidos a recipientes de recogida de gases los cuales a su vez se

conectaron a un sistema de medición de gases computarizado. El sistema se incubó a 55 °C.

Se introdujo en cada reactor 800 g de inóculo post-fermentado previamente y mezclado durante 60 minutos a 15 rpm. Posteriormente se agregó por duplicado en los reactores de vidrio, una cantidad necesaria de material de prueba y de referencia positiva que contuvo aproximadamente 7 g de sólidos volátiles, adicionalmente se dejaron dos reactores con inóculo post-fermentado sin material de prueba o referencia positiva como tratamiento para el blanco. El contenido en los reactores se mezcló, se purgó el espacio de cabeza con nitrógeno, se selló herméticamente y se pesó.

2.2.4 Seguimiento del proceso de biodegradación anaerobia. El seguimiento del proceso de biodegradación anaerobia de las muestras se realizó mediante el equipo Micro-Oxymax. El equipo efectuó mediciones periódicas de los porcentajes de CO₂ y CH₄ producidos en las cámaras de medición.

2.2.5 Finalización del experimento. Al finalizar la prueba se tomó el peso del contenido de los reactores. El experimento se dio por terminado tras 31 días de prueba.

2.2.6. Porcentaje de biodegradación. Primero se calculó la cantidad de carbono contenida en el gas generado por cada uno de los reactores de acuerdo a la ecuación (1):

$$Cg = \left(\frac{CO_2 + CH_4}{22.4} \right) * 12 \quad (1)$$

Dónde:

CO₂ = ml de dióxido de CO₂ generados.

CH₄ = ml de CH₄ en generados.

Cg = Carbono gaseoso producido por el reactor.

Después se calculó el porcentaje de biodegradación para cada uno de reactores de acuerdo con las ecuaciones (2) y (3):

$$B = \frac{Cg (M) - Cg (B)}{C} \quad (2)$$

$$C = M * H * COT \quad (3)$$

Dónde:

Cg (B) = Carbono gaseoso promedio generado por el blanco.

Cg (M) = Carbono gaseoso promedio por el material de prueba o referencia positiva.

C = Carbono total contenido en el material de prueba o referencia positiva.

B = Porcentaje de biodegradación del tratamiento (material de prueba o referencia positiva).

M = Peso del material de prueba o referencia positiva agregada a cada reactor.

H = Fracción de humedad del material de prueba o referencia positiva agregada a cada reactor.

COT = Fracción de carbono orgánico total del material de prueba o referencia positiva.

La prueba se considera validada si el porcentaje de biodegradación del material de referencia es mayor al 70% después de 15 días y la diferencia entre el porcentaje de biodegradación del material de referencia en los diferentes recipientes es menor al 20% al final de la prueba. Adicionalmente, al término de 30 días, el material de prueba deberá presentar un porcentaje de biodegradación superior al 50%.

2.2.7 Diseño experimental. Con el objeto de establecer diferencias entre los índices de biodegradación y los volúmenes totales de biogás generados por los distintos materiales, se aplicó un diseño completamente aleatorizado en el que se consideró un único factor con tres niveles (cuadro 5). Las variables de respuesta corresponderán a los porcentajes de biodegradación finales y producciones finales de gas de cada material.

2.2.7.1 Análisis estadístico. Para determinar la existencia o no de diferencias significativas entre tratamientos se aplicó inicialmente un análisis de varianza ANOVA con un nivel de significancia de 0,05. Posteriormente se efectuó la comprobación de supuestos empleando la técnica de Shapiro-Wilks y análisis de varianza por el método de Barlett. Finalmente, en tanto todos los tratamientos

arrojaron datos normales, se realizó comparación múltiple de Tukey para determinar diferencias significativas agrupadas por tratamientos.

Cuadro 5. Diseño experimental completamente aleatorizado para la evaluación del volumen y el porcentaje de biodegradación.

Factor	Niveles	Variable de respuesta
Tipo de material	Celulosa	Porcentaje de biodegradación final Volumen de gas total generado
	Película flexible	
	Bandeja semirrígida	

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 OBTENCIÓN DEL INÓCULO METANOGÉNICO

La primera etapa del trabajo de investigación contempló la obtención del inóculo metanogénico utilizado en las pruebas de biodegradabilidad para los materiales propuestos (película flexible y bandeja semirrígida). En este apartado se detallan las características físico-químicas de la materia orgánica empleada como sustrato para la preparación del inóculo, los resultados del seguimiento durante el periodo de acondicionamiento del estiércol bovino y la evolución en el arranque del reactor anaerobio.

3.1.1 Caracterización de los residuos orgánicos. En el cuadro 6 se especifican algunas de las características físico-químicas más importantes de los residuos orgánicos recolectados de las plazas de mercado de Popayán y utilizados como sustrato en la preparación del inóculo metanogénico. Estos parámetros fueron medidos después de los pretratamientos de secado, trituración y mezclado. Los residuos se pre-trataron con el fin de facilitar los procesos metabólicos del consorcio microbiano a utilizar y asegurar una buena asimilación de los nutrientes.

Los residuos orgánicos presentaron una relación C/N adecuada para la digestión anaerobia (C/N 29,49). Por otra parte, el contenido de sólidos volátiles (89,70 %) y la relación SV/ST (93,15%), evidenciaron una alta fracción orgánica en los residuos. Estos valores son similares a los publicados por otros autores en la literatura. Según Juanga (2005) los residuos provenientes de los mercados contienen alrededor de un 78% de sólidos volátiles (S.V) y de acuerdo con Zhang *et al.* (2007) valores de SV/ST cercanos a 85,30% favorecen la conversión anaeróbica.

La mezcla de residuos contó además con una concentración equilibrada de microelementos. Los metales y cationes relevantes para el proceso anaerobio fueron comparables con los valores mostrados por otros autores (Zhang *et al.*, 2005), que reportaron un contenido balanceado de estos elementos en los residuos para la digestión anaerobia, lo que confiere un efecto positivo para la actividad microbiana, pero sin resultar tóxicos para el sistema (Ortega, 2006).

Los microelementos con concentraciones más elevadas en los residuos fueron el potasio, el calcio, el magnesio y el fósforo. Estos metales traza se consideran valiosos en varios procesos celulares (Mancillas Salas *et al.*, 2012). El contenido

de potasio (3,03%) está vinculado con la existencia de cáscaras de plátano (Parra-Orobio *et al.*, 2014) y el nivel de fósforo (0,21%), se asocia con la presencia de vegetales y leguminosas (Parra-Orobio, 2014). Estos micronutrientes son esenciales para el crecimiento, la síntesis celular y los requerimientos energéticos de los microorganismos anaerobios (Cheng, 2009).

Cuadro 6. Características físico-químicas de los residuos orgánicos empleados para la preparación del inóculo metanogénico

Componentes	Unidades	Valor
Humedad	%	3,70
Sólidos Totales	%	96,30
Sólidos volátiles	% (b.h.)*	89,70
SV/ST**	%	93,15
Ceniza	% (b.h.)*	10,30
Carbono Orgánico Total	% (b.h.)*	52,80
C/N***	-	29,49
Nitrógeno	% (b.h.)*	1,79
Calcio	% (b.h.)*	0,56
Fósforo	% (b.h.)*	0,21
Magnesio	% (b.h.)*	0,26
Potasio	% (b.h.)*	3,03
Azufre	% (b.h.)*	0,18
Hierro	mg/Kg (b.h.)*	10,17
Manganeso	mg/Kg (b.h.)*	96,00
Zinc	mg/Kg (b.h.)*	35,60
Cobre	mg/Kg (b.h.)*	5,72

*b.h. – base húmeda.

**SV/ST – Relación sólidos volátiles/sólidos totales.

***C/N – Relación carbono/nitrógeno.

Adicionalmente, se puede decir que en los residuos se encontraron bajos niveles de azufre (0,18%), acordes con los reportados por Zhang *et al.* (2007). Estos bajos niveles aumentan la probabilidad de que en el proceso se presenten poblaciones reducidas de bacterias sulfato reductoras, las cuales pueden competir con los microorganismos metanogénicos por el sustrato orgánico disponible (acetato, hidrógeno y ácidos grasos de cadena corta) y desviar el proceso a la producción de H₂S en lugar de metano (Gallegos-García *et al.*, 2010).

3.1.2 Arranque y seguimiento de la digestión anaerobia de los residuos sólidos urbanos. Para el desarrollo de esta investigación, el proceso de digestión anaerobia fue dividido en tres etapas: aclimatación, incorporación de la carga

orgánica y post-fermentación. La primera etapa consistió en la aclimatación del estiércol vacuno en el biorreactor a 55 °C (régimen termofílico) con el fin de obtener poblaciones metanogénicas adaptadas al medio. Esta etapa comenzó el día 0 y terminó el día 20. En este lapso el biorreactor no se cargó con materia orgánica para no desequilibrar el medio y así asegurar la autorregulación del proceso anaerobio.

En la segunda etapa que va desde el día 21 hasta el día 50 se empezaron a introducir gradualmente los residuos en el biorreactor, iniciando con una cantidad equivalente a 0,5 gSV/L.d, la cual se fue aumentando cada semana hasta una velocidad de carga orgánica de 4 gSV/L.d. El sistema se arrancó con la adición de cargas orgánicas bajas, las cuales se incrementaron conforme el buffer del sistema se volvió más estable (Angelidaki *et al.*, 2006). El sistema buffer en un digestor anaerobio está determinado por la cantidad de alcalinidad presente en el medio, la cual actúa como un tampón que evita los cambios rápidos en el pH (Del Río, 2014). La actividad enzimática aceptable para las bacterias formadoras de ácido se produce a pH por encima de 5, sin embargo la actividad enzimática de las arqueas metanógenas no se admite por debajo de pH 6,2. Por tanto, para asegurar el buen funcionamiento del sistema se debe mantener el pH en el intervalo de 6-8, ya que valores por fuera de este rango son restrictivos y tóxicos, especialmente para los microorganismos metanogénicos (Appels, 2008). Para mantener un pH estable, se requiere un alto nivel de alcalinidad.

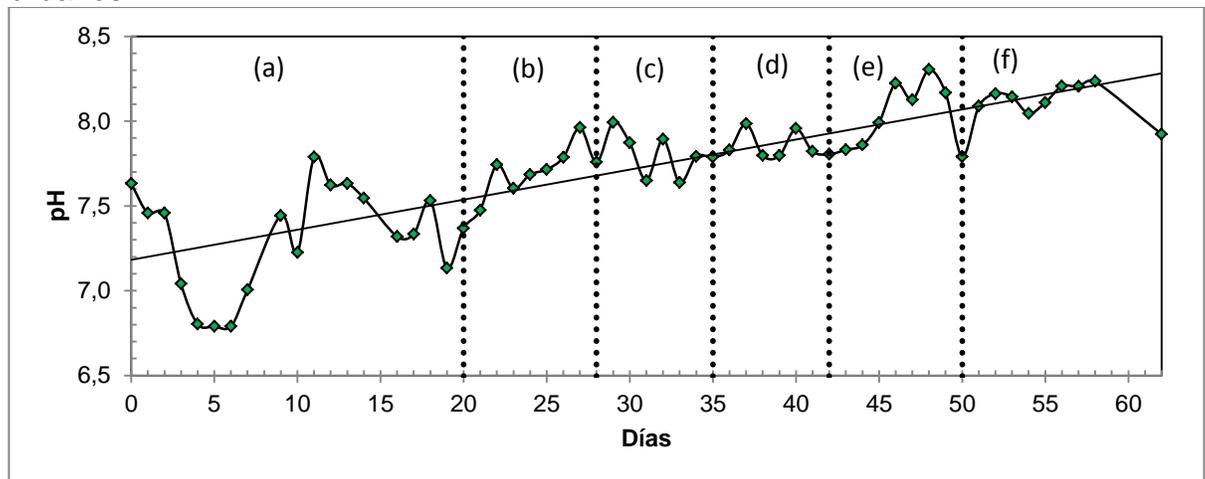
La alcalinidad está presente principalmente en forma de bicarbonatos que se encuentran en equilibrio con el CO₂ en el biogás a un pH dado y estos tampones son generados mediante la degradación de la materia orgánica. Durante la degradación se liberan CO₂ y nitrógeno amoniacal que dan como resultado la formación de ácido carbónico, alcalinidad de bicarbonato, alcalinidad de carbonato y bicarbonato de amonio (Pérez y torres, 2008). Por otra parte, durante la degradación de los compuestos orgánicos, en la etapa de acidogénesis, también se producen ácidos grasos volátiles como el ácido propiónico, butírico, valérico, acético entre otros, los cuales son consumidos y convertidos a metano en la posterior etapa metanogénica. No obstante, cuando se empieza a alimentar con cargas orgánicas altas se corre el riesgo de sobrepasar la capacidad máxima de asimilación de los productos generados en la etapa acidogénica por parte de las arqueas metanogénicas con un consecuente aumento de los ácidos grasos volátiles (AGV) que conllevaría a un consumo de la alcalinidad en el medio y disminución del pH (del Río, 2014). Por esta razón, se introdujeron cargas orgánicas graduales para evitar una inhibición de microorganismos metanogénicos debida a una sobrecarga orgánica y la consecuente acidificación del reactor.

La tercera etapa que inicia el día 51, comprende un periodo de post-fermentación, durante el cual se interrumpe la entrada de carga orgánica. Como se mencionó en el epígrafe 2.1.5 en el apartado de *metodología* de este trabajo, la post-fermentación se realiza con el propósito de depurar la carga orgánica del inóculo metanogénico y conseguir mediciones confiables en los ensayos de biodegradación, ya que los volúmenes de gas generados por los residuos orgánicos introducidos en el biorreactor pueden interferir con los volúmenes de gas producidos por los materiales a biodegradar (película flexible y bandeja semirrígida).

A continuación se presentan los resultados obtenidos del seguimiento y control del proceso para la obtención del inóculo metanogénico. Los parámetros observados fueron: evolución del pH, producción de biogás, porcentaje de metano, alcalinidad, ácidos grasos volátiles, sólidos totales y sólidos volátiles.

3.1.2.1 Evolución del pH en el medio. En la figura 4 se exponen los cambios del pH en función del tiempo durante la digestión de los residuos sólidos urbanos.

Figura 4. Evolución del pH durante la digestión anaerobia de los residuos sólidos urbanos



Las divisiones verticales mostradas en la figura indican las diferentes etapas antes mencionadas en el apartado 3.1.2, donde (a) es la etapa de aclimatación; (b), (c), (d) y (e) representan la etapa de alimentación. Las velocidades de carga orgánica expresadas en g de sólidos volátiles/Litro.día durante esta etapa fueron de 0,5 para (b); 1 para (c); 2 para (d) y 4 para (e). Finalmente (f) corresponde a la etapa de post-fermentación.

Al inicio de la aclimatación, durante los primeros seis días se presentó un leve descenso del pH, pasando de 7,63 a 6,79. Esta disminución se debe a la producción de metabolitos ácidos como el ácido acético, butírico y propiónico derivados de la descomposición de los materiales orgánicos remanentes del estiércol bovino, a cargo de los organismos fermentativos y acidogénicos (Teniza-García *et al.*, 2015). La rápida generación de estos productos pudo estar impulsada por una formación importante de hidrógeno, elemento característico en la composición del biogás durante las etapas iniciales y por el rango de temperatura empleado (55°C) en la digestión anaerobia. Según Weederdmann *et al.* (2013), el hidrógeno favorece la producción de ácidos grasos volátiles como el propionato y butirato y, en general se ha encontrado que la tasa de descomposición de la materia orgánica se incrementa con la temperatura, lo cual a su vez acelera la producción de ácidos grasos volátiles (Fernández-Rodríguez, *et al.*, 2013).

A partir del séptimo día, el pH comenzó a ascender ubicándose hasta el día 20, en valores cercanos a la neutralidad (7,0 - 7,6). Esto indicó la asimilación del hidrógeno y los ácidos producidos en la etapa acidogénica, por parte de las arqueas metanogénicas (Del Río, 2014). Este hecho se corrobora en la figura 5, en la cual se observa que el porcentaje de metano se disparó a partir del día 7. En este punto se estableció un balance entre las cantidades de ácidos grasos volátiles generados y consumidos por parte de la microbiota acidogénica y metanogénica respectivamente, evitando su acumulación y por tanto regulando el pH (Liao *et al.*, 2014).

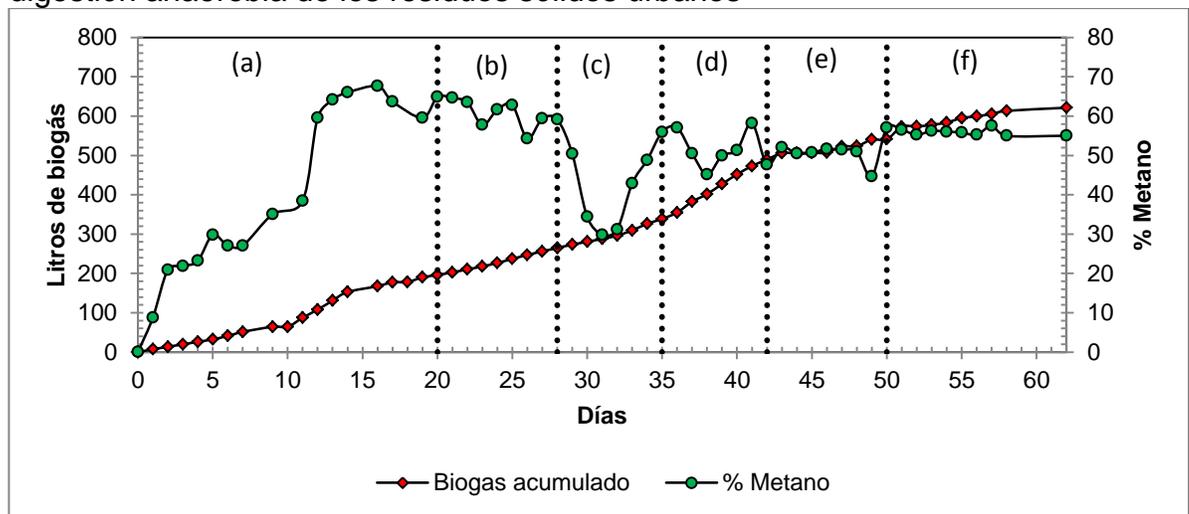
Más adelante, desde el día 20, el potencial de hidrógeno continuó aumentando de forma espontánea incluso con la adición de materia orgánica, manteniéndose en el rango de 7,7 - 8,3 y exhibiendo una tendencia creciente con cada etapa. De esta forma, en la etapa b, el pH presentó un valor medio de 7,7, en las etapas c y d subió hasta 7,8 para posteriormente estabilizarse, en las etapas d y e (a partir del día 45), en torno a 8. El aumento del pH se debe al consumo paulatino y conversión de los ácidos grasos volátiles por los metanógenos a metano y, además, a la generación de tampones carbónicos en el medio mediante la disolución de CO₂ procedente de la acidogénesis y metanogénesis de los compuestos orgánicos y tampones amónicos debido a la degradación de proteínas (Jha *et al.*, 2013).

