



Casa abierta al tiempo

**Universidad Autónoma Metropolitana**

**Azcapotzalco**

**División de Ciencias Básicas e Ingeniería**

**“Producción de bioH<sub>2</sub> por fermentación  
oscura a partir de pañales desechables  
usados”**

**Tesis para obtener el grado de:**

Doctorado en Ciencias e Ingeniería

Línea Ambiental

**Presenta**

M. en C. Perla Xochitl Sotelo Navarro

**Directores de la tesis**

Dra. Sylvie Jeanne Turpin Marion

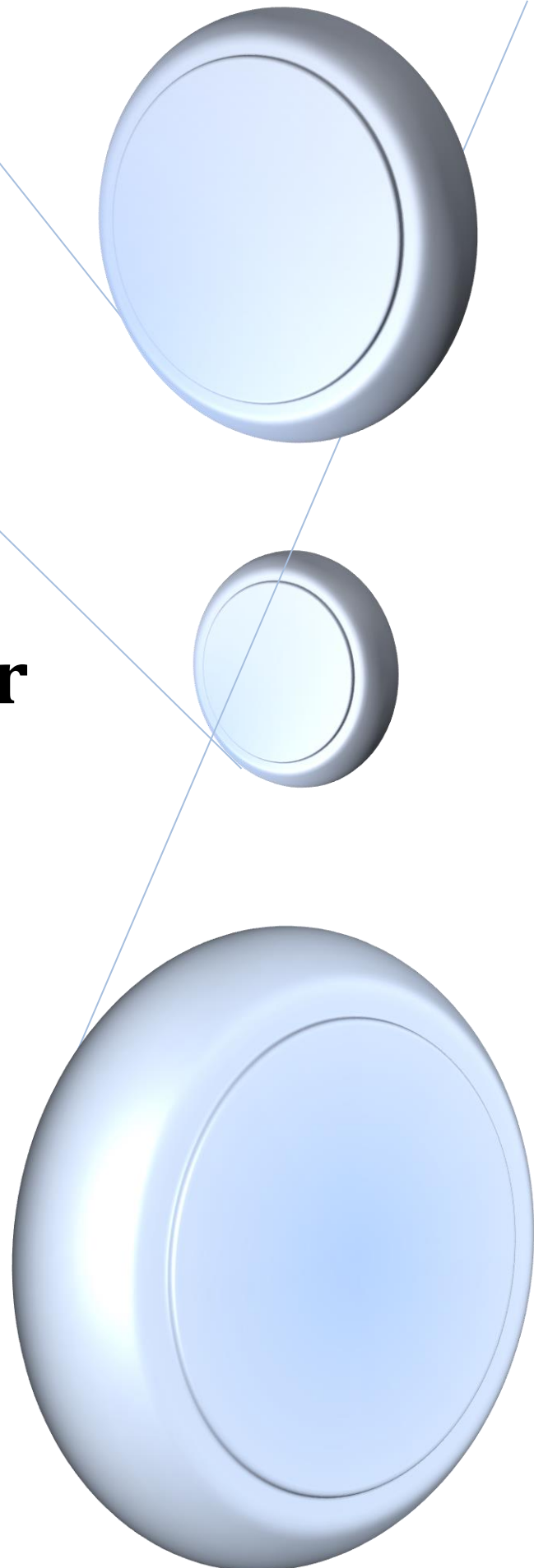
Dr. Héctor Mario Poggi Varaldo

**Ciudad de México**

**Abril, 2017**



**“Producción  
de bioH<sub>2</sub> por  
fermentación  
oscura a partir  
de pañales  
desechables  
usados”**





Los pañales desechables, uno de los símbolos de la cultura de usar y tirar, constituyen en México el 6.52% de los residuos sólidos urbanos, alrededor de 7,000 toneladas diarias, que generalmente son enviadas sin tratamiento a disposición final. Esto constituye una deficiencia seria en materia de la gestión de este tipo de residuos. Sin embargo, los pañales desechables están compuestos principalmente de celulosa y fibras sintéticas, susceptibles de ser aprovechadas por métodos biológicos. Entre éstos se encuentra la fermentación oscura, que es una alternativa para su valorización económica además de ser una clara opción para la producción de hidrógeno. En este contexto el presente proyecto tuvo como objetivo principal evaluar la fermentación oscura en lote de pañales desechables usados.

La experimentación se centró en la producción biológica de hidrógeno, con la evaluación del efecto de la temperatura y el tipo de acondicionamiento de pañales sobre el desempeño de la fermentación oscura, las pruebas de evaluación de inhibición de la producción de hidrógeno por el polímero absorbente de humedad (poliacrilato de sodio, SAP) y el estudio de la producción de metano en serie con la de biohidrógeno.

Se obtuvo un inóculo metanogénico capaz de producir hidrógeno. La utilización de choque térmico para inhibir el crecimiento de bacterias metanogénicas fue eficiente, ya que no se encontró la presencia de metano en la fermentación oscura. La caracterización del inóculo mostró que de los 31 sustratos disponibles en la ECO placa, 27 fueron útiles a los microorganismos, mostrando mayor afinidad por el consumo de Glucosa 1-fosfato (G2); las 4 fuentes no utilizadas por el consorcio fueron: D-ácido galactónico y lactona (A3), Tween 40 (C1), ácido 2-hidroxibenzóico (C3) y L-fenilamina (C4). Se determinó la cinética de crecimiento obteniéndose la función de crecimiento logarítmico como:  $\log_{10} (\#células) = 0.0035 * tiempo$ . El inóculo mostró una alta relación C/N, que se debe considerar para el proceso de fermentación oscura, ya que este parámetro puede tener incidencia sobre la producción de hidrogeno, por lo que se recomienda ajustarlo a una relación media de 30 a 40.

Fue técnicamente factible la utilización de pañales desechables como sustrato en fermentación oscura, sin embargo, se encontró un bajo rendimiento en la producción de hidrógeno ( $P_{H_2}$ ) comparado con la fracción orgánica de los

residuos sólidos urbanos (FORSU). Así, el máximo de  $P_{H_2}$  en este trabajo fue 82.74%, menor que el máximo obtenido para FORSU en la literatura.

El proceso pudo ser mejorado en aproximadamente 85.59% de biohidrógeno adicional aplicando la técnica de venteo intermitente. En promedio la producción acumulada  $bioH_2$  siguió el orden pañal completo (PC) > pañal molido (PM) > pañal separado manualmente (PSM). En general, el funcionamiento en régimen termofílico se asoció con valores de producción acumulada de hidrógeno ( $P_{H_2}$ ) más altos que en régimen mesofílico. Hubo una interacción entre temperatura y tipo de acondicionamiento del pañal, levemente significativa.

En esta investigación se encontró que el poliacrilato de sodio (SAP), constituyente de los pañales desechables, es un compuesto que puede inhibir la producción de  $bioH_2$ , por lo cual, se realizó un experimento de biohidrógeno con pañales a los que se eliminó el SAP. Primeramente, se desarrolló un método en base húmeda para la obtención de la fracción orgánica de los pañales (FORPA) utilizando cloruro de calcio (1.25% p/v) para la remoción del poliacrilato de sodio (SAP), con una recuperación de 60% de FORPA (base seca), con un contenido de 85% de celulosa. Esta FORPA libre de SAP fue sometida a la fermentación oscura mediante la metodología de diseño experimental con superficie de respuesta, la cual sirvió para definir que los parámetros que ayudan a maximizar la producción de  $bioH_2$  se encuentran establecidos en la combinación de factores de 43, 12 y 31 para CN, ST y T respectivamente. Con ello se logró establecer una máxima producción predecible de 2.792  $mmolH_2/g_{ST}$ , que experimentalmente fue 2.476  $mmolH_2/g_{ST}$ , menor en un 11.32% a lo esperado. Dicho diseño experimental encontró que las tres principales variables de respuesta definidas como la producción acumulada de hidrógeno ( $P_{H_2}$ ), la sumatoria de ácidos orgánicos volátiles ( $\sum AOV$ ) y la sumatoria de solventes ( $\sum SOLV$ ) se describen por un polinomio basado en un modelo de segundo orden que relaciona las variables evaluadas (C/N, T y ST), lo que indica que existen curvaturas en la descripción del sistema y que la regresión entre las variables es relativamente pequeña.

Experimentos preliminares con papel bond y papel filtro combinados, y esa combinación más SAP, señalaron que la  $P_{H_2}$  del 2º tratamiento (con SAP) fue 23.73% menor. Esto confirma un efecto inhibitorio de SAP sobre la fermentación

oscura de sustratos celulósicos. El experimento más completo con FORPA (exenta de SAP), siguiendo un modelo de superficie de respuesta (factores temperatura, sólidos totales iniciales, y relación C/N inicial), demostró que la máxima  $P_{H_2}$  obtenida fue 238% mayor que la correspondiente a pañales (con SAP) en experimentos previos, confirmando de manera independiente el efecto inhibitorio de SAP sobre la producción de biohidrógeno.

La utilización de los sólidos fermentados de la etapa hidrogénica para la producción de metano de pañales desechables usados mostró ser viable, ya que el acoplamiento en serie de estos procesos es perfectamente complementario; sin embargo, la producción neta de metano a partir de los sólidos fermentados fue baja. A pesar de que la implementación en serie de las etapas hidrogénica-metanogénica (H-M), forma parte de la misma ruta metabólica de degradación, su acoplamiento no aumentó significativamente el potencial energético neto obtenido para este tipo de residuo. La ejecución de dos sistemas biológicos en serie permitió la obtención de un segundo producto de interés, mejorando con ello el proceso y la producción energética del total del proceso, aumentando en 71.31 y 45.91% para los mesofílicos y termofílicos, respectivamente.

De acuerdo a los resultados obtenidos en este trabajo se concluye que la fermentación oscura es una opción viable para el tratamiento biológico de los pañales desechables, contribuyendo a disminuir la cantidad de estos residuos que se envían a disposición final. Además, permite la obtención de un producto de valor agregado como lo es el hidrógeno, un combustible limpio. En el caso de los procesos de refinería en cascada como la producción H-M (hidrógeno-metano), aumenta significativamente la producción energética total del sistema.





Disposable diapers, one of the symbols of the use and throw lifestyle, account for 6.52% of urban solid waste in Mexico. This 7,000 tons per day are normally sent without treatment to final disposal. This situation is a serious deficiency in the management of this type of waste. However, disposable diapers are composed mainly of synthetic fibers and cellulose, which can be exploited by biological methods. One of these methods is dark fermentation, an attractive alternative for its economic value and its potential to produce hydrogen. In this context, the main objective of this project was to evaluate the dark fermentation of used disposable diapers in batch experiments.

The project consisted of three stages. The first was focused on the biological production of hydrogen, with the evaluation of the effect of temperature and the type of conditioning of the diapers on the performance of the dark fermentation. In the second stage, evaluation tests of the inhibition of hydrogen production by the moisture absorbing polymer were developed. Last, the sequential production of methane and biohydrogen was studied.

A methanogenic inoculum capable of producing hydrogen was obtained. The use of thermal shock to inhibit the growth of methanogenic bacteria was efficient, since no methane was present in the dark fermentation. The characterization of the inoculum showed that of the 31 available substrates in the ECO-plate, 27 were useful for microorganisms, showing a greater affinity for the consumption of Glucose 1-phosphate (G2). The four sources not used by the consortium were: D-galactonic acid and lactone (A3), Tween 40 (C1), 2-hydroxybenzoic acid (C3) and L-phenylamine (C4). Growth kinetics were determined by obtaining the logarithmic growth function as  $\log_{10} (\# \text{ cells}) = 0.0035 * \text{time}$ . The inoculum showed a high C/N ratio, which should be considered for the dark fermentation process.

It was technically feasible to use disposable diapers as a substrate in dark fermentation. However, a low yield in hydrogen production ( $P_{H_2}$ ) was found compared to the organic fraction of urban solid waste (FORSU). Therefore, the maximum  $P_{H_2}$  in this work was 82.74% lower than the maximum obtained for FORSU in the literature.

The process could be improved by approximately 85.59% additional biohydrogen production through the application of the intermittent ventilation technique. On average, accumulated  $\text{bioH}_2$  production followed the order

complete diaper (PC) > milled diaper (PM) > manually separated diaper (PSM). In general, the operation in thermophilic regime was associated with higher values of accumulated hydrogen production ( $P_{H_2}$ ) than in the mesophilic regime. There was a significant interaction between the temperature and the type of conditioning of the diaper.

To assess if the sodium polyacrylate (SAP) component of disposable diapers can inhibit the production of bioH<sub>2</sub> an experiment was performed with diapers from whom SAP was previously eliminated. First, a wet-based method was developed to obtain the organic fraction of diapers (FORPA) using calcium chloride (1.25% w/v) for the elimination of sodium polyacrylate (SAP), with a recovery of 60% Of FORPA (dry basis) containing 85% cellulose. This SAP-free substrate was subjected to dark fermentation using an experimental design with response surface that served to define that the parameters that help us to maximize the production of bioH<sub>2</sub>. It was found that the combination of factors of 43, 12 and 31 for CN, ST and T, respectively, produced a predictable maximum yield of 2,792 mmolH<sub>2</sub>/g<sub>ST</sub>. Experimentally a value of 2.476 mmolH<sub>2</sub>/g<sub>ST</sub>, was obtained, lower in 11.32% than the value predicted by the model. This experimental design found that the three main response variables, defined as the accumulated production of hydrogen ( $P_{H_2}$ ), the sum of volatile organic acids ( $\Sigma$ AOV) and the sum of solvents ( $\Sigma$ SOLV) are described by a polynomial based on a model (C/N, T and ST), indicating that there are curvatures in the system description and that the regression between the variables is relatively small.

Preliminary experiments with bond paper and filter paper combined, and that combination plus SAP, indicated that  $P_{H_2}$  of the second treatment (with SAP) was 23.73% lower. This confirms an inhibitory effect of SAP on the dark fermentation of cellulosic substrates. The most complete experiment with FORPA (SAP free) following a response surface model (temperature factors, initial total solids, and initial C/N ratio) showed that the maximum  $P_{H_2}$  obtained was 238% greater than the obtained from diapers with SAP in previous experiments. This confirmed the inhibitory effect of SAP on biohydrogen production.

The use of fermented solids from the hydrogen phase for the sequential methane production of used disposable diapers proved to be feasible, since the coupling in series of these processes is perfectly complementary. However, the net production of methane from the fermented solids was low. Although the serial implementation of the hydrogen-methanogenic (H-M) stages are part of the same

metabolic degradation path, their coupling did not significantly increase the net energy potential obtained for this type of residue. The execution of two biological systems in series allowed the production of the second compound of interest, thus improving the process and the energy production of the total process.

According to the results obtained in this work it is concluded that dark fermentation is a viable option for the biological treatment of disposable diapers, contributing to decrease the amount of these residues that are sent to final disposal. In addition to obtaining a value-added product such as hydrogen, a clean fuel, which coupled with cascade refinery processes such as the HM (hydrogen-methane) production, significantly increases the total energy production of the system.



**Dra. Alethia Vázquez Morillas**

Profesor Titular C.  
Departamento de Energía  
UAM-Azcapotzalco

**Dra. María del Consuelo Hernández Berriel**

Profesora Investigadora  
División de Estudios de Posgrado e Investigación  
Instituto Tecnológico de Toluca

**Dra. M. Teresa Ponce Noyola**

Investigador Titular 3C  
Departamento de Biotecnología y Bioingeniería  
Cinvestav-IPN-Zacatenco

**Dra. Sylvie Jeanne Turpin Marion, Director**

Profesor Titular C  
Departamento de Energía  
UAM-Azcapotzalco

**Dr. Héctor M. Poggi Varaldo, Director**

Investigador Titular 3C  
Departamento de Biotecnología y Bioingeniería  
Cinvestav-IPN-Zacatenco



Deseo manifestar mi más sincero agradecimiento a las personas y entidades que han colaborado en la realización de esta Tesis, sin cuyo apoyo no hubiera sido posible llevarla a cabo, con especial mención a:

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada para la realización de mis estudios de posgrado.

La Universidad Autónoma Metropolitana y a sus profesores por permitirme desarrollar y realizar mis estudios de posgrado, y haberme brindado todo lo necesario para lograrlo.

Al Centro de Investigación y Estudios avanzados del Instituto Politécnico Nacional, por brindarme las facilidades para realizar este trabajo, con especial mención al Grupo de Biotecnología Ambiental y Energías Renovables y la central analítica, al M. en C. Rafael Hernández Vera, la profesora Elvira Ríos Leal y el maestro Gustavo Medina por su excelente apoyo y colaboración.

A mis directores de tesis la Dra. Sylvie Jeanne Turpin Marion y el Dr. Héctor Mario Poggi Varaldo por su guía, paciencia y excelente colaboración, por ser ejemplo de dedicación y esfuerzo.

Al Área de Tecnologías Sustentables por brindarme siempre los recursos necesarios, en especial a la M. en C. Margarita Beltrán Villavicencio, Dra. Alethia Vázquez Morillas y Dra. Rosa María Espinosa Valdemar, por compartirme su sabiduría, consejos, y por brindarme todo su tiempo, paciencia y dedicación, pero sobre todo por la enorme confianza que siempre mostraron en mí.

A la M. en C. Xochitl Quecholac Piña por su colaboración y apoyo a este proyecto, pero sobre todo por brindarme su amistad.

Al equipo de "Separación" de la UAM-A por los recursos y el apoyo brindados durante el trabajo experimental de este proyecto, al Ing. Roberto Vázquez Solís, al Sr. Leopoldo Almaraz y Javier Heliodoro Flores Pereda.

Al equipo de la PPTAR en especial a Adán Oswaldo Pérez Alba y la M. en C. Laura Medina por brindarme en todo momento su apoyo y colaboración.

A los chicos de servicio social y ayudantes que directa o indirectamente colaboraron y apoyaron la realización de este proyecto, en especial a Gabriel Méndez y Mariana Nava, por su enorme ayuda y colaboración en la realización de las técnicas analíticas.

A mis amigas Leticia Romero Cedillo y Luz de María Breton Deval por acogerme en el Cinvestav y mostrarme su amistad y apoyo en todo momento.





## *A mis padres: Pili y Agustín*

*A término de esta etapa de mi vida,  
quiero expresar un profundo agradecimiento  
a mis padres quienes con su apoyo y comprensión  
me alentaron a lograr esta hermosa realidad.*

## *A Juan Carlos*

*El amor de mi vida, por estar siempre a mi lado  
en las buenas y en las malas, por ser mi amigo, compañero y  
cómplice y por brindarme su amor y comprensión. TE AMO*

## *A mi hermana Zitlalli*

*Desde que nacimos me has enseñado el valor  
de un equipo, de la amistad y de la complicidad,  
gracias por compartir uno más de mis sueños,  
por ser mi hermana y amiga!!*

## *A mi hermano Agustín*

*Gracias por ser mi sigiloso guardián y  
compañero, eres el mejor hermano!!!*

## *A mi pequeño Kevin*

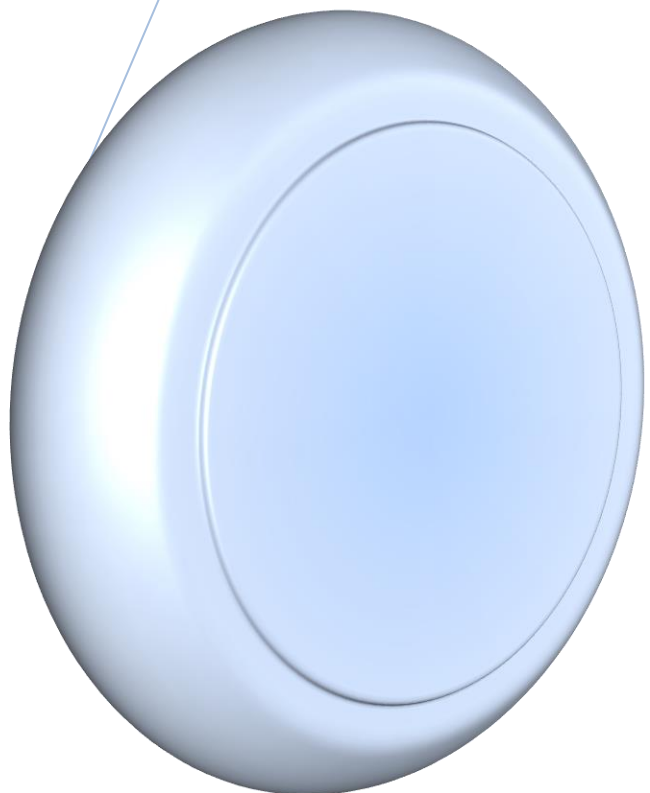
*Gracias pequeño por estar ahí e iluminarme  
con tu luz y tu sonrisa!!!*

## *A Carmen, Felicitas, Ausencio y Pablo*

*Por acogerme en su familia y hacerme parte de ella  
y en todo momento estar ahí apoyándome en cada una  
de mis decisiones.*



# Índice





Resumen.....	iv
Abstract.....	viii
Sinodales .....	xii
Agradecimientos.....	xiv
Dedicatoria.....	xvi
Índice .....	xx
Índice de tablas.....	xxvi
Índice de figuras .....	xxx
Lista de abreviaturas .....	xxxiv
1 Introducción.....	3
2 Estado del arte .....	7
2.1 PAÑALES DESECHABLES .....	7
2.2 EVOLUCIÓN DE LOS PAÑALES DESECHABLES .....	8
2.3 COMPOSICIÓN DE LOS PAÑALES DESECHABLES.....	9
2.4 IMPACTO DE LOS PAÑALES DESECHABLES EN EL AMBIENTE .....	10
2.5 PRESENCIA DE LOS PAÑALES DESECHABLES USADOS EN LOS RESIDUOS SÓLIDOS URBANOS .....	11
2.6 MÉTODOS DE TRATAMIENTO Y DISPOSICIÓN DE LOS PAÑALES DESECHABLES USADOS .....	13
2.6.1 Disposición en relleno sanitario .....	14
2.6.2 Incineración .....	14
2.7 VALORIZACIÓN DE LOS PAÑALES DESECHABLES USADOS .....	15
2.7.1 Composteo .....	15
2.7.2 Degradación con hongos .....	16
2.7.3 Reciclaje .....	17
2.7.4 Co-digestión anaerobia .....	17
2.7.5 Pirólisis.....	18
2.7.6 Efecto y reutilización del SAP .....	18

2.8	PERSPECTIVAS EN EL TRATAMIENTO Y VALORIZACIÓN DE LOS PAÑALES DESECHABLES USADOS .....	18
2.9	PRODUCCIÓN DE HIDRÓGENO MEDIANTE LA FERMENTACIÓN OSCURA DE RESIDUOS.....	19
2.9.1	Métodos de producción de hidrógeno.....	20
2.9.2	Fermentación oscura.....	21
2.9.3	Bioquímica de la fermentación oscura.....	22
2.9.4	Factores que afectan la producción de biohidrógeno.....	23
2.10	MODELOS CINÉTICOS DE PRODUCCIÓN DE HIDRÓGENO .....	27
2.10.1	Ecuación de Gompertz y otros modelos relacionados .....	28
2.10.2	Modelos cinéticos tradicionales .....	30
2.10.3	Modelos relacionados con factores específicos que afectan el proceso .....	31
2.11	MODELACIÓN DEL PROCESO DE INHIBICIÓN .....	32
3	Justificación .....	40
4	Hipótesis.....	44
5	Objetivos.....	48
5.1	Objetivo general.....	48
5.2	Objetivos específicos .....	48
6	Metas.....	52
7	Metodología.....	56
7.1	OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE PAÑALES DESECHABLES USADOS .....	58
7.2	OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL INÓCULO PRODUCTOR DE HIDRÓGENO.....	59
7.2.1	Caracterización del crecimiento del inóculo anaerobio .....	60
7.2.2	Caracterización fisicoquímica del inóculo anaerobio.....	61
7.3	OBTENCIÓN DE LA FRACCIÓN ORGÁNICA DE LOS PAÑALES DESECHABLES (FORPA) .....	62
7.4	ENSAYO 1: FACTIBILIDAD DE PRODUCCIÓN DE HIDRÓGENO DE LA FORPA Y PAÑAL ENTERO .....	64
7.5	ENSAYO 2: FACTIBILIDAD DE PRODUCCIÓN DE HIDRÓGENO APLICANDO VENTEO INTERMITENTE CON N <sub>2</sub> .....	66