En general el pH se mantuvo estable, alcanzando valores adecuados para la actividad del consorcio microbiano. Valores similares de pH fueron obtenidos por Fernández-Rodríguez, *et al.* (2013) en digestores anaerobios operados satisfactoriamente en rango termofílico (55°C) y con alto contenido de sólidos (20%). La estrategia usada en el arranque fundamentada en un aumento gradual

de la carga orgánica, contribuyó con una baja generación de ácidos grasos volátiles (Angelidaki *et al.*, 2006) lo que se reflejó en rangos de pH (6,8-8,3) aceptables para el crecimiento y mantenimiento de cepas metanogénicas (Mao *et al.*, 2017).

3.1.2.2 Seguimiento de la producción de biogás y porcentaje de metano. La producción acumulada de biogás y de metano durante el tiempo de estudio se exponen en la figura 5.

Figura 5. Biogás acumulado y porcentaje de metano producidos durante la digestión anaerobia de los residuos sólidos urbanos



En los primeros 6 a 7 días de la etapa inicial del experimento se observaron bajos niveles de metano (<30%) en el biogás, ya que durante este período predominaron las fases hidrolítica y acidogénica. El metano generado en este lapso fue debido principalmente a la actividad de los metanógenos hidrogenotróficos (Fernández, 2010). Fernández (2008), registró que los valores de metano en torno al 25% son característicos de sistemas en los que la formación de metano se lleva a cabo por la acción de los metanogénicos utilizadores de H₂.

Por otro lado, acorde a lo descrito por Yagi *et al.* (2009) las bajas cuotas de metano en la parte inicial del periodo de aclimatación se deben al cambio de temperatura en el medio, que produce la muerte o inactivación de la mayor parte de los microorganismos, no obstante, los que se adaptan a 55 °C continúan aumentando, lo que se manifiesta en el crecimiento de los porcentajes de metano.

A partir del séptimo día se advirtió un rápido ascenso en los valores de metano hasta el día 12 en el que se fijó por encima de un 55%. Este incremento fue debido al consumo de los ácidos grasos volátiles producidos en la etapa acidogénica (Fernández, 2010) y al crecimiento exponencial de las poblaciones metanogénicas (acetoclásticos) en el medio (Abubakar y Ismail, 2012). Adicionalmente, pudo ocurrir que el aumento del pH durante este intervalo provocó la disolución de una fracción de CO₂ en el lodo anaerobio, incrementando de este modo la proporción de metano en la fase gaseosa (Varnero, 2011).

Entre los días 12 y 28 (hasta la etapa b) de operación se observó la proporción de metano más alta (en torno al 60%) registrada a lo largo de todo el experimento. A causa del efecto buffer (regulado por la presencia de tampones carbonáticos y amónicos), el pH en esta parte del ensayo se mantuvo en valores ideales para una mayor producción de gas, según Parra *et al.* (2014) los pH cercanos a la neutralidad (6,8 a 7,5), logran los mejores resultados en cuanto a la producción de metano. Por otra parte, en los días 28 a 31, en la etapa c, se detectó una disminución (hasta alcanzar valores de 29,8%) y posterior aumento en el porcentaje de metano. Este hecho pudo estar relacionado con la adaptación de la microbiota al residuo o el agotamiento del sustrato debido a las bajas cargas orgánicas suministradas en las etapas iniciales, lo cual ocasionó la disminución de los metabolitos (especialmente ácido acético) que pueden ser convertidos en metano.

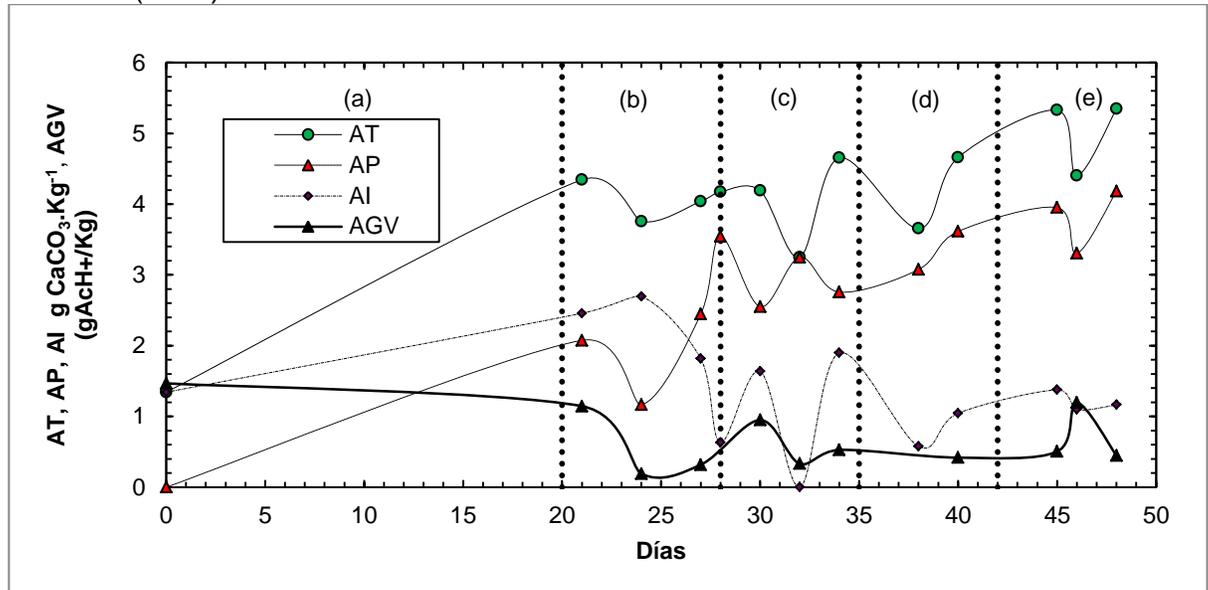
Sin embargo, desde el día 33 hasta concluir la etapa de post-fermentación, los porcentajes de metano volvieron a subir y adquirir valores constantes, alrededor del 50%, lo cual es indicativo de un comportamiento equilibrado entre las diversas poblaciones involucradas en el sistema anaerobio. Adicionalmente, este porcentaje de metano es típico para degradaciones de residuos vegetales debido a su alta concentración de carbohidratos, los cuales generan un porcentaje teórico máximo del 50% en metano (Borowski, 2015). La digestión se suspendió el día 62 (logrando un volumen total de 621 litros de gas) para utilizar las cepas metanógenas en la segunda parte del ensayo.

3.1.2.3 Seguimiento de la alcalinidad y acidez volátil total. En la figura 6 se detallan las mediciones de los contenidos de ácidos grasos volátiles (AGV) y la alcalinidad expresada como alcalinidad total, parcial e intermedia. Estos parámetros fueron monitoreados al inicio de la aclimatación y durante la alimentación con residuos orgánicos.

El contenido inicial de ácidos grasos volátiles (AGV) fue de 1,46 g AcH⁺/kg; valor que disminuyó a 1,15 g AcH⁺/kg en el día 21, es decir, al iniciar la segunda etapa

del experimento (etapa de alimentación). Esto se debe a que en la primera fase (fase de aclimatación) se produjo el consumo y transformación a metano de los ácidos grasos volátiles procedentes de la hidrólisis de los compuestos orgánicos presentes en el estiércol.

Figura 6. Alcalinidad total (AT), parcial (AP), intermedia (AI) y ácidos grasos volátiles (AGV)



En la segunda fase (días 20 a 50) la acidez presentó varias fluctuaciones, las cuales pueden atribuirse a la variación en la composición del sustrato y a las diferentes velocidades de carga orgánica. De esta manera, durante los primeros días de la etapa b se observó una caída de la acidez influenciada por las bajas cargas orgánicas. En la etapa c (días 30-32) se advirtió un ascenso y posterior disminución de los ácidos, comportamiento que se repitió en la etapa e (días 45-48) y que corresponde a la dinámica de consumo por parte de la microbiota acidogénica y metanogénica. Generalmente, la velocidad específica de crecimiento de las bacterias acidógenas es mayor que la de las arqueas metanógenas, lo cual puede generar un aumento de la acidez al introducir nuevas cargas orgánicas, tal como ocurrió al inicio de la etapa c y e. En este sentido, Biswas *et al.* (2006) encontraron una velocidad específica de crecimiento de 5,17 días⁻¹ para los microorganismos acidogénicos y de 2,44 días⁻¹ para los metanogénicos en un sistema de digestión anaerobia de residuos vegetales.

En general, los valores de acidez registrados durante el arranque se mantuvieron en niveles muy bajos (0,19-1,19 g AcH⁺/kg). En situaciones estables de operación,

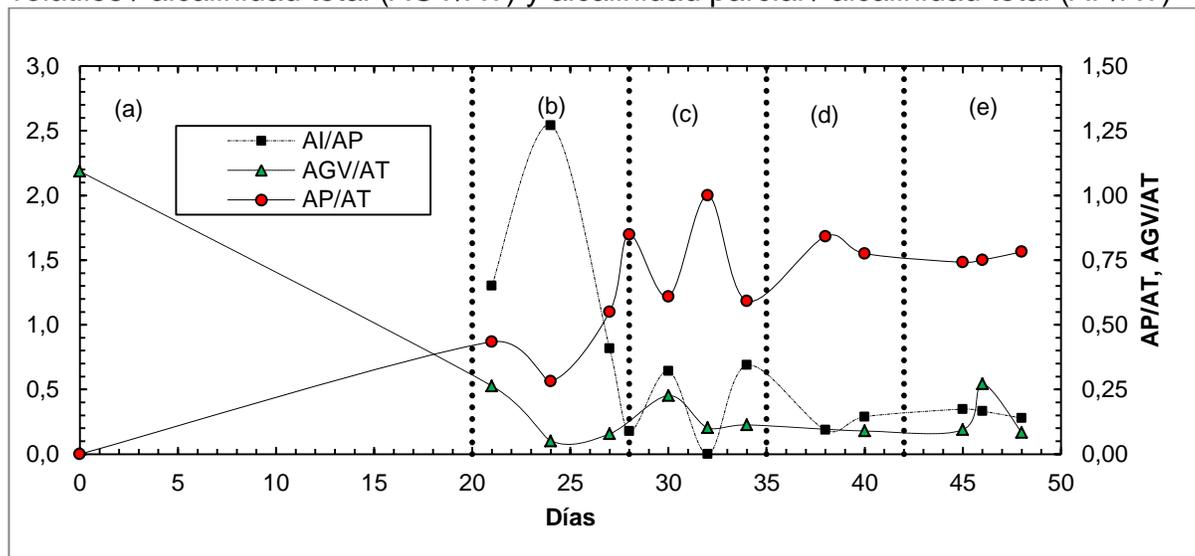
los ácidos grasos volátiles deben estar en cantidades muy bajas, pues un acelerado incremento en su concentración indica el fallo de las poblaciones metanogénicas causado, generalmente, por sobrecargas orgánicas o presencia de compuestos tóxicos en el medio (Del Río, 2014; De la Rubia et al., 2013; Hassan y Nelson, 2012; Serrano *et al.*, 2014;). Cuando la velocidad de producción de ácidos es mayor que la tasa de consumo (por parte de las bacterias metanogénicas), estos se acumulan y pueden generar un aumento desmedido de la acidez e inhibir por tanto el sistema (Lee *et al.*, 2017). Del Río (2014) manifiesta que contenidos inferiores de 0,5 g ACh^+ /kg son indicativos de reactores maduros estables, pero conforme a lo descrito por Fernández (2010), la inhibición por ácidos grasos volátiles, con un adecuado control de pH, no se alcanza hasta los 5 g ACh^+ /kg. El digestor anaerobio, con las condiciones aquí ensayadas, no presentó problemas de inhibición por ácidos grasos. Los valores observados son similares a los reportados por Angelidaki *et al.* (2006), quienes utilizaron la misma estrategia de arranque (aumento gradual de la carga orgánica) y obtuvieron una producción estable de biogás.

En relación con la alcalinidad total (AT) del sistema, ésta ascendió pasando de 1,34 g CaCO_3 /kg en el día 1, a 4,34 g CaCO_3 /kg al iniciar la etapa b, lo cual se asoció principalmente con el aumento de la alcalinidad parcial (alcalinidad debida al bicarbonato). Durante la etapa de aclimatación, se crean condiciones para que la microbiota presente en el estiércol de vaca permita la formación de tampones amónicos y carbónicos derivados de la descomposición de la materia orgánica existente en el medio (Gerardi, 2003). De esta forma, el consorcio microbiano se autorregula aumentando la capacidad de amortiguación de la mezcla cuando se incorporan residuos orgánicos al sistema.

La alcalinidad total continuó presentando una tendencia creciente durante los días 21 al 50, ubicándose en valores que van desde los 4,34 a los 5,35 g de CaCO_3 . Según Gray *et al.* (2008) este comportamiento (creciente) indica que la población de metanógenos está creciendo y por tanto que hay un balance entre las bacterias formadoras y consumidoras de ácidos. Del mismo modo, la concentración de la alcalinidad parcial (AP) ascendió con el transcurso de cada etapa, permaneciendo a partir del día 27 en el rango 2,55-4,97 g CaCO_3 /kg. Este mismo comportamiento ha sido descrito por Li *et al.* (2017), quienes encontraron que el valor de alcalinidad parcial aumenta con tiempos de retención más largos debido a la mayor conversión de sustratos en bicarbonatos. El aumento de la alcalinidad parcial puede estar relacionada con la solubilización del CO_2 generada por las reacciones bioquímicas de la acidogénesis y metanogénesis (Gerardi, 2003) o con la liberación de nitrógeno amoniacal durante la biodegradación de los compuestos proteicos (Jha *et al.*, 2013).

En contraste, la alcalinidad intermedia (AI, alcalinidad debida a los ácidos grasos volátiles) decreció durante los primeros días de la etapa b ocasionado, como ya se ha discutido anteriormente, a las bajas cargas orgánicas y desde entonces adquirió un perfil análogo al de los ácidos grasos volátiles. Los niveles de alcalinidad son acordes con los presentados por algunos autores. Según la bibliografía se requiere que las concentraciones de alcalinidad total de un digestor anaerobio se encuentren en el entorno 2-4 g CaCO₃/kg (Demitry y Mcfarland, 2015) y Ketheesan y Stuckey. (2015) reportan que una alcalinidad de bicarbonato (alcalinidad parcial) en el intervalo de 2.5 a 5.0 g CaCO₃/kg proporciona una capacidad tampón adecuada. Dentro de este rango el sistema puede soportar un aumento mucho mayor de los ácidos volátiles con una disminución mínima en el pH.

Figura 7. Índices alcalinidad intermedia / alcalinidad parcial (AI/AP), ácidos grasos volátiles / alcalinidad total (AGV/AT) y alcalinidad parcial / alcalinidad total (AP/AT)



Por otra parte, el cálculo de las razones presentadas en la figura 7 son generalmente utilizadas para la monitorización y el control de la estabilidad del proceso anaerobio. Desde el día 1 (etapa a) hasta el 21 (etapa b), la relación AGV/AT disminuyó de 1,09 a 0,26, en cambio el ratio AP/AT aumentó de 0 a 0,43 en los mismos días debido, como se ha discutido anteriormente, al consumo de los ácidos y a la generación de sustancias tampón. Al iniciar la etapa b con la incorporación del sustrato al sistema a una velocidad de carga orgánica de 0,5 gSV/L.d ambas relaciones (AGV/AT y AP/AT) decrecieron hasta el día 24, mientras que la relación AI/AP ascendió. Lo anterior pudo estar relacionado con la baja producción y rápido consumo de ácidos grasos volátiles en vista de la limitada concentración de sustrato, lo cual se corrobora en la figura 6, en donde se

observa que durante este tiempo disminuyeron tanto la acidez como la alcalinidad parcial, que también se pudo ver afectada debido a la menor disponibilidad de metabolitos para la formación de bicarbonatos.

Desde el día 24 el ratio AGV/AT comenzó a descender y se situó después del día 32 por debajo de 0,1 hasta el final del periodo de operación, a excepción del día 46, en donde se alcanzó un valor de 0,27 debido al aumento de la carga orgánica, que pasó de 2 gSV/L.d a 4 gSV/L.d durante este periodo. Los resultados presentados en la relación AGV/AT son acordes con la bibliografía, ya que valores inferiores a 0,1 de este ratio son considerados por diferentes autores como adecuados para el correcto desarrollo de procesos de digestión anaerobia (Kong *et al.*, 2016; Di Maria *et al.*, 2014). No obstante, autores como Zahedi *et al.* (2017), Rosinska y Karwowska (2017) registraron valores en el entorno 0,3-0,4 para esta razón resultando en un buen funcionamiento del biorreactor.

Por otro lado, García *et al.* (2007) exponen que valores del índice AP/AT superiores o iguales a 0,7 son indicativos de estabilidad del proceso. Estos resultados son acordes con los mostrados por Pérez y Torres. (2008), quienes recomiendan valores de este ratio superiores a 0,5 en la etapa de arranque y de 0,7 al lograr condiciones estables. Es decir, que al menos el 70% de la alcalinidad del medio debe corresponder a la alcalinidad del bicarbonato (alcalinidad parcial) a fin de garantizar una alta capacidad tamponante del medio y favorable para el proceso anaerobio. En este ensayo, la relación AP/AT alcanzó valores por encima de 0,5 desde el día 27, fluctuando en el entorno 0,55-0,85 hasta el día 38 para luego ubicarse alrededor de 0,7, indicando la estabilización del sistema.

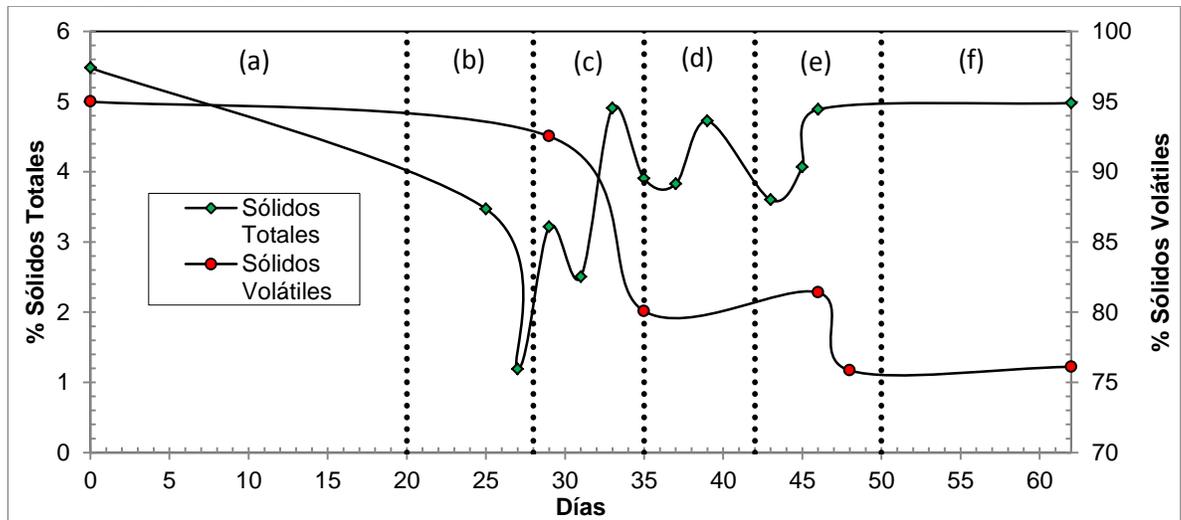
En cuanto a los valores del ratio AI/AP, estos disminuyeron rápidamente hasta el día 28. Entre los días 28 y 34 se presentaron oscilaciones con picos máximos de 0,69 y a partir del día 38 el valor se estabilizó por debajo de 0,3. Autores como Fuess *et al.* (2017), Martín-González *et al.* (2013), Seswoya y Karim (2017) señalan que valores de AI/AP inferiores a 0,3 implican un comportamiento estable, sin riesgos de acidificación, lo cual sugiere que las condiciones alcanzadas en este ensayo favorecen el adecuado funcionamiento del sistema anaerobio.

3.1.2.4 Seguimiento de los sólidos totales y sólidos volátiles. En la figura 8 se muestra la evolución de los sólidos totales y los sólidos volátiles, expresados en porcentajes sobre el total de la muestra.

Los porcentajes de sólidos totales y volátiles mostraron una tendencia decreciente hasta el final de la etapa b (día 28), pasando de 5,4% a 1,1% y de 95% a 92,5%

respectivamente. La disminución que se produjo de estos parámetros durante los primeros 20 días (final de la etapa a, de aclimatación) pudo corresponder, principalmente, a la descomposición y conversión a metano del material orgánico ya presente en el estiércol. Mientras que el descenso de estos entre los días 20 y 28 pudo estar vinculado, como se comentó en apartados anteriores, a las bajas cargas orgánicas (0,5 gSV/Ld) suministradas en este lapso ya que, a pesar de la incorporación del nuevo material orgánico, no se produjo una caída de la tasa de destrucción de sólidos volátiles, tal como ocurrió en etapas posteriores en las que se alimentó con cargas mayores.

Figura 8. Sólidos totales y sólidos volátiles durante la digestión anaerobia de los residuos sólidos urbanos



Más adelante, Entre los días 27 y 46 los sólidos totales experimentaron un continuado aumento y luego se estabilizaron en torno al 5% hasta el final del ensayo. Lo anterior pudo estar relacionado con el aumento de la carga orgánica y el mayor contenido de sólidos totales de la mezcla de residuos orgánicos con respecto al estiércol de vaca.

Los sólidos volátiles siguieron decreciendo durante todo el experimento como resultado de la hidrólisis y transformación a metano de los compuestos orgánicos. Aunque la velocidad de disminución a partir del día 35 (etapa c) se hizo más lenta al iniciar cada etapa debido al aumento progresivo de la velocidad de carga orgánica.

3.1.3 Caracterización final del inóculo metanogénico. En el cuadro 7 se sintetizan las características finales del inóculo obtenidas en la primera etapa del trabajo de investigación (obtención del inóculo metanogénico).

Cuadro 7. Características bioquímicas del inóculo para la prueba de biodegradación anaerobia y parámetros basados en normas ISO y otras referencias bibliográficas.

Parámetro	Unidades	Valor obtenido	Referencia	Valor de referencia
pH	-	7,92	ISO 13975	Entre 7,5 8,5
Metano	%	55,00	Borowski, 2015	50%
Acidez	g Ach ⁺ /kg	0,75	ISO 15985	<1 g Ach ⁺ /kg
Sólidos totales	%	4,98	ISO 13975	<15%
Sólidos volátiles	%	76,11	-	-
Alcalinidad parcial	g CaCO ₃ /kg	4,97	Parawira <i>et al.</i> , 2006	>1,2 mg g CaCO ₃ /kg
AGV/AT	-	<0,10	Zahedi <i>et al.</i> , 2017	<0,4
AP/AT	-	0,78	Pérez y Torres, 2008	>0,7
AI/AP	-	0,28	Fuess <i>et al.</i> , 2017	<0,3

El porcentaje de metano es un componente determinante en la viabilidad del inóculo para llevar a cabo ensayos de biodegradación anaerobia, ya que éste confirma la actividad metanogénica en el medio. Según Yagi *et al.* (2009), la proporción de metano no debe ser muy inferior al 60%, dado que éste es el valor obtenido regularmente bajo condiciones de digestión anaerobia. El porcentaje final de metano logrado en la primera parte del experimento (registrado en el cuadro 7) fue del 55%, valor que se considera adecuado, teniendo en cuenta que los carbohidratos son el componente mayoritario de la materia orgánica empleada como sustrato, pues estos suelen generar contenidos de metano en torno al 50% debido a su estado de oxidación (Fernández, 2008; Acosta y Abreu, 2005). Adicionalmente, como se manifiesta en el cuadro 7 los parámetros pH, acidez, sólidos totales, alcalinidad, relaciones AGV/AT, AP/AT y AI/AP medidos al final del ensayo concuerdan con la normatividad y bibliografía referenciada, lo que

evidencia la idoneidad del inóculo para realizar pruebas de biodegradación anaerobia en el régimen termofílico y con bajo contenido de sólidos.

3.2 MONTAJE Y SEGUIMIENTO DEL ENSAYO DE BIODEGRADACIÓN

En los siguientes epígrafes se exponen y discuten los resultados obtenidos en la caracterización, montaje y seguimiento de la prueba de biodegradación de la película flexible, la bandeja semirrígida (materiales de prueba) y la celulosa (material de referencia), efectuada durante 31 días en condiciones anaerobias, en régimen termofílico (55°C) y con bajo contenido de sólidos (<15%).

3.2.1 Caracterización de los materiales de estudio y montaje de la prueba de biodegradación. En el cuadro 8 se recogen las principales propiedades físicas y químicas, así como los constituyentes de las muestras de ensayo. Los análisis de carbono total se realizaron para estimar su porcentaje de conversión a carbono gaseoso (CH₄ y CO₂).

Cuadro 8. Caracterización de los materiales para la prueba de biodegradación anaeróbica

Material de prueba o de referencia	Componentes del material	Propiedades físico-químicas*		
		Carbono total (%)	Sólidos totales (%)	Sólidos volátiles (%)
Celulosa	Celulosa microcristalina	38,47 ± 0,5	96,17 ± 1,3	100,60 ± 0,4
Película flexible	Almidón termoplástico (almidón más glicerol) y ácido poliláctico	32,92 ± 0,2	91,44 ± 0,4	99,86 ± 0,2
Bandeja semirrígida	Harina de yuca, fibra de fique y glicerol	32,00 ± 0,3	88,90 ± 0,9	98,43 ± 0,0

*Los valores son promedios ± la desviación estándar de 2 réplicas

Las cantidades de inóculos metanogénicos y materiales empleados para el ensayo de biodegradación anaerobia se muestran en el cuadro 9. Estas cantidades se calcularon conforme a las indicaciones de la norma ISO 13975, en la que se establece una concentración de sólidos volátiles comprendida en el intervalo de 7 gSV/g inóculo a 10 gSV/g inóculo (SV de la muestra de ensayo).

Cuadro 9. Cantidades de materiales e inóculos en el montaje de los reactores anaerobios

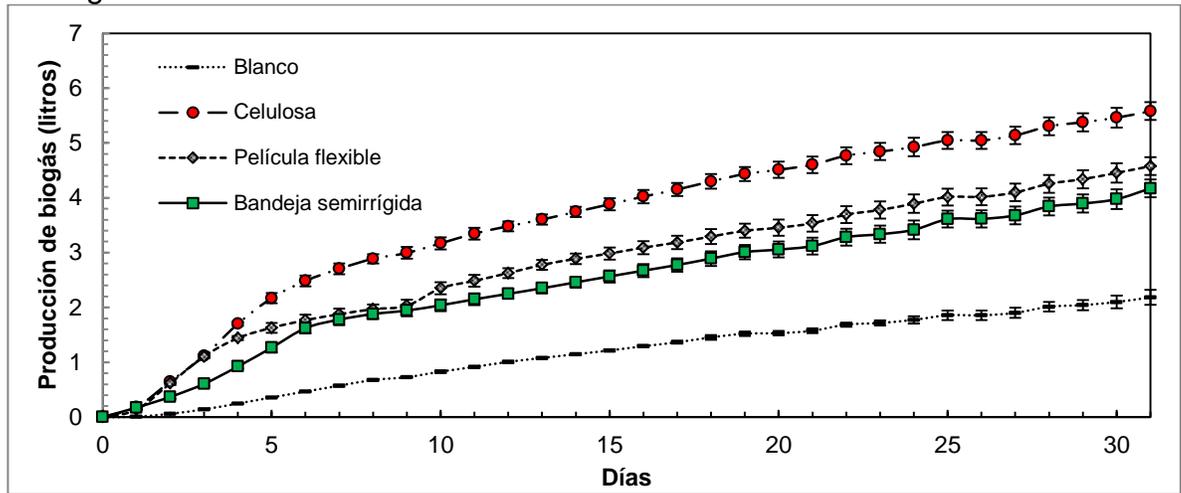
Reactor	Muestra	Peso de la muestra (g)	Peso del inóculo (g)
1	Celulosa	7,07	800
2	Celulosa	7,05	800
3	Película flexible	7,03	800
4	Película flexible	7,01	800
5	Bandeja semirrígida	8,06	800
6	Bandeja semirrígida	8,12	800
7	Blanco	-	800
8	Blanco	-	800

3.2.2 Seguimiento del proceso de biodegradación anaerobia de los materiales de prueba y de referencia. A continuación se presentan los resultados obtenidos en la evolución de biogás, la proporción de metano y el porcentaje de biodegradación para cada material durante los 31 días de ensayo.

3.2.2.1 Seguimiento del volumen de biogás. En la figura 9 se exhibe la evolución del volumen de biogás generado para cada material de estudio.

La producción de biogás empezó desde el primer día para todas las muestras, excepto para el blanco, en el que la generación de biogás comenzó en el día 3. Generalmente durante los primeros días de operación puede presentarse en los reactores, un periodo de adaptación de la microbiota del inóculo al nuevo residuo y, en consecuencia, no suele producirse biogás inmediatamente (fase de latencia). Por ejemplo, Mohee *et al.* (2008) o Shin *et al.* (2011) observaron un lapso de hasta dos días, a partir de los cuales inició la producción de gas en reactores operados con materiales en cuyos componentes se encontraban el almidón y el ácido poliláctico. En el estudio de biodegradación aquí realizado, el tiempo de adaptación fue corto (menor a un día), lo cual indica que hubo un rápido acoplamiento de los microorganismos del inóculo a los materiales de ensayo y, además, a las condiciones de operación impuestas (rango termófilo y digestión húmeda).

Figura 9. Volumen promedio de biogás acumulado producido durante la biodegradación anaerobia de los materiales de estudio



En relación con el blanco, las cantidades menores de biogás generadas fueron debidas a la baja concentración de sustrato en el medio, ya que la fuente de carbono para los microorganismos anaerobios se constituyó únicamente por la materia orgánica remanente de la primera etapa del experimento (obtención del inóculo). Del mismo modo, la menor producción en el blanco respecto al volumen generado por las demás muestras, indicó que el biogás generado por estas últimas no sólo correspondía a la degradación de la materia orgánica restante en el inóculo, sino también a la degradación de los materiales de prueba (celulosa, película y bandeja). De esta manera, en los primeros días (intervalo 1 a 5 días), ocurrió una importante producción de gas para todos los materiales (Celulosa, película flexible y bandeja semirrígida), denotada por las altas pendientes en las curvas. Esto se debe a la prevalencia de las fases de hidrólisis y acidogénesis de los compuestos que se caracterizan por la generación de elevados volúmenes de gas (Fernández, 2008). En esta etapa tiene lugar la conversión de moléculas complejas en otras más simples que son empleadas en etapas posteriores por los microorganismos metanogénicos.

A partir del quinto día, el ritmo de producción de biogás empezó a disminuir para las tres muestras, lo cual pudo estar relacionado con cambios de sustrato en el proceso de degradación a causa de la heterogeneidad en la composición de los materiales, lo que supone que las fracciones orgánicas fácilmente hidrolizables se degradaron en los primeros cinco días. Desde este momento la producción fue menor debido al agotamiento del carbono orgánico disponible y a que los componentes más refractarios empezaron a gobernar el proceso de degradación. En este sentido, para la celulosa, en primer lugar se degradaron sus porciones amorfas, las cuales son más susceptibles a la hidrólisis enzimática a través del

rompimiento de sus enlaces glucósidos (Saha *et al.*, 2015) y luego fueron biodegradados sus componentes cristalinos formados por macromoléculas organizadas resistentes al ataque microbiano.

Para el caso de la película y la bandeja, las fracciones fácilmente hidrolizables están constituidas por los enlaces glucosídicos del almidón (Salcido *et al.*, 2009), por lo cual se infiere que el proceso inicialmente fue impulsado por la biodegradación de este componente, resultando en producciones de biogás significativas durante los primeros días. Sin embargo, la presencia del ácido poliláctico y las fibras lignocelulósicas en la película y la bandeja respectivamente, pudieron causar reducción en la tasa de producción de biogás debido a que estos materiales generalmente muestran índices de biodegradación menores que el almidón termoplástico (Moura *et al.*, 2010; Sangwang *et al.*, 2014; Shi *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2017).

Por otro lado, la ausencia de mezclado en los biorreactores también pudo incidir en la disminución paulatina de la producción de biogás. Muchos estudios han demostrado que el mezclado influye directamente sobre la producción de biogás, puesto que un grado adecuado de mezcla favorece la transferencia de masa; transporte de sustratos y nutrientes dentro y fuera de la célula microbiana, además de prevenir la sedimentación del material particulado (Lindmark *et al.*, 2014). Así, el comportamiento en la producción de gas en este ensayo fue similar al observado por Wang *et al.* (2017) en su trabajo de digestión anaerobia, donde se evidenció una tendencia decreciente desde etapas tempranas en reactores sin agitación. Esto fue debido a la dificultad de contacto entre la microbiota y las muestras a causa de la sedimentación o la flotación por la ausencia de mezclado, lo cual produjo una disminución en el ritmo de conversión del sustrato.

Finalmente, cabe destacar que a pesar de presentarse una disminución en la producción de biogás para todas las muestras, no se observó el cese total de éste al final de la digestión. Es decir, en las representaciones gráficas de la producción de biogás no se percibió ninguna fase estacionaria concerniente al agotamiento o consumo total de la materia orgánica, por tanto, es probable que se siga generando biogás con el tiempo.