7.5.1	Determinación de metabolitos secundarios para el ensayo 2.....	66
7.5.2	Caracterización del digestato obtenido en el segundo ensayo.....	66
7.6	ENSAYO 3: PRODUCCIÓN DE HIDRÓGENO EN TEMPERATURA MESOFÍLICA (35 °C) Y TERMOFÍLICA (55 °C).....	67
7.6.1	Caracterización del digestato obtenido en el tercer ensayo.....	67
7.7	ENSAYO 4: EVALUACIÓN DE LA POSIBLE INHIBICIÓN POR EL HIDROGEL.....	68
7.8	ENSAYO 5. EVALUACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE HIDROGENO EN LA FORPA POR SUPERFICIE DE RESPUESTA.....	68
7.9	ENSAYO 6. PRODUCCIÓN DE METANO A PARTIR DE SÓLIDOS FERMENTADOS Y DETERMINACIÓN DE LA GANANCIA ENERGÉTICA DEL SISTEMA.....	70
7.9.1	Potencial energético del sistema H-M.....	71
8	Resultados.....	76
8.1	CARACTERIZACIÓN DE LOS PAÑALES DESECHABLES USADOS.....	76
8.2	CARACTERIZACIÓN DEL INÓCULO ANAEROBIO.....	77
8.2.1	Composición del biogás producido por el inóculo anaerobio.....	77
8.2.2	Caracterización del crecimiento del inóculo anaerobio.....	77
8.2.3	Caracterización fisicoquímica del inóculo anaerobio.....	82
8.3	OBTENCIÓN DE LA FRACCIÓN ORGÁNICA DE LOS PAÑALES DESECHABLES (FORPA).....	83
8.4	ENSAYO 1: FACTIBILIDAD DE PRODUCCIÓN DE HIDRÓGENO DE LA FORPA Y PAÑAL ENTERO.....	85
8.5	ENSAYO 2: FACTIBILIDAD DE PRODUCCIÓN DE HIDRÓGENO APLICANDO VENTEO INTERMITENTE CON N <sub>2</sub> .....	86
8.5.1	Determinación de metabolitos secundarios para el ensayo 2.....	87
8.5.2	Caracterización del digestato obtenido en el segundo ensayo.....	88
8.6	ENSAYO 3: PRODUCCIÓN DE HIDRÓGENO EN TEMPERATURA MESOFÍLICA (35 °C) Y TERMOFILÍCO (55 °C).....	89
8.7	ENSAYO 4: EVALUACIÓN DE LA POSIBLE INHIBICIÓN POR EL HIDROGEL.....	95

8.8	ENSAYO 5. EVALUACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE HIDROGENO EN LA FORPA POR SUPERFICIE DE RESPUESTA.....	97
8.9	ENSAYO 6. PRODUCCIÓN DE METANO A PARTIR DE SÓLIDOS FERMENTADOS .....	107
9	Conclusión.....	113
10	Perspectivas .....	117
11	Referencias bibliográficas .....	120
12	Anexos .....	141
12.1	Anexo A. Cálculo de la cantidad de hidrógeno producido .....	141
12.2	Anexo B. Técnicas para los análisis fisicoquímicos.....	149
	pH .....	149
	Alcalinidad .....	149
	Ácidos orgánicos y solventes.....	150
	Humedad, sólidos totales, sólidos volátiles y cenizas.....	150
	Determinación de nitrógeno total.....	151
	Determinación de materia orgánica.....	153
	Relación carbono/nitrógeno .....	154
	Determinación de celulosa.....	154
12.3	Anexo C. Características de las pruebas microbiológicas.....	155
12.5	Anexo D. Publicaciones emanadas de la tesis .....	157
12.5.1	Artículos en revistas internacionales con arbitraje estricto indizadas en SCI-JCR Thomson Reuters .....	157
12.5.2	Capítulos en libros.....	158
12.5.3	Publicaciones en congresos internacionales.....	158



# Índice de tablas





Tabla 2-1. Porcentaje en peso de pañales desechables usados en los RSU de los países miembros de la OCDE .....	12
Tabla 2-2. Porcentaje en peso de pañales desechables usados en los RSU de países de América Latina y el Caribe .....	13
Tabla 2-3. Principales empresas identificadas como referencia de tratamiento por composteo.....	15
Tabla 2-4. Trabajos sobre inhibición de la producción de hidrógeno y modelo utilizado .....	34
Tabla 7-1. Análisis fisicoquímicos del sustrato .....	59
Tabla 7-2. Análisis fisicoquímicos del inóculo .....	62
Tabla 7-3. Diseño experimental para la FORPA.....	69
Tabla 7-4. Diseño experimental para la FORPA (Continuación).....	70
Tabla 8-1. Caracterización fisicoquímica de los pañales desechables en sus diferentes formas para aplicación .....	76
Tabla 8-2. Huella metabólica del inóculo.....	78
Tabla 8-3. Sustratos disponibles en las ECO placas y grupo químico al que pertenecen .....	80
Tabla 8-4. Caracterización fisicoquímica del inóculo anaerobio .....	82
Tabla 8-5. Producción máxima de hidrógeno primer ensayo.....	85
Tabla 8-6. Características finales del digestato del primer ensayo .....	86
Tabla 8-7. Producción de hidrógeno aplicando venteo.....	87
Tabla 8-8. Comparación de estudios de la producción de H <sub>2</sub> por FORSU.....	87
Tabla 8-9. Ácidos orgánicos volátiles y solventes iniciales en el segundo ensayo.....	88
Tabla 8-10. Ácidos orgánicos y solventes finales en el segundo ensayo .....	88
Tabla 8-11. Características del digestato del segundo ensayo.....	88
Tabla 8-12. BioH <sub>2</sub> de los pañales desechables usados por cada ciclo y producción total .....	91
Tabla 8-13. Perfil de acumulación de solventes en la producción de biohidrógeno a dos diferentes temperaturas.....	92
Tabla 8-14. Perfil de acumulación de AOV en la producción de biohidrógeno a dos diferentes temperaturas .....	94
Tabla 8-15. Análisis de varianza para producción acumulada de bioH <sub>2</sub> .....	95

Tabla 8-16. Bio-H <sub>2</sub> en ensayo de inhibición por hidrogel .....	97
Tabla 8-17. Análisis de varianza para la evaluación de inhibición por la presencia de SAP .....	97
Tabla 8-18. Análisis de varianza para la regresión de superficie de respuesta: P <sub>H2</sub> vs CN, ST, T.....	99
Tabla 8-19. Optimización de la respuesta para P <sub>H2</sub> .....	100
Tabla 8-20. Análisis de varianza para la regresión de superficie de respuesta: $\Sigma$ AOV vs CN, ST, T .....	102
Tabla 8-21. Optimización de la respuesta para $\Sigma$ AOV. ....	103
Tabla 8-22. Análisis de varianza para la regresión de superficie de respuesta: $\Sigma$ SOL vs CN, ST, .....	105
Tabla 8-23. Optimización de la respuesta para $\Sigma$ SOLV .....	106
Tabla 8-24. H <sub>2</sub> y CH <sub>4</sub> en cada ciclo de incubación y producción total de hidrógeno y metano .....	108
Tabla 8-25. Rendimientos de hidrógeno y metano en etapas en estudios previos.....	109
Tabla 8-26. Potencial energético del sistema H-M .....	109

**Índice**  
**de**  
**figuras**





Figura 2-1. Composición típica de un pañal desechable .....	9
Figura 2-2. Métodos tradicionales de tratamiento de los pañales desechables usados y sus efectos negativos .....	14
Figura 2-3. Rutas metabólicas de la fermentación oscura .....	23
Figura 7-1. Esquema general de la metodología.....	56
Figura 7-2. Descripción de etapa 1, actividades 1, 2 y 3 con variables y respuestas.....	57
Figura 7-3. Descripción de etapa 2, actividades 4 a 7 con variables y respuestas.....	57
Figura 7-4. Descripción de etapa 3, actividades 8 y 9 con sus variables y respuestas.....	58
Figura 7-5. Reactor inoculador.....	60
Figura 7-6. Inoculación y lectura de ECO placas.....	61
Figura 7-7. Diagrama de obtención de FORPA por patente .....	62
Figura 7-8. Protocolo de separación de FORPA .....	63
Figura 7-9. Montaje de los reactores para ensayos de factibilidad .....	64
Figura 7-10. Incubación de los reactores a 37 °C.....	65
Figura 7-11. Proceso integrado H-M .....	71
Figura 8-1. Muestra de pañales recolectados, entrada de los pañales al proceso de molienda y pañales triturados .....	76
Figura 8-2. Recuento de bacterias en placa.....	77
Figura 8-3. Distribución de los sustratos en la ECO placa.....	80
Figura 8-4. Consumo de sustratos en la ECO placa.....	81
Figura 8-5. Aumento de absorbancia con respecto al tiempo del inóculo .....	81
Figura 8-6. Velocidad de crecimiento del inóculo .....	82
Figura 8-7. Diagrama de obtención de FORPA a pequeña escala .....	83
Figura 8-8. Aspecto visual de la FORPA separada manualmente.....	84
Figura 8-9. Componentes de pañal desechable separados (plástico, celulosa y Ca-P).....	84
Figura 8-10. Producción de hidrógeno en diferentes combinaciones de pañal primer ensayo.....	85
Figura 8-11. Evolución temporal de la producción de H <sub>2</sub> en lote de PC- termofílico y PSM-mesofílico. Las flechas verticales indican venteo de espacio de cabeza de biorreactor con N <sub>2</sub> .....	89

Figura 8-12. Evolución temporal de la producción de H <sub>2</sub> en para los cuatro tratamientos con menor producción. Las flechas verticales indican venteo de espacio de cabeza de biorreactor con N <sub>2</sub> .....	89
Figura 8-13. Interacción entre los factores "temperatura" y "condición de pañal" para la variable de respuesta de producción acumulada de bio-hidrógeno; 1: PC; 2: PM; 3: PSM.....	95
Figura 8-14. Resultados del análisis de inhibición por la presencia de hidrogel (P=papel, H=hidrogel, PH=papel-hidrogel) .....	96
Figura 8-15. Gráficos de superficie de respuesta para las diferentes parejas de variables sobre la producción de H <sub>2</sub> de la FORPA.....	98
Figura 8-16. Gráficos de contorno para las diferentes parejas de variables sobre la producción de H <sub>2</sub> de la FORPA.....	98
Figura 8-17. Gráficos de superficie de respuesta para las diferentes parejas de variables sobre la sumatoria de ácidos orgánicos volátiles .....	101
Figura 8-18. Gráficos de contorno para las diferentes parejas de variables sobre la sumatoria de ácidos orgánicos volátiles .....	101
Figura 8-19. Gráficos de superficie de respuesta para las diferentes parejas de variables sobre la sumatoria de solventes .....	104
Figura 8-20. Gráficos de contorno para las diferentes parejas de variables sobre la sumatoria de solventes .....	104
Figura 8-21. Dinámica de la etapa hidrogénica y metanogénica: a) Etapa-H mesofílica, etapa-H termofílica, c) etapa-M mesofílica, d) etapa-M termofílica; las líneas verticales indican lavado con N <sub>2</sub> .....	107
Figura A-1. Seguimiento de análisis con venteo intermitente .....	145
Figura A-2. Análisis de venteo intermitente antes y después .....	147
Figura B-1. Determinación de humedad.....	151
Figura B-2. Digestión por Micro-Kjeldahl .....	152
Figura B-3. Destilación por Micro-Kjeldahl .....	152
Figura B-4. Valoración de nitrógeno total .....	152





**Lista de  
abreviaturas**





A/B	Relación ácido acético-ácido butírico
Ac-OH	acetona
AGV	Ácidos grasos volátiles
AOV	Ácidos orgánicos volátiles
Bu-OH	Butanol
C/N	Relación carbono/nitrógeno
DF	Fermentación oscura
DQO	Demanda Química de Oxígeno
$E_{CH_4}$	Potencial energético de metano
$E_{H_2}$	Potencial energético de hidrógeno
$E_{HM}$	Potencial energético por proceso hidrogénico- metanogénico
Et-OH	Etanol
FAHSS-VI	Fermentación anaerobia de hidrógeno en sustrato sólido con venteo intermitente y lavado de cabeza
FBP	Fracción biodegradable de pañales
FORM	Fracción orgánica de los residuos municipales
FORPA	Fracción Orgánica de los pañales
FORSU	Fracción Orgánica de Residuos Sólidos Urbanos
H	Hidrogel
HAc	ácido acético
HBu	ácido butírico
HLac	ácido láctico
H-M	Etapas hidrogénica-metanogénica
HPB	Bacterias productoras de hidrógeno
HPe	ácido propiónico
LDPE	Polietileno de Baja Densidad
Met-OH	Metanol
MO	Materia Orgánica
MSR	Metodología de Superficie de Respuesta

OCDE	Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico
P	Papel
PC	Pañal completo (plásticos, heces, orina)
P-H	Papel-hidrogel
pH	Potencial de hidrógeno
P <sub>H2</sub>	Producción acumulada de hidrógeno
PM	Pañal molido (sin plásticos, con heces, con orina)
PSM	Pañal separado manualmente (sin heces, sin plástico, con orina)
QCH <sub>4</sub>	Potencial energético de producción de metano
QH <sub>2</sub>	Potencial energético de producción de hidrógeno
RSU	Residuos sólidos urbanos
SAP	Poliacrilato de Sodio
SF	Sólidos Fermentados
SOL	Solventes
ST	Sólidos totales
SV	Sólidos volátiles
TPH	Tasa de producción de hidrógeno
TRM	Tiempo de residencia másico
UFC	Unidades Formadoras de Colonias
ΔH <sub>c</sub>	Entalpía de combustión
ΔpH	Diferencia de pH
ΣAOV	Sumatoria de ácidos orgánicos volátiles
ΣSOL	Sumatoria de solventes

# Introducción





# 1. Introducción

Los combustibles fósiles representan más del 80% del abastecimiento energético total en el mundo; sin embargo, son recursos no renovables y por lo tanto finitos. Por ello es necesaria la búsqueda y utilización de nuevas fuentes de recursos y productos químicos, entre los cuales puede considerarse la biomasa y en particular la biomasa lignocelulósica (Demirbas, 2008).

En los últimos años se ha volcado la atención al hidrógeno, por ser un combustible limpio y renovable, con un alto rendimiento energético (122 KJ/g, 2.75 veces más alto que los combustibles hidrocarbonados), siendo el agua el único producto resultante de la combustión misma. La demanda de hidrógeno no es exclusiva del sector energético, ya que es ampliamente utilizado en las industrias química, de alimentos y en la producción de derivados electrónicos, entre otros, lo que genera una creciente necesidad de producir hidrógeno de una manera sostenible y económicamente viable (Kapdan y Kargi, 2006).

El hidrógeno puede ser generado de varias de maneras, tales como procesos electroquímicos, termoquímicos, fotoquímicos, fotocatalíticos, o procesos fotoelectroquímicos (Armor, 1999). Sin embargo, estos métodos requieren la electricidad derivada de la combustión de combustibles fósiles. Por las consideraciones ambientales a nivel mundial, la producción de biohidrógeno a partir de fuentes renovables de residuos orgánicos representa una importante área de producción de bioenergía. Muchos estudios han informado sobre las bases para la creación de sistemas de producción de biohidrógeno renovables ya sea a través de la fotosíntesis o fermentación.

La producción biológica de hidrógeno es un enfoque novedoso y prometedor para satisfacer las crecientes necesidades de energía como sustituto de los combustibles fósiles (Kapdan y Kargi, 2006). Sin embargo, la biomasa lignocelulósica representa una fuente poco utilizada para la producción de hidrógeno; muchos factores, como el contenido de lignina, la cristalinidad de la celulosa, y el tamaño de partícula, limitan la digestibilidad de la hemicelulosa y la celulosa presente en la misma (Hendriks y Zeeman, 2009).

La producción de hidrógeno por bacterias fermentativas es técnicamente más simple que por bacterias fotosintéticas. Además, el proceso de fermentación puede generar hidrógeno a partir de los carbohidratos obtenidos de desperdicios

de productos (Han y Shin, 2004). Por ello, las tendencias recientes de investigación están dirigidas al estudio de la fase de digestión anaerobia fermentativa para producir hidrógeno a partir de residuos orgánicos: la llamada "fermentación oscura", que permite la recuperación de energía desde el proceso de producción de hidrógeno, la cual representa la primera etapa en la degradación de la materia orgánica.

El interés técnico y científico hacia la producción de hidrógeno se dirige principalmente a la optimización de procesos, con el objetivo de maximizar los rendimientos, en términos de generación de hidrógeno a partir del tratamiento de la materia orgánica. Para este fin, se pueden implementar diferentes sistemas en función de la finalidad específica, que podría ser la promoción de la hidrólisis (Cesaro y Belgiorno, 2014).

El rendimiento de los procesos puede también mejorarse mediante el tratamiento simultáneo de diversos sustratos con características complementarias en términos de nutrientes y contenido de sólidos volátiles totales. Este proceso, conocido como co-digestión, promueve el equilibrio de los parámetros de mezcla, con ventajas para el correcto desarrollo del proceso en sí (Cesaro y Belgiorno, 2014).

La biomasa (residuos lignocelulósicos) ha sido el principal combustible empleado por el hombre hasta la revolución industrial. Cabe destacar que, desde el punto de vista ambiental, el aprovechamiento energético de la biomasa no contribuye al aumento de los gases de efecto invernadero, dado que el balance de emisiones de CO<sub>2</sub> a la atmósfera es nulo. No obstante, hoy se hace necesario mejorar la eficiencia energética, por lo que es preciso fomentar otros procesos menos contaminantes que los procesos de combustión o incineración.



**Estado**



**del**

**arte**





En el presente capítulo se aborda el tema de los pañales desechables, enfocándose principalmente en la generación, su composición, los posibles métodos de tratamiento y valorización. Posteriormente se presenta una introducción al proceso de producción de hidrógeno, centrándose en la fermentación oscura y los factores relevantes en el mismo. Finalmente se analiza el modelado de la producción de hidrógeno y de la inhibición de dicho proceso.

## 2.1 PAÑALES DESECHABLES

Según el diccionario de la Real Academia Española se define como pañal a una tira de tela o celulosa absorbente que se pone a los niños pequeños o a las personas que sufren incontinencia de orina (DRAE, 2001). La utilización de pañales se remonta a tiempos antiguos, en los que se usaban envolturas de hoja de algodoncillo, pieles de animales y otros recursos naturales como ropa especial para bebés; de hecho, se considera que el pañal es uno de los primeros elementos que distinguen al hombre de los animales (Wallis, 2012).

En el siglo XIX los estadounidenses comenzaron a usar pañales de tela, mientras que los británicos empleaban una prenda similar conocida como pañal de felpa; estas prendas podían ser reutilizadas y lavadas varias veces, y se mantenían en su lugar con un alfiler (Wallis, 2012).

El pañal desechable apareció en el mercado por primera vez en los años 50, en Estados Unidos. Este primer pañal era de un diseño sencillo, en el que el núcleo absorbente estaba formado por papel tissue y el exterior era plastificado, aunque el método de sujeción no iba incluido. Actualmente los pañales desechables pueden contener varias capas de celulosa, poliéster y polímero súper absorbente, así como un plástico exterior impermeable, generalmente polietileno o polipropileno, que retiene el fluido y deja pasar los gases. Además cuentan con elásticos laterales y cierres de velcro (o adhesivo) (Torrijos *et al.*, 2014).

Como consecuencia de su uso y éxito, los pañales desechables usados constituyen un porcentaje importante de los residuos sólidos urbanos en todos los países. Actualmente, en Latinoamérica, la mayoría son enviados a rellenos sanitarios con los demás residuos. Sin embargo, cada vez es mayor el interés por someterlos a tratamientos que eviten su disposición en rellenos sanitarios y produzcan materiales de valor agregado. Dadas sus características, es posible buscar el aprovechamiento de algunos de los componentes como son los

plásticos, así como el tratamiento de la fracción orgánica biodegradable, es decir, la celulosa.

## **2.2 EVOLUCIÓN DE LOS PAÑALES DESECHABLES**

El primer antecedente de los pañales desechables se produjo justo después de la Segunda Guerra Mundial, cuando el ama de casa americana Marion Donovan inventó el “Boater”, un pañal con broches para sujetar y una cubierta impermeable. En 1949, el pañal impermeable fue lanzado por la tienda Saks en Nueva York, y tuvo éxito comercial inmediato (Wallis, 2012). Al mismo tiempo, en los años 1950 Vic Mills, trabajador de Procter & Gamble, trabajaba en el desarrollo de un pañal desechable. Basándose en su propia experiencia como abuelo, decidió perfeccionar y adaptar el prototipo de Donovan, y en 1961 concretó un diseño consistente en un pañal rectangular simple hecho de rayón, tejido y plástico, unido con alfileres de gancho, con el nombre comercial “Pampers” (Wallis, 2012). Este diseño introdujo una capa de fibras de celulosa que mejoraba la capacidad de absorción del pañal y disminuía la frecuencia de cambio.

Ya en los 70, la demanda de los nuevos pañales desechables aumentó de manera constante a medida que la gente conocía los beneficios que ofrecen. Pronto los precios al consumidor bajaron y productos competidores comenzaron a entrar en el mercado. Uno notable fue el pañal desechable denominado Huggies, que fue lanzado por Kimberly-Clark, compañía líder en marcas de consumo. Así mismo, Johnson & Johnson introdujo los primeros pañales con cintas adhesivas laterales de papel incorporadas.

A través del tiempo el diseño del pañal fue modificado para producir un producto de fácil manejo, más ligero y más sencillo (Wallis, 2012). Al inicio de los años 80, el pañal tuvo cambios de diseño significativos: se mejoró su ajuste gracias al uso de elásticos en piernas y cintura. Sin embargo, la forma del pañal permanecía inalterada, siendo cuestionado el efecto de su grosor en la entrepierna, en el desarrollo óseo del bebé. Ésta cambió de rectangular a la de reloj de arena, más estilizada y cómoda que permitió un mejor ajuste a la anatomía del bebé; son los conocidos pañales anatómicos, que se siguen utilizando hoy en día (PROFECO, 2011; Wallis, 2012).

Actualmente es posible encontrar pañales desechables en una gran variedad de tamaños, formas y decoración, con cubiertas exteriores tipo tela o

plástico, con barreras anti escurrimientos e inclusive con cintas detectoras de humedad. Recientemente han aparecido en el mercado pañales composteables o biodegradables cuya finalidad principal es evitar los principales impactos ambientales asociados a los pañales desechables convencionales no biodegradables (Colón *et al.*, 2013).

### 2.3 COMPOSICIÓN DE LOS PAÑALES DESECHABLES

Un pañal desechable de bebé nuevo generalmente consiste de (EDANA, 2008): (i) una membrana permeable a los líquidos que recubre la superficie interior, hecha de polipropileno no tejido (PP) o polietileno (PEAD), (ii) una membrana a prueba de agua en el exterior de la superficie hecha de PP, PEAD, almidón, paño o tejido de caucho, (iii) un núcleo absorbente (material esponjoso de pulpa) formado por un material fibroso (celulosa, de cáñamo o de materiales sintéticos) envuelto en papel resistente al agua; (iv) un material polimérico súper-absorbente, generalmente el poliacrilato de sodio (SAP), que tiene una alta capacidad de unión con agua, por lo que es posible retener la orina dentro de la parte absorbente (la eficiencia de un pañal es altamente dependiente de su capacidad para absorber y retener la orina), y finalmente (v) cantidades menores de cintas, elásticos y material adhesivo.

La composición típica de un pañal desechable para bebé ha sido descrita por EDANA (2011): pulpa de celulosa 36.6%, SAP 30.7%, PP 16%, PEAD 6.2%, cinta, elástico y adhesivo 10.5% (figura 2-1).

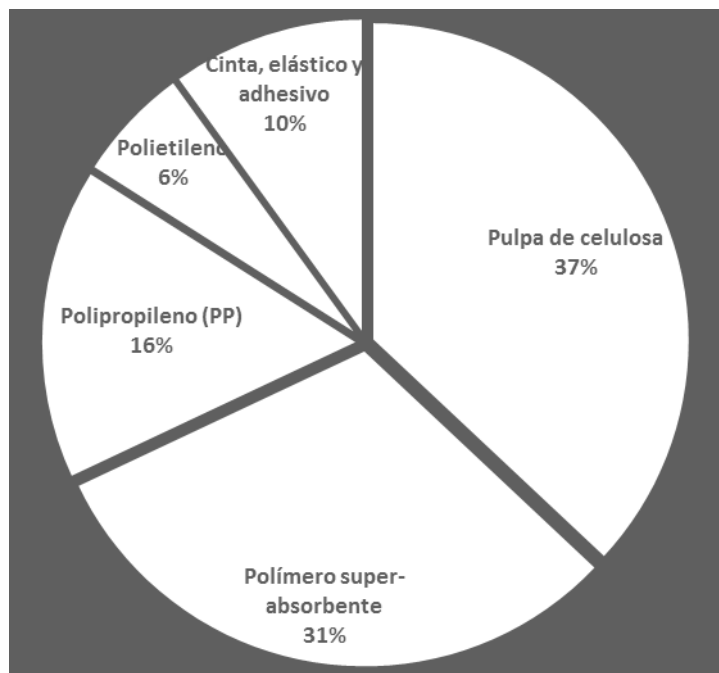


Figura 2-1. Composición típica de un pañal desechable

Un pañal de bebé usado contendrá además residuos formados por las heces y la orina, que consiste en aproximadamente 30g de carbón, 10-12g de nitrógeno, 2g de fósforo y 3g de potasio (Oh y Shinogi, 2013), susceptibles de ser degradados. La masa de estos residuos ha sido reportada en diversos estudios: Torrijos y colaboradores (2014), determinaron un contenido de 192 g de excretas, compuesta en promedio de 18% heces y 82% de orina; Colón y colaboradores (2011), reportaron un promedio de desechos por pañal de 171 g, con una distribución diferente (6% heces y 94% de orina).

## **2.4 IMPACTO DE LOS PAÑALES DESECHABLES EN EL AMBIENTE**

Recientes análisis de ciclo de vida de pañales desechables han demostrado que el suministro y la producción de materiales para la fabricación de los pañales son los procesos que más contribuyen a la llamada “huella ambiental” (Weisbrod y Van Hoof, 2012). Dependiendo del indicador considerado, la contribución relativa de este subsistema de suministro y producción de materiales al total de los impactos varía de 63% a 99% (Cordella *et al.*, 2015).

El componente mayoritario de los pañales es la celulosa en copos fluff (36.6%) que proviene de la pulpa de coníferas. Los impactos ambientales asociados son la deforestación (si la celulosa proviene de bosques naturales) o el empobrecimiento del suelo (si proviene de plantaciones, debido a las especies de crecimiento rápido que se utilizan). Las plantas a partir de las cuales se fabrica la celulosa son también muy contaminantes y consumen grandes cantidades de agua (EDANA, 2008).

El polímero súper absorbente o SAP, contenido en un 30.7%, está formado por cristales de poliacrilato sódico, cuyo proceso de fabricación es el más contaminante de todos los procesos de fabricación de los materiales que componen los pañales (EDANA, 2008). Su producción requiere grandes cantidades de agua, petróleo y gas natural; por otro lado, es el principal responsable de las emisiones de CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, SO<sub>2</sub> y NO<sub>2</sub> en la producción de pañales desechables.

Los otros componentes de los pañales (polipropileno, poliestireno, gomas, adhesivos, plástico del empaquetado) son derivados del petróleo. Los principales impactos asociados a su producción son las emisiones de CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, SO<sub>2</sub> y NO<sub>2</sub>, así como el consumo de un recurso no renovable como el petróleo (Hakala *et*

*al.*, 1997). Globalmente, en la fabricación de una tonelada de pañales desechables para niños se consumen 1,167.82 kg de materiales manufacturados, 440 litros de agua y 7,239 kWh, generando también unos 100 kg de residuos (Puig y Calaf, 2009a y 2009b).

Los impactos sobre el medio debido al transporte, comercialización y uso de los pañales se reducen a los gastos energéticos y a las emisiones de gases causadas por los desplazamientos y al mantenimiento de las infraestructuras (Colón *et al.*, 2011).

La disposición de pañales desechables usados en rellenos sanitarios genera impactos ambientales, principalmente relacionados con el incremento en el calentamiento global y el daño a la capa de ozono (Aumonier y Collins, 2005), así como el uso de la tierra, las emisiones de metano y posibles lixiviados a las aguas subterráneas debido a la presencia de residuos orgánicos. La eliminación de los residuos orgánicos sin un tratamiento previo también puede suponer un riesgo para la salud humana, en este caso principalmente por la presencia de microorganismos patógenos que pueden provenir de las heces de los pañales (Colón *et al.*, 2011). La fase final de la vida de un pañal desechable contribuye con el 12% de los impactos ambientales (Weisbrod y Van Hoof, 2012). Esto depende intrínsecamente de los supuestos considerados para el escenario de eliminación de los residuos: 63% en rellenos sanitarios, 25% para incineración con recuperación de energía y 12% para incineración sin recuperación de energía. Se puede esperar que el final de la vida de los residuos produzca efectos reducidos o beneficiosos para el ambiente si se promovieran prácticas de aprovechamiento a través de la recuperación de materiales y/o de energía (Cordella *et al.*, 2015). Sin embargo, dada la gran cantidad de pañales usados que se desechan cada día, estimada en 73 millones en México, así como a su disposición en rellenos sanitarios y tiraderos, estos efectos llegan a ser significativos.

## **2.5 PRESENCIA DE LOS PAÑALES DESECHABLES USADOS EN LOS RESIDUOS SÓLIDOS URBANOS**

La cantidad de residuos sólidos urbanos (RSU) generados en un país está relacionada con la tasa de urbanización, los tipos y patrones de consumo, los ingresos de los hogares y estilos de vida. En los últimos años el continuo crecimiento en la generación de residuos se ha convertido en uno de los

principales problemas ambientales al que las sociedades modernas tienen que hacer frente. Dentro de esta problemática se encuentran los impactos potenciales de su gestión inadecuada en la salud humana y el ambiente (contaminación de suelo y agua, calidad del aire, uso del suelo y del paisaje) (OCDE, 2014).

En casi todos los países desarrollados y en vías de desarrollo, los pañales desechables constituyen un porcentaje en peso relativamente elevado de los residuos sólidos urbanos. En las tablas 2-1 y 2-2 se presenta el porcentaje de pañales desechables usados presentes en los RSU, en los países miembros de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE) y los países de América Latina. Los datos presentados se calcularon considerando seis pañales en promedio por niño y por día, un peso promedio de 210 g por pañal usado (Colón *et al.* 2011), así como la estimación de la cantidad de niños de 0-2 años, de cada país miembro de la OCDE (OCDE, 2014) y de los países de América Latina y el Caribe (OPS, 2010).

Tabla 2-1. Porcentaje en peso de pañales desechables usados en los RSU de los países miembros de la OCDE (elaborado con datos de Colón *et al.*, 2011 y OCDE, 2014)

País	% pañal	País	% pañal	País	% pañal	País	% pañal	País	% pañal
Australia	2.69	Estonia	4.78	Irlanda	3.62	España	2.96	<b>México</b>	<b>7.46</b>
Austria	2.14	Finlandia	2.86	Israel	4.33	Suecia	3.06	Países Bajos	2.41
Bélgica	2.96	Francia	3.28	Italia	2.32	Suiza	1.93	Nueva Zelanda	3.41
Canadá	3.66	Alemania	1.93	Japón	3.04	Turquía	6.13	Noruega	3.07
Chile	5.27	Grecia	2.45	Corea	3.12	Reino Unido	3.22	Polonia	4.35
República Checa	3.77	Hungría	3.48	Luxemburgo	2.33	Estados Unidos	2.62	Portugal	2.81
Dinamarca	1.98	Islandia	3.36	Eslovenia	2.98	OECD-Europa	2.67	Eslovaquia	4.66



Tabla 2-2. Porcentaje en peso de pañales desechables usados en los RSU de países de América Latina y el Caribe (elaborado con datos de Colón *et al.*, 2011 y OPS, 2010)

<b>País</b>	<b>% pañales</b>
Argentina	5.81
Bolivia	18.57
Chile	4.38
Colombia	10.79
Costa Rica	7.19
República Dominicana	6.85
Ecuador	10.78
El Salvador	7.56
Guatemala	17.03
<b>México</b>	<b>7.46</b>
Panamá	6.11
Paraguay	7.12
Perú	9.56
Uruguay	4.78
Venezuela	8.96

En general, los porcentajes de generación de pañales desechables calculados guardan una relación directa con indicadores de actividad, tamaño poblacional y desarrollo de los distintos países. Puede apreciarse que la mayoría de los países de América Latina y el Caribe presentan mayor generación que los países miembros de la OCDE. La composición de los residuos también varía en cada país (si hay más desarrollo, hay más envases y embalajes, lo que reducirá las proporciones de otros residuos), además de que el número de niños es otro factor a considerar para definir la cantidad de pañales generados.

## **2.6 MÉTODOS DE TRATAMIENTO Y DISPOSICIÓN DE LOS PAÑALES DESECHABLES USADOS**

En la actualidad, los pañales usados no suelen ser recolectados por separado, salvo en algunas ciudades de países como Estados Unidos, España, Nueva Zelanda, Reino Unido y Canadá, en los que el servicio es ofrecido principalmente por empresas privadas (Atlanta Diaper Service, 2013; Blessed Bums, 2011; Do Good Diapers, 2011; Earth Baby, 2008; Ivy's Diaper Service, 2011; Tiny Tots Diaper Service, 2011; Pish Posh Diaper Co, 2013; Environcomp, 2011; Knowaste, 2017; Green Bin Organics Program, 2013). Generalmente se encuentran mezclados con los otros residuos sólidos urbanos para su posterior tratamiento, sea la incineración o el enterramiento en sitios de disposición final

(Mirabella *et al.*, 2013), sin embargo, estos tratamientos presentan algunos problemas a considerar antes de llevarlos a cabo (figura 2-2).

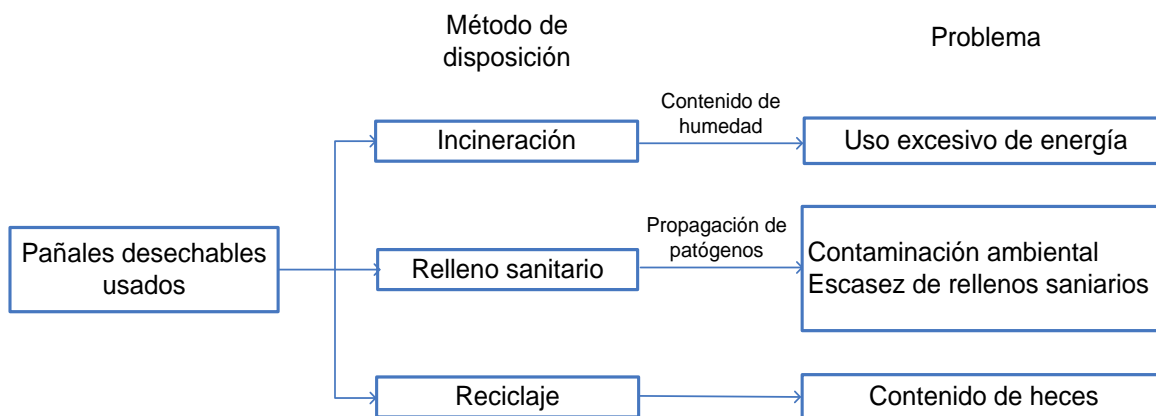


Figura 2-2. Métodos tradicionales de tratamiento de los pañales desechables usados y sus efectos negativos (traducido de Yeh *et al.*, 2006)

### 2.6.1 Disposición en relleno sanitario

Una proporción significativa de los pañales desechables usados, especialmente en países en desarrollo, tiene como destino los rellenos sanitarios. A pesar de lo anterior, no hay un estudio profundo del comportamiento de estos residuos en ese entorno. Light y colaboradores en 1995, llevaron a cabo un estudio a nivel laboratorio sobre las características de compactación de los pañales desechables en un relleno sanitario. Este estudio evaluó diferentes proporciones de una mezcla de pañales y residuos sólidos (0 a 15% de peso neto de los pañales desechables), que se compactaron en ocho pruebas ordenadas al azar, considerando la densidad de los residuos compactados bajo las presiones aplicadas como la variable de respuesta. Se concluyó que los pañales desechables ocupan un espacio en el relleno que se pudiera destinar para otros materiales; en general ocupan los huecos alrededor de los materiales más rígidos cuando las cantidades son inferiores al 10% del volumen total de la mezcla de residuos. Este estudio recomendó no excluir a los pañales desechables de los rellenos sanitarios con una perspectiva de ahorro de volumen.

### 2.6.2 Incineración

En la mayoría de los países desarrollados tales como Canadá, Reino Unido, Japón, España y Bélgica, los pañales son recolectados e incinerados junto con los residuos orgánicos. Esta medida, además de reducir el volumen de los residuos generados, permite eliminar el riesgo de diseminación de los

patógenos que pudiesen estar contenidos en los pañales. Sin embargo, debido a que su composición incluye varios polímeros y compuestos orgánicos, su combustión podría generar contaminantes, si no se controla adecuadamente (Riber, 2007). Aunque no se ha determinado el valor energético de los pañales desechables usados, puede esperarse que éste sea bajo, debido al alto contenido de humedad que presentan.

## 2.7 VALORIZACIÓN DE LOS PAÑALES DESECHABLES USADOS

Además de los tratamientos convencionales descritos previamente, se han estudiado a nivel laboratorio procedimientos que buscan la valorización material o energética de los pañales desechables usados.

### 2.7.1 Composteo

Los pañales son composteables porque su componente mayoritario es la celulosa que puede ser convertida en composta factible de ser utilizada para mejorar la calidad del suelo y en parte sustituir a los fertilizantes minerales. Entre las ventajas que presenta someter los pañales al proceso de composteo, se encuentra que la presencia de este residuo en el proceso no afecta la calidad y esta composta puede ser utilizada como biofertilizante.

A nivel mundial existen empresas dedicadas al tratamiento de los pañales desechables por composteo tal como se muestra en la tabla 2-3 (Espinosa *et al.*, 2013).

Tabla 2-3. Principales empresas identificadas como referencia de tratamiento por composteo (Espinosa *et al.*, 2013)

<b>País</b>	<b>Empresa</b>	<b>Observaciones</b>
Estados Unidos	Atlanta Diaper Service Blessed Bums Do Good Diapers Earth Baby Ivy's Diaper Service Pish Posh Diaper Co. Tuny Tots Diaper Service	Servicio de recolección y composteo de pañales desechables a particulares (Atlanta Diaper Service, 2013; Blessed Bums, 2011; Do Good Diapers, 2011; Earth Baby, 2008; Ivy's Diaper Service, 2011; Tiny Tots Diaper Service, 2011; Pish Posh Diaper Co, 2013).
Nueva Zelanda	Environcomp	Servicio de recolección de pañales desechables en sitios y contenedores específicos. Servicio de bolsas especiales para composteo en casa (Environcomp, 2011).
Reino Unido	Environcomp Knowaste	Servicio de recolección y composteo de pañales desechables a particulares (Environcomp, 2011; Knowaste, 2017).
Canadá	Green Bin Organics Program	Servicio subsidiado de recolección en sitios y contenedores específicos, composteo de residuos orgánicos y sanitarios (Green Bin Organics Program, 2013).

Colón y colaboradores (2013), llevaron a cabo un estudio a gran escala de composteo de la fracción orgánica de residuos sólidos urbanos (FORSU), recogidos puerta a puerta, empleando un 3% en peso de pañales composteables o biodegradables. Los resultados obtenidos demostraron que tanto el proceso de composteo como el producto final (composta) no se alteran por la presencia de los pañales composteables en aspectos cruciales tales como el contenido de patógenos, la estabilidad y la composición elemental (incluyendo nutrientes y metales pesados). La principal conclusión de este estudio fue que la recogida de la FORSU con pañales composteables puede ser una nueva forma de transformar estos residuos en composta de alta calidad.

En 2014 Espinosa y colaboradores llevaron a cabo un estudio incorporando al proceso de composteo de residuos de jardinería un 30% en peso de pañales desechables usados, con resultados muy alentadores ya que el composteo no se vio afectado por la presencia de los pañales. La temperatura llegó a 60-70°C en la etapa termofílica, y se estabilizó al final del proceso entre 20-30 °C, el incremento inicial garantiza la eliminación de patógenos. Los demás parámetros presentaron valores esperados para un buen proceso de composteo. Los pañales redujeron su volumen en más del 50%, al degradarse de manera eficiente su contenido celulósico, y los plásticos se separaron al final del proceso por tamizado.

Entre los estudios dirigidos al composteo, se ha podido concluir que el proceso presenta tendencias similares en cuanto a la evolución de los parámetros habituales (temperatura, contenido de oxígeno, humedad y contenido de materia orgánica) y a la actividad biológica (reportada como el índice de la respiración), tanto en el composteo de pañales convencionales como en el composteo de pañales conocidos como composteables.

Así mismo, los estudios sobre el uso y aplicación de la composta producida en estos procesos, indican que no se ven afectadas especies vegetales crecidas sobre estas compostas (Colón *et al.*, 2011; Colón *et al.*, 2013; Espinosa *et al.*, 2003; Espinosa *et al.*, 2014; Sotelo-Navarro, 2014; Gerba *et al.*, 1995; MacLeod *et al.*, 1998).

### **2.7.2 Degradación con hongos**

Se han llevado a cabo trabajos encaminados a evaluar la viabilidad de la degradación de los pañales desechables usados, por la actividad del hongo

*Pleurotus ostreatus*, también conocido como hongo ostra, debido a que éste se ha aplicado ampliamente para degradar materiales celulósicos de fuentes agroindustriales. El peso y el volumen de los materiales degradables se redujo hasta un 90%, lo que indicó que el cultivo de *P. ostreatus* sobre los pañales desechables usados podría ser una buena alternativa para la reducción de los residuos sólidos urbanos. Sin embargo, este tipo de tratamiento resulta complicado de adaptar a la escala de generación de pañales usados, por lo que es necesario ensayar y optimizar procesos que puedan aplicarse a grandes volúmenes de estos residuos (Espinosa, 2002; Espinosa *et al.*, 2011).

### 2.7.3 Reciclaje

Se ha evaluado la posibilidad de reciclar los componentes de los pañales desechables. La idea básica es recolectar separadamente estos productos, separar sus diferentes componentes: pulpa de madera, material súper absorbente y plásticos, para posteriormente reciclarlos. Se ha encontrado que técnicamente es posible cierto tipo de reciclaje. La principal limitación es el alto costo económico de la recolección y manejo de pañales desechables (Conway *et al.*, 1996; Grimes y Greenfield, 2010).

El proceso comprende una primera etapa de remojo en una solución acuosa para eliminar partículas y/o materia soluble de los productos a tratar. La operación de remojo se ejecuta en condiciones que conducen a la separación no destructiva de los constituyentes. El producto obtenido se trata a continuación con una solución de lavado y una solución adicional que incluye el blanqueo y agentes antimicrobianos. Finalmente, los plásticos y el material celulósico se recuperan en corrientes separadas.

### 2.7.4 Co-digestión anaerobia

Torrijos y colaboradores (2014), proponen, tomando como base la patente de Conway y colaboradores (1996) para la separación de los componentes de los pañales desechables usados, el desviar los pañales usados de los flujos de residuos sólidos urbanos y los métodos clásicos de eliminación, como la incineración o el depósito en rellenos mediante el diseño de un enfoque que supone el reciclado de material y valorización energética.

El tratamiento propuesto por Torrijos y colaboradores de los pañales desechables usados en un centro industrial consta de la recuperación de la fracción de plástico para ser reciclada como materia prima y de su fracción

biodegradable (FBP) para la producción de energía mediante co-digestión anaerobia con lodos de aguas residuales. A escala laboratorio obtuvieron un rendimiento de metano de la FBP de 280 ml CH<sub>4</sub>/g SV alimentados, y con ello mostraron que la co-digestión de la FBP con lodos activados es técnicamente factible.

#### 2.7.5 Pirólisis

En 2013, Oh y Shinogi, evaluaron la posibilidad de utilizar el residuo sólido (ceniza), del procesamiento pirolítico de pañales desechables usados para la remediación de suelos, encontrando resultados alentadores para la aplicación de esta tecnología. Se probaron tres diferentes temperaturas de incineración 500, 700 y 900 °C, obteniéndose un contenido de cenizas de 19.10, 51.65 y 52.18% respectivamente. Se concluyó que el residuo sólido obtenido a altas temperaturas ofrece una opción potencialmente efectiva, debido a que las características fisicoquímicas de la ceniza obtenida mejoran la calidad de la misma y el contenido de nutrientes permite su aplicación como mejorador de suelos.

#### 2.7.6 Efecto y reutilización del SAP

Algunos estudios tratan de evaluar los efectos de la presencia del poliacrilato de sodio y su relación con los procesos de composteo o la utilización de este súper-absorbente como un agente para la retención de agua en suelos. Los resultados indican que el SAP no representa un impedimento para el proceso de degradación de los pañales, ya que la mayor parte queda retenida con la materia orgánica, y que de este componente únicamente se degradan las partículas de bajo peso molecular (un 8% del total), que son las que presentan mayor movilidad, el resto conserva su estructura molecular (Stegman *et al.*, 1993; Cook *et al.*, 1997).

## 2.8 PERSPECTIVAS EN EL TRATAMIENTO Y VALORIZACIÓN DE LOS PAÑALES DESECHABLES USADOS

Se han realizado diversos estudios a nivel laboratorio sobre el tratamiento de los pañales desechables usados y algunos de sus componentes. Aunque la escala de las pruebas realizadas es pequeña y la mayoría de los estudios están enfocados a aspectos muy concretos, en general las conclusiones son positivas.

El panorama mundial sobre la gestión integral de los residuos prevé un rápido aumento de los impactos ambientales producidos por éstos, una estimación sobre la situación de los residuos hecha para 2025 revela resultados alarmantes, especialmente en los países de bajos ingresos, donde dicha gestión es una prioridad urgente (OCDE, 2014).

Sin embargo, hasta ahora no se han reportado estudios de producción de otras bioenergías atractivas como hidrógeno y alcoholes ni otros bioproductos a partir de pañales desechables usados, siendo que la celulosa de la FBP es un sustrato adecuado para la obtención de una gran variedad de bioproductos. Por otro lado, falta aún para los pocos procesos ensayados la demostración de su viabilidad técnica y económica a escala industrial. De hecho, las características de los plásticos como materia prima y sus posibles patrones de reciclaje necesitan ser estudiados, así como nuevas alternativas más prometedoras y productivas de tratamiento de este tipo de residuos.