El volumen total generado a partir de las muestras de ensayo fue de 5,58 L, 4,58 L y 4,17 L para la celulosa, la película y la bandeja respectivamente. De acuerdo con la prueba de Tukey (ver anexo A), no hubo diferencia significativa entre el volumen generado por la película y la bandeja; no obstante, se presentaron diferencias en el volumen producido por éstas y la celulosa. Así, la referencia positiva (celulosa microcristalina para cromatografía de capa fina) generó mayor cantidad de biogás

en comparación con ambas muestras. Este hecho pudo estar asociado, por una parte, a la naturaleza fácilmente hidrolizable de este compuesto y, por otra al empleo de estiércol de vaca como inóculo. Las enzimas requeridas para la descomposición de la celulosa están constituidas esencialmente por endoglucanasas que hidrolizan enlaces internos (preferiblemente las regiones amorfas), las celobiohidrolasas que actúan sobre los extremos de las cadena existentes y las glucosidasas, que rompen la celobiosa liberando las moléculas de glucosa (Dashtban *et al.*, 2010). Los microorganismos capaces de secretar estas enzimas tienen una elevada distribución en la naturaleza, encontrándose en diferentes ambientes, incluido el anaerobio (Gao *et al.*, 2014). Entre los entornos anaeróbicos más conocidos se encuentra el rumen, el cual posee una cantidad considerable de microorganismos celulolíticos (Carrillo-Reyes *et al.*, 2016). Relacionado con este aspecto, algunos estudios (O'Suivillan *et al.*, 2006; Quintero *et al.*, 2012) han informado que el estiércol de vaca posee una alta actividad hidrolítica en la degradación de sustratos celulósicos, lo que pudo influir en la mayor producción de biogás.

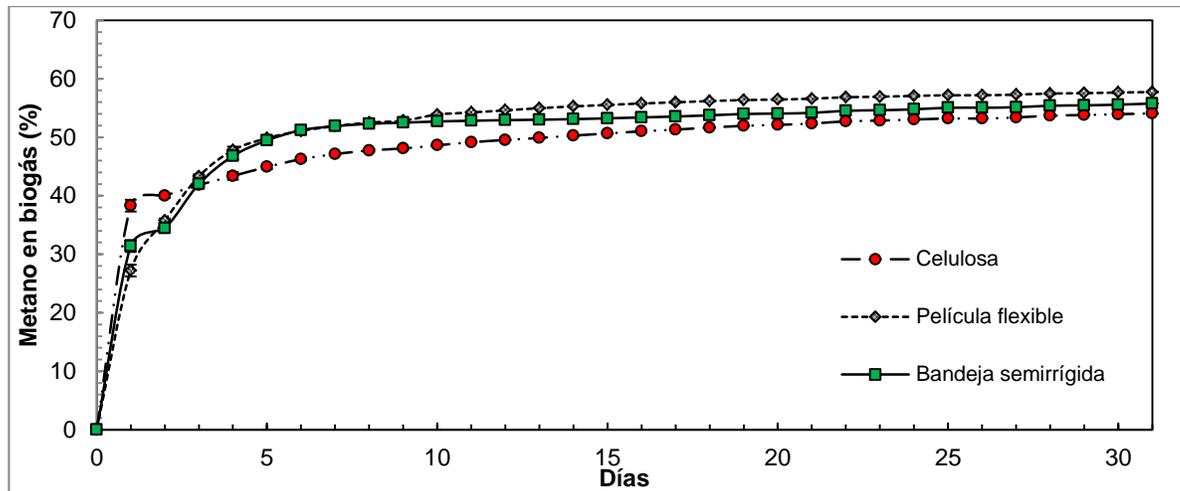
En contraste, la película y la bandeja generaron menor cantidad de biogás. Esto pudo deberse, como se comentó anteriormente, a que conjuntamente con la materia orgánica más asequible a la acción de las enzimas microbianas, en este caso el almidón, existía una fracción de compuestos refractaria constituida por las fibras vegetales en la bandeja y el ácido poliláctico en la película. Los materiales lignocelulósicos como las fibras de fique suelen mostrar una baja producción de biogás (Iwańczuk *et al.*, 2014) debido a su importante contenido en lignina (10-17%), la cual se muestra recalcitrante bajo las condiciones habituales del proceso anaerobio (Tian *et al.*, 2015). Autores como Yan *et al.* (2017) o Li *et al.* (2013), observaron una correlación negativa entre el contenido de lignina en el sustrato y el rendimiento de biogás en procesos de digestión anaerobia, obteniendo mermas significativas con porcentajes superiores al 10 o 15% en lignina. Referente al ácido poliláctico, se han reportado bajas producciones de biogás (Kolstad *et al.*, 2012) a causa de su lenta hidrólisis que está condicionada por su compleja estructura química e hidrofobicidad.

3.2.2.2 Seguimiento del porcentaje de metano. La evolución del porcentaje de metano en el biogás para los diferentes materiales, se muestra en la figura 10.

La producción de metano comenzó desde el primer día para todas las muestras, lo cual es indicativo de un inóculo con alta actividad hidrolítica y metanogénica (Elasri y El amin Afilal, 2016). Durante los primeros 3 días de operación, la concentración de metano fue menor al 40% para todos los materiales debido a la prevalencia de las fases de hidrólisis, acidogénesis y acetogénesis que se distinguen por ser etapas en las que prima la concentración del CO₂ sobre la del

CH₄ (Ye *et al.*, 2013). Sin embargo, la proporción de metano fue aumentando con el tiempo y a partir del día 5 se fijó por encima del 50%, alcanzando porcentajes máximos para la celulosa, la película y la bandeja de 54, 57 y 55% respectivamente.

Figura 10. Porcentaje de metano promedio en la biodegradación anaerobia de los materiales de estudio



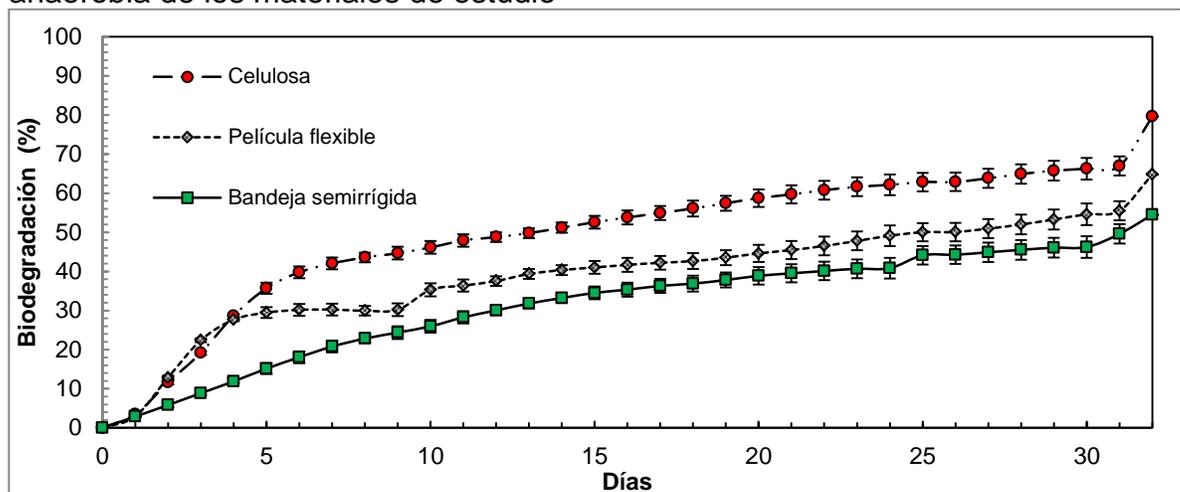
Como se ha expuesto en apartados anteriores, la estabilidad del proceso anaerobio exige la acción coordinada e interdependiente de diferentes poblaciones microbianas. Así, los microorganismos acidogénicos degradan la materia orgánica hasta ácidos grasos volátiles, generando además CO₂ e H₂. Los microorganismos acetogénicos convierten estos ácidos en acetato, produciendo también CO₂ e H₂ y por último las arqueas metanogénicas emplean todos estos metabolitos para la producción de CH₄ (Schnürer, 2016). Por tanto, para evitar la acumulación de productos intermedios inhibidores (como los ácidos grasos y el H₂) y lograr un proceso equilibrado, es necesario que el inóculo contenga un conjunto específico de microorganismos con una proporción adecuada de los diferentes grupos implicados. Cuando hay una desestabilización en el sistema anaerobio, la producción y el porcentaje de metano se ven afectados drásticamente. La concentración de metano en el biogás, además de estar supeditada a la actividad del inóculo también depende del carácter biodegradable del material a digerir (Hagos *et al.*, 2017), pues hay que recalcar que ciertos compuestos son muy recalcitrantes a la biodegradación.

Los materiales basados en almidón están compuestos principalmente por carbohidratos y, en consecuencia, suelen generar un contenido de metano en torno al 50% (Borowski, 2015). Así, Gómez y Michel (2013) reportaron valores de

metano del 54% al degradar una película plástica compuesta principalmente por almidón y un poliéster alifático, bajo condiciones mesofílicas anaerobias. Paralelamente Guo *et al.* (2011) obtuvieron un porcentaje de metano del 45% degradando una mezcla de almidón y alcohol polivinílico (80% de almidón) utilizando las mismas condiciones de digestión anteriormente citadas. De modo similar otros autores realizaron degradaciones de ácido poliláctico y fibras lignocelulósicas, que son componentes de los materiales aquí ensayados. Yagi *et al.* (2009) obtuvieron porcentajes del 50 al 60% para el ácido poliláctico usando condiciones anaerobias termófilas (55°C) mientras que Pandit *et al.* (2016) consiguieron porcentajes cercanos al 50% para biomasa lignocelulósica en régimen mesofílico (37°C). Como se puede observar, los valores de metano alcanzados para la película y la bandeja se encuentran dentro del rango presentado en la literatura en relación con materiales similares y sus componentes. Por las razones antes apuntadas, se puede concluir que el proceso anaerobio se desarrolló satisfactoriamente debido a la utilización de un inóculo con una elevada actividad metanogénica.

3.2.2.3 Seguimiento del porcentaje de biodegradación. En la Figura 11 se muestran los porcentajes medios de biodegradación para todos los materiales de ensayo durante el tiempo de digestión anaerobia (31 días).

Figura 11. Porcentaje de biodegradación promedio en la biodegradación anaerobia de los materiales de estudio



De acuerdo con la norma ISO 13975, la aptitud del inóculo se comprueba si el porcentaje de biodegradación de la celulosa (referencia positiva) es igual o mayor a 70% tras 15 días de digestión. En este estudio, el índice de biodegradación alcanzado por la celulosa al transcurrir este tiempo fue de 52,6%, es decir, no se

logró el criterio estipulado por la norma. No obstante, el resultado obtenido no fue inherente a la capacidad de degradación del inóculo, sino a la ausencia de agitación en los biorreactores. Como se indicó anteriormente, la falta de mezclado condujo a la sedimentación del material particulado limitando el contacto de los microorganismos con el sustrato y, como consecuencia se produjo la ralentización del proceso de biodegradación.

Aunque no se alcanzaron los porcentajes de biodegradación para la celulosa en el lapso sugerido por la norma ISO 13975, los resultados de caracterización presentados en el cuadro 7 del epígrafe 3.1.3, reflejan que las condiciones del inóculo son apropiadas para su empleo como fuente de microorganismos en este experimento. Los parámetros evaluados dan signos de estabilidad y elevada actividad metanogénica y son consistentes con valores de referencia. La celulosa sin embargo, logró una biodegradación del 79,6% al final del proceso (31 días). Según la literatura, esta macromolécula se ha biodegradado en su totalidad cuando consigue un porcentaje cerca del 80%, ya que parte del carbono presente en la muestra se convierte en biomasa y no es cuantificado mediante la técnica empleada en el presente ensayo (Ryan *et al.*, 2017). Es preciso señalar también, que los porcentajes de biodegradación medidos antes del día 30 están por debajo de los valores reales. Esto se debe a que hasta este día no se calculó el carbono presente en las muestras que fue convertido en CO₂ y se disolvió en el lodo anaerobio. Generalmente, parte del CO₂ generado en el proceso anaerobio se disuelve en el medio generando, en primer lugar, ácido carbónico el cual se disocia en protones e iones bicarbonato (Del Río, 2014). La cantidad total del CO₂ disuelto únicamente se midió al terminar el proceso y se incluyó en el porcentaje de biodegradación del día 31.

Según el análisis estadístico (ver anexo B), no se presentaron diferencias significativas en los porcentajes de biodegradación obtenidos para la película y la bandeja, pero sí entre estos y la celulosa. La película flexible se degradó un 64,8% en 31 días. Como se puede observar en la figura 11, el porcentaje de biodegradación de la película flexible presentó un rápido ascenso durante los primeros cuatro días, mostrando una tendencia similar a la de la celulosa. La alta velocidad de degradación durante este periodo está asociada con la naturaleza altamente hidrolizable de los enlaces glucosídicos del almidón, los cuales son más propensos al ataque microbiano que los enlaces éster del ácido poliláctico (Moura *et al.*, 2010; Salcido *et al.*, 2009). La presencia de grupos hidroxilos o polares le confieren al almidón una alta capacidad de absorción de agua, facilitando su ataque enzimático (Sangwan *et al.*, 2014). De acuerdo con diferentes autores, el contenido de almidón termoplástico en mezclas con ácido poliláctico aumenta la solubilización del compuesto y aceleran su hidrólisis, dada su propiedad hidrófila que favorece el hinchamiento de la matriz polimérica (Shi *et al.*, 2011; Moura *et al.*, 2010; Russo *et al.*, 2009). Asimismo, el glicerol en el almidón termoplástico

también mejora el ataque microbiano. Esto se debe a que en el proceso de plastificación, la temperatura y el glicerol debilitan los enlaces de hidrogeno entre las moléculas de almidón, creando regiones amorfas formadas por los enlaces de hidrogeno entre el almidón y el plastificante (glicerol) (Merchán *et al.*, 2009). Por tanto, esta primera etapa de degradación fue rápida a causa de la alta concentración de almidón termoplástico y la difusión de éste hacia la superficie del material que facilitaron el consumo de la película por parte de los microorganismos (Akrami *et al.*, 2016).

Después del día 4 hasta la conclusión del experimento en el día 31, la tasa de biodegradación de la película disminuyó respecto a la referencia positiva, especialmente entre los días 4 y 10, donde no se observaron incrementos en el porcentaje de biodegradación. Este hecho pudo deberse a una combinación del efecto de la ausencia de agitación que, como se dijo anteriormente, redujo el ritmo de conversión y a la lenta degradación de los componentes refractarios presentes en la muestra.

El comportamiento mostrado por la película flexible en el intervalo de 4 a 10 días pudo estar relacionado con el agotamiento del almidón termoplástico fácilmente accesible. Camacho-Muñoz y Hoyos-Concha (2014), describen una tendencia similar al estudiar la biodegradabilidad anaerobia de un material semejante, sin embargo, la fase constante para su caso fue más definida. Es posiblemente también, que se hayan mantenido porciones de almidón encapsulado por el ácido poliláctico, impidiendo el paso de los microorganismos o enzimas hacia la matriz del polímero (Akrami *et al.*, 2016; Russo *et al.*, 2009). En cambio, el leve ascenso en el ritmo de biodegradación posterior al décimo día pudo estar ligado a la degradación del ácido poliláctico, que a su vez empezó a liberar al almidón termoplástico retenido. Lo anterior concuerda con lo expuesto por Shin *et al.* (2011), Shi y Palfery (2012) y Vargas *et al.* (2009), quienes señalan que el ácido poliláctico comienza a degradarse después de 10 a 20 días en ambientes aerobios y anaerobios termofílicos. Este lapso de retraso en la biodegradación del ácido poliláctico se debe a su estructura química compleja y su hidrofobicidad que dificultan la hidrólisis del polímero (el primer paso de la degradación) (Iwańczuk *et al.*, 2014; Lee *et al.*, 2016).

Estudios realizados por diferentes autores han concluido que el ácido poliláctico tiene una baja biodegradabilidad en sistemas anaerobios mesófilos (Iwańczuk *et al.*, 2014; Moura *et al.*, 2010; Shi y Palfery, 2012; Vargas *et al.*, 2009), no obstante, se han conseguido porcentajes de biodegradación del 60% para el mismo material en condiciones anaerobias termófilas (55 °C) (Yagi *et al.*, 2010), dado que la hidrólisis del ácido poliláctico se facilita por encima de su temperatura de transición vítrea. El almidón por su parte, ha mostrado altos índices de

biodegradación (80% a 90%) en ambos regímenes de temperatura (Shi *et al.*, 2011). Teniendo en cuenta lo anterior, es posible que el ácido poliláctico haya sido un limitante en el proceso de biodegradación de la película flexible.

Respecto a la bandeja semirrígida, se obtuvo un porcentaje de biodegradación de 54,5 % después de 31 días. Al igual que en el caso anterior, el material exhibió un acelerado aumento en el porcentaje de biodegradación durante los primeros días (1-6 días), pero con una velocidad menor en relación con la referencia positiva. Posteriormente, aunque se mantuvo una tendencia creciente en el porcentaje de biodegradación, se observó una disminución gradual en la tasa de conversión de la muestra hasta el día 31. El rápido incremento al inicio del ensayo pudo deberse a la alta concentración de almidón (89,32 %) en la harina de yuca, que es el principal componente de la bandeja, ya que, como se mencionó anteriormente, el almidón es un compuesto fácilmente accesible al ataque microbiano. Sin embargo, la presencia de las fibras de fique en la composición de la bandeja pudo provocar el decrecimiento del ritmo de degradación.

Diferentes autores han coincidido en la ralentización del proceso de biodegradación de matrices poliméricas reforzadas con fibras vegetales. Esto se relaciona con el aumento de la hidrofobicidad del material y la lenta degradación de la lignina, la cual es más crítica en procesos anaerobios, dado que las enzimas requeridas para su despolimerización (oxidasas) necesitan oxígeno (De Campos *et al.*, 2013; Corradini *et al.*, 2009; Rosa *et al.*, 2009; Ryan *et al.*, 2017; Triolo *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2017). Además, la lignina limita la degradación de los otros componentes presentes en las fibras de fique, ya que actúa como una barrera física, aumentando la resistencia a la hidrólisis de la celulosa y la hemicelulosa (Agudelo *et al.*, 2016; Costa *et al.*, 2013; Quintero *et al.*, 2012). Finalmente, como se puede observar en la figura 11, las gráficas de biodegradación no alcanzaron la fase estacionaria. De lo anterior se deduce que aún existían fracciones orgánicas no biodegradadas en los materiales. Por tanto, es posible que los porcentajes de biodegradación continúen aumentando.