## **2.9 PRODUCCIÓN DE HIDRÓGENO MEDIANTE LA FERMENTACIÓN OSCURA DE RESIDUOS**

Durante décadas, el uso y abuso de los combustibles fósiles (ya sea en forma líquida, gaseosa o sólida) ha causado la contaminación del suelo, aire y agua. Recientemente, se han propuesto diversos combustibles alternativos para sustituir a dichos combustibles; el hidrógeno es uno de estos combustibles alternativos que se reconocen como un portador de energía prometedor para el futuro. Se considera un combustible limpio ya que no tiene carbono, azufre o nitrógeno que causan la contaminación durante la combustión (Váldez-Vázquez y Poggi-Varaldo, 2009).

La mayor parte del hidrógeno se usa en la producción de amoníaco y fertilizantes, en industrias petroquímicas y metalúrgicas con muy poco uso como portador de energía. En el futuro, es probable que el uso del hidrógeno como combustible de transporte en los vehículos de celdas de combustible o de motores de combustión interna aumente debido a la preocupación por la posible escasez de petróleo y las emisiones de gases de efecto invernadero y otras emisiones contaminantes (Sukhvinder et al., 2012).

Se ha informado que 60 millones de toneladas de hidrógeno se comercializan anualmente en el mundo, con una tasa de crecimiento de casi el 10% por año (Sukhvinder et al., 2012; Winter 2010). Debido a la creciente

necesidad de energía de hidrógeno, el desarrollo de tecnologías para su producción, rentables y eficientes, ha ganado mucha atención en los últimos años (Kapdan y Kargi, 2006).

### 2.9.1 Métodos de producción de hidrógeno

Los métodos convencionales de producción de hidrógeno son el reformado con vapor de metano (SRM), y otros hidrocarburos (SSR), la oxidación parcial no catalítica de combustibles fósiles (POX) y la auto-reformación térmica. Esos son procesos intensivos de energía que requieren altas temperaturas (>850 °C). Otros métodos desarrollados para mejorar las tecnologías existentes son los procesos de membrana, la oxidación selectiva de metano y la deshidrogenación oxidativa.

La producción biológica de hidrógeno es una alternativa a los métodos mencionados anteriormente. De acuerdo con los temas de desarrollo y de minimización de residuos sostenible, la producción de biohidrógeno a partir de fuentes renovables, también conocido como "tecnología verde" ha recibido considerable atención en los últimos años. La producción de biohidrógeno puede ser realizada por microorganismos anaerobios y microorganismos fotosintéticos que utilizan materias primas ricas y no tóxicas de hidratos de carbono. En condiciones anaerobias, el hidrógeno se produce como un subproducto durante la conversión de residuos orgánicos en ácidos orgánicos que luego se utilizan para la generación de metano. La fase acidogénica de la digestión anaerobia de los residuos puede ser manipulada para mejorar la producción de hidrógeno. En los procesos fotosintéticos, son algas las que utilizan CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O para la producción de hidrógeno. Algunas bacterias foto-heterótrofas utilizan ácidos orgánicos tales como los ácidos acético, láctico y butírico para producir H<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>. Las ventajas del segundo método son tasas más altas de producción de gas y la utilización de materiales de desecho para la producción. Sin embargo, la tasa de H<sub>2</sub> de producción es baja y la tecnología necesaria para este proceso necesita un mayor desarrollo (Levin *et al.*, 2004).

Los estudios en la producción de hidrógeno biológico se han enfocado principalmente en la biofotólisis del agua empleando algas y cianobacterias, la fotofermentación de compuestos orgánicos por bacterias fotosintéticas y la fermentación oscura de compuestos orgánicos ricos en carbohidratos mediante bacterias anaerobias. La obtención de hidrógeno por procesos fermentativos o

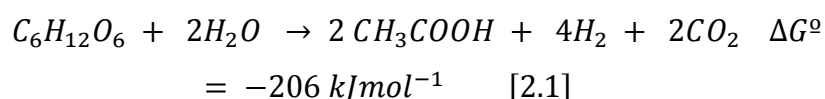


fermentación oscura aparenta ser la más favorable puesto que se puede generar de forma continua y a altas tasas de producción comparada con los otros procesos biológicos (Hallenbeck y Ghosh, 2009; Show *et al.*, 2011). Además, si se utiliza materia orgánica de residuos, es posible obtener un producto con valor agregado a partir del tratamiento de un desecho. Entre estos desechos se encuentran residuos agroindustriales, bagazo de caña de azúcar, cáscara de piña, fracción orgánica de residuos urbanos, residuos de fruta de la industria de jugos, alimentos secos de cafetería, papel de oficina, entre otros (Cavinato *et al.*, 2013; Escamilla-Alvarado *et al.*, 2012; Poggi-Varaldo *et al.*, 1999; Robledo-Narváez *et al.*, 2013; Váldez-Vázquez *et al.*, 2006a).

### 2.9.2 Fermentación oscura

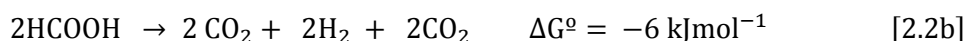
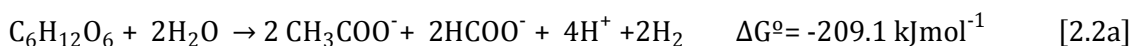
La generación de biohidrógeno a través de la fermentación oscura se logra principalmente por bacterias estrictamente anaerobias o anaerobias facultativas. En general, son especies del género *Clostridium* formadoras de esporas, facultativas de los géneros *Enterobacter* y *Bacillus* (Chen *et al.*, 2005; Long *et al.*, 2010), algunas bacterias termofílicas (Cakır *et al.*, 2010; Zhang *et al.*, 2003) y acidogénicas anaerobias provenientes de lodos (Chen *et al.*, 2005).

Usualmente, los monosacáridos son la principal fuente de carbono, particularmente la glucosa seguida de la xilosa, el almidón, la celulosa y otras fuentes que pueden ser generadas a partir de la hidrólisis de polisacáridos, proteínas y lípidos; por esta razón la reacción de biotransformación de la glucosa a ácido acético, H<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> (Ec. 2.1), es la ecuación ampliamente aceptada como referencia para la estimación de la producción teórica del hidrógeno fermentativo (Argun y Kargi, 2011; Ntaikou *et al.*, 2010).



De acuerdo con esta reacción la producción máxima teórica de biohidrógeno a partir de la fermentación de la glucosa es de 4 moles de H<sub>2</sub> por mol de glucosa consumida cuando el ácido acético es el único ácido graso volátil (AGV) producido. En cuanto a la energía libre de Gibbs el valor negativo indica que en la reacción se forman productos espontáneamente sin necesidad de requerimientos energéticos externos.

La máxima producción teórica de hidrógeno también se puede lograr en un proceso de dos etapas mediante la fermentación de la glucosa a acetato y formiato de acuerdo con las reacciones 2.2a y 2.2b.



### 2.9.3 Bioquímica de la fermentación oscura

La fermentación oscura es un tipo de catabolismo anaeróbico que consiste en un equilibrio de oxidación-reducción en la ausencia de aceptores de electrones, tales como oxígeno, sulfato, nitrato y hierro (Argun y Kargi, 2011; Ntaikou *et al.*, 2010).

Si se emplea la glucosa como sustrato modelo, las bacterias productoras de  $\text{H}_2$  la convierten en piruvato por vías inicialmente glucolíticas a través de la producción de adenosin trifosfato (ATP), adenosin difosfato (ADP) y la forma reducida de nicotinamida adenina (NADH) (Li y Fang, 2007; Ghimire *et al.*, 2015). El piruvato se oxida a acetil coenzima A (acetil-CoA), dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) y  $\text{H}_2$  por la acción de las enzimas piruvato ferredoxina oxidorreductasa y hidrogenasa. Dependiendo del tipo de microorganismo y de las condiciones ambientales, el piruvato también se puede convertir en acetil-CoA y formiato, que se puede convertir además en  $\text{H}_2$  y  $\text{CO}_2$ . Además, la acetil-CoA puede ser convertida en acetato, butirato, y etanol (Li y Fang, 2007).

Cuando la vía metabólica es tal que favorece la producción de ácido acético, el rendimiento estequiométrico de  $\text{H}_2$  es de 4 moles por cada mol de glucosa (es decir, 544 ml  $\text{H}_2$ /g de hexosa a 25 °C). Cuando el producto final es el ácido butírico, el rendimiento es de 2 mol de  $\text{H}_2$  por mol de glucosa (es decir, 272 ml  $\text{H}_2$ /g de hexosa a 25 °C) (Li y Fang, 2007). Sin embargo, el rendimiento de hidrógeno real es menor que el rendimiento teórico, debido a que parte del sustrato se utiliza para la producción de biomasa y a que la degradación de los sustratos puede seguir otras vías bioquímicas sin la producción de hidrógeno (Hallenbeck y Benemann, 2007; Nath y Das, 2004). Bajo algunas condiciones, las vías metabólicas conducen a la producción de etanol y acetato, bajando el rendimiento de hidrógeno estequiométrico a 2 moles de  $\text{H}_2$  por mol de glucosa (es decir, 272 ml  $\text{H}_2$ /g de hexosa a 25 °C) (figura 2-3).

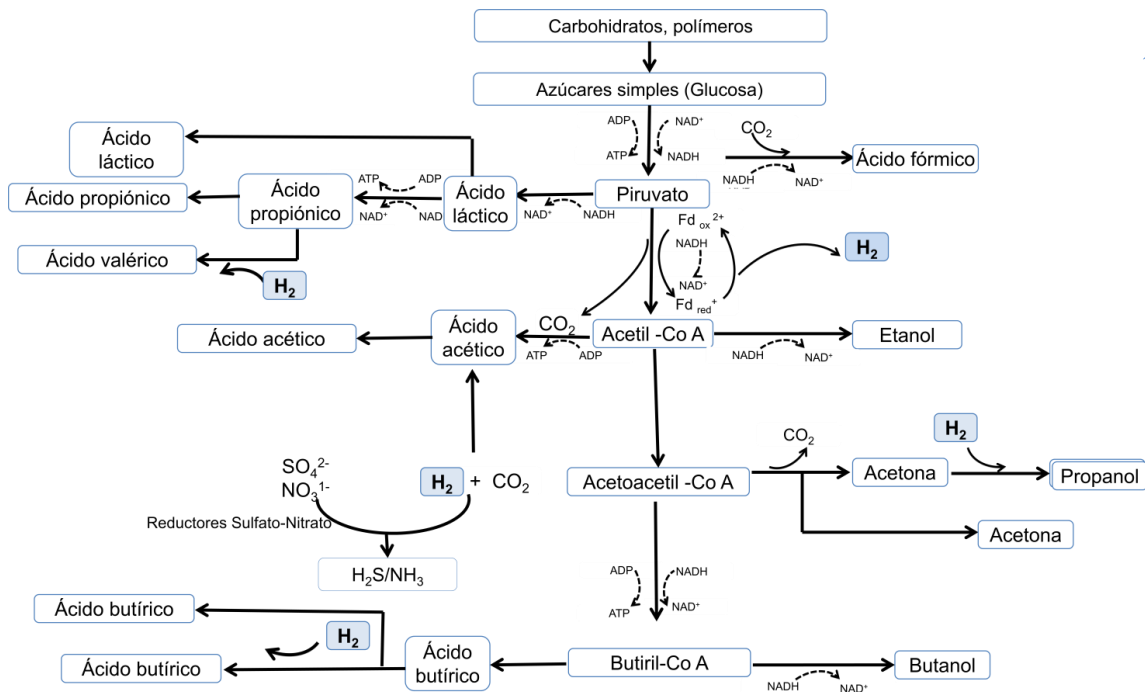


Figura 2-3. Rutas metabólicas de la fermentación oscura (Elaboración propia)

#### 2.9.4 Factores que afectan la producción de biohidrógeno

La producción de hidrógeno depende de varios factores, los cuales están asociados con condiciones ambientales, operacionales y químicas. Estos factores han sido evaluados por diferentes investigadores con el objetivo de obtener la máxima producción de 4 moles de  $H_2$  por mol de glucosa. En esta sección se revisará cada uno de ellos, explicando cómo afectan la producción de biohidrógeno.

##### **Inóculo**

*Clostridium* y *Enterobacter* son los géneros más ampliamente utilizados como inóculo para la producción de hidrógeno por fermentación (Wang y Wan 2009a; Zhang *et al.*, 2006). Los cultivos mixtos de bacterias anaerobias de lodos, de composta y de suelo también han sido ampliamente utilizados como inóculo para la producción de hidrógeno por fermentación (Li y Fang, 2007). Los procesos de producción de hidrógeno fermentativos utilizando cultivos mixtos son más prácticos que los que utilizan cultivos puros, debido a que los primeros son más sencillos de manejar y más fáciles de controlar, y pueden tener una fuente más amplia de materia prima (Li y Fang, 2007).

Además, también hay varios otros méritos potenciales del uso de consorcios microbianos en lugar de cultivos puros. Las fermentaciones de

hidrógeno tienen que ser llevadas a cabo en condiciones no estériles utilizando materias primas fácilmente disponibles con pretratamiento mínimo. El enriquecimiento de los consorcios les da capacidad de soportar una amplia variedad de actividades de metabolitos, y son potencialmente más resistentes a los cambios de las condiciones ambientales (Hallenbeck y Ghosh, 2009).

### **Sustrato**

Para la producción sostenible de hidrógeno se necesita que la materia prima cumpla con ciertos criterios, entre ellos que sea compuesta principalmente de hidratos de carbono, producida a partir de recursos sostenibles, en concentración suficiente para que la recuperación de la conversión digestiva y la energía sea energéticamente favorable, que se requiera un tratamiento previo mínimo y de bajo costo. Los criterios principales para la selección de materiales de desecho para ser utilizado en la producción de biohidrógeno son la disponibilidad, el costo, el contenido de hidratos de carbono y la biodegradabilidad.

La mayoría de los estudios que utilizaron cultivos puros de bacterias para la producción de hidrógeno por fermentación se realizaron en modo batch y utilizaron la glucosa como sustrato (Wang y Wan 2009b). Para la producción de H<sub>2</sub> no es ideal emplear sustratos con estructuras moleculares complejas debido a que éstos son difíciles de asimilar por los microorganismos, sin embargo después de emplear un pretratamiento con algunos métodos, estos sustratos pueden ser fácilmente asimilados por las bacterias productoras de H<sub>2</sub> (Wang y Wan, 2009a). Además, es de gran importancia la producción de hidrógeno a partir de residuos orgánicos mediante fermentación, ya que juega un doble papel, la reducción de residuos y producción de energía (Wang y Wan, 2009a).

### **pH del cultivo**

El pH es un factor importante que influye en la actividad de las bacterias productoras de H<sub>2</sub>, porque afecta la actividad de la hidrogenasa así como las rutas metabólicas (Show *et al.*, 2011; Wang y Wan 2009c).

Venkata (2009) informó que valores iniciales de pH de 5.5 a 7.5 pueden representar los rangos óptimos y aceptables para la producción de hidrógeno, mientras que el rendimiento de hidrógeno puede caer en forma pronunciada a pH fuera de la gama óptima. Mientras que el pH del sistema por debajo de 6 ha mostrado influencia negativa en la eficacia de degradación del sustrato debido a

la inhibición de los metanógenos, un aumento en el pH de alimentación se ha traducido en la supresión de la producción de hidrógeno. El control de pH podría estimular a los microorganismos para lograr la máxima capacidad de producción de hidrógeno debido a la actividad de hidrogenasa ya que puede ser inhibida a pH bajo o alto durante la fermentación (Venkata, 2009).

### **Temperatura**

La temperatura es un factor que influye en la actividad de las bacterias productoras de H<sub>2</sub> y en la producción de H<sub>2</sub> fermentativo, siendo un parámetro de tipo selectivo pues afecta la tasa de crecimiento y la ruta metabólica de los microorganismos. Las bacterias son capaces de producir H<sub>2</sub> en rangos de temperatura que van desde 15 hasta 85°C, en rango mesofílico (25-30 °C), termofílico (40-65 °C) e hipertermofílico (>80 °C) (Kanai *et al.*, 2005).

Estudios han mostrado que las temperaturas óptimas de producción de hidrógeno están en el rango de 37-45 °C para cultivos puros de especies de *Clostridium* o *Enterobacter*, mientras que la flora bacteriana mixta ha indicado diversas temperaturas óptimas que generalmente resultan más eficaces bajo condiciones termófilas (Lee *et al.*, 2006). Sin embargo, algunas investigaciones también han indicado una buena producción a temperatura ambiente, lo que puede permitir ahorros energéticos en el proceso (Muñoz-Páez *et al.*, 2014).

### **Nutrientes**

En los procesos fermentativos para producción de H<sub>2</sub>, el nitrógeno, los fosfatos y algunos iones metálicos son importantes para el crecimiento celular de las bacterias productoras de H<sub>2</sub>. El nitrógeno es un componente de las proteínas, ácidos nucleicos y enzimas, por lo tanto una concentración de nitrógeno apropiada favorece el crecimiento de las bacterias productoras de hidrógeno y la producción de H<sub>2</sub> fermentativo (Bisaillon *et al.*, 2006). En relación con los fosfatos, éstos son necesarios para la producción de H<sub>2</sub> debido a su valor nutricional, así como a su capacidad de taponamiento. Wang y Wan (2009c) mencionan que, en un rango apropiado, aumentar la concentración de fosfatos incrementa la capacidad de las bacterias productoras de H<sub>2</sub> para producir hidrógeno fermentativo.

Los iones metálicos más importantes en la producción de H<sub>2</sub> fermentativo son el Mg<sup>2+</sup>, Na<sup>+</sup>, Zn<sup>2+</sup> y Fe<sup>2+</sup>, dado que estos elementos son necesarios para los co-factores enzimáticos, los procesos de transporte y las deshidrogenasas (Lin

y Lay, 2005). De estos iones el  $\text{Fe}^{2+}$  es el que más se ha investigado al ser un componente clave en la actividad enzimática de la hidrogenasa (Wang y Wan, 2009c).

### ***Presión parcial de hidrógeno***

La concentración de hidrógeno disuelto en la fase líquida, contribuye a la presión parcial de hidrógeno, y es uno de los factores clave que afectan a las vías microbianas en la producción de hidrógeno por fermentación. La producción de hidrógeno es menos favorable a medida que aumenta la presión parcial de hidrógeno (Tiwari *et al.*, 2006; Váldez-Vázquez *et al.* 2006a).

Por lo tanto, es importante eliminar el exceso de hidrógeno del sistema para mantener su producción. Varios estudios han puesto de manifiesto que la reducción de presión parcial de hidrógeno puede mejorar considerablemente la producción. Muchas estrategias de separación o eliminación de gas hidrógeno en exceso han sido desarrolladas para evitar el efecto negativo de la acumulación de hidrógeno en la fase gaseosa. Hussy y colaboradores (2003) informaron un aumento del rendimiento de hidrógeno de 1.5 veces (1.3-1.9 mol mol<sup>-1</sup>) por hexosa mediante burbujeo del reactor con nitrógeno para reducir el hidrógeno en el gas de escape de 50% a 7%.

### ***Inhibiciones del proceso***

La inhibición del producto se presenta generalmente en la producción de hidrógeno por las funciones metabólicas de los microorganismos anaerobios. Si la parte disociada de metabolitos solubles (es decir: etanol, acetato, ácido propiónico, ácido butírico, entre otros) está presente en el sistema de producción de hidrógeno por fermentación en una alta concentración, la fuerza iónica aumentará, lo que puede resultar en la lisis celular de las bacterias productoras de hidrógeno (HPB). Como resultado, a una concentración elevada, estos metabolitos solubles pueden inhibir el crecimiento de bacterias que producen hidrógeno y limitar la producción fermentativa de hidrógeno en consecuencia (Van Niel *et al.*, 2003, Van Ginkel y Logan, 2005, Zheng y Yu, 2005, Wang *et al.*, 2008a, Wang *et al.*, 2008c, Tang *et al.*, 2012, Tang *et al.*, 2014). También se ha demostrado que algunas sales o hidrógeno pueden cambiar el pH intracelular de HPB, aumentar el requisito de energía de mantenimiento de HPB o inhibir algunas enzimas específicas relacionadas con la producción fermentativa de

hidrógeno y por lo tanto pueden inhibir el crecimiento de HPB y luego inhibir la producción de hidrógeno por fermentación.

En la práctica se obtienen bajas producciones de  $H_2$  debido a que parte de la glucosa es empleada por los microorganismos para su sustento y crecimiento. Adicionalmente, cuando la transformación genera como subproducto ácido butírico se producen 2 moles de  $H_2$  por mol de glucosa y si se genera ácido propiónico se produce un consumo de 1 mol de  $H_2$  por mol de ácido propiónico generado (Argun y Kargi, 2011). La presencia de consumidoras de  $H_2$  tales como las bacterias homoacetogénicas, arqueobacterias metanogénicas y bacterias reductoras de nitratos y sulfatos es otro factor que reduce la producción de hidrógeno. Otros factores importantes que afectan el desempeño de la fermentación oscura están relacionados con las condiciones de operación tales como pH, tiempo de retención hidráulico, nutrientes, temperatura, concentración del sustrato, inóculo y tipo de sustrato (Valentine *et al.*, 2000). Adicionalmente, durante la producción fermentativa de hidrógeno, cuando se degrada sustrato, el crecimiento de bacterias que producen hidrógeno (HPB) se produce simultáneamente con la producción de hidrógeno, así como algunos metabolitos solubles, que pueden provocar inhibiciones en el proceso (Wang y Wan, 2009b).

Por otro lado, los metales pesados han sido reportados como tóxicos para la producción de  $H_2$  fermentativo de acuerdo con el siguiente orden de toxicidad:  $Cu > Ni > Zn > Cr > Cd > P$  (Li y Fang, 2007).

## 2.10 MODELOS CINÉTICOS DE PRODUCCIÓN DE HIDRÓGENO

La cantidad de hidrógeno obtenido por procesos fermentativos se puede cuantificar en términos de rendimiento y tasa. El rendimiento se define como la cantidad de  $H_2$  producido por cantidad de sustrato consumido y se expresa en unidades de mol  $H_2$ /mol de glucosa. La tasa de producción de hidrógeno (TPH) se define como la cantidad de  $H_2$  (mL) producido por unidad de tiempo y por unidad de volumen de reactor (tasa volumétrica) o por unidad de biomasa (tasa específica) (Argun y Kargi, 2011).

Los modelos matemáticos que logran simular los procesos de producción de biohidrógeno pueden ser útiles en la identificación de la combinación óptima de las variables del proceso, para maximizar los rendimientos de producción de hidrógeno. Las constantes cinéticas desarrolladas a partir de estos estudios de

modelado pueden ser validadas con datos experimentales para su uso en el diseño y desarrollo del proceso de producción de biohidrógeno. Los modelos que pueden predecir la combinación de productos pueden ser útiles en el diseño de los procesos posteriores de los efluentes (Wang y Wan, 2009d; Van Niel *et al.*, 2003; Zhen y Yu, 2005).

Una amplia revisión hecha por Wang y Wan (2009d) mostró que el modelo de Gompertz modificado se usa ampliamente para describir el progreso de un proceso de producción fermentativa de hidrógeno por lotes, mientras que el modelo de Monod es ampliamente utilizado para describir los efectos de la concentración de sustrato sobre las tasas de degradación, el crecimiento de bacterias productoras de hidrógeno y producción de hidrógeno. El modelo de Arrhenius se utiliza mucho para describir los efectos de la temperatura sobre la producción fermentativa de hidrógeno, mientras que el modelo modificado de Han-Levenspiel se utiliza para describir los efectos de la concentración de inhibidores en la producción de hidrógeno fermentativo. El modelo de Andrew se utiliza para describir los efectos de la concentración de iones  $H^+$  en la tasa de producción de hidrógeno específico, mientras que el modelo de Luedeking-Piret y su forma modificada fueron ampliamente utilizados para describir las relaciones entre la tasa de crecimiento de las bacterias productoras de hidrógeno y la tasa de formación de producto.