La norma ISO 13975 no define criterios cuantitativos con objeto de determinar la aptitud de un polímero para ser biodegradado en condiciones anaerobias. No obstante, existen otras normas como la EN 13432 que han precisado valores en este aspecto. Según establece esta normativa, un material plástico se considera biodegradable si el porcentaje de mineralización es superior o igual al 50%. Este parámetro se toma debido a que los sistemas de digestión anaerobia ofrecen la opción de continuar con el proceso de biodegradación mediante una segunda etapa de estabilización aerobia (compostaje) del efluente final de la primera etapa (biodegradación anaerobia), alcanzando de este modo mayores porcentajes de biodegradación. En este sentido, los índices de biodegradación de los materiales

aquí ensayados se ajustan a la norma EN 13432, indicando niveles adecuados de biodegradación anaerobia (64,8% y 54,5%) en régimen termofílico y con bajo contenido de sólidos.

4. CONCLUSIONES

La estrategia usada en la preparación del inóculo, fundamentada en un aumento progresivo de la velocidad de carga orgánica, permite obtener un inóculo metanogénico con valores adecuados de pH, acidez y alcalinidad (7,92, 0,75 g AcH⁺/kg y 4,97 g CaCO₃/kg respectivamente) y, por tanto, viable para la realización de ensayos de biodegradación anaerobia.

De igual modo, los altos porcentajes de metano logrados a partir de la película y la bandeja durante los 31 días de digestión (57 y 55% respectivamente) indican que el proceso anaerobio se desarrolló satisfactoriamente debido a la utilización de un inóculo con una elevada actividad metanogénica.

Aplicando la metodología expuesta en la norma ISO 13975: 2012, la película flexible y la bandeja semirrígida se biodegradan un 64,8% y 54,5% respectivamente, en 31 días. Aunque la norma ISO no establece valores de referencia para designar a un material plástico como biodegradable, la norma EN 13432 especifica un porcentaje de mineralización superior o igual al 50% como criterio para certificar la biodegradabilidad anaerobia de un polímero. Tomando como base este criterio, se puede concluir que la película y la bandeja exhiben grados apropiados de biodegradación bajo condiciones anaerobias termófilas húmedas.

5. RECOMENDACIONES

Desde el punto de vista metodológico, se sugiere incluir un sistema de agitación en los reactores utilizados para el estudio de la biodegradabilidad de los materiales plásticos cuando se opera en condiciones húmedas. Esto con el fin de mejorar el contacto entre la microbiota anaeróbica y el sustrato (muestras de ensayo), evitar la sedimentación o flotación de los compuestos, ayudar a liberar burbujas del biogás, asegurar un pH y temperatura uniformes y, por ende, prevenir la ralentización del proceso de biodegradación.

En cuanto a la estrategia utilizada para la obtención del inóculo metanogénico, se recomienda empezar la alimentación con velocidades de carga orgánica ligeramente superiores a 0,5 gSV/litro.día ya que, a pesar de conseguirse resultados satisfactorios respecto a las características finales del inóculo, estas bajas cargas orgánicas producen un agotamiento del sustrato durante las etapas iniciales del arranque. Según Wang *et al.* (2016), cargas iniciales de 3 gSV/litro.día permiten un buen desarrollo del proceso anaerobio y Nagao *et al.* (2012) no aconsejan trabajar con velocidades de carga orgánica superiores a 10 gSV/litro.día, debido al riesgo de acidificación por una sobrecarga orgánica.

Se recomienda realizar estudios futuros en torno a la biodegradación de los componentes de la película flexible y la bandeja semirrígida para de esta manera determinar su incidencia en el comportamiento de biodegradación de los materiales finales.

BIBLIOGRAFÍA

ABUBAKAR, B. S. U. I. y ISMAIL, Nasir. Anaerobic digestion of cow dung for biogas production. En: ARPN journal of engineering and applied sciences. Vol. 7, No 2 (Feb, 2012); p. 169-172.

ACOSTA, Yaniris Lorenzo y ABREU, Ma Cristina Obaya. La digestión anaerobia. Aspectos teóricos. Parte I. En: ICIDCA. Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar, vol. XXXIX, núm. 1, 2005, p. 35-48.

AGENCIA ANDALUZA DE LA ENERGÍA. Estudio básico del biogás. Andalucía, España. 2011. Consejería económica, innovación y ciencia. 138p.

AGUDELO, Nikolay; HINESTROZA, Juan P. y HUSSERL, Johana. Removal of sodium and chloride ions from aqueous solutions using fique fibers (*Furcraea* spp.). En: Water Science and Technology. Vol. 73, No 5 (2016); p. 1197-1201.

AKRAMI, Marzieh; GHASEMI, Ismaeil; AZIZI, Hamed; KARRABI, Mohammad y SEYEDABADI, Mohammad. A new approach in compatibilization of the poly (lactic acid)/thermoplastic starch (PLA/TPS) blends. En: Carbohydrate polymers. Vol. 144, No NA (Feb, 2016); p. 254-262.

AMANI, T.; NOSRATI, M.; SREEKRISHNAN, T. R. Anaerobic digestion from the viewpoint of microbiological, chemical, and operational aspects - a review. En: Environmental Reviews. Vol. 18, No NA (2010); p.255-278.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING MATERIALS. Standard Test Method to Determine Anaerobic Biodegradation of Plastic Materials Under High-Solids Anaerobic-Digestion Conditions. Manual NE Albuquerque, NM, EE.UU. ASTM, 2002. (ASTM D5511-02). 10p.

ANGELIDAKI, Iirini; CHEN, Xingxing; CUI, Junbo; KAPARAJU, Prasad y ELLEGAARD, Lars. Thermophilic anaerobic digestion of source-sorted organic fraction of household municipal solid waste: start-up procedure for continuously stirred tank reactor. En: Water research. Vol. 40, No 14 (Feb-May, 2006); p. 2621-2628.

APPELS, Lise; BAEYENS, Jan; DEGRÈVE, Jan y DEWIL, Raf. Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge. En: Progress in energy and combustion science. Vol. 34, No 6 (Feb-Agos, 2008); p. 755-781.

ARRIECHE, Isabel; PACHECO, Yudila. Determinación de carbono orgánico en muestras de suelos mediante dos procedimientos analíticos. En: Venesuelos. Vol. 6, No 1-2 (2011); p. 9-13.

ASSOCIATION FRANÇAISE DE NORMALISATION. Requirements for packaging recoverable through composting and biodegradation. Primer número. Saint-Denis. Nf en 13432, 2000.

AVEROUS, Luc y POLLET, Eric. Biodegradable polymers. En: Environmental Silicate Nano-Biocomposites. Springer London (2012), p13-39.

BASTIOLI, Catia. Handbook of biodegradable polymers. 2 ed. Wolverhampton: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2011. 405p.

BISWAS, J.; CHOWDHURY, R. y BHATTACHARYA, P. Kinetic studies of biogas generation using municipal waste as feed stock. En: Enzyme and Microbial technology. Vol. 38, No 3 (2006); p. 493-503.

BOROWSKI, Sebastian. Co-digestion of the hydromechanically separated organic fraction of municipal solid waste with sewage sludge. En: Journal of environmental management. Vol. 147, No NA (2015); p. 87-94.

CAMACHO-MUÑOZ, Ricardo; HOYOS-CONCHA, Jose Luis. Biodegradación anaerobia de un material biodegradable bajo digestión anaerobia termófila. En: Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial. Vol. 12, No 2 (Jul-Dic, 2014); p. 20-29.

CAPSON-TOJO, Gabriel; ROUEZ, Maxime; CREST, Marion; STEYER, Jean-Philippe; DELGENE`S, Jean-Philippe y ESCUDIE, Renaud. Food waste valorization via anaerobic processes: a review. En: Environ Sci Biotechnol. Vol. 1, No 15 (Ago, 2016); p.499-547.

CARRILLO-REYES, Julián; BARRAGÁN-TRINIDAD, Martín; BUITRÓN, Germán. Biological pretreatments of microalgal biomass for gaseous biofuel production and the potential use of rumen microorganisms: A review. En: *Algal Research*. Vol. 18, No NA (Mar-Jul, 2016); p. 341-351.

CENTRO DE INFORMACIÓN TÉCNICA. CIT. Plásticos biodegradables, ¿qué son? y su relación con los RSU. En: *Plastivida Argentina*. Entidad Técnica Profesional Especializada en Plásticos y Medio. No 25. (Enero, 2009); 8p.

CHENG, Jay. *Biomass to renewable energy processes*. Boca Ratón: CRC press, 2009. 518p.

CHIELLINI, Emo y SOLARO, Roberto. *Biodegradable polymers and plastics*. New York: Springer Science+Business Media, 2003. 365p. (ISBN 978-1-4613-4854-2).

CHO, H.S.; MOON, H.S.; KIM, M.; NAM, K. y KIM, J.Y. Biodegradability and biodegradation rate of poly (caprolactone)-starch blend and poly (butylene succinate) biodegradable polymer under aerobic and anaerobic environment. En: *Waste management*. Vol. 31, No 3 (2011); p. 475-480.

CORRADINI, Elisângela; IMAM, Syed H.; AGNELLI, José A. M y MATTOSO, Luiz H. C. Effect of coconut, sisal and jute fibers on the properties of starch/gluten/glycerol matrix. En: *Journal of Polymers and the Environment*. Vol. 17, No 1 (Abr, 2009); p. 1-9.

COSTA, Adriana Guimarães; PINHEIRO, Gleycielle Cavalcante; PINHEIRO, Francisca Gleyciara Cavalcante; SANTOS, André Bezerra Dos; SANTAELLA, Sandra Tédde y LEITÃO, Renato Carrhá. Pretreatment strategies to improve anaerobic biodegradability and methane production potential of the palm oil mesocarp fibre. En: *Chemical engineering journal*. Vol. 230, No NA (Mar-Jun, 2013); p. 158-165.

DASHTBAN, Mehdi; MAKI, Miranda; LEUNG, Kam Tin; MAO, Canquan y QIN, Wensheng. Cellulase activities in biomass conversion: measurement methods and comparison. En: *Critical reviews in biotechnology*. Vol. 30, No 4 (2010); p. 302-309.

DE CAMPOS, Adriana; TONOLI, Gustavo H. D.; MARCONCINI, José M.; MATTOSO, Luiz H. C.; KLAMCZYNSKI, Artur; GREGORSKI, Kay S.; WOOD, Delilah; WILLIAMS, Tina; CHIOU, Bor-Sen y IMAM, Syed H. TPS/PCL composite reinforced with treated sisal fibers: property, biodegradation and water-absorption. En: Journal of Polymers and the Environment. Vol. 21, No 1 (2013); p. 1-7.

DE LA RUBIA, M. A.; RIAU, V.; RAPOSO, F y BORJA, R. Thermophilic anaerobic digestion of sewage sludge: focus on the influence of the start-up. A review. En: Critical reviews in biotechnology. Vol. 33, No 4 (2013); p. 448-460.

DEL RÍO, Rosario Solera. Aspectos biológicos de la digestión anaeróbica II. 2 ed. Madrid: Paraninfo SA, 2014. 319p.

DEMITRY, Morris E. y MCFARLAND, Michael J. Defining Full-Scale Anaerobic Digestion Stability: The Case of Central Weber Sewer Improvement District. En: Environment and Pollution Vol. 4, No 2 (Ene-Feb, 2015); 13p.

DEUTSCHES INSTITUT FÜR NORMUNG. Block copolymers, Polyelectrolytes, Biodegradation. Germany. 1993. (DIN 54900). 10 p.

DHAMODHARAN, Kondusamy; ; KUMAR, Vikas y KALAMDHAD, Ajay S. Effect of different livestock dungs as inoculum on food waste anaerobic digestion and its kinetics. En: Bioresource technology. Vol. 180, No NA (Ene, 2015); p. 237-241.

DI MARIA, Francesco; SORDI, Alessio; CIRULLI, Giuseppe; GIGLIOTTI, Giovanni; MASSACCESI, Luisa y CUCINA, Mirko. Co-treatment of fruit and vegetable waste in sludge digesters. An analysis of the relationship among bio-methane generation, process stability and digestate phytotoxicity. En: Waste management. Vol. 34, No 9 (Ene-Jun, 2014); p. 1603-1608.

ELASRI, Ouahid y EL AMIN AFILAL, Mohamed. Potential for biogas production from the anaerobic digestion of chicken droppings in Morocco. En: International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture. Vol. 5, No 3 (May, 2016); p. 195-204.

EL-FADEL, M. MASSOUD, M. Methane emissions from wastewater management. En: Environmental Pollution. Vol. 114, No 2 (Septiembre, 2001); p.177-185.

FERNÁNDEZ RODRÍGUEZ, Juana. Optimización de la digestión anaerobia seca de la Fracción Orgánica de los Residuos Sólidos Urbanos (FORSU) en reactores en fases de temperatura. Tesis doctoral. Cádiz. Universidad de Cádiz. Departamento de ingeniería química y tecnología de alimentos, 2010. 373p.

FERNÁNDEZ, Luis Alberto. Caracterización cinética de la degradación anaerobia termofílica seca de la FORSU: Efecto de diferentes pre-tratamientos sobre la biodegradabilidad del residuo. Cádiz, 2008, 442 h. Tesis doctoral (Doctor en ingeniería química). Universidad de Cádiz. Departamento de Ingeniería Química, Tecnología de Alimentos y Tecnologías del Medio Ambiente.

FERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, J.; PÉREZ, M.; ROMERO, L. I. Comparison of mesophilic and thermophilic dry anaerobic digestion of OFMSW: kinetic analysis. En: Chemical engineering journal. Vol. 232, No NA (Mar-Jul, 2013); p. 59-64.

FERRER, Yoandy y PÉREZ, Heidy. Los microorganismos en la digestión anaerobia y la producción de biogás: Consideraciones en la elección del inóculo para el mejoramiento de la calidad y el rendimiento. En: ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar. Vol. 43, No 1 (Enero-Abril, 2010); p.9-20.

FORSTER CARNEIRO, Tânia. Digestión anaerobia termofílica seca de residuos sólidos urbanos: estudio de las variables del proceso en el arranque y estabilización del bio-reactor. Cádiz, 2005, 421 h. Tesis doctoral (Doctora en Ingeniería Química). Universidad de Cádiz. Departamento de ingeniería Química, Tecnología de Alimentos y Tecnologías del Medio Ambiente.

FUESS, Lucas Tadeu; KIYUNA, Luma Sayuri Mazine; JÚNIOR, Antônio Djalma Nunes Ferraz; PERSINOTI, Gabriela Felix; SQUINA, Fabio Marcio; GARCIA, Marcelo Loureiro y ZAIAT, Marcelo. Thermophilic two-phase anaerobic digestion using an innovative fixed-bed reactor for enhanced organic matter removal and bioenergy recovery from sugarcane vinasse. En: Applied Energy. Vol. 189, No NA (2017); p. 480-491.

GALLEGOS-GARCÍA, Marisol; CELIS, Lourdes B.; RAZO-FLORES, Elías. Competencia por sustrato durante el desarrollo de biomasa sulfatorreductora a partir de un lodo metanogénico en un reactor UASB. En: Revista internacional de contaminación ambiental. Vol. 26, No 2 (May, 2010); p. 109-117.

GAO, Zhao-Ming; XU, Xun y RUAN, Ling-Wei. Enrichment and characterization of an anaerobic cellulolytic microbial consortium SQD-1.1 from mangrove soil. En: Applied microbiology and biotechnology. Vol. 98, No 1 (2014); p. 465-474.

GARCIA, Carlos; MOLINA, Francisco; ROCA, Enrique y LEMA, Juan M. Fuzzy-based control of an anaerobic reactor treating wastewaters containing ethanol and carbohydrates. En: Industrial & Engineering Chemistry Research. Vol. 46, No 21 (2007); p. 6707-6715.

GERARDI, Michael H. The microbiology of anaerobic digesters. Canadá: John Wiley & Sons, 2003. 188p (ISBN: 9780471468967).

GÓMEZ, Eddie F. y MICHEL, Frederick C. Biodegradability of conventional and bio-based plastics and natural fiber composites during composting, anaerobic digestion and long-term soil incubation. En: Polymer degradation and stability. Vol. 98, No 12 (Ago-Sep, 2013); p. 2583-2591.

GONZÁLEZ POIRRIER, Paola. Hidrólisis y acidificación psicrófila de moléculas complejas en sistemas anaerobios. Santiago de Compostela, 2006, 196 h. Tesis doctoral (Doctora). Universidad de Santiago de Compostela. Departamento de Ingeniería Química.

GRAY, Donald MD; SUTO, Paul y PECK, Cara. Anaerobic digestion of food waste. Oakland: East Bay Municipal Utility District, 2003. 63p.

GUO, M.; TRZCINSKI, A.P.; STUCKEY, D.C.y MURPHY, R.J. Anaerobic digestion of starch–polyvinyl alcohol biopolymer packaging: Biodegradability and environmental impact assessment. En: Bioresource technology. Vol. 102, No 24 (Jun-Sep, 2011); p. 11137-11146.

HAGOS, Kiros; ZONG, Jianpeng; LI, Dongxue; LIU, Chang y LU, Xiaohua.. Anaerobic co-digestion process for biogas production: Progress, challenges and perspectives. En: Renewable and Sustainable Energy Reviews. Vol. 76, No NA (2017); p. 1485-1496.

HASSAN, A. N. NELSON, B. K. Invited review: Anaerobic fermentation of dairy food wastewater. En: Journal of dairy science. Vol. 95, No 11 (Nov, 2012); p. 6188-6203.

IDAE (Instituto para la Diversificación y Ahorro de la Energía). Elaboración técnica Besel, SA. Madrid: C/ Madera, 8, 2007. 48p. ISBN-13: 978-84-96680-21-0.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. Plastics – Determination of the ultimate anaerobic biodegradation of plastic materials in controlled slurry digestion systems – Method by measurement of biogas production. Primera edición . Suiza. ISO, 2012.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. Plastics - Vocabulary. Cuarta edición . Suiza. ISO, 2013.

IWAŃCZUK, Andrzej; KOZŁOWSKI, Marek; ŁUKASZEWICZ, Marcin y JABŁONSKI, Sławomir. Anaerobic biodegradation of polymer composites filled with natural fibers. En: Journal of Polymers and the Environment. Vol. 23, No 2 (2014); p. 277-282.

JHA, Ajay Kumar; LI, Jianzheng; ZHANG, Liguó; BAN, Qiaoying y JIN, Yu. Comparison between wet and dry anaerobic digestions of cow dung under mesophilic and thermophilic conditions. En: Advances in Water Resource and Protection. Vol. 1, No 2 (Abr, 2013), p. 28-38.

JUANGA, Jeanger P. Optimizing dry anaerobic digestion of organic fraction of municipal solid waste. Tailandia, 2005, 170p. Trabajo de investigación (Magister en ingeniería). Instituto Asiático de Tecnología. Escuela de Medio Ambiente, Recursos y Desarrollo.

KETHEESAN, Balachandran y STUCKEY, David C. Effects of hydraulic/organic shock/transient loads in anaerobic wastewater treatment: a review. En: Critical Reviews in Environmental Science and Technology. Vol. 45, No 24 (May, 2015); p. 2693-2727.

KHAN, M.A.; NGO, H.H.; GUO, W.S.; LIU, Y.; NGHIEM, L.D.; HAI, F.I.; DENG, L.J.; WANG, J y WU, Y. Optimization of process parameters for production of

volatile fatty acid, biohydrogen and methane from anaerobic digestion. En: Bioresource technology. Vol. 219 (Agos, 2016); p.738-748.

KOLSTAD, Jeffrey J.; VINK, Erwin T.H.; DE WILDE, Bruno y DEBEER, Lies. Assessment of anaerobic degradation of Ingeo™ polylactides under accelerated landfill conditions. En: Polymer Degradation and Stability. Vol. 97, No 7 (Abr, 2012); p. 1131-1141.

KONG, Xin; WEI, Yonghong; XU, Shuang; LIU, Jianguo; LI, Huan; LIU, Yili y YU, Shuyao. Inhibiting excessive acidification using zero-valent iron in anaerobic digestion of food waste at high organic load rates. En: Bioresource technology. Vol. 211 (Feb-Mar, 2016); p. 65-71.

LEBRETON, Laurent; ZWET, Joost; DAMSTEEG, Jan; SLAT, Boyan; ANDRADY, Anthony y REISSER, Julia. River plastic emissions to the world's oceans. {En línea} {16 agosto de 2017} disponible en: (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5467230/>).

LEE, Dong Jin; YOON, Young Man; CHOI, Won; BAE, Ji Su y SEO, Dong Cheol. Effect of seasonal variations of organic loading rate and acid phase on methane yield of food waste leachate in South Korea. En: Applied Biological Chemistry. Vol. 60, No 1(Ene, 2017); p. 87-93.

LEE, Jae Choon; MOON, Jung Heun; JEONG, Jae-Hoon; KIM, Mi Yeon; KIM, Bo Mi; CHO, Myeon-Cheon; KIM, Jung Rae y HA, Chang-Sik. Biodegradability of poly (lactic acid)(PLA)/lactic acid (LA) blends using anaerobic digester sludge. En: Macromolecular Research. Vol. 24, No 8 (May, 2016); p. 741-747.

LI, Qian; LI, Hao; WANG, Gaojun y WANG, Xiaochang. Effects of loading rate and temperature on anaerobic co-digestion of food waste and waste activated sludge in a high frequency feeding system, looking in particular at stability and efficiency. En: Bioresource Technology. Vol. 237 (Feb, 2017); p. 231-239.

LI, Yeqing; ZNAG, Ruihong; LIU, Guangqing; CHEN, Chang; HE, Yanfeng y LIU, Xiaoying. Comparison of methane production potential, biodegradability, and kinetics of different organic substrates. En: Bioresource technology. Vol. 149, No NA (Jul-Oct, 2013); p. 565-569.

LIAO, Xiaofeng; ZHU, Shuangyan; ZHONG Delai; ZHU Jingping y LIAO Li. Anaerobic co-digestion of food waste and landfill leachate in single-phase batch reactors. En: Waste management. Vol. 34, No 11(Feb-Jul, 2014); p. 2278-2284.

LINDMARK, Johan; THORIN, Eva; FDHILA, Rebei Bel y DAHLQUIST, Erik. Effects of mixing on the result of anaerobic digestion. En: Renewable and Sustainable Energy Reviews. Vol. 40, No NA (Jul, 2014); p. 1030-1047.

LÓPEZ MENDOZA, Claudia; LÓPEZ SOLIS, Omar. Diseño, construcción y puesta en operación de un biodigestor anaerobio continuo para el Laboratorio de Ingeniería Química de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Veracruzana. Veracruz, 2009, 100p. Trabajo de investigación (ingeniero químico). Universidad Veracruzana. Facultad de ciencias químicas.

LUCAS, Nathalie; BIENAIME, Christophe; BELLOY, Christian; QUENEUDEC, Michèle; SILVESTRE, Françoise y NAVA-SAUCEDO, José-Edmundo. Polymer biodegradation: Mechanisms and estimation techniques—A review. En: Chemosphere. Vol. 73, No 4 (Ene-Agos, 2008); p. 429-442.

MACIAS-CORRAL, Maritza; SAMANI, Zohrab; HANSON, Adrian; SMITH, Geoffrey; FUNK, Paul; YU, Hui y LONGWORTH, John. Anaerobic digestion of municipal solid waste and agricultural waste and the effect of co-digestion with dairy cow manure. En: Bioresource technology. Vol. 99, No 17 (May, 2008); p. 8288-8293.

MAHALAKSHMI, V. Evaluation of Biodegradation of Plastics. En: International journal of innovative research & development. Vol. 3, No. 7 (Julio, 2014); 6 p (ISSN 2278 – 0211).

MANCILLAS-SALAS, Sergio; RODRÍGUEZ-DE LA GARZA, José Antonio; RÍOS-GONZÁLEZ, Leopoldo. Bioestimulación de la digestión anaerobia. En: Revista Científica. Vol. 4, No 8 (2012); 7p.

MAO, Chunlan; WANG, Xiaojiao; XI, Jianchao; FENG, Yongzhong y REN, Guangxin. Linkage of kinetic parameters with process parameters and operational conditions during anaerobic digestion. EN: Energy. Vol. 135 (Ene-Jun, 2017); p. 352-360.

MARTÍNEZ, Beatriz y MOSQUERA, Jhon. Evaluación de la digestión anaerobia como alternativa de estabilización de biosólidos producidos en la planta de tratamiento de aguas residuales de la universidad tecnológica de Pereira. Pereira, 2012, 104p. Trabajo de grado (Tecnología Química). Universidad tecnológica de Pereira. Facultad de Tecnología. Escuela de Química.

MARTÍN-GONZÁLEZ, L.; FONT, X y VICENT T. Alkalinity ratios to identify process imbalances in anaerobic digesters treating source-sorted organic fraction of municipal wastes. En: Biochemical engineering journal. Vol. 76 (Abr, 2013); p.1-5.

MENDOZA, Dolly. Estudio de la producción de empaques plásticos biodegradables a partir de bioresinas en la empresa Halcon plásticos Ltda. Bucaramanga, 2009, 49p. Trabajo de grado (Ingeniera Química). Universidad industrial de Santander. Facultad de ingenierías físico-químicas. Escuela de ingeniería química.

MERCHÁN, Julie; BALLESTEROS, Diego; JIMÉNEZ, Isabel; MEDINA, Jorge y ÁLVAREZ, Oscar. Estudio de la biodegradación aerobia de almidón termoplástico (TPS). En: Suplemento de la Revista latinoamericana de Metalurgia y Materiales. Vol. 1, No. 1 (Jul., 2009); p. 39-44.

MOHEE, R.; UNMAR, G.D.; MUDHOO, A. y KHADDOO, P. Biodegradability of biodegradable/degradable plastic materials under aerobic and anaerobic conditions. En: Waste Management. Vol. 28, No 9 (2008); p. 1624-1629.

MOLINA PÉREZ, Francisco. Comportamiento dinámico de digestores anaerobios. Santiago de Compostela, 2007, 250p. Tesis doctoral. Universidad de Santiago de Compostela. Grupo de ingeniería ambiental y bioprocesos.

MOURA, I.; MACHADO, V.; DUARTE, F.M. Biodegradability assessment of aliphatic polyesters-based blends using standard methods. En: Journal of Applied Polymer Science. Vol. 119, No 6 (Feb-Jun, 2010); p. 3338-3346.

MUDGAL, Shailendra; MUEHMEL, Kurt; HOA, Eric y GRÉMONT, Marine. Options to improve the biodegradability requirements in the Packaging Directive, Final report. DG Environment – European Commission, 2012.

MÜLLER, R. J. Biodegradability of polymers: regulations and methods for testing. Braunschweig, 2005; p. 365-388.

NAGAO, Norio; TAJIMA, Nobuyuki; KAWAI, Minako; KUROSAWA, Norio; MATSUYAMA, tatsushi; YUSOFF, Fatimah Md. Y TODA, Tatsuki. Maximum organic loading rate for the single-stage wet anaerobic digestion of food waste. En: Bioresource Technology. Vol. 118, No NA (Feb-May, 2012); p. 210-218.

NAVIA, Diana y VILLADA, Héctor. Impacto de la investigación en empaques biodegradables en ciencia, tecnología e innovación. En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial. Vol. 11, No 2 (Jul-Dic, 2013); p. 173-180.

NIAOUNAKIS, Michael. Biopolymers: reuse, recycling, and disposal. Waltham: Elsevier, 2013. 432p.

O'SULLIVAN, Cathryn A.; BURRELL, Paul C.; CLARKE, William P. y BLACKALL, Linda L. Comparison of cellulose solubilisation rates in rumen and landfill leachate inoculated reactors. En: Bioresource technology. Vol. 97, No 18 (2006); p. 2356-2363.

ORTEGA, Nuria. Phosphorus precipitation in anaerobic digestion process. Boca Ratón: Universal-Publishers, 2006. 50p (ISBN: 1-58112-332-9).

PANDIT, Prabhakar D.; GULHANE, Madhuri K.; KHARDENAVIS, Anshuman A y PUROHIT, Hemant J. Mining of hemicellulose and lignin degrading genes from differentially enriched methane producing microbial community. En: Bioresource technology. Vol. 216, No NA (May- Jun, 2016); p. 923-930.

PARAWIRA, Wilson; MURTO, M.; ZVAUYA, R. y MATTIASSON, B. Comparative performance of a UASB reactor and an anaerobic packed-bed reactor when treating potato waste leachate. En: Renewable Energy. Vol. 31, No 6 (2006); p. 893-903.

PARRA OROBIO, Brayan Alexis. Producción de metano a partir de la digestión anaerobia de biorresiduos de origen municipal. Cali, 2014, 79p. Trabajo de investigación (magister en ingeniería énfasis en ingeniería sanitaria y ambiental).

Universidad del Valle. Facultad de ingeniería. Escuela de ingeniería de recursos naturales y del ambiente-eidenar. Postgrado en ingeniería sanitaria y ambiental.

PARRA-OROBIO, Brayan; TORRES-LOZADA, Patricia; MARMOLEJO-REBELLÓN, Luis Fernando; CÁRDENAS-CLEVES, Lina Marcela; VÁSQUEZ-FRANCO, Carlos; TORRES-LÓPEZ, Wilmar Alexander y ORDÓÑEZ-ANDRADE, José. Influencia del pH sobre la digestión anaerobia de biorresiduos de origen municipal. En: Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica. Vol. 17, No 2 (Jul-Dic, 2012); p. 553-562.

PÉREZ, Andrea y TORRES, Patricia. Índices de alcalinidad para el control del tratamiento anaerobio de aguas residuales fácilmente acidificables. En: Ingeniería. Vol. 10, No 2 (Jun-Nov, 2008); p. 41-52.

POSADA BUSTAMANTE, Beatriz. La degradación de los plásticos. En: Revista universidad EAFIT. Vol. 30, No 94 (2012); p. 67-86.

QUINTERO, Mabel; CASTRO, Liliana; ORTÍZ, Claudia; GUZMÁN, Carolina y ESCALANTE, Humberto. Enhancement of starting up anaerobic digestion of lignocellulosic substrate: fique's bagasse as an example. En: Bioresource Technology. Vol. 108, No NA (2012); p. 8-13.

RAMOS SUÁREZ, J. L. Producción de biogás a partir de biomasa de la microalga *Scenedesmus* sp. procedente de diferentes procesos. Madrid, 2014, 283p. Tesis doctoral (Doctor en Ingeniería Agrónoma). Universidad Politécnica de Madrid. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Departamento de producción vegetal: botánica y protección vegetal.

REN, Jie. Biodegradable poly (lactic acid): synthesis, modification, processing and applications. Beijing: Springer Science & Business Media, 2010. 302p. (ISBN 978-7-302-23601-6).

RIVERA, A; GONZÁLEZ, J. S; CASTRO, R; GUERRERO, B y NIEVES, G. Tratamiento de efluentes de destilería en un filtro anaerobio de flujo ascendente. En: Revista internacional de contaminación ambiental. Vol. 18, No 3 (Jul., 2002); p.131-137.

ROSA, Morsyleide F.; CHIOU, Bor-Sen; MEDEIROS, Eliton S.; WOOD, Delilah F.; MATTOSO, Luiz H. C.; ORTS, William J. y IMAM, Syed H. Biodegradable

composites based on starch/EVOH/glycerol blends and coconut fibers. En: Journal of Applied Polymer Science. Vol. 111, No 2 (2009); p. 612-618.

ROSENKRANZ, Francisca. Estudio del comportamiento de reactores anaerobios de tipo ASBR frente a compuestos de difícil degradación y/o efectores negativos. Santiago de Copostela, 2013, 211 h. Tesis doctoral (Doctor en Biotecnología e Ingeniería química y ambiental). Pontificia Universidad Católica de Valparaíso y Universidad de Santiago de Compostela. Departamento de Biotecnología Ambiental.

ROSIŃSKA, A. y KARWOWSKA, B. Dynamics of changes in coplanar and indicator PCB in sewage sludge during mesophilic methane digestion. En: Journal of hazardous materials. Vol. 323, No NA (2017); p. 341-349.

RUÍZ, Gladys; MONTOYA, Carolina y PANIAGUA, Marco. Degradabilidad de un polímero de almidón de yuca. En: Revista EIA. Vol. 1, No 12 (Dic. 2009); p 67-78.

RUSSO, Melissa; O'SULLIVAN, Cathryn; ROUNSEFELL, Beth; HALLEY, Peter J; TRUSS, Rowan y CLARKE, William P. The anaerobic degradability of thermoplastic starch: polyvinyl alcohol blends: potential biodegradable food packaging materials. En: Bioresource technology. Vol. 100, No 5 (2009); p. 1705-1710.

RYAN, Cecily A.; BILLINGTON, Sarah L. y CRIDDLE, Craig S. Methodology to assess end-of-life anaerobic biodegradation kinetics and methane production potential for composite materials. En: Composites Part A: Applied Science and Manufacturing. Vol. 95, No NA (Ene, 2017); p. 388-399.

SAHA, Prosenjit; MANNA, , Suvendu; ROY, Debasis; CHOWDHURY, Sukanya; KIM, Kyung-Gun; BANIK, Sruti; ADHIKARI, Basudam y KIM, Jin Kuk. Biodegradation of Chemically Modified Jute Fibers. En: Journal of natural fibers. Vol. 12, No 6 (Oct, 2015); p. 542-551.

SALCIDO, Carlos S. Tena; GONZÁLEZ, Francisco J. Rodríguez; ARELLANO, Zahida Sandoval. Degradación enzimática de mezclas polietileno de baja densidad/almidón termoplástico. En: Ingenierías. Vol. 12, No 45 (Oct-Dic, 2009); p. 47.

SANGWAN, Parveen; PETINAKIS, Eustathios y DEAN, Katherine. Effects of Formulation, Structure, and Processing on Biodegradation of Starches. En: Starch Polymers: From Genetic Engineering to Green Applications. Strasbourg: Elsevier B.V., 2014. p. 357-378

SCHNÜRER, Anna. Biogas Production: Microbiology and Technology. En: Anaerobes in Biotechnology. (2016). p.195-234.

SEN, Sudip Kumar; RAUT, Sangeeta. Microbial degradation of low density polyethylene (LDPE): a review. En: Journal of Environmental Chemical Engineering. Vol. 3, No 1 (Ene, 2015); p. 462-473.

SERRANO MORAL, Antonio. Tratamiento de residuos y subproductos agroindustriales mediante co-digestión anaerobia. Córdoba, 2015, 319p. Tesis doctoral (Doctor en Ingeniería química). Universidad de Córdoba. Facultad de ciencias. Departamento de química inorgánica e ingeniería química.

SERRANO, Antonio; LÓPEZ, José Ángel; CHICA, Arturo; MARTÍN, M.; KAROUACH, Fadoua; MESFIOUB, Abdelaziz y EL BARIB, Hassan. Mesophilic anaerobic co-digestion of sewage sludge and orange peel waste. En: Environmental technology. Vol. 35, No 7(Ene, 2014); p. 898-906.