### **2.10.1 Ecuación de Gompertz y otros modelos relacionados**

La ecuación de Gompertz (Ec. 2.3) fue desarrollada por Zwietering y colaboradores en el año 1990, para describir el progreso de la degradación del sustrato, el crecimiento de bacterias productoras de hidrógeno (HPB), la producción de hidrógeno y algo de la producción de metabolitos solubles en una producción de hidrógeno por fermentación en lote. Esta ecuación se ha utilizado para describir la evolución de hidrógeno por fermentación oscura en aguas residuales de melaza (Wu y Lin, 2004), el efecto de la concentración de hierro en la fermentación de hidrógeno (Lee *et al.*, 2001), la producción de biohidrógeno a partir de lodos de depuradora (Cai *et al.*, 2004), la conversión fermentativa de almidón (Wang *et al.*, 2007) y los efectos de los metales pesados en la producción de hidrógeno utilizando una microflora mixta (Lin y Shei, 2008), entre otros. En este enfoque empírico, tres parámetros del modelo, tiempo de retardo, potenciales de producción de  $H_2$ , y tasas de producción de  $H_2$  se ajustan para



adaptarse a la ecuación de Gompertz, midiendo experimentalmente los datos de evolución de hidrógeno.

A pesar de que este enfoque de ajuste de curva produce altos coeficientes de correlación entre la observación y los datos de evolución de hidrógeno (Gadhamshetty *et al.*, 2010), los tres parámetros del modelo determinados por ajuste de curvas se limitan a condiciones experimentales específicas y no se pueden utilizar en un modo predictivo. Debido a esta naturaleza empírica, la utilidad de la ecuación de Gompertz está severamente limitada, ya que no puede dar cuenta de cualquiera de las variables relevantes del proceso tales, como las concentraciones de sustrato, temperatura, pH, inhibidores, entre otros, para fines de predicción.

En ciertos estudios, la ecuación de Gompertz se ha modificado para dar cabida a la cinética de degradación del sustrato, crecimiento de la biomasa, y la producción de hidrógeno (Mu *et al.*, 2006).

$$H = H_{\max} \exp \left\{ -\exp \left[ \frac{R_{\max}}{H_{\max}} (\lambda - t) + 1 \right] \right\} \quad [2.3]$$

donde H corresponde a la producción acumulada de H<sub>2</sub> (ml), H<sub>máx</sub> a la producción acumulada máxima de H<sub>2</sub> en (ml), R<sub>máx</sub> es la tasa de producción máxima de H<sub>2</sub> en (ml/h), t el tiempo del cultivo en (h) y λ el tiempo de retardo en (h) requerido para comenzar la evolución del H<sub>2</sub>. Esta ecuación ha sido empleada por diferentes autores (Gadhamshetty *et al.*, 2010; Lay *et al.*, 1999; Zhang *et al.*, 2003) con muy buenos ajustes ( $r^2 > 0.90$ ), y ha permitido correlacionar resultados experimentales con un modelo matemático de tipo predictivo.

Recientemente, el modelo logístico modificado (Ec.2.4), cuya curva es muy similar a la del modelo de Gompertz modificado, se utilizó por Wang y Wan para describir el progreso de la producción de hidrógeno en los ensayos por lotes utilizando glucosa como sustrato (Wang y Wang, 2008a). Además, también fue utilizado por Mu y colaboradores para describir el progreso del crecimiento de bacterias que producen hidrógeno (HPB) en ensayos por lotes (Mu *et al.*, 2007).

$$H = \frac{H_{\max}}{1 + \exp \left[ 4R_{\max} \frac{(\lambda - t)}{H_{\max} + 2} \right]} \quad \dots \dots \dots [2.4]$$

A pesar de que el modelo logístico modificado tiene una propiedad similar a la del modelo de Gompertz modificado y permite obtener algunas constantes que tienen significados biológicos, no se ha utilizado tan ampliamente como el modelo de Gompertz modificado. Por otra parte, el modelo de Richards, que también es aplicado para describir el crecimiento de bacterias productoras de hidrogeno y el progreso en la producción de hidrogeno por fermentación oscura, presenta limitaciones frente al modelo de Gompertz (Wang y Wan, 2009c). Mu y colaboradores realizaron una comparación de la capacidad de los modelos de Gompertz, logístico y de Richards modificados para describir el progreso del crecimiento de bacterias productoras de hidrógeno (HPB) en ensayos por lotes y llegaron a la conclusión de que el modelo de Gompertz modificado era el más adecuado (Mu *et al.*, 2007). En general, el modelo de Gompertz modificado puede ser fácilmente utilizado para describir el progreso de la degradación del sustrato, el crecimiento de HPB, la producción de hidrógeno y algo de la producción de metabolitos solubles en un proceso fermentativo de producción de hidrógeno por lotes, lo que hace que sea casi un modelo omnipotente. Por otra parte, su uso permite obtener algunas constantes que tienen significados biológicos, que pueden ser de gran importancia para un mejor entendimiento de un proceso (Wang y Wan, 2009d).

### **2.10.2 Modelos cinéticos tradicionales**

En general, los modelos cinéticos se podrían utilizar para describir la relación entre las principales variables de estado y explicar el comportamiento de la fermentación cuantitativamente. Además, pueden proporcionar información útil para el análisis, diseño y operación de un proceso de fermentación. Los modelos cinéticos se dividen normalmente en dos clases: una estructurada (competitiva) y no estructurada (no competitiva). Los modelos estructurados toman las rutas metabólicas en consideración y en general se complican (Mu *et al.*, 2006). En estos modelos se consideran simultáneamente los aspectos bioquímicos y fisiológicos de crecimiento, la síntesis de metabolitos y las tasas de fermentación con respecto al sustrato, efectos inhibitorios de consumo y de productos finales.

Por otro lado, los modelos cinéticos no estructurados son mucho más simples que los estructurados. En estos modelos los microorganismos se consideran generalmente un componente o reactivo en el sistema. Los modelos

cinéticos no estructurados son los empleados más frecuentemente para los sistemas de modelado porque son simples, pero son lo suficientemente buenos para usos técnicos (Chen *et al.*, 2001, Hu *et al.*, 2002 y Fujikawa *et al.*, 2004). En este respecto existen diferentes versiones basadas en los modelos cinéticos tradicionales que han tenido que sufrir modificaciones para adecuarse a las necesidades propias de los procesos que se tratan de describir.

Algunos estudios de biohidrógeno han utilizado las expresiones cinéticas convencionales, tales como la ecuación de Monod (Kumar *et al.*, 2000; Nath *et al.*, 2009; Ntaikou *et al.*, 2008; Mullai y Yogesweri, 2014) y la ecuación de Luedeking Piret (Zhang y Zeng, 2013; Nuñez *et al.*, 2014). Sin embargo, se requiere de simulaciones rigurosas y múltiples, seguidas por una serie de validaciones para establecer generalidad en las ecuaciones y los parámetros asociados (Wang y Wang, 2009d). Además, la amplitud de tales modelos se logra sólo cuando se pueden integrar fácilmente con otros bioprocesos complejos, es decir, la hidrólisis, acidogénesis, y la producción de H<sub>2</sub> de sustratos orgánicos complejos y de partículas. Con este fin, sería ventajoso desarrollar/adaptar un marco de modelado genérico, con la nomenclatura bien definida, y fácilmente disponible de parámetros cinéticos y constantes para predecir la producción de hidrógeno acumulado bajo diversas combinaciones de múltiples sustratos, cepas bacterianas y procesos (Gadhamshetty *et al.*, 2010).

### **2.10.3 Modelos relacionados con factores específicos que afectan el proceso**

En la actualidad se han desarrollado diversos modelos encaminados a describir, los procesos que se llevan a cabo en las diferentes fases de producción de hidrógeno, entre los cuales se pueden encontrar los que describen los efectos sobre las concentraciones del sustrato (Kumar *et al.*, 2000; Ntaikou *et al.*, 2010; Van Niel *et al.*, 2003; Wang y Wan, 2008a) y los que describen el efecto de concentraciones de algunos inhibidores en la producción de hidrógeno (Liu *et al.*, 2006, Van Niel *et al.*, 2003). Hasta ahora, la descripción de los efectos inhibitorios de algunas concentraciones de sal o de hidrógeno en las tasas de producción de hidrógeno, la degradación del sustrato y el crecimiento de HPB con el uso de estos modelos se hicieron principalmente para ensayos por lotes. Otros modelos evalúan también el efecto de la temperatura sobre la producción de hidrógeno (Wang y Wan, 2009d).

## 2.11 MODELACIÓN DEL PROCESO DE INHIBICIÓN

Se han propuesto algunos modelos cinéticos para describir los efectos inhibidores de algunas concentraciones de sal o del hidrógeno en la producción de hidrógeno por fermentación. Entre ellos, el modelo de Han-Levenspiel modificado (Ec. 2.5) se utiliza ampliamente (Van Niel *et al.*, 2003).

$$R = R_{max} \left(1 - \frac{C}{C_{crit}}\right)^m \quad [2.5]$$

donde  $R_{max}$  es la tasa máxima de crecimiento,  $C$  es concentración del inhibidor,  $C_{crit}$  es la concentración crítica del inhibidor,  $m$  es contante.

Wang y Wan (2008c) utilizaron la ecuación (2.6) para describir los efectos inhibitorios de concentraciones de acetato de sodio en las tasas específicas de la degradación de sacarosa y producción de hidrógeno en las pruebas por lotes. Por otra parte, Liu y colaboradores utilizaron la ecuación (2.7) para describir los efectos inhibitorios de las concentraciones de butirato en las tasas de crecimiento específicas de *Clostridium ack tyrobutyricum* y un mutante de *C. tyrobutyricum*, en pruebas de alimentación por lotes (Liu *et al.*, 2006).

$$R = \frac{R_{max}}{1 + \left(\frac{C}{K_c}\right)^m} \quad [2.6]$$

$$R = \frac{R_{max} K_c}{K_c + C} \quad [2.7]$$

donde  $K_c$  es una constante.

Van Niel y colaboradores (2003), utilizaron la ecuación (2.8) para describir los efectos inhibitorios combinados de concentraciones de sacarosa y acetato de sodio sobre la tasa de crecimiento específico de *Caldicellulosiruptor saccharolyticus*, en ensayos por lotes (Van Niel *et al.*, 2003).

$$R = R_{max} \frac{S}{K_s + S} \left(1 - \frac{S}{S_{crit}}\right)^m \left(1 - \frac{C}{C_{crit}}\right)^n \quad [2.8]$$

donde  $S$  es la concentración del sustrato,  $S_{crit}$  es la concentración crítica del sustrato y  $n$  es una constante.

Por otro lado, el modelo de Han-Levenspiel modificado se utiliza para describir los efectos inhibitorios de algunas concentraciones de sal o de

hidrógeno en la tasa de producción de hidrógeno y las tasas de degradación del sustrato. Este modelo se recomienda para el crecimiento de HPB y parte de la producción de metabolitos solubles (Wang y Wan, 2009d).

Hasta ahora, no ha habido estudios que utilizan modelos para describir los efectos inhibitorios del etanol o el propionato en la producción de hidrógeno por fermentación. Sin embargo, en algunos casos, el etanol puede ser dominante en los metabolitos solubles (Wang *et al.*, 2008) y en otros casos, el dominante puede ser el propionato (Khanal *et al.*, 2004). En una alta concentración, etanol y propionato también pueden inhibir el crecimiento de HPB e inhibir en consecuencia la producción fermentativa de hidrógeno. Se recomienda por lo tanto la descripción de los efectos inhibidores del etanol o del propionato en la producción de hidrógeno por fermentación utilizando ciertos modelos (Tang *et al.*, 2012).

Mu y colaboradores (2006) reportan que los estudios de comparación de los diferentes modelos en cuanto a su capacidad para describir los efectos de los diversos inhibidores sobre la producción fermentativa de hidrógeno son limitados, por lo tanto, se recomienda más investigaciones en este aspecto.

La tabla 2-4 presenta un resumen de algunos de los trabajos donde se evalúa la inhibición del proceso de fermentación oscura, por metabolito, así como sus principales contribuciones.

Tabla 2-4. Trabajos sobre inhibición de la producción de hidrógeno y modelo utilizado

Inhibidor (es)	Condiciones de estudio	Modelo utilizado	Resultados	Referencia
<b>Inhibición por ácidos orgánicos</b>				
Acetato de sodio, sacarosa, acetato de potasio, lactato de sodio, cloruro sódico, cloruro de potasio	Lote, sacarosa, pH 7, 70 °C, agitación 350 rpm	Modelo de inhibición no competitiva, no lineal. Han-Levespiel no competitivo modificado para tasa de producción de hidrógeno.	El grado de inhibición por el hidrógeno fue dependiente de la densidad del cultivo. La concentración crítica de hidrógeno fue de 27.7 mM H <sub>2</sub> a una presión parcial de 104 Pa y un pH de 2, por encima de este valor la producción de hidrógeno cesó por completo. Con una eliminación eficiente de hidrógeno, la fermentación de la sacarosa se inhibe principalmente por acetato de sodio.	Van Niel <i>et al.</i> , 2003
Ácido acético y ácido butírico	Lote-continuo, glucosa, 30 °C, agitación 250 rpm	N/A	El ácido butírico produce mayor inhibición en la producción de hidrógeno que el ácido acético (añadido por separado en concentraciones equimolares) aunque la adición de ambos ácidos simultáneamente en la alimentación del reactor en concentraciones equimolares causó la mayor disminución en los rendimientos de H <sub>2</sub> .	Van Ginkel y Logan, 2005
Butirato	Lote, glucosa, pH 6, 37 °C, 150 rpm	Modelo de inhibición no competitiva y no lineal.	La distribución de los ácidos grasos volátiles producidos a partir de la acidogénesis de la glucosa fue significativamente influenciada por la adición de butirato. La tasa máxima de producción de hidrógeno fue de 59.3 mL/g-SS/h, la concentración de butirato añadido crítico de 25.08 g/L, y el grado de inhibición de 0.323. Las concentraciones de butirato en las que la bioactividad de las bacterias se reduce en un 50% para la tasa de producción de hidrógeno y el rendimiento se estimaron como 19.39 y 20.78 g/l respectivamente.	Zheng y Yu, 2005

Tabla 2-4. Trabajos sobre inhibición de la producción de hidrógeno y modelo utilizado (Continuación)

Inhibidor (es)	Condiciones de estudio	Modelo utilizado	Resultados	Referencia
Etanol, ácido acético, ácido propiónico y ácido butírico	Lote, glucosa, 35 °C, pH 7	El modelo Han-Levenspiel modificado puede describir los efectos inhibitorios de etanol, ácido acético, ácido propiónico y ácido butírico en la tasa de producción fermentativa de hidrógeno. El modelo logístico modificado se usó para describir el progreso de la producción de hidrógeno acumulado.	La eficiencia de la degradación del sustrato, el potencial de producción de hidrógeno, el rendimiento de hidrógeno y la velocidad de producción de hidrógeno mostraron una tendencia a disminuir con el aumento de etanol, ácido acético, ácido propiónico y la concentración de ácido butírico de 0 a 300 mmol/l. El efecto inhibitorio del etanol añadido en la producción fermentativa de hidrógeno era más pequeño que el efecto de los ácidos acético, propiónico y butírico añadidos.	Wang <i>et al.</i> , 2008
Acetato de etilo, etanol	Lote, glucosa, 37 °C, agitación 120 rpm	Modelo de inhibición no competitiva del producto.	Comparado con el etanol, el acetato generó una inhibición más significativa en el rendimiento de crecimiento y la producción de hidrógeno.	Tang <i>et al.</i> , 2012
Acetato, formiato y etanol	Lote, glucosa, 67 °C	Modelo de inhibición no lineal.	El etanol tuvo un efecto inhibitorio mayor sobre la tasa de crecimiento de las bacterias productoras de hidrógeno, mientras que la cinética de producción de hidrógeno fue más sensible al aumento de las concentraciones de acetato y formiato. El acetato, principal metabolito soluble de la fermentación, inhibió la producción de H <sub>2</sub> mediante el aumento de la fuerza iónica en el medio.	Ciranna <i>et al.</i> , 2014

Tabla 2-4. Trabajos sobre inhibición de la producción de hidrógeno y modelo utilizado (Continuación)

Inhibidor (es)	Condiciones de estudio	Modelo utilizado	Resultados	Referencia
<b>Inhibición por hidrógeno</b>				
Hidrógeno presión osmótica, transferencia de masa de líquido a gas de hidrógeno	Lote, glucosa, pH 6.6, 70 °C, 350 rpm	El modelo se basa en la cinética de Monod suplementada con los efectos inhibidores de H <sub>2</sub> y la presión osmótica, así como la transferencia de masa líquido-gas de H <sub>2</sub> . Inhibición y activación por hidrógeno disuelto.	El modelo derivado es el primer modelo en base mecánica para la producción de H <sub>2</sub> fermentativo y proporciona información útil para mejorar la comprensión del comportamiento de crecimiento de <i>C. saccharolyticus</i> . El modelo puede ser utilizado para determinar las condiciones óptimas de operación para la producción de H <sub>2</sub> con respecto a la concentración de sustrato y la tasa de extracción.	Ljunggren <i>et al.</i> , 2011
<b>Inhibición por sustrato</b>				
Sacarosa, leche en polvo sin grasa y desperdicio de alimentos	Lote, 37 °C, 180 rpm	La ecuación de Michaelis -Menten fue empleada para modelar la tasa de producción de hidrógeno a diferentes concentraciones de sustrato.	Los resultados mostraron que el potencial y la tasa de producción de hidrógeno aumentan con un incremento de la concentración de sustrato. Los rendimientos de hidrógeno máximos de sacarosa, leche y residuos de alimentos fueron 234, 119 y 101 mg/L DQO, respectivamente. La ecuación dio una buena aproximación de la tasa máxima de producción de hidrógeno, se encontró que la afinidad por el sustrato de los microorganismos para producir hidrógeno depende del contenido de carbohidratos.	Chen <i>et al.</i> , 2001
<b>Inhibición por sales</b>				
NaCl, acetato de sodio	Lote, glucosa, 30 °C	N/A	Los resultados mostraron que ambas sales tienen un efecto inhibitorio en el crecimiento de las bacterias productoras de hidrógeno.	Alshiyab <i>et al.</i> , 2008







# Justificación





Al comienzo del nuevo milenio, la gestión de residuos se ha convertido en una prioridad en muchos países. Uno de los principales problemas de hoy en día es hacer frente a una cantidad creciente de residuos sólidos de una manera ambientalmente aceptable. Los residuos orgánicos urbanos, agrícolas e industriales tradicionalmente han sido depositados en los sitios de disposición final o incluso arrojados al mar, lagos o sitios no controlados. El tratamiento de los residuos orgánicos por procesos de fermentación es una manera eficiente para convertirlos en productos útiles, tales como la energía y un producto fertilizante, que permite el reciclaje de minerales y nutrientes de residuos orgánicos (Hajji y Rhachi, 2013).

Adicionalmente, el crecimiento de la población a nivel mundial y en consecuencia, su mayor demanda de energía y el cambio en las condiciones ambientales, así como la reducción y dificultad cada vez mayor de acceso a yacimientos de combustibles fósiles, han planteado a la sociedad la necesidad de buscar fuentes alternas de energía para cubrir sus necesidades. En años recientes, diversos países han orientado esfuerzos y políticas públicas en este sentido, explorando alternativas para la generación de energía para autoconsumo o exportación (SAGARPA, 2012). En este contexto, la utilización de residuos para producir energía resulta una opción atractiva en términos ambientales y económicos.

Entre estos residuos, los pañales desechables juegan un papel muy importante debido a su alta disponibilidad, pues se ha estimado que tan sólo en México se generan 7,517 toneladas de pañales usados diariamente, correspondientes al 6.52% del total de los residuos sólidos urbanos (RSU) (SEMARNAT, 2012).

La fermentación oscura de desechos es una técnica atractiva para la producción de  $H_2$ , ya que lleva a cabo tanto en la generación de energía limpia, así como el tratamiento o eliminación de desechos orgánicos (Das y Veziroglu, 2001; Escamilla-Alvarado *et al.*, 2013; Váldez-Vázquez y Poggi-Varaldo, 2009). Sin embargo, es necesario estudiar el proceso de fermentación oscura, de forma

que se pueda optimizar la obtención selectiva de hidrógeno, y con ello contribuir a la mitigación de los problemas de manejo de residuos y suministro de energía.

En este sentido y debido a la alta proporción de materiales celulósicos de los pañales desechables se consideran potencialmente biodegradables, por lo que en este trabajo se evaluó la factibilidad de producir hidrógeno utilizando los pañales desechables usados como sustrato.



# Hipótesis





# 4. Hipótesis

Basándose en los antecedentes, se formula las siguientes hipótesis:

H1: Se espera una producción de hidrógeno similar a la obtenida con la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos (FORSU) utilizando pañales desechables usados como sustrato.

H2: El polímero absorbente de humedad (poliacrilato de sodio, SAP) tendrá un efecto inhibitorio sobre la producción de biohidrógeno.

H3: Se anticipan consecuencias sobre la producción de biohidrógeno en este proceso debido a la interacción entre los factores sólidos totales, temperatura y relación C/N.







# Objetivos





## 5.1 Objetivo general

Evaluar la fermentación oscura en lote de pañales desechables usados.

## 5.2 Objetivos específicos

- Establecer un inóculo (consorcio microbiano) adecuado para la producción de hidrógeno a través de la fermentación oscura en lote de pañales desechables usados.
- Evaluar la producción de hidrógeno por fermentación oscura en lote de pañales desechables usados.
- Evaluar el efecto de las variables CN, ST y T sobre la producción de hidrógeno mediante un banco de ensayos en lote utilizando como diseño experimental la superficie de respuesta.
- Evaluar el efecto de la presencia de poliacrilato de sodio (SAP) sobre la fermentación oscura en lote de pañales desechables usados.





**Metas**





- Implementación de un proceso de fermentación oscura en lote de pañales desechables usados a nivel laboratorio.
- Implementación de un proceso de fermentación oscura en lote para verificar el efecto de las variables CN, ST y T sobre la producción de hidrógeno mediante un banco de ensayos en lote utilizando como diseño experimental la superficie de respuesta.
- Difusión de los resultados de esta investigación en foros y artículos científicos.
- Obtención del grado de Doctorado en Ciencias e Ingeniería Ambiental.







# Metodología





Este proyecto se llevó a cabo en el Laboratorio de Tecnologías Sustentables del Departamento de Energía de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Azcapotzalco (UAM-A), contó con la colaboración de los laboratorios 33 y 34 del Departamento de Biotecnología del Grupo de Biotecnología Ambiental y Energía Renovables (GBAER) y la central analítica del Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV-IPN).

La figura 7-1 muestra el esquema general de la metodología empleada, la cual fue dividida en 3 etapas y 9 actividades. En las figuras 7-2, 7-3 y 7-4 respectivamente, se muestran cada una de las etapas con sus actividades, variables y respuestas; se distingue la producción de hidrógeno, su evaluación comparativa y las pruebas de evaluación de inhibición como las actividades centrales, además de la evaluación en serie de la producción de metano a partir de los sólidos fermentados procedentes de la producción de hidrógeno. En las primera y segunda etapas se evaluaron la producción de hidrógeno mediante un diseño factorial  $2^2$  con puntos centrales y axiales para la cantidad de sólidos totales y relación C/N iniciales. La evaluación se realizó en los rangos mesofílico ( $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) y termofílico ( $55\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). En la tercera etapa se diseñó un protocolo adecuado conforme a los resultados anteriores para evaluar la inhibición del proceso debida a la presencia de poliacrilato de sodio (SAP). Con base en los resultados obtenidos se propuso una serie de ecuaciones que es capaz de predecir el comportamiento dinámico del reactor anaerobio para la producción de hidrógeno. Los experimentos se desarrollaron a escala laboratorio, por lotes.