SESWOYA, Roslinda y KARIM, Ahmad Tarmizi Abdul. Sample Biochemical Methane Potential from the Digestion of Domestic Mixed Sewage Sludge in Batch Tests. En: International Journal on Advanced Science, Engineering and Information Technology. Vol. 7, No 2 (2017); p. 431-437.

SHI, Bo y PALFERY, Doris. Temperature-dependent polylactic acid (PLA) anaerobic biodegradability. En: International Journal of Environment and Waste Management. Vol. 10, No 2-3 (2012); p. 297-306.

SHI, Bo; TOPOLKARAEV, Vasily y WANG, James. Biopolymers, Processing, and Biodegradation. En Renewable and Sustainable Polymers. En: American Chemical Society. (2011); p. 117-132.

SHI, Qingfeng; CHEN, Cong; GAO, Lei; JIAO, Lei; XU, Haiyan y GUO, Weihong. Physical and degradation properties of binary or ternary blends composed of poly (lactic acid), thermoplastic starch and GMA grafted POE. En: Polymer Degradation and Stability. Vol. 96, No 1 (2011); p. 175-182.

SHIN, Boo Young; JANG, Sang Hee y KIM, Bong Shik. Thermal, morphological, and mechanical properties of biobased and biodegradable blends of poly (lactic acid) and chemically modified thermoplastic starch. En: Polymer Engineering & Science. Vol. 51, No 5 (2011); p. 826-834.

SILVA, M. y NAIK, T. R. Review of composting and anaerobic digestion of municipal solid waste and a methodological proposal for a mid-size city. En: Sustainable Construction Materials and Technologies. Vol. 63 (2007); 15 p.

SINCHE BARAHONA, Luis Alberto. Estudio de la biodegradación en polímeros oxo-biodegradables. Quito, 2012, 196p. Trabajo de investigación (ingeniero químico). Escuela Politécnica Nacional. Facultad de ingeniería química y agroindustria.

TENIZA-GARCÍA, O.; SOLÍS-OBA, M.M.; PÉREZ-LÓPEZ, M.E.; GONZÁLEZ-PRIETO, J.M. y VALENCIA-VÁZQUEZ, R. Producción de metano utilizando residuos cunícolas. En: Revista mexicana de ingeniería química. Vol. 14, No 2 (May, 2015); p. 321-334.

TIAN, Libin; ZOU, Dexun; YUAN, Hairong; WANG, Linfeng; ZHANG, Xin y LI, Xiujin. Identifying proper agitation interval to prevent floating layers formation of corn stover and improve biogas production in anaerobic digestion. En: Bioresource technology. Vol. 186, No NA (Ene-Mar, 2015); p. 1-7.

TRIOLO, Jin M.; SOMMER, Sven G.; MØLLER, Henrik B.; WEISBJERG, Martin R. y JIANG, Xin Y. A new algorithm to characterize biodegradability of biomass during anaerobic digestion: influence of lignin concentration on methane production potential. En: Bioresource technology. Vol. 102, No 20 (Mar-Jul, 2011); p. 9395-9402.

UNEP. Valuing plastics: The business case for measuring, managing and disclosing plastic use in the consumer goods industry. Nairobi. Editorial Reviewers, 2014. 116 p; ISBN 978-92-807-3400-3.

VARGAS, L. F.; WELT, B.A.; TEIXEIRA, A.; PULLAMMANAPPALLIL, P.; BALABAN, M. y BEATTY, C. Biodegradation of treated polylactic acid (PLA) under anaerobic conditions. En: Transactions of the ASABE. Vol. 52, No 3 (2009); p. 1025-1030.

VARNERO, Ma. Teresa. Manual del biogás. Santiago de Chile: Editado por “Chile: Remoción de Barreras para la Electrificación Rural con energías Renovables” 2011. 119p. ISBN 978-95-306892-0.

VÁZQUEZ, A; BELTRÁN, M; ESPINOSA, R y VELASCO, M. El origen de los plásticos y su impacto en el medio ambiente. (2015). Universidad autónoma metropolitana.

WANG, Bing; BJÖRN, Annika; STRÖMBERG, Sten; NGES, Ivo Achu; NISTOR, Mihaela y LIU, Jing. Evaluating the influences of mixing strategies on the Biochemical Methane Potential test. En: Journal of Environmental Management. Vol. 185, No NA (2017); p. 54-59.

WANG, Peilei; CHEN, Fangping; ZHANG, He; MENG, Wei; SUN, Yuhan y LIU, Changsheng. Large-scale preparation of jute fiber reinforced starch-based composites with high mechanical strength and optimized biodegradability. En: Starch-Stärke. 2017. 35p.

WANG, X.; LI, L.; HE, Q.; MA, Y.; QU, L.; WEI, Y. y PENG, X. Influence of inoculum acclimation on microbial community structure in anaerobic digesters treating food waste. En: Huanjing Kexue Xuebao/Acta Scientiae Circumstantiae. Vol. 36, No 12 (Dic, 2016); p. 4421-4427.

WEEDERMANN, Marion; SEO, Gunog y WOLKOWICZ, Gail. Mathematical model of anaerobic digestion in a chemostat: effects of syntrophy and inhibition. En: Journal of biological dynamics. Vol. 7, No 1 (2013); p. 59-85.

YAGI, H; NINOMIYA, F; FUNABASHI, M y KUNIOKA, M. Anaerobic biodegradation tests of poly (lactic acid) under mesophilic and thermophilic conditions using a new evaluation system for methane fermentation in anaerobic sludge. En: International journal of molecular sciences. Vol. 10, No 9, (Sep., 2009); p. 3824-3835.

YAGI, Hisaaki; NINOMIYA, Fumi; FUNABASHI, Masahiro y KUNIOKA, Masao. Bioplastic biodegradation activity of anaerobic sludge prepared by preincubation at 55° C for new anaerobic biodegradation test. En: Polymer Degradation and Stability. Vol. 95, No 8 (Ene, 2010); p. 1349-1355.

YAN, Hu; ZHAO, Chen; ZHANG, Jiafu; ZHANG, Ruihong; XUE, Chunyu; LIU, Guangqing y CHEN, Chang. Study on biomethane production and biodegradability of different leafy vegetables in anaerobic digestion. En: AMB Express. Vol. 7, No 1 (2017); p. 27.

YANG, Liangcheng; XU, Fuqing; GE, Xumeng y LI, Yebo. Challenges and strategies for solid-state anaerobic digestion of lignocellulosic biomass. En: Renewable and Sustainable Energy Reviews. Vol. 44 (Ene, 2015); p.824-834.
YE, Jingqing; LI, Dong; SUN, Yongming; WANG, Guohui; YUAN, Zhenhong; ZHEN, Feng y WANG, Yao. Improved biogas production from rice straw by co-digestion with kitchen waste and pig manure. En: Waste Management. Vol. 33, No 12 (Jun, 2013); p. 2653-2658.

YOUSIF, Emad; HADDAD, Raghad. Photodegradation and photostabilization of polymers, especially polystyrene - review. En: SpringerPlus. Vol. 2, No 1 (2013); p. 398.

ZAHEDI, S.; RIVERO, M.; SOLERA, R. y PEREZ, M. Seeking to enhance the bioenergy of municipal sludge: Effect of alkali pre-treatment and soluble organic matter supplementation. En: Waste Management . Vol. NA, No NA (Mar-Jul, 2017); 7p.

ZHANG, Ruihong; EL-MASHAD, Hamed M.; HARTMAN, Karl; WANG, Fengyu; LIU, Guangqing; CHOATE, Chris y GAMBLE, Paul. Characterization of food waste as feedstock for anaerobic digestion. En: Bioresource technology. Vol. 98, No 4 (2007); p. 929-935.

ZHANG, Ruihong; EL-MASHAD, Hamed; HARTMAN, Karl; WANG, Fengyu y RAPPORT, Josh. Anaerobic phased solids digester pilot demonstration project: Characterization of food and green wastes as a feedstock for anaerobic digesters. En: Public Interest Energy Research (PIER). Vol NA, No NA (2005). 21p.

ANEXOS

ANEXO A. ANÁLISIS ESTADÍSTICO PARA EL VOLUMEN DE BIOGÁS

Cuadro 10. ANOVA del volumen de biogás

Fuente	DF	Adj SS	Adj MS	F-Valor	P-Valor
Material	2	1,22695	0,61347	21,62	0,017
Error	3	0,08512	0,02837		
Total	5	1,31206			

Figura 12. Prueba de Tukey para el volumen de biogás

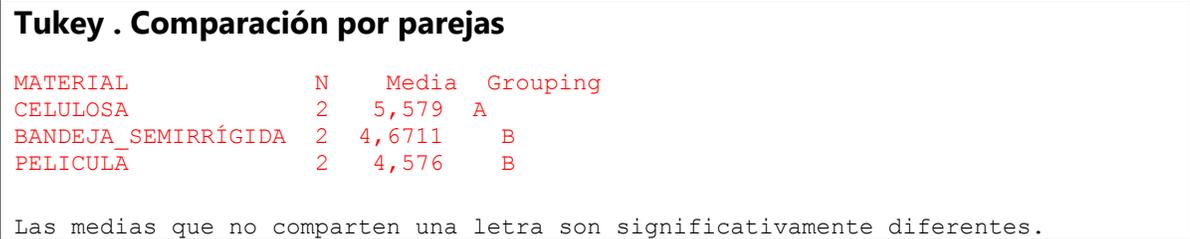


Figura 13. Prueba de normalidad de Shapiro-Wilks para los residuales de los volúmenes de producción de biogás

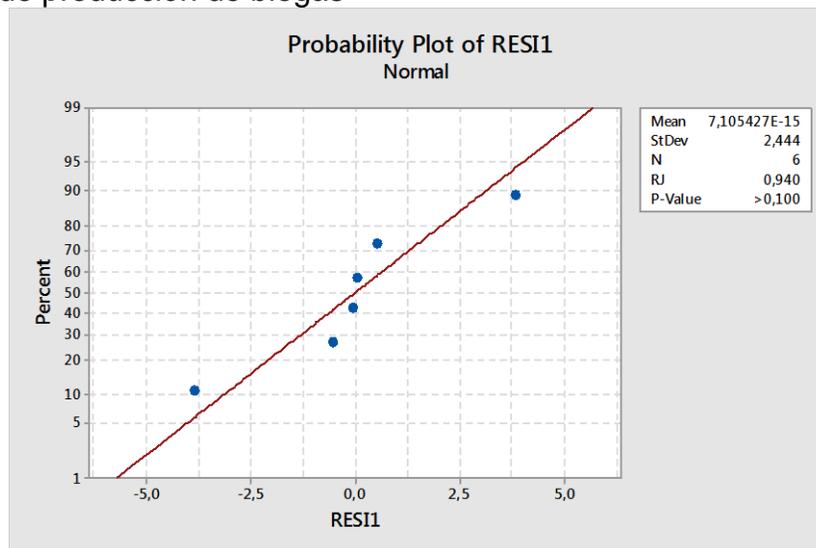
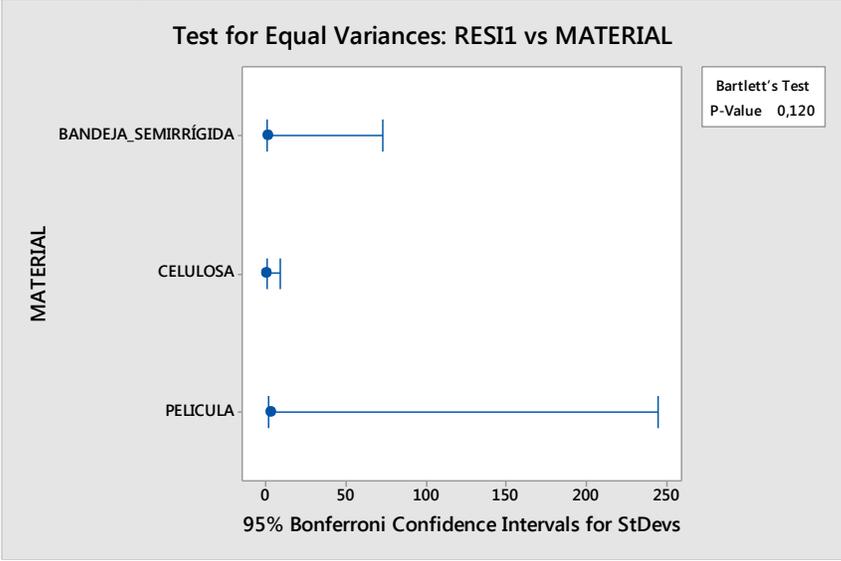


Figura 14. Prueba de normalidad de Bertlett para los residuales de los volúmenes de producción de biogas



ANEXO B. ANÁLISIS ESTADÍSTICO PARA EL PORCENTAJE DE BIODEGRADACIÓN

Cuadro 11. ANOVA del porcentaje de biodegradación

Fuente	DF	Adj SS	Adj MS	F-Valor	P-Valor
Material	2	612,80	306,402	30,79	0,010
Error	3	29,86	9,952		
Total	5	642,66			

Figura 15. Prueba de Tukey para el porcentaje de biodegradación

Tukey . Comparación por parejas

Agrupación de información utilizando el método Tukey y 95% de confianza

MATERIAL	N	Mean	Grouping
CELULOSA	2	79,6113	A
PELICULA	2	64,79	B
BANDEJA_SEMIRRÍGIDA	2	55,029	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Figura 16. Prueba de normalidad de Shapiro-Wilks para el porcentaje de biodegradación

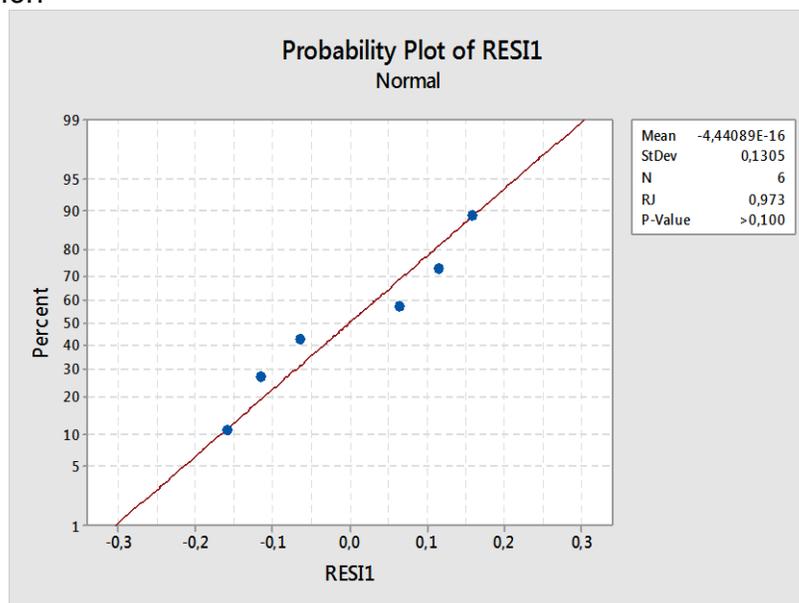
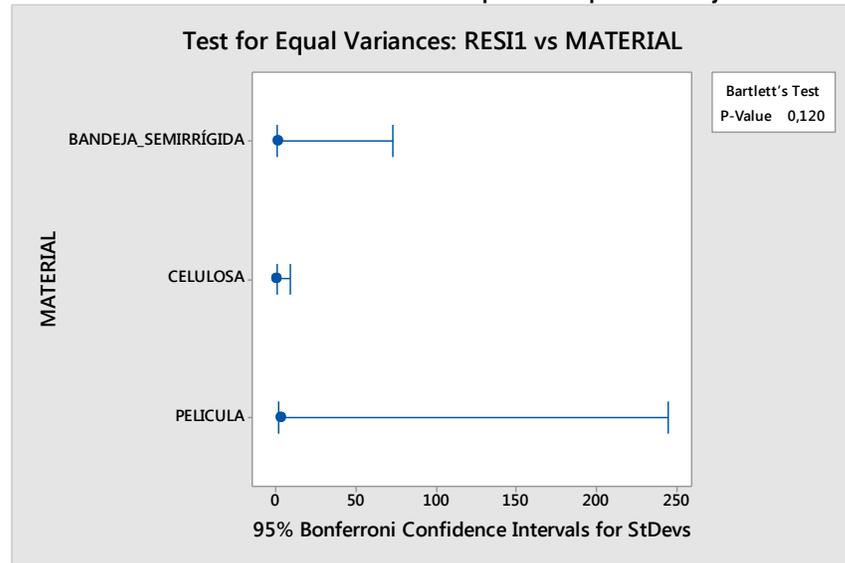


Figura 17. Prueba de normalidad de Bertlett para el porcentaje de biodegradación



ANEXO C. DATOS DE LA EVOLUCIÓN DE LOS PRINCIPALES PARÁMETROS DE SEGUIMIENTO EN LA OBTENCIÓN DEL INÓCULO METANOGENÉTICO

Cuadro 12. Evolución de los parámetros de operación en la preparación del inóculo