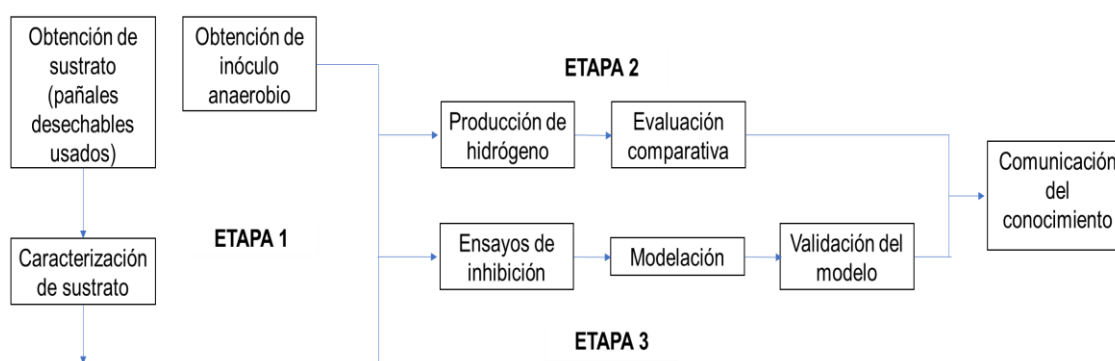


Figura 7-1. Esquema general de la metodología

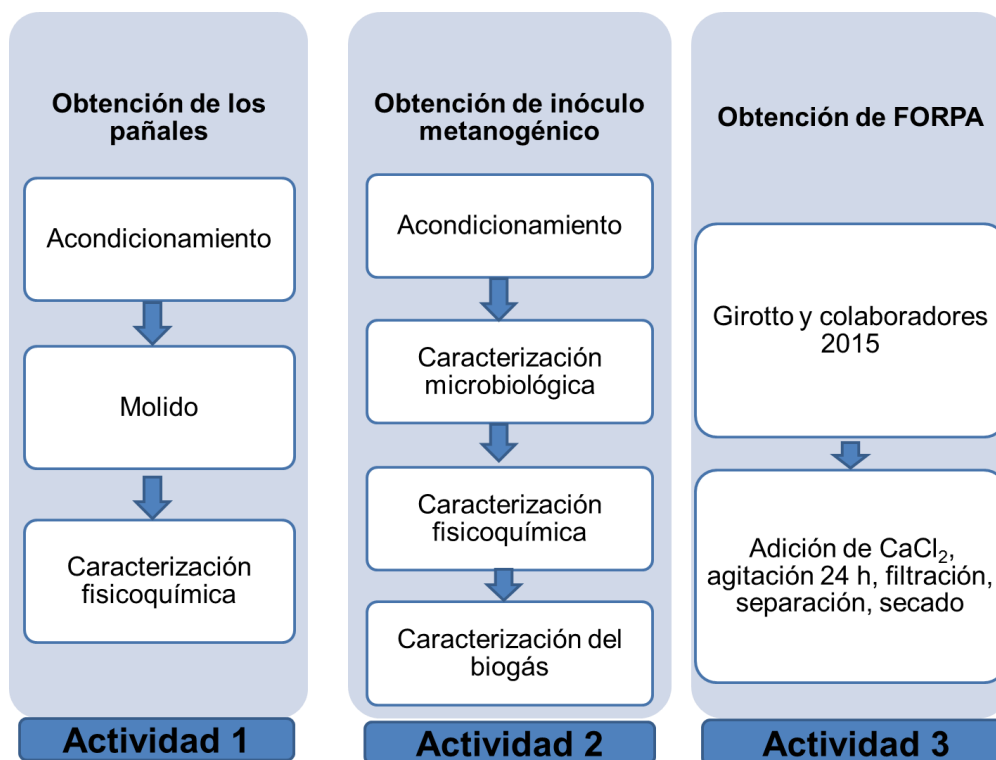


Figura 7-2. Descripción de etapa 1, actividades 1, 2 y 3 con variables y respuestas

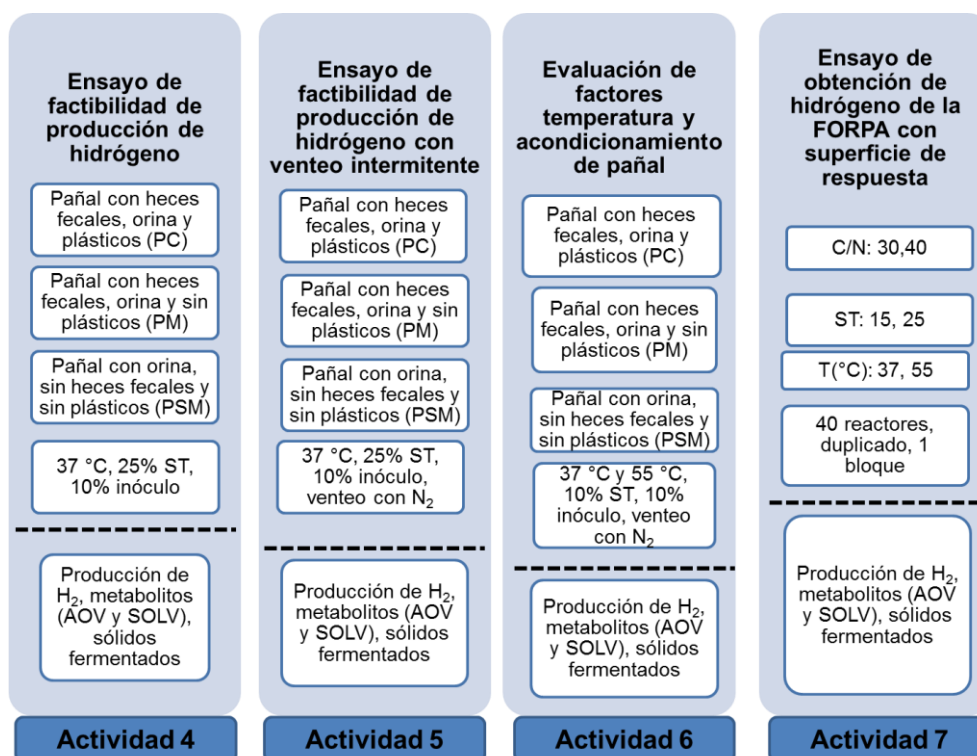


Figura 7-3. Descripción de etapa 2, actividades 4 a 7 con variables y respuestas

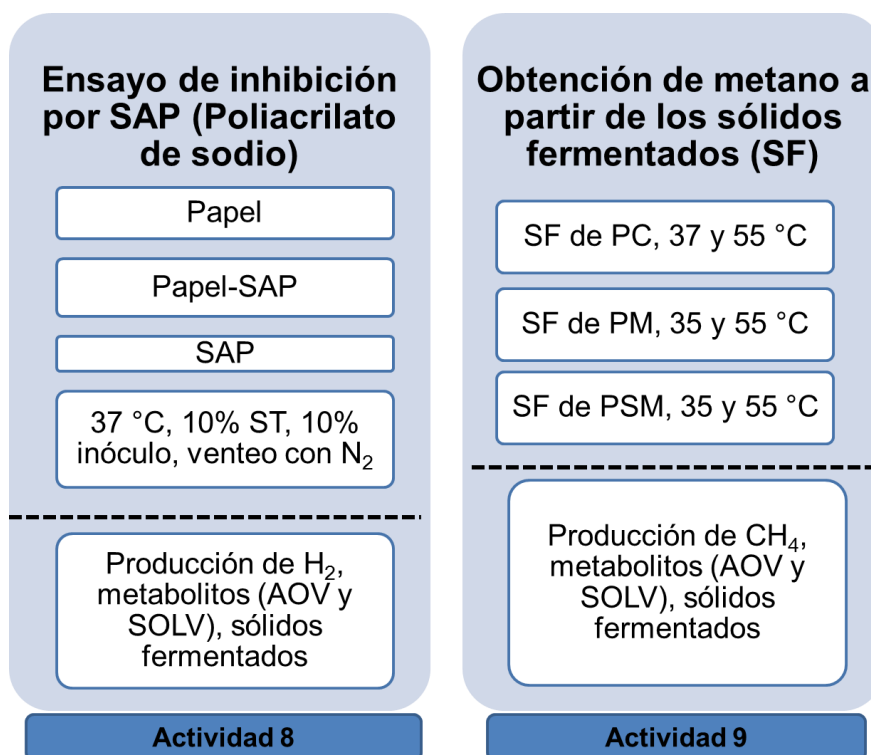


Figura 7-4. Descripción de etapa 3, actividades 8 y 9 con sus variables y respuestas

## 7.1 OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE PAÑALES DESECHABLES USADOS

Con la finalidad de verificar las características fisicoquímicas del sustrato a utilizar para la fermentación oscura, fue necesario recolectar una muestra representativa de los pañales desechables usados y caracterizarla.

Se recolectaron pañales desechables usados de hogares particulares, debido a que la cantidad necesaria para este trabajo no fue elevada. Los pañales generalmente se desechan envueltos en su capa exterior y así se conservaron, se refrigeraron hasta su acondicionamiento y caracterización.

Los pañales envueltos se introdujeron en un molino marca Vermeer BC 1000 y se recibieron en un recipiente adecuado, para su fácil transporte. El tamaño del pañal al final del proceso de molienda fue aproximadamente de 5 cm X 5 cm.

Una vez concluida la molienda de los pañales, éstos se llevaron a laboratorio y se mantuvieron en refrigeración hasta su análisis, para lo cual se determinaron tres diferentes tipos de muestras: PM, pañales molidos con contenido de heces fecales y orina pero sin los plásticos, los cuales fueron separados manualmente; PC, pañal completo, es decir, molidos con todo,

plásticos, elásticos, heces fecales y orina; por último PSM, los cuales se obtuvieron sin moler y se separó la parte central manualmente, éstos solamente contenían orina. Adicionalmente se realizaron análisis a pañales limpios sin usar (PL), con la finalidad de saber los aportes de éstos sin componentes como la orina y las heces fecales. A cada una de las muestras se le realizó los análisis fisicoquímicos presentados en la tabla 7-1.

Tabla 7-1. Análisis fisicoquímicos del sustrato

Parámetro	Técnica
Humedad	NMX-AA-016-1984
Sólidos totales (ST)	APHA 2540, 2005
Sólidos volátiles (SV)	APHA 2540, 2005
Materia orgánica (MO)	Espinosa, 2010
Cenizas	NMX-AA-018-1984
Nitrógeno	Fernández <i>et al.</i> , 2006
Relación C/N	NMX-AA-067-1985
Celulosa	Van Soets y Wine, 1967

## 7.2 OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL INÓCULO PRODUCTOR DE HIDRÓGENO

Se debe contar con inóculo anaerobio productor de hidrógeno para llevar a cabo la fermentación, inhibiendo el crecimiento de bacterias metanogénicas.

Se siguió la estrategia de obtención de inóculo reportada por Poggi-Varaldo *et al.*, (1997), mezclando 0.166 kg de lodos activados provenientes de una planta de tratamiento de aguas residuales ubicada en la zona norte de la Ciudad de México (Aguas de San Juan Ixhuatepec, México), 0.166 kg de tierra de jardín obtenida a 30 cm de profundidad cribada con malla No. 35 (diámetro de partícula igual a 0.5 mm) y 0.166 kg de excreta de vaca. Se purgó el espacio gaseoso de los biorreactores con N<sub>2</sub> grado industrial (Infra, México) durante 3 min para crear una atmósfera anóxica. Los biorreactores inoculadores se sometieron a dos regímenes térmicos de acuerdo con el diseño experimental. Para el régimen mesofílico se utilizó una incubadora de madera con temperatura regulada a 35 °C (± 0.1). El régimen termofílico se llevó a cabo en una incubadora de madera a 55 °C (± 0.1).

El arranque de los biorreactores se realizó siguiendo lo reportado por Escamilla-Alvarado (2009). El inóculo recién conformado se incubó al respectivo régimen térmico y se alimentó con 1% de sacarosa cada tres a cuatro días, manteniendo el pH por arriba de 7.5 hasta que el contenido de metano llegó al

60% v/v. Una vez alcanzado dicho nivel, se comenzó la alimentación periódica y progresiva con fracción orgánica de residuos urbanos (FORSU) desde 100 d de tiempo de residencia másico (TRM) hasta llegar a 35 de TRM. La alimentación de los reactores se realizó en forma manual dos veces por semana bajo atmósfera de nitrógeno grado industrial. Además, se caracterizó el biogás obtenido en un cromatógrafo GOW-MAC de conductividad térmica, utilizando argón como gas de arrastre (figura 7-5).



Figura 7-5. Reactor inoculador

### 7.2.1 Caracterización del crecimiento del inóculo anaerobio

Existen diversos métodos para evaluar el tamaño de la población bacteriana presente en una muestra determinada, en este caso se determinó por conteo en placa, huella metabólica y por turbidimetría.

#### ***Conteo en placa***

Se llevó a cabo un recuento de bacterias mediante la técnica de vaciado en placa mediante diluciones seriadas de las cuales un volumen de 1 mL de muestra se vació en placa, utilizando agar cuenta estándar. Se llevó a incubación a 37 °C por un periodo de 48 h, dicho análisis se llevó a cabo por triplicado.

#### ***Determinación de la huella metabólica del inóculo anaerobio***

Se utilizaron las placas Biolog ECO las cuales están diseñadas especialmente para el estudio de las capacidades metabólicas de una comunidad bacteriana, y no para la identificación de cepas microbianas. Las



placas contienen 31 sustratos (y un control sin sustrato) en triplicado (Stefanowicz, 2006), lo que les hace adecuadas para investigaciones de tipo ecológicas o ambientales.

Las ECO placas fueron inoculadas con 100  $\mu$ L de inóculo anaerobio en cada pozo mediante una pipeta automática (figura 7-6). La inoculación se realizó dentro de una campana de flujo laminar para mantener un área estéril. Posteriormente se realizó la lectura de la absorbancia registrada a las 0, 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72 y 168 h. Los análisis se llevaron a cabo por duplicado en las ECO placas.



Figura 7-6. Inoculación y lectura de ECO placas

#### ***Determinación de cinética de crecimiento del inóculo por turbidimetría***

Se verificó la cinética de crecimiento del inóculo por turbidimetría por medio de un espectrofotómetro Cary 50-Bio VARIAN, cuya técnica se basa en la capacidad de las células microbianas de dispersar la luz que incide sobre éstas y debido a que el tamaño de las células en una población es casi constante, el grado de dispersión es proporcional a la concentración de células presentes.

#### **7.2.2 Caracterización fisicoquímica del inóculo anaerobio**

Para conocer a profundidad el inóculo a utilizar y los posibles cambios que éste pueda conceder al sistema se procedió a realizar su caracterización fisicoquímica de acuerdo a los análisis presentados en la tabla 7-2.

Tabla 7-2. Análisis fisicoquímicos del inóculo

Parámetro	Técnica
Humedad	NMX-AA-016-1984
Sólidos totales (ST)	APHA 2540, 2005
Sólidos volátiles (SV)	APHA 2540, 2005
Materia orgánica (MO)	Espinosa, 2010
Cenizas	NMX-AA-018-1984
Nitrógeno	Fernández <i>et al.</i> , 2006
Relación C/N	NMX-AA-067-1985
DQO	Método HACH

### 7.3 OBTENCIÓN DE LA FRACCIÓN ORGÁNICA DE LOS PAÑALES DESECHABLES (FORPA)

Con la finalidad de obtener la fracción orgánica de los pañales desechables (FORPA), se utilizó el protocolo patentado por Conway *et al.* (1996) y Grimes (2010) que fue seguido por Torrijos *et al.*, (2014), que consta de tres grandes pasos sucesivos (trituration gruesa, separación de pulpa y plásticos, separación SAP y recuperación de la FORPA), tal como lo muestra la figura 7-7.

Se llevó a cabo una primera etapa con pañales limpios, y a pequeña escala, para poder evaluar algunas sales metálicas en la eliminación de SAP y ajustar la técnica.

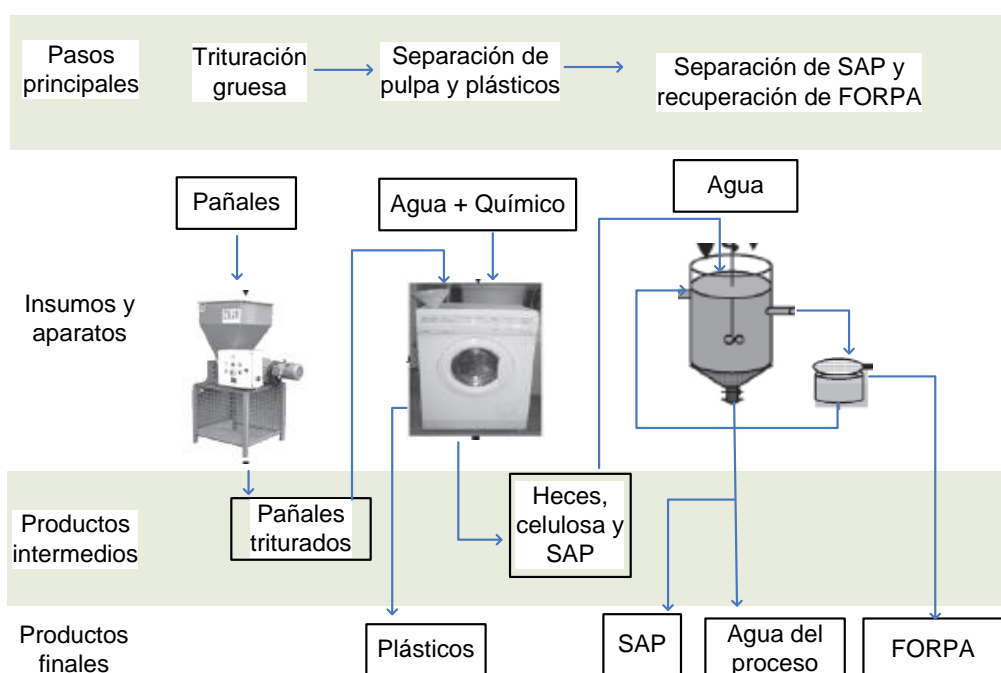


Figura 7-7. Diagrama de obtención de FORPA por patente (Conway *et al.*, 1996, Grimes, 2010)

En una segunda etapa, siguiendo el protocolo descrito por Giroto y colaboradores (2015), se procedió a evaluar la separación de la FORPA de un pañal desechable limpio. Para ello se adicionó 2 L de agua de la llave a la parte central de un pañal limpio, previamente separada de la parte plástica, elásticos y telas, y una cantidad de cloruro de calcio ( $\text{CaCl}_2$ ) tal que la concentración de esta sal en el medio fuera de 3000 mg/L. Se mantuvo en agitación constante durante 24 horas, y se procedió a la filtración y posterior separación de geles de Ca-P formados.

La tercera fase de esta actividad consistió en montar este último procedimiento para los pañales desechables usados, conteniendo heces fecales y orina, a los cuales se les separó manualmente los plásticos y elásticos, quedando como sustrato, la parte central del pañal, es decir, el SAP, la celulosa, las heces fecales y la orina. A continuación, se añadió agua a la parte central, que consiste principalmente de pasta de celulosa y SAP. Se incorporó  $\text{CaCl}_2$  para llegar a una concentración objetivo de 3,000 m /L de sal en el licor, con el fin de deshidratar de SAP. En un vaso de precipitados de 4 L, se pesó 50 g de pañal y se dispersó en la solución, que se agitó durante 24 horas. Transcurrido el tiempo, la solución se decantó y se filtró. Los sólidos (flóculos de Ca-P + celulosa) fueron atrapados en el filtro, y su separación se realizó manualmente. Estas dos fracciones se secaron a 70 °C. La prueba se realizó por triplicado (figura 7-8).

De acuerdo a las diferencias entre los pesos de la celulosa y Ca-P respecto a la muestra inicial, se obtuvo el porcentaje de recuperación de la celulosa de la pulpa.

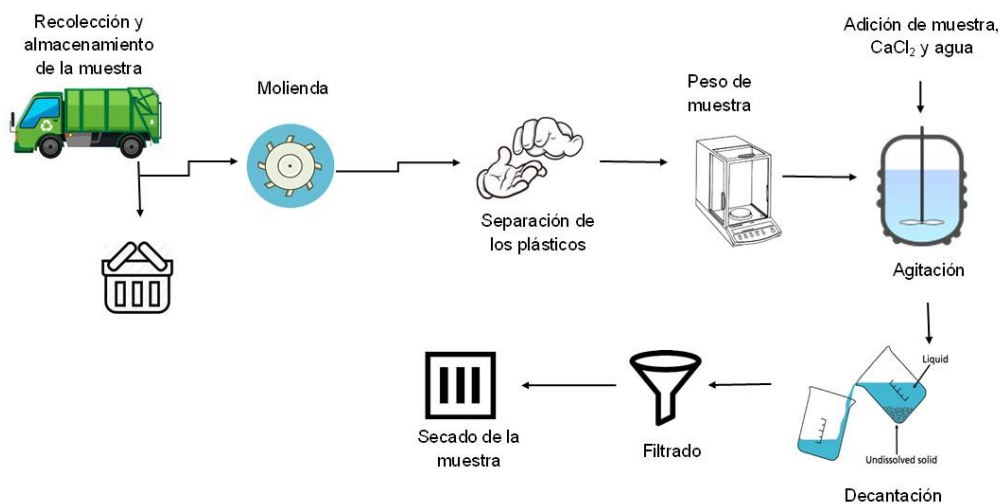


Figura 7-8. Protocolo de separación de FORPA

Posteriormente se midió el contenido de celulosa en la pulpa separada. Un gramo de muestra seca se mezcló con 15 ml de ácido acético al 80% y 1.5 ml de ácido nítrico concentrado. La mezcla se mantuvo en reflujo durante 20 min. Después, la solución se filtró, el residuo se lavó con etanol, se secó en un horno a 100-105 °C y se pesó (A). A continuación, se incineró a 540 °C (B). El contenido de celulosa se determinó de acuerdo con la ecuación propuesta por Van Soest y Wine (1967) (Ec. 7.1).

$$\% \text{ celulosa} = \frac{(A - B)}{\text{Peso de muestra}} * 100 \quad [7.1]$$

#### 7.4 ENSAYO 1: FACTIBILIDAD DE PRODUCCIÓN DE HIDRÓGENO DE LA FORPA Y PAÑAL ENTERO

El proceso se ensayó en reactores por lotes, utilizando los procedimientos reportados por Váldez-Vázquez *et al.*, 2005, con la aplicación de un choque térmico (92 °C por 30 min) del inóculo para inhibir la producción de bacterias metanogénicas de acuerdo a lo reportado por Sparling *et al.*, 1997 y Váldez-Vázquez *et al.*, 2006b, tal como lo muestra la figura 7-9.



Figura 7-9. Montaje de los reactores para ensayos de factibilidad

Se probaron triplicados de las combinaciones de pañal completo (PC), pañal molido (PM), pañal separado manualmente (PSM) y el inóculo, con la finalidad de restar la producción de hidrogeno por el inóculo, de acuerdo a las características fisicoquímicas de cada sustrato. De manera independiente se realizaron los cálculos necesarios para establecer un volumen de trabajo en los

reactores de 50 ml con un contenido de sólidos totales de 25% y un contenido de inóculo de 10% en cada reactor, el volumen de trabajo fue ajustado en cada reactor con una solución mineral. La caracterización del biogás se llevó a cabo tres veces por semana por un periodo de 30 días con la incubación de los reactores a 37 °C (figura 7-10). Utilizando un cromatógrafo Gow-Mac Modelo 350, equipado con un detector de conductividad térmica y una columna empacada de 91 cm de longitud con tamiz molecular 5A. Las temperaturas del inyector, del detector y de la columna fueron de 25, 100 y 25 °C, respectivamente. El argón fue el gas portador. El cromatógrafo conectado con el software Clarity permitió la determinación de áreas y tiempos de retención. Se inyectó 1 ml de muestra de gas en el puerto del cromatógrafo. La curva de calibración se determinó mediante la inyección de estándares de volúmenes de 0.0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 y 1.0 ml de H<sub>2</sub> por duplicado y las líneas de regresión entre las áreas y la masa de H<sub>2</sub> fueron determinadas por el software. La masa de gas para la calibración se estimó a partir de los volúmenes a temperatura ambiente y se expresó como mmol de gas usando ley de gas ideal (Castellan 1983). Las curvas de calibración fueron ajustadas por regresión lineal que habitualmente exhibían coeficientes de correlación  $R = 0.99^+$ ; de lo contrario, se repitió el procedimiento de calibración.