Día	pH	Gas ^a	CH ₄ ^b	Acidez ^c	AT ^d	AP ^e	AI ^f	AGV/AT ^g	AP/AT ^h	AI/AP ⁱ	ST ^j	SV ^k
0	7,6	0,0	0,0	1,5	1,3	0,0	1,3	1,1	0,0		5,4	95
1	7,5	7,2	8,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	7,5	13,4	20,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	7,0	19,7	21,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	6,8	26,0	23,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	6,8	32,3	29,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	6,8	41,0	27,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	7,0	51,3	27,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	7,4	64,4	35,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	7,2	64,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	7,8	87,5	38,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	7,6	107,9	59,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	7,6	131,0	64,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	7,5	152,8	66,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	7,3	167,5	67,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17	7,3	177,5	63,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18	7,5	178,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
19	7,1	190,0	59,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	7,4	196,0	64,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21	7,5	202,7	64,6	1,1	4,3	2,1	2,5	0,3	0,4	1,3		
22	7,7	210,3	63,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23	7,6	217,7	57,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24	7,7	226,7	61,6	0,2	3,8	1,2	2,7	0,1	0,3	2,5		
25	7,7	236,9	62,8	-	-	-	-	-	-	-	3,5	-
26	7,8	247,0	54,3	-	-	-	-	-	-	-		-
27	8,0	256,0	59,4	0,3	4,0	2,4	1,8	0,1	0,6	0,8	1,1	-
28	7,8	265,0	59,1	-	4,2	3,5	0,6	-	0,8	0,2	-	-
29	8,0	273,2	50,4	-	-	-	-	-	-	-	3,2	92
30	7,9	280,7	34,4	0,9	4,2	2,6	1,6	0,2	0,6	0,6	-	-
31	7,6	287,8	29,8	-	-	-	-	-	-	-	2,5	-
32	7,9	296,2	31,2	0,3	3,2	3,2	0,0	0,1	1,0	0,0		-
33	7,6	309,4	42,9	-	-	-	-	-	-	-	4,9	-
34	7,8	326,3	48,8	0,5	4,7	2,8	1,9	0,1	0,6	0,7		-
35	7,8	338,6	55,9	-	-	-	-	-	-	-	3,9	80
36	7,8	354,8	57,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
37	8,0	382,4	50,5	-	-	-	-	-	-	-	3,8	-
38	7,8	401,7	45,1	-	3,7	3,1	0,6	-	0,8	0,2	-	-
39	7,8	427,2	50,0	-	-	-	-	-	-	-	4,7	-
40	8,0	451,8	51,3	0,4	4,7	3,6	1,0	0,1	0,8	0,3	-	-
41	7,8	472,9	58,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
42	7,8	489,8	47,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Día	pH	Gas ^a	CH ₄ ^b	Acidez ^c	AT ^d	AP ^e	AI ^f	AGV/AT ^g	AP/AT ^h	AI/AP ⁱ	ST ^j	SV ^k
43	7,8	505,4	52,0	-	-	-	-	-	-	-	3,6	-
44	7,9	506,0	50,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
45	8,0	506,6	50,7	0,5	5,3	4,0	1,4	0,1	0,7	0,3	4,1	-
46	8,2	507,2	51,6	1,2	4,4	3,3	1,1	0,3	0,8	0,3	4,8	81
47	8,1	522,8	51,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
48	8,3	523,4	50,9	0,4	5,3	4,2	1,2	0,1	0,8	0,3	-	76
49	8,2	540,3	44,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-
50	7,8	540,9	57,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
51	8,1	573,0	56,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
52	8,2	573,6	55,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
53	8,1	577,7	56,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
54	8,0	583,7	56,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
55	8,1	594,9	55,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
56	8,2	599,5	55,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
57	8,2	605,5	57,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
58	8,2	613,4	55,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
62	7,9	621,2	55,0	-	-	-	-	-	-	-	5,0	76

^aGas – Volumen de biogás acumulado en L; ^bCH₄ – Porcentaje de metano en el biogás; ^cAcidez – Acidez expresada en g AcH+/kg; ^dAT- Alcalinidad total expresada en gCaCO3/kg; ^eAP – Alcalinidad parcial; ^fAI – Alcalinidad intermedia; ^gAGV/AT – Relación ácidos grasos volátiles/alcalinidad total; ^hAP/AT – Relación alcalinidad parcial/alcalinidad total; ⁱAI/AP – Relación alcalinidad intermedia/alcalinidad parcial; ^jST – Sólidos totales expresados en porcentaje; ^kSV – Sólidos volátiles expresados en porcentaje.

ANEXO D. DATOS DEL BIOGÁS ACUMULADO Y PORCENTAJE DE METANO DEL BLANCO

Cuadro 13. Biogás acumulado y porcentaje de metano del blanco

Día	Reactor 1		Reactor 2		Promedio biogás acum. ^a	Promedio % CH ₄
	Biogás acum. ^a	% CH ₄	Biogás acum. ^a	% CH ₄		
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
1	8,4	11,9	7,4	13,9	7,9	12,9
2	61,2	33,6	60,6	34,1	60,9	33,8
3	142,2	43,2	140,1	43,4	141,1	43,3
4	245,3	48,3	249,3	48,6	247,3	48,5
5	355,0	51,2	362,0	51,3	358,5	51,2
6	460,8	53,1	472,2	53,5	466,5	53,3
7	560,6	54,4	584,0	54,9	572,3	54,6
8	663,7	55,4	690,3	55,8	677,0	55,6
9	720,6	55,8	737,1	56,0	728,8	55,9
10	811,1	56,3	846,7	56,8	828,9	56,6
11	903,4	56,7	928,1	57,2	915,7	57,0
12	993,8	57,2	1020,3	57,5	1007,1	57,4
13	1066,8	57,4	1090,2	57,8	1078,5	57,6
14	1135,3	57,6	1159,3	58,0	1147,3	57,8
15	1200,4	57,7	1229,8	58,2	1215,1	58,0
16	1280,6	57,9	1306,4	58,4	1293,5	58,1
17	1346,6	58,0	1382,0	58,6	1364,3	58,3
18	1423,2	58,1	1484,9	58,8	1454,1	58,4
19	1491,9	58,2	1550,6	58,9	1521,2	58,5
20	1502,9	58,2	1559,2	58,9	1531,1	58,6
21	1543,5	58,3	1606,2	59,0	1574,8	58,6
22	1659,2	58,5	1713,9	59,2	1686,5	58,9
23	1684,1	58,5	1749,2	59,3	1716,6	58,9
24	1726,5	58,6	1820,8	59,4	1773,7	59,0
25	1794,6	58,6	1919,3	59,4	1856,9	59,0
26	1794,5	58,6	1919,3	59,4	1856,9	59,0
27	1835,1	58,7	1966,2	59,5	1900,6	59,1
28	1950,7	58,9	2073,9	59,6	2012,3	59,2
29	1975,7	58,8	2109,2	59,7	2042,4	59,3
30	2018,0	58,9	2180,9	59,8	2099,4	59,3
31	2086,1	58,9	2279,4	59,8	2182,7	59,4

^a Biogás acum. – Volumen de biogás acumulado en mL.

ANEXO E. DATOS DEL BIOGÁS ACUMULADO, PORCENTAJE DE METANO Y PORCENTAJE DE BIODEGRADACIÓN DE LA CELULOSA

Cuadro 14. Biogás acumulado, porcentaje de metano y porcentaje de biodegradación de la celulosa

Día	Reactor 1			Reactor 2			Promedio biogás acum. ^a	Promedio % CH ₄	Promedio % B. ^b
	Biogás acum. ^a	% CH ₄	% B. ^b	Biogás acum. ^a	% CH ₄	% B. ^b			
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
1	180,8	37,6	3,4	187,7	39,0	3,5	184,3	38,3	3,5
2	625,6	39,8	11,2	672,0	40,3	12,0	648,8	40,0	11,6
3	1088,5	42,1	18,8	1139,1	41,6	19,5	1113,8	41,8	19,2
4	1674,8	43,8	28,4	1726,0	42,9	28,9	1700,4	43,4	28,7
5	2105,0	45,2	34,7	2233,8	44,7	36,7	2169,4	44,9	35,7
6	2414,3	46,4	38,7	2553,0	46,1	40,8	2483,7	46,2	39,8
7	2634,2	47,3	41,0	2774,5	47,0	43,1	2704,4	47,1	42,0
8	2826,3	47,9	42,7	2947,1	47,6	44,4	2886,7	47,7	43,6
9	2918,1	48,2	43,5	3069,7	48,0	45,8	2993,9	48,1	44,7
10	3091,5	48,7	45,0	3245,8	48,5	47,3	3168,7	48,6	46,1
11	3270,9	49,2	46,8	3421,5	49,1	49,0	3346,2	49,1	47,9
12	3416,4	49,6	47,9	3544,3	49,5	49,7	3480,3	49,5	48,8
13	3539,4	49,9	48,9	3667,5	49,8	50,7	3603,4	49,9	49,8
14	3675,8	50,3	50,3	3809,4	50,3	52,1	3742,6	50,3	51,2
15	3803,2	50,6	51,4	3959,9	50,7	53,7	3881,5	50,7	52,6
16	3936,7	50,9	52,5	4107,0	51,1	55,1	4021,8	51,0	53,8
17	4065,4	51,3	53,7	4235,8	51,4	56,2	4150,6	51,3	54,9
18	4204,3	51,6	54,7	4393,9	51,7	57,5	4299,1	51,7	56,1
19	4342,4	51,9	56,1	4523,6	52,0	58,8	4433,0	52,0	57,4
20	4407,7	52,0	57,2	4613,9	52,2	60,3	4510,8	52,1	58,8
21	4495,4	52,3	58,1	4709,2	52,4	61,3	4602,3	52,3	59,7
22	4659,3	52,6	59,1	4877,8	52,8	62,4	4768,5	52,7	60,8
23	4731,8	52,8	59,9	4953,2	52,9	63,3	4842,5	52,9	61,6
24	4805,5	52,9	60,3	5045,2	53,1	64,0	4925,3	53,0	62,1
25	4935,5	53,2	61,2	5152,5	53,3	64,5	5044,0	53,2	62,8
26	4936,6	53,2	61,2	5155,3	53,3	64,5	5045,9	53,2	62,9
27	5024,3	53,3	62,1	5250,6	53,4	65,6	5137,4	53,4	63,8
28	5188,2	53,6	63,1	5419,1	53,7	66,7	5303,7	53,7	64,9
29	5260,7	53,7	64,0	5494,5	53,8	67,6	5377,6	53,8	65,8
30	5334,4	53,9	64,3	5586,6	54,0	68,2	5460,5	53,9	66,3
31	5464,5	54,0	79,7	5694,1	54,1	79,5	5579,3	54,1	79,6

^a Biogás acum. – Volumen de biogás acumulado en mL.

^b % B. – Porcentaje de biodegradación.

ANEXO F. DATOS DEL BIOGÁS ACUMULADO, PORCENTAJE DE METANO Y PORCENTAJE DE BIODEGRADACIÓN DE LA PELÍCULA FLEXIBLE

Cuadro 15. Biogás acumulado, porcentaje de metano y porcentaje de biodegradación de la película flexible

Día	Reactor 1			Reactor 2			Promedio biogás acum. ^a	Promedio % CH ₄	Promedio % B. ^b
	Biogás acum. ^a	% CH ₄	% B. ^b	Biogás acum. ^a	% CH ₄	% B. ^b			
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
1	130,6	26,9	2,9	137,5	27,6	3,0	134,1	27,2	2,9
2	619,4	35,4	13,0	612,3	36,1	12,8	615,8	35,8	12,9
3	1112,0	42,9	22,6	1103,5	43,7	22,3	1107,8	43,3	22,4
4	1442,8	47,4	27,8	1437,5	48,1	27,5	1440,2	47,8	27,7
5	1621,4	49,4	29,4	1635,8	50,2	29,6	1628,6	49,8	29,5
6	1761,6	50,7	30,1	1772,7	51,4	30,2	1767,2	51,1	30,2
7	1873,5	51,6	30,2	1879,0	52,2	30,2	1876,3	51,9	30,2
8	1962,2	52,1	29,9	1974,1	52,8	30,0	1968,1	52,5	29,9
9	2032,3	52,5	30,3	2029,7	53,1	30,1	2031,0	52,8	30,2
10	2139,4	53,1	30,5	2562,0	54,7	40,1	2350,7	53,9	35,3
11	2277,1	53,7	31,6	2692,6	54,7	41,1	2484,9	54,2	36,4
12	2439,7	54,4	33,3	2812,7	54,8	41,8	2626,2	54,6	37,5
13	2598,3	55,0	35,3	2952,8	55,0	43,4	2775,6	55,0	39,4
14	2729,0	55,4	36,8	3044,9	55,1	43,9	2886,9	55,3	40,3
15	2835,6	55,8	37,7	3132,3	55,2	44,4	2983,9	55,5	41,0
16	2949,5	56,2	38,5	3231,0	55,4	44,8	3090,3	55,8	41,7
17	3051,9	56,4	39,2	3317,7	55,5	45,2	3184,8	56,0	42,2
18	3171,0	56,7	39,9	3413,9	55,7	45,4	3292,5	56,2	42,6
19	3280,5	56,9	40,9	3514,5	55,8	46,1	3397,5	56,4	43,5
20	3331,3	57,0	41,8	3577,9	55,9	47,4	3454,6	56,5	44,6
21	3412,3	57,2	42,7	3657,7	56,0	48,2	3535,0	56,6	45,5
22	3575,8	57,5	43,9	3809,1	56,2	49,1	3692,4	56,8	46,5
23	3656,5	57,6	45,1	3898,4	56,3	50,5	3777,5	56,9	47,8
24	3762,0	57,7	46,2	4021,9	56,4	52,0	3891,9	57,1	49,1
25	3873,6	57,9	46,9	4154,0	56,5	53,2	4013,8	57,2	50,0
26	3874,5	57,9	46,9	4159,0	56,5	53,3	4016,8	57,2	50,1
27	3955,5	58,0	47,8	4238,8	56,6	54,1	4097,2	57,3	50,9
28	4119,1	58,2	49,0	4390,2	56,7	55,0	4254,6	57,5	52,0
29	4199,7	58,3	50,1	4479,5	56,8	56,4	4339,6	57,5	53,3
30	4305,3	58,4	51,3	4602,9	56,9	57,9	4454,1	57,6	54,6
31	4416,9	58,5	61,0	4735,1	57,0	68,6	4576,0	57,7	64,8

^a Biogás acum. – Volumen de biogás acumulado en mL.

^b % B. – Porcentaje de biodegradación.

ANEXO G. DATOS DEL BIOGÁS ACUMULADO, PORCENTAJE DE METANO Y PORCENTAJE DE BIODEGRADACIÓN DE LA BANDEJA SEMIRRÍGIDA

Cuadro 16. Biogás acumulado, porcentaje de metano y porcentaje de biodegradación de la bandeja semirrígida

Día	Reactor 1			Reactor 2			Promedio biogás acum. ^a	Promedio % CH ₄	Promedio % B. ^b
	Biogás acum. ^a	% CH ₄	% B. ^b	Biogás acum. ^a	% CH ₄	% B. ^b			
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
1	197,8	30,6	2,8	149,1	32,1	2,9	173,5	31,4	2,8
2	391,5	33,2	5,1	346,3	35,7	5,8	368,9	34,5	5,5
3	637,5	41,0	8,3	575,1	43,0	8,9	606,3	42,0	8,6
4	1016,8	46,1	11,3	828,5	47,5	11,9	922,7	46,8	11,6
5	1433,5	48,7	13,2	1099,0	50,2	15,1	1266,2	49,5	14,2
6	1895,6	50,5	16,0	1349,3	51,9	18,1	1622,4	51,2	17,0
7	1966,3	50,6	18,7	1588,8	53,1	20,8	1777,6	51,9	19,7
8	1965,6	50,6	21,1	1793,3	54,0	22,8	1879,4	52,3	22,0
9	1966,9	50,6	22,1	1920,5	54,4	24,4	1943,7	52,5	23,2
10	1979,6	50,6	23,6	2098,1	54,8	26,0	2038,9	52,7	24,8
11	1998,7	50,4	26,0	2297,3	55,2	28,3	2148,0	52,8	27,1
12	2020,1	50,3	28,2	2475,5	55,5	30,0	2247,8	52,9	29,1
13	2066,6	50,2	30,1	2632,9	55,8	31,8	2349,7	53,0	30,9
14	2144,9	50,2	31,3	2770,4	56,0	33,2	2457,7	53,1	32,3
15	2228,4	50,3	32,3	2902,5	56,1	34,5	2565,4	53,2	33,4
16	2321,6	50,5	32,9	3020,8	56,3	35,3	2671,2	53,4	34,1
17	2409,1	50,7	33,8	3139,0	56,4	36,3	2774,0	53,5	35,1
18	2524,5	51,0	33,9	3257,0	56,5	36,9	2890,7	53,7	35,4
19	2646,7	51,3	35,2	3369,6	56,7	37,8	3008,1	54,0	36,5
20	2679,3	51,4	35,7	3431,6	56,7	38,9	3055,4	54,1	37,3
21	2730,3	51,5	36,2	3506,2	56,8	39,5	3118,2	54,2	37,9
22	2915,5	52,0	36,8	3647,7	57,0	40,1	3281,6	54,5	38,5
23	2964,6	52,2	37,2	3705,0	57,1	40,7	3334,8	54,6	38,9
24	3060,1	52,4	37,2	3770,0	57,1	40,8	3415,0	54,8	39,0
25	3205,2	52,7	40,8	4014,3	57,4	44,1	3609,8	55,0	42,5
26	3209,2	52,7	40,9	4021,0	57,4	44,3	3615,1	55,1	42,6
27	3260,3	52,8	41,5	4095,6	57,4	44,9	3677,9	55,1	43,2
28	3445,4	53,2	41,9	4237,2	57,6	45,5	3841,3	55,4	43,7
29	3494,5	53,3	42,5	4294,4	57,6	46,1	3894,5	55,5	44,3
30	3590,0	53,5	42,6	4359,4	57,7	46,2	3974,7	55,6	44,4
31	3734,9	53,7	54,5	4607,3	57,8	54,5	4171,1	55,8	54,5

^a Biogás acum. – Volumen de biogás acumulado en mL.

^b % B. – Porcentaje de biodegradación.