La producción acumulada de hidrógeno (PH<sub>2</sub>) se calculó a partir de los valores de concentración de hidrógeno de biogás (teniendo en cuenta los volúmenes de espacio de cabeza de los biorreactores).



Figura 7-10. Incubación de los reactores a 37 °C

Así mismo se determinaron las características fisicoquímicas del digestato obtenido en el primer ensayo: materia orgánica, pH, DQO, nitrógeno y cenizas.

## **7.5 ENSAYO 2: FACTIBILIDAD DE PRODUCCIÓN DE HIDRÓGENO APLICANDO VENTEO INTERMITENTE CON N<sub>2</sub>**

Con la finalidad de mejorar la producción de hidrógeno, se montó un segundo ensayo llevando la fermentación con venteo intermitente del espacio de cabeza conforme a los protocolos reportados por Váldez-Vázquez y colaboradores (2006a). Cuando se observó la máxima acumulación de H<sub>2</sub>, que se verifica por la formación de un plato en la curva producción o decremento en la cantidad de H<sub>2</sub>, se ventiló el espacio de cabeza purgando con N<sub>2</sub> para vaciar el H<sub>2</sub> acumulado. Después, las botellas fueron re-incubadas; no se agregó inóculo, ni sustrato fresco.

### **7.5.1 Determinación de metabolitos secundarios para el ensayo 2**

Se evaluó la producción de metabolitos secundarios en la fermentación oscura de pañales desechables, a través de la formación de ácidos orgánicos volátiles (AOV), en este caso los correspondientes a: ácido acético (HAc), ácido propiónico (HPr), ácido butírico (HBu) y ácido láctico (HLac). Adicionalmente se evaluó la producción de solventes como: acetona (Ac-OH), butanol (Bu-OH), metanol (Met-OH) y etanol (Et-OH). La presencia de estos productos se midió al inicio y en el efluente, después de la filtración a través de un filtro de membrana de vidrio. Una alícuota del filtrado se inyectó en un cromatógrafo de gases Varian Estrella 3400 equipado con un detector de ionización de flama. Las temperaturas del inyector y detector se fijaron en 250 °C. Se utilizó nitrógeno como gas portador con un caudal de 20 ml min<sup>-1</sup>. La temperatura del horno se programó como sigue: 60 °C durante 2 min, aumentando a 140 °C a 5 °C min<sup>-1</sup>, y luego se mantuvo constante a 140 °C durante otros 6 min. Fue usada una columna capilar de sílice fundida recubierta con 0.2 mm CP-Wax 57, de 0.32 mm de diámetro interno y de 50 m de longitud.

### **7.5.2 Caracterización del digestato obtenido en el segundo ensayo**

Se determinaron las características fisicoquímicas del digestato obtenido en el segundo ensayo: materia orgánica, pH, DQO, alcalinidad, SV, ST, cenizas, nitrógeno, celulosa.

## 7.6 ENSAYO 3: PRODUCCIÓN DE HIDRÓGENO EN TEMPERATURA MESOFÍLICA (35 °C) Y TERMOFÍLICA (55 °C)

Con un diseño experimental factorial 2\*3 se examinó el efecto y las interacciones de dos factores (temperatura de incubación, 35 o 55 °C, y acondicionamiento del pañal) sobre la producción de bio-H<sub>2</sub> en la fermentación en lote de pañales desechables utilizados como sustrato. El proceso elegido se basó en la fermentación anaerobia de hidrógeno en sustrato sólido con el venteo intermitente y el lavado del espacio de cabeza (FAHSS-VI) de acuerdo con procedimientos descritos previamente (Váldez-Vázquez *et al.*, 2005; Muñoz-Páez *et al.*, 2012). Se trabajó con tres tipos de sustrato (pañal entero, PC; pañales sin componentes de plástico, PM; y pañales separados manualmente sin heces y plástico, PSM). Además, se montaron biorreactores de control que contenían solamente inóculo.

Las botellas de vidrio de 120 mL de capacidad se cargaron de acuerdo con las características fisicoquímicas de cada sustrato. Los cálculos se realizaron para establecer un volumen de trabajo en 50 mL con un contenido total de sólidos de 25% y 10% de inóculo en cada reactor. Todos los tratamientos se realizaron por triplicado.

El principal parámetro de monitoreo fue la concentración de hidrógeno en el biogás. Se determinó por cromatografía de gases en un cromatógrafo Gow-Mac modelo 350 equipado con un detector de conductividad térmica. Las temperaturas del inyector, detector y columna fueron de 25, 100 y 25 °C, respectivamente. El argón fue el gas portador. Se analizaron los ácidos orgánicos volátiles (AOV), ácidos láctico y solventes como se informó previamente (Váldez-Vázquez *et al.*, 2009; Muñoz-Paéz *et al.*, 2014).

El análisis estadístico se realizó utilizando Statgraphics v. 15.2, Statpoint Technologies, Inc., Warrenton, VA, EE.UU.

### 7.6.1 Caracterización del digestato obtenido en el tercer ensayo

Se determinaron las características fisicoquímicas del digestato obtenido en el tercer ensayo: materia orgánica, pH, DQO, alcalinidad, SV, ST, cenizas, nitrógeno, celulosa.

## **7.7 ENSAYO 4: EVALUACIÓN DE LA POSIBLE INHIBICIÓN POR EL HIDROGEL**

Para determinar si la presencia de hidrogel tiene algún efecto de inhibición en el sistema de producción de hidrógeno, se llevaron ensayos con papel (P), hidrogel (H) y papel-hidrogel (PH). Se aplicó el mismo procedimiento que en los ensayos anteriores con venteo por ciclos cuando se observa la máxima producción de hidrógeno y se evaluaron los metabolitos secundarios. De igual manera al término de la prueba se realizó la caracterización del digestato de la prueba.

## **7.8 ENSAYO 5. EVALUACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE HIDROGENO EN LA FORPA POR SUPERFICIE DE RESPUESTA**

La metodología de superficie de respuesta, o MSR, es un conjunto de técnicas matemáticas y estadísticas que son herramientas de modelado y análisis útiles en aplicaciones donde una respuesta de interés recibe la influencia de varias variables y el objetivo es optimizar esta respuesta (Montgomery y Runger, 2011). La metodología del diseño de superficie de respuesta suele utilizarse para refinar los modelos después de determinar los factores importantes utilizando los diseños factoriales, especialmente si se sospecha que existe curvatura en la superficie de respuesta. En este caso se utilizó para evaluar la relación C/N (30,40), sólidos totales (15,25) y la temperatura (37,55) como factores principales, el diseño se estableció utilizando el software Minitab® 17, basándose en un experimento factorial  $3^2$  con puntos centrales y axiales. El montaje se llevó a cabo en lote con lavado periódico con gas  $N_2$  inerte.



El diseño experimental quedó como se presenta en la tabla 7-3, se estudiaron los efectos de los 3 factores en 40 corridas, cada combinación se evaluó por duplicado. El experimento fue corrido en un solo bloque y con un orden completamente aleatorizado. Esto con la finalidad de aportar protección contra el efecto de variables ocultas.

Tabla 7-3. Diseño experimental para la FORPA

Orden Est	Orden Corrida	Tipo Pt	Bloques	CN	ST	T
38	1	-1	3	35	20	61
35	2	-1	3	35	12	46
20	3	0	3	35	20	46
16	4	-1	3	35	28	46
39	5	0	3	35	20	46
14	6	-1	3	43	20	46
34	7	-1	3	43	20	46
36	8	-1	3	35	28	46
19	9	0	3	35	20	46
40	10	0	3	35	20	46
33	11	-1	3	27	20	46
13	12	-1	3	27	20	46
15	13	-1	3	35	12	46
37	14	-1	3	35	20	31
17	15	-1	3	35	20	31
18	16	-1	3	35	20	61
23	17	1	1	40	15	55
3	18	1	1	40	15	55
6	19	0	1	35	20	46
2	20	1	1	40	25	37
4	21	1	1	30	25	55
21	22	1	1	30	15	37
22	23	1	1	40	25	37
24	24	1	1	30	25	55
25	25	0	1	35	20	46
1	26	1	1	30	15	37
26	27	0	1	35	20	46

Tabla 7-4. Diseño experimental para la FORPA (Continuación)

Orden Est	Orden Corrida	Tipo Pt	Bloques	CN	ST	T
5	28	0	1	35	20	46
12	29	0	2	35	20	46
10	30	1	2	40	25	55
27	31	1	2	40	15	37
28	32	1	2	30	25	37
8	33	1	2	30	25	37
11	34	0	2	35	20	46
7	35	1	2	40	15	37
30	36	1	2	40	25	55
9	37	1	2	30	15	55
32	38	0	2	35	20	46
29	39	1	2	30	15	55
31	40	0	2	35	20	46

El principal parámetro de monitoreo fue la concentración de hidrógeno en el biogás. Se determinó por cromatografía de gases en un cromatógrafo Gow-Mac modelo 350 equipado con un detector de conductividad térmica. Las temperaturas del inyector, detector y columna fueron de 25, 100 y 25 °C, respectivamente. El argón fue el gas portador. Se analizaron los ácidos orgánicos volátiles (AOV), ácidos láctico y solventes como se informó en otro lugar (Váldez-Vázquez *et al.*, 2009; Muñoz-Paéz *et al.*, 2014).

Se determinaron las características fisicoquímicas del digestato obtenido en el ensayo de FORPA: materia orgánica, pH, DQO, alcalinidad, SV, ST, cenizas, nitrógeno, celulosa.

### **7.9 ENSAYO 6. PRODUCCIÓN DE METANO A PARTIR DE SÓLIDOS FERMENTADOS Y DETERMINACIÓN DE LA GANANCIA ENERGÉTICA DEL SISTEMA**

Durante el proceso de fermentación de la materia orgánica, una gran variedad de productos intermediarios y metabolitos son formados. Con la implementación de procesos en serie se busca la obtención de un producto diferente en cada etapa, utilizando los subproductos o metabolitos generados en la etapa predecesora (Liu *et al.*, 2006; Robledo-Narvaéz *et al.*, 2008, Escamilla-Alvarado, 2009). Tal es el caso del proceso hidrogénico-metanogénico (figura 7-11). La primera etapa consistió en la hidrólisis de la materia orgánica con el objetivo de producir hidrógeno, además de los ácidos orgánicos inherentes del

proceso, en tanto que la segunda etapa consistió en la conversión de los sólidos fermentados en metano. Siguiendo la metodología aplicada por Escamilla-Alvarado *et al.*, 2012 se tomaron los sólidos fermentados (SF) procedentes de los ensayos 2 y 4 del presente trabajo y se montaron reactores de 120 ml de capacidad, los cuales se cargaron de acuerdo con las características fisicoquímicas de cada sustrato (PC, PM, PSM), con un volumen de trabajo en 50 ml, un contenido total de sólidos de 25% y 10% de inóculo metanogénico en cada reactor. Todos los tratamientos se realizaron por duplicado. Cada tratamiento de los SF fue incubado a su respectiva temperatura de obtención de la etapa-H (hidrólisis), 37 y 55 °C.

El principal parámetro de monitoreo fue la concentración de metano en el biogás. Se determinó por cromatografía de gases en un cromatógrafo Gow-Mac modelo 350 equipado con un detector de conductividad térmica. Las temperaturas del inyector, detector y columna fueron de 25, 100 y 25 °C, respectivamente. El argón fue el gas portador. Se analizaron los ácidos orgánicos volátiles (AOV), ácido láctico y disolventes siguiendo las metodologías reportadas por Váldez-Vázquez *et al.*, 2009 y Muñoz-Paéz *et al.*, 2014. Los sólidos fermentados fueron caracterizados al término del proceso acoplado H-M.



Figura 7-11. Proceso integrado H-M

### 7.9.1 Potencial energético del sistema H-M

El análisis de la energía producida por el sistema H-M ( $E_{HM}$ ) se determinó sumando el potencial energético del proceso hidrogénico y metanogénico respectivamente (Ec. 7.2). El potencial energético (Ec. 7.3) es directamente proporcional a la producción de hidrógeno ( $QH_2$ ) o metano ( $QCH_4$ ) durante un tiempo  $t$  de la operación y la entalpía de combustión ( $\Delta H_c$ ). En el caso de la

operación por lotes, la ecuación 7.3, se sustituye por la producción acumulada de H<sub>2</sub> o CH<sub>4</sub>, respectivamente (Ec. 7.4).

$$E_{HM} = E_{H_2} + E_{CH_4} \quad [7.2]$$

$$E_{H_2} [KJ] = \int_0^t Q_{H_2} [NL/d] dt * \frac{1 \text{ mol}}{22.4 \text{ NL}} * \Delta H_{c_{H_2}} [KJ/mol] \quad [7.3]$$

$$E_{H_2} [KJ/Kg_{db}] = \frac{Vol. H_2 \text{ acumulado} [mol]}{TS_{base \text{ seca}}} * \Delta H_{c_{H_2}} [KJ/mol] \quad [7.4]$$





# Resultados





En esta sección se presentan los resultados de las pruebas experimentales llevadas a cabo, así como la discusión de las posibles causas e implicaciones de los resultados obtenidos.

## 8.1 CARACTERIZACIÓN DE LOS PAÑALES DESECHABLES USADOS

La figura 8-1 presenta las imágenes de los pañales desechables, antes, durante y después de su acondicionamiento.



Figura 8-1. Muestra de pañales recolectados, entrada de los pañales al proceso de molienda y pañales triturados

En la tabla 8-1 se presentan los resultados de la caracterización de los pañales desechables usados. Cabe señalar que para esta investigación se utilizaron los pañales desechables usados con orina y con heces, por lo que se exigió la toma de las medidas de seguridad necesarias para la manipulación de los mismos. Se evaluaron diferentes acondicionamientos previos de los mismos, para definir la mejor forma de utilizarlos. Con base en el acondicionamiento recibido se les designó de la siguiente manera: pañal molido separado de los plásticos (PM), pañal sin moler separado manualmente (PSM), pañal completo, es decir, molido, pero con plásticos (PC) y el pañal limpio (PL). Este último se evaluó con la finalidad de saber sus aportes sin componentes como son la orina y las heces.

Tabla 8-1. Caracterización fisicoquímica de los pañales desechables en sus diferentes formas para aplicación

Trat.	Humedad (%)	ST (%)	SV (%)	M. O. (%)	Carbono (%)	Nitrógeno (%)	Cenizas (%)	C/N
PC	54.78±7.10	45.22±7.10	88.99±0.67	88.99±0.67	51.61±0.39	0.63±0.08	8.79±0.24	82.30±10.53
PM	80.84±0.61	19.63±1.53	81.29±0.25	84.27±0.65	48.88±0.38	0.93±0.20	11.16±0.79	54.10±11.78
PSM	52.79±2.09	28.71±0.26	84.39±1.41	84.05±0.40	48.75±0.23	0.74±0.12	10.41±0.35	67.66±12.67
PL	8.99±0.84	91.01±0.84	86.31±6.89	90.72±0.64	52.62±0.37	ND	5.18±1.23	ND



Los datos obtenidos permiten identificar un alto contenido de materia orgánica (celulosa + heces), así como una relación C/N alta, lo que se tomó en cuenta para ajustar dicho parámetro a las condiciones adecuadas para la fermentación. Se tomaron los datos del pañal limpio con la finalidad de determinar cómo afecta el contenido de heces y orina en la relación C/N y definir como modificarla. Se puede apreciar en la tabla 8-1 que el pañal desechable limpio por si no aporta nitrógeno, sin embargo, se observa un bajo contenido en todos los casos aportado por las heces y la orina. Esto, a su vez, podría haber afectado la degradación de los sustratos, por lo que se recomienda ajustar C/N a una relación promedio de 30 a 40 en pruebas futuras (Li *et al.*, 2014, Yadvika *et al.*, 2004, Lin y Lay, 2004).

## 8.2 CARACTERIZACIÓN DEL INÓCULO ANAEROBIO

### 8.2.1 Composición del biogás producido por el inóculo anaerobio

Se encontró una composición del biogás en el reactor con 20% de inóculo y 1 % de glucosa como sustrato de alimentación de 6.9% de H<sub>2</sub> y 77.2% de N<sub>2</sub>, sin presencia de CH<sub>4</sub> al inicio del proceso. Estos resultados indicaron que el proceso de adaptación de las bacterias se encontraba, al momento de realizar el análisis, en la etapa de hidrólisis. Sin embargo, se continuó con la medición para hasta llegar a un 60% de metano en el biogás para utilizar éste como inóculo metanogénico.

### 8.2.2 Caracterización del crecimiento del inóculo anaerobio

#### ***Conteo en placa***

El resultado de la cuenta en placa de bacterias fue de 200,000 UFC/mL de muestra, tal como se aprecia en la figura 8-2. Hasta lo mejor del conocimiento no existen referencias bibliográficas que indique la cantidad de bacterias consideradas como viables o adecuadas para un inóculo metanogénico, por lo tanto, la evidencia de que este inóculo fue viable para su utilización en la fermentación oscura, fue la producción de metano y la huella metabólica que presentó.

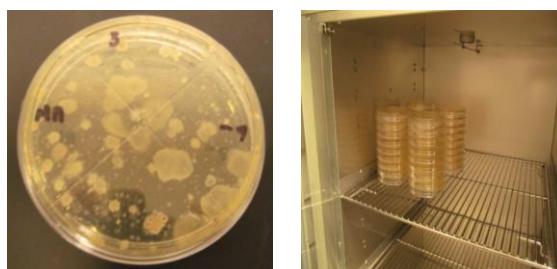


Figura 8-2. Recuento de bacterias en placa

**Determinación de la huella metabólica del inóculo anaerobio**

Las imágenes de los gráficos de superficie de respuesta conforme al cambio de coloración por el consumo de sustrato con respecto al tiempo se presentan en la tabla 8-2.

Tabla 8-2. Huella metabólica del inóculo

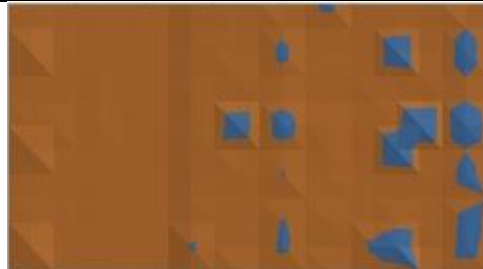




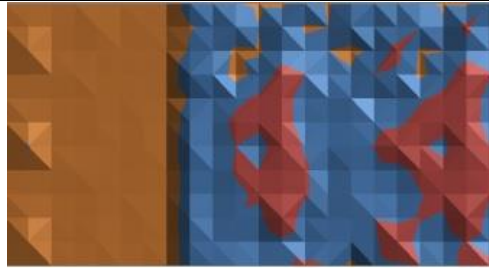





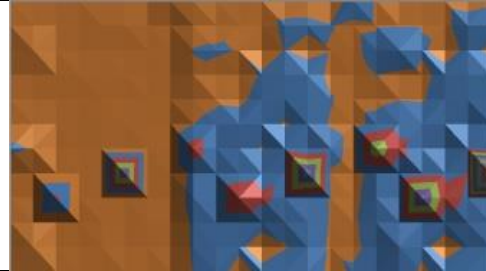

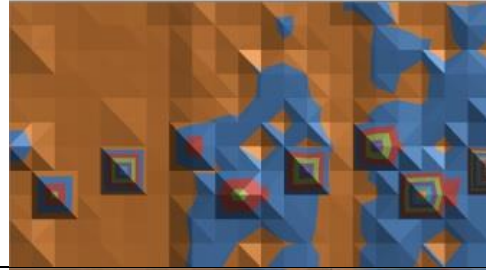

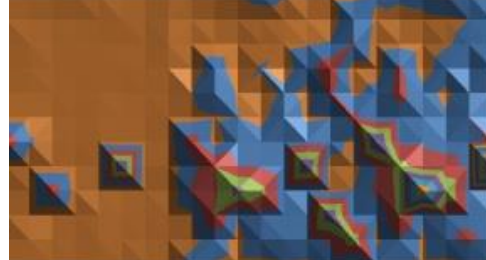
Tiempo (horas)	Placa 1	Placa 2
0		
6		
12		
24		
36		

Tabla 8-2. Huella metabólica del inóculo (Continuación)

Tiempo (horas)	Placa 1	Placa 2
60		
72		
168		

Como se puede apreciar en las imágenes, el consumo de sustratos conforme al tiempo no es el mismo en las dos réplicas, esto es debido a que se trabaja con comunidades mixtas de microorganismos por lo que, para determinar su huella metabólica, se deben estandarizar las absorbancias de cada pozo, para definir los principales sustratos consumidos por el consorcio microbiano. En el caso de las ECO placas, están diseñadas especialmente para el estudio de las capacidades metabólicas de una comunidad bacteriana, y no para la identificación de cepas microbianas. Las placas contienen 31 sustratos (y un control sin sustrato) en triplicado (Stefanowicz, 2006). En la tabla 8-3 (Leflaive *et al.*, 2005), se indican las fuentes de carbono que están contenidas en las placas ECO y en la figura 8-3 se presenta su distribución en la placa. A partir de esa información se hizo un análisis estandarizado de las fuentes de carbono que consume el inóculo en estudio.

Tabla 8-3. Sustratos disponibles en las ECO placas y grupo químico al que pertenecen

	<b>Pozo</b>	<b>Sustrato</b>	<b>Agrupación química</b>
1	A1	Agua	
2	A2	$\beta$ -metil-D-glucósido	Carbohidrato
3	A3	D-Ácido galactónico y lactona	Carbohidrato
4	A4	L-arginina	Aminoácido
5	B1	Ácido metil éster pirúvico	Ácido carboxílico
6	B2	D-xilosa	Carbohidrato
7	B3	D-Ácido galacturónico	Ácido carboxílico
8	B4	L-asparagina	Aminoácido
9	C1	Tween 40	Polímero
10	C2	l-eritritol	Carbohidrato
11	C3	Ácido 2 hidroxibenzoico	Compuesto fenólico
12	C4	L-fenilalanina	Aminoácido
13	D1	Tween 80	Polímero
14	D2	D-manitol	Carbohidrato
15	D3	Ácido 4 hidroxibenzoico	Compuesto fenólico
16	D4	L-serina	Aminoácido
17	E1	$\alpha$ -ciclodextrina	Polímero
18	E2	N-acetil D-glucosamina	Carbohidrato
19	E3	Ácido $\gamma$ -hidroxibutírico	Ácido carboxílico
20	E4	L-treonina	Aminoácido
21	F1	Glucógeno	Polímero
22	F2	Ácido D-glucosamínico	Ácido carboxílico
23	F3	Ácido itacónico	Ácido carboxílico
24	F4	Glicil L-glutámico	Aminoácido
25	G1	D-celobiosa	Carbohidrato
26	G2	Glucosa 1- fosfato	Carbohidrato
27	G3	Ácido $\alpha$ -cetobutírico	Ácido carboxílico
28	G4	Feniletilamina	Amina
29	H1	$\alpha$ -D-lactosa	Carbohidrato
30	H2	D,L- $\alpha$ -glicerol fosfato	Carbohidrato
31	H3	Ácido D-málico	Ácido carboxílico
32	H4	1,4-diaminobutano/putrescina	Amina

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A1	A2	A3	A4	A1	A2	A3	A4	A1	A2	A3	A4
B1	B2	B3	B4	B1	B2	B3	B4	B1	B2	B3	B4
C1	C2	C3	C4	C1	C2	C3	C4	C1	C2	C3	C4
D1	D2	D3	D4	D1	D2	D3	D4	D1	D2	D3	D4
E1	E2	E3	E4	E1	E2	E3	E4	E1	E2	E3	E4
F1	F2	F3	F4	F1	F2	F3	F4	F1	F2	F3	F4
G1	G2	G3	G4	G1	G2	G3	G4	G1	G2	G3	G4
H1	H2	H3	H4	H1	H2	H3	H4	H1	H2	H3	H4

Figura 8-3. Distribución de los sustratos en la ECO placa

Para evaluar el consumo de cada sustrato en la placa ECO por el consorcio microbiano, se empleó la diferencia de absorbancia entre cada pozo y el mínimo de una placa, lo que permite eliminar la variabilidad que se introduce al inocular placas con diferentes densidades de población. Se realizó la estandarización con los datos de las 168 horas de lectura. La figura 8-4 muestra los resultados. La línea punteada representa la actividad de la muestra sin fuente específica o blanco (pozo A1).

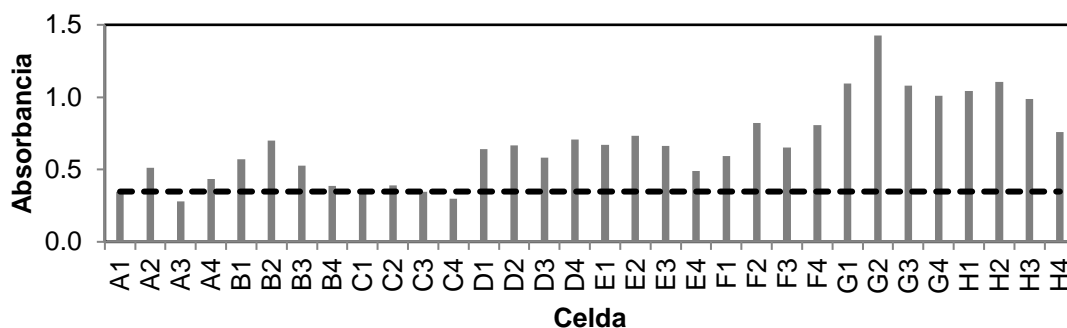


Figura 8-4. Consumo de sustratos en la ECO placa

De los 31 sustratos disponibles, 27 fueron útiles a los microorganismos, mostrando mayor afinidad por el consumo de Glucosa 1-fosfato (G2). Las 4 fuentes no utilizadas por el consorcio fueron: D-ácido galactónico y lactona (A3), Tween 40 (C1), ácido 2-hidroxibenzóico (C3) y L-fenilamina (C4).

#### ***Determinación de la cinética de crecimiento del inóculo por turbidimetría***

En la figura 8-5, se muestra el cambio de turbidez del medio con respecto al tiempo, señalando que se llevó a cabo este análisis en diluciones seriadas por triplicado.

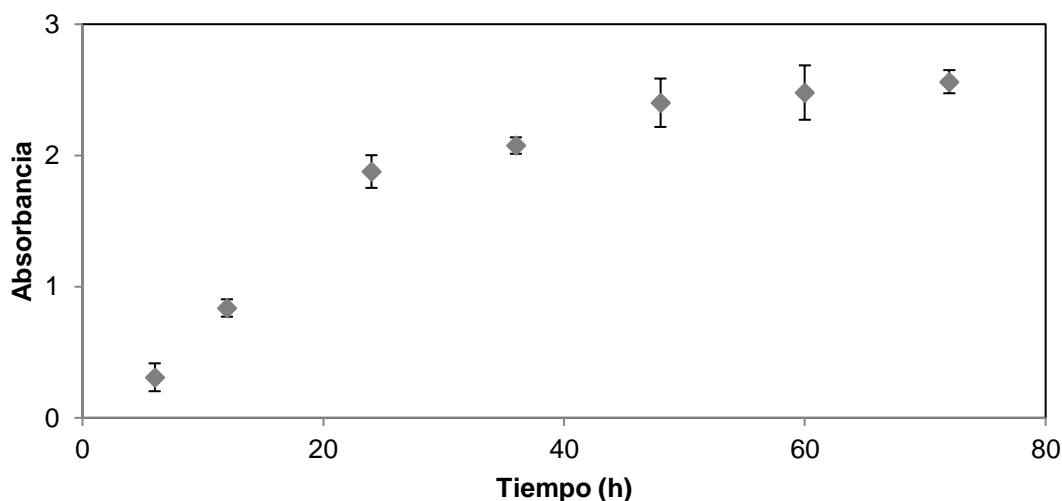


Figura 8-5. Aumento de absorbancia con respecto al tiempo del inóculo

La curva del crecimiento microbiano representa la evolución del número de número de células viables presente en un cultivo microbiano a lo largo del tiempo de estudio. El crecimiento se define como un aumento en el número de células microbianas de una población, también puede medirse como el incremento de la masa celular. La velocidad de crecimiento es el cambio en el número de células o masa celular experimentado por unidad de tiempo (Mandigan *et al.*, 2012). Para este caso se presenta la linealidad del número de células con respecto al tiempo y se obtiene la velocidad de crecimiento del inóculo en estudio ( $\mu = 0.0035 \text{ h}^{-1}$ ), cuya función de crecimiento queda definida por:  $\log_{10} (\# \text{células}) = 0.0035 * \text{tiempo}$  (figura 8-6).

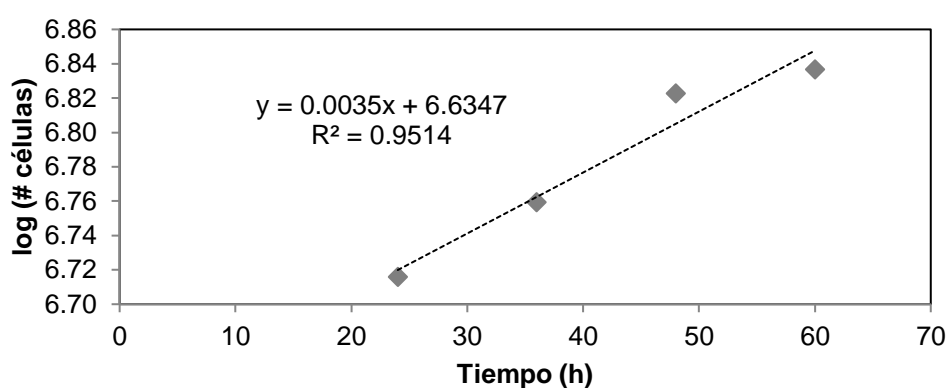


Figura 8-6. Velocidad de crecimiento del inóculo

### 8.2.3 Caracterización fisicoquímica del inóculo anaerobio

La tabla 8-4 presenta los resultados de los análisis fisicoquímicos del inóculo a utilizar, se puede apreciar un alto contenido de humedad, por lo que el aporte de sólidos totales al sistema es poco y no representa alteración al mismo. Lo que se debe considerar en el sistema es el aporte en nitrógeno y carbono, ya que presenta una alta relación C/N, la cual debe tomarse en cuenta en la experimentación, para eliminar posibles interferencias en el sistema de fermentación.

Tabla 8-4. Caracterización fisicoquímica del inóculo anaerobio

Parámetro	Resultado
Humedad (%)	90.55±0.34
ST (% base seca)	9.84±0.27
SV (% base seca)	87.66±0.09
Materia orgánica (%)	87.60±1.22
Carbono (%)	50.81±0.71
Nitrógeno (%)	1.13±0.32
Cenizas (%)	12.08±1.29
C/N	47.22±12.77

### 8.3 OBTENCIÓN DE LA FRACCIÓN ORGÁNICA DE LOS PAÑALES DESECHABLES (FORPA)

La figura 8-7 muestra el procedimiento seguido para la obtención de la FORPA a pequeña escala y con pañales limpios. Siguiendo los procedimientos aplicados para la coagulación y floculación del tratamiento de aguas residuales se probaron sales de sulfato de hierro ( $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ), cloruro de calcio ( $\text{CaCl}_2$ ), cloruro férrico ( $\text{FeCl}_3$ ) y sulfato de aluminio ( $\text{Al}_2(\text{SO}_4)$ ), a diferentes concentraciones en una prueba de jarras, con 3 minutos de agitaciones a 150 rpm y 25 rpm por 12 min, con un tiempo de decantación de 20 min, tal como lo muestra la figura 8-7. El sulfato férrico a 1000 ppm fue la sal y la mejor concentración para la separación, sin embargo, al secar la FORPA se nota visiblemente la presencia de la sal y de hidrogel, por lo que dicho resultado no fue favorable para la obtención de la FORPA por esta metodología.

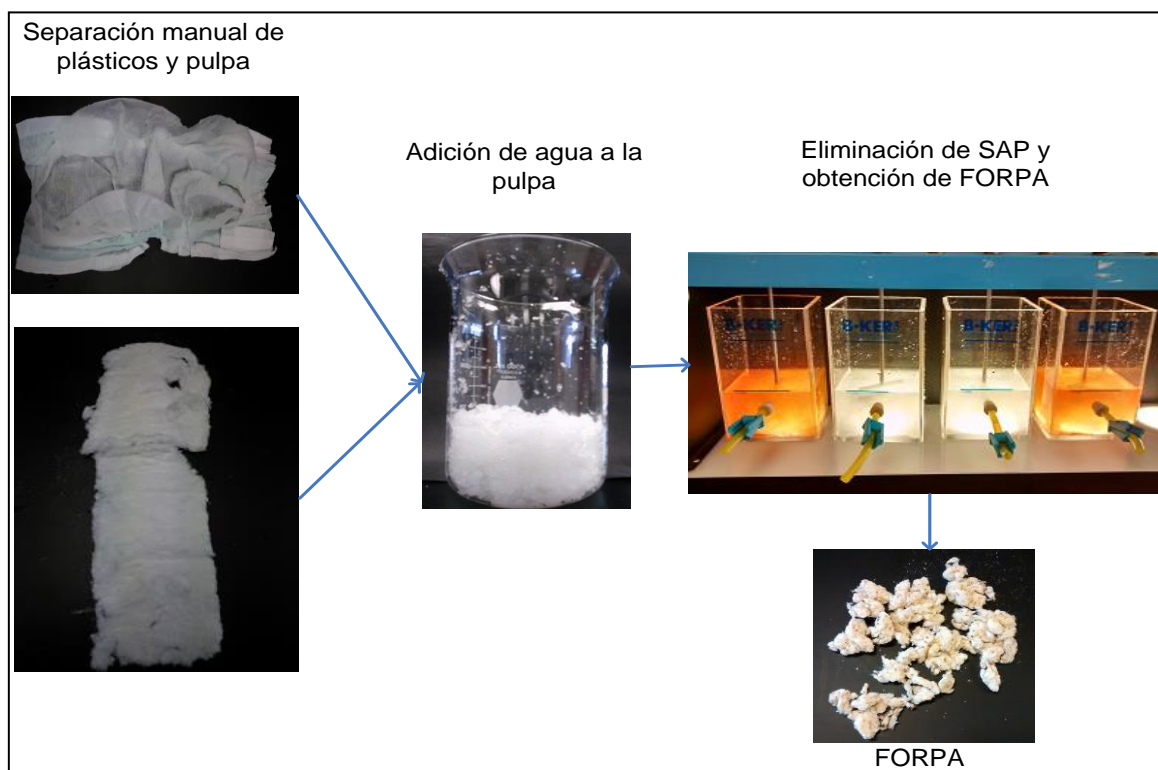


Figura 8-7. Diagrama de obtención de FORPA a pequeña escala

Dadas las diferentes complicaciones para la eliminación del hidrogel presente en los pañales desechables y la poca cantidad de pañal necesario en esta investigación se procedió a realizar la separación manual de la FORPA, sin dejar a un lado la evaluación de las sales metálicas y de las concentraciones, que aún se encuentra en estudio (figura 8-8).



Figura 8-8. Aspecto visual de la FORPA separada manualmente

Una vez realizado el proceso descrito por Giroto y colaboradores (2015) se obtuvieron separadamente los componentes del pañal desechable tal como se muestra en la figura 8-9, donde se puede apreciar la celulosa y el complejo Ca-P formado por la unión del poliacrilato de sodio con la sal de  $\text{CaCl}_2$ .



Figura 8-9. Componentes de pañal desechable separados (plástico, celulosa y Ca-P)

La eficiencia de recuperación de celulosa de la pulpa de madera y Ca-P fueron 60 y 40%, respectivamente, determinado a partir de los pesos de cada componente con respecto al peso inicial de la muestra. Este resultado indica que la recuperación de celulosa de pañales desechables utilizando esta metodología es factible.



Se encontró que el contenido de celulosa en la pulpa fue de 85%, lo que indica que este sustrato puede ser capaz de ser aplicado en el proceso de fermentación oscura para la producción de biohidrógeno.

#### 8.4 ENSAYO 1: FACTIBILIDAD DE PRODUCCIÓN DE HIDRÓGENO DE LA FORPA Y PAÑAL ENTERO

Los resultados de la factibilidad de producción de hidrógeno utilizando la FORPA y pañal entero como sustrato se presentan en la figura 8-10 y la tabla 8-5. Se puede apreciar que la FORPA fue la que presentó una mejor producción, sin embargo, cabe hacer notar que la producción es baja en comparación con la obtenida por la FORSU, alrededor de 0.25 a 4.8 mmol H<sub>2</sub>/g<sub>sd</sub> (Robledo-Narváez *et al.*, 2013; Lee *et al.*, 2010, Muñoz-Páez *et al.*, 2008; Váldez-Vázquez *et al.*, 2005). Se puede notar que la máxima producción fue en el día 10 de la fermentación, por lo que es factible aplicar venteo al sistema para tratar de mejorar la producción de hidrógeno (Váldez-Vázquez *et al.*, 2006a).

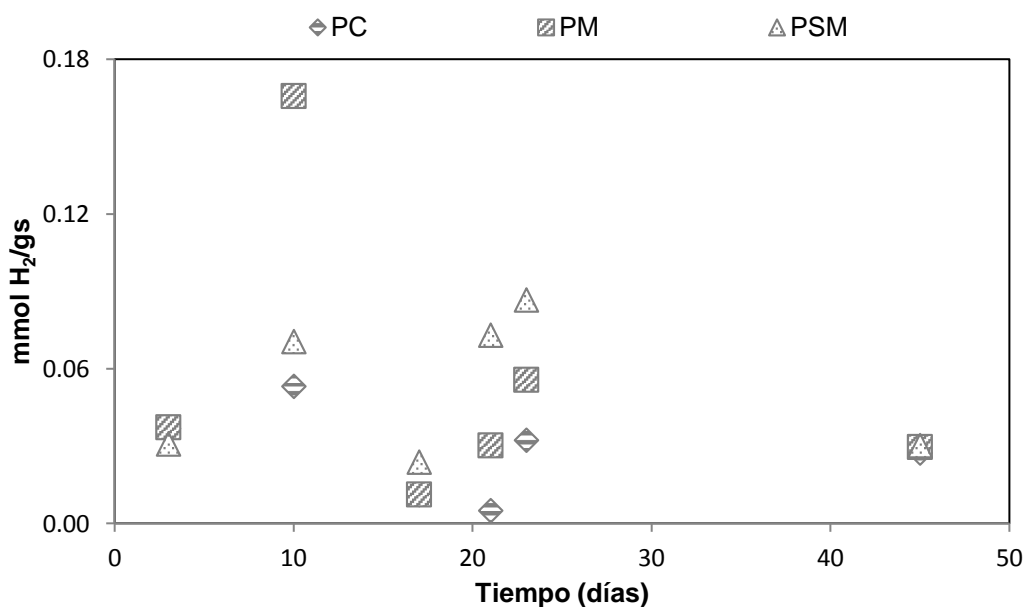


Figura 8-10. Producción de hidrógeno en diferentes combinaciones de pañal primer ensayo

Tabla 8-5. Producción máxima de hidrógeno primer ensayo

Reactor	mmol H <sub>2</sub> /g <sub>ST</sub>
PC	0.0532 ± 0.005
PM	0.1657 ± 0.025
PSM	0.0866 ± 0.004

Se caracterizó el digestato final del primer ensayo para determinar las diferencias con las características iniciales. Los resultados se presentan en la tabla 8-6, donde se puede apreciar una disminución en la materia orgánica de 15 y 12 % para PC y PM respectivamente, concordando con la disminución de la DQO, lo que indica la factibilidad de la remoción de la materia orgánica con la producción de hidrógeno utilizando pañales desechables como sustrato. El reactor PSM tuvo un porcentaje de disminución de materia orgánica de 3.5 %, sin embargo, la disminución de la DQO fue también significativa para este caso, datos que se corroboran con los análisis finales del segundo ensayo. Por otro lado, el alto  $\Delta$ pH (pH final inferior) para el caso PM y PSM podría afectar a los productores de  $H_2$ , ya que los microorganismos no podían adaptarse al cambio rápido (Khanal *et al.*, 2004) y la fermentación puede ser conducida a la producción de solventes provocando un detrimento de la acumulación  $H_2$ , lo que puede explicar una menor producción de  $H_2$  en estos reactores, para este primer ensayo.

Tabla 8-6. Características finales del digestato del primer ensayo

Reactor	Materia orgánica (%)		DQO (mg/L)		pH	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
PC	88.99±0.67	73.07 ± 1.69	7820 ± 1211	6520 ± 1106	7.08 ± 0.29	6.15 ± 0.10
PM	84.27±0.65	72.04 ± 1.66	6340 ± 611	5840 ± 279	7.10 ± 0.22	5.4 ± 0.07
PSM	84.05±0.40	80.51 ± 2.55	5675 ± 862	4225 ± 966	8.75 ± 0.04	7.24 ± 0.04

## 8.5 ENSAYO 2: FACTIBILIDAD DE PRODUCCIÓN DE HIDRÓGENO APLICANDO VENTEO INTERMITENTE CON $N_2$

Los resultados mostrados en la tabla 8-7, indican que una fermentación con venteo intermitente mejora la producción de hidrógeno con relación a la obtenida sin la aplicación de dicho proceso. La tabla 8-6, presenta los resultados de los 4 ciclos de producción, teniendo mayor producción para la PSM, con aumentos de 13.24, 5.76 y 13.33 veces mayor para PC, PM y PSM respectivamente. Así mismo, en la tabla 8-8 se puede apreciar que la producción de hidrogeno con este complejo residuo mejoró notablemente con la aplicación de ciclos, comparada con residuos de alimentos y orgánicos de los residuos sólidos municipales. Se observa que el máximo presentado por PSM se encuentra 17.26% por debajo de lo encontrado para la máxima producción de  $H_2$  en la FORSU.

Tabla 8-7. Producción de hidrógeno aplicando venteo

	1er. Ciclo	2do. Ciclo	3er.ciclo	4to. Ciclo	$\Sigma$ mmol H <sub>2</sub> /g
PC	0.5936	0.0232	0.0591	0.0287	0.7047
PM	0.0778	0.8072	0.0510	0.0179	0.9539
PSM	0.0000	1.0387	0.1045	0.0114	1.1546

Tabla 8-8. Comparación de estudios de la producción de H<sub>2</sub> por FORSU

Sustrato	Conc. ST (%)	Reactor	Temp. operación (°C)	Producción H <sub>2</sub> (mmol/g <sub>TS</sub> )	Referencia
Pañales desechables	25	Lote	35	1.15 max. PSM 0.7 min. PC	Este trabajo
Residuos de alimentos	17	Lote	35	6.66	Cheng et al., 2016
FORSU	10	Lote	37	2.72	Shah et al., 2016
FORS y papel		Lote	55	5.98	Elsadony y Tawfi, 2015
Residuos de alimentos	17	Lote	35	6.57	Kim et al., 2014
FORSU	10	Lote	35	1.73	Favaro et al., 2013
FORSU	30	Lote	35	2.51	Sekoai y Gueguim, 2013
FORSU	20.9	Lote	35	0.81	Escamilla-Alvarado et al., 2013
	35	Lote	55	1.65	
Residuos de alimentos	25	Lote	35	3.97	Zhou et al., 2013
FORSU	25	Lote	35	0.21	Muñoz-Páez et al., 2012
FORSU	25	Lote	37	0.27	Valdez-Vazquez et al., 2006
			55	0.15	

### 8.5.1 Determinación de metabolitos secundarios para el ensayo 2

Los resultados de los metabolitos se presentan en la tabla 8-9 y tabla 8-10, donde se puede observar que las cantidades de estos ácidos en el sistema fueron pequeñas por lo que tuvo que hacerse más análisis, para corroborar este primer acercamiento. Esto fue evaluado en el ensayo a diferentes temperaturas y diferentes acondicionamientos del sustrato, con su correspondiente explicación, ya que los datos obtenidos en este segundo ensayo no permiten concluir sobre la relación entre la presencia de estos y la producción de hidrógeno.

Tabla 8-9. Ácidos orgánicos volátiles y solventes iniciales en el segundo ensayo

	AOV Iniciales (mg DQO/L)				Solventes Iniciales (mgDQO/L)					
	Acético	Propiónico	Butírico	Láctico	Σ AOV Iniciales	Acetona	Metanol	Etanol	Butanol	Σ SOL Iniciales
PC	1093	0	0	703	1796	2	9	12	1	24
PM	655	1	0	313	969	0	17	13	4	34
PSM	1631	0	0	2215	3847	113	94	145	152	504

Tabla 8-10. Ácidos orgánicos y solventes finales en el segundo ensayo

	AOV Finales (mg DQO/L)				Solventes finales (mg DQO/L)					
	Acético	Propiónico	Butírico	Láctico	Σ AOV finales	Acetona	Metanol	Etanol	Butanol	Σ SOL finales
PC	8733	4	3	33	8773	21	1357	136	152	1665
PM	11374	1	5	1955	13335	14	1297	546	337	2193
PSM	15241	2	2	0	15245	4	16	2746	344	3111

### 8.5.2 Caracterización del digestato obtenido en el segundo ensayo

La tabla 8-11 muestra la caracterización final del digestato o sólidos fermentados. Se puede apreciar una reducción de la materia orgánica de 11.69% para PSM lo que concuerda con la generación de H<sub>2</sub>, ya que este tipo de sustrato fue el que tuvo una producción mayor con respecto a los otros dos tipos, cuya reducción de materia orgánica fue de alrededor de 3%. Se puede apreciar un aumento en el DQO para los tres casos, así como una reducción en el pH, que puede modificar la cantidad de biohidrógeno producida.

Tabla 8-11. Características del digestato del segundo ensayo

	Materia orgánica (%)		DQO (mg/L)		pH	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
PC	88.99±0.67	85.93±1.86	7820±1484	31760±2148	7.08±0.36	4.69±0.05
PM	84.27±0.65	82.27±6.65	4840±1490	27580±5258	7.11±0.27	4.76±0.32
PSM	84.05±0.40	74.22±3.10	5673±1056	33000±0	8.75±0.05	5.05±0.14

## 8.6 ENSAYO 3: PRODUCCIÓN DE HIDRÓGENO EN TEMPERATURA MESOFÍLICA (35 °C) Y TERMOFÍLICO (55 °C)

La aplicación del proceso de fermentación anaerobia para producción de hidrógeno en sustrato sólido con venteo intermitente acoplado a lavado de espacio de cabeza del reactor con  $N_2$  (FAHSS-VI) teniendo a los pañales desechables como sustrato, permitió tres ciclos de generación de hidrógeno sin adición de nuevo sustrato o inóculo entre ciclos (figura 8-11 y figura 8-12). Se intentó un cuarto ciclo, pero no se presentó generación de hidrógeno.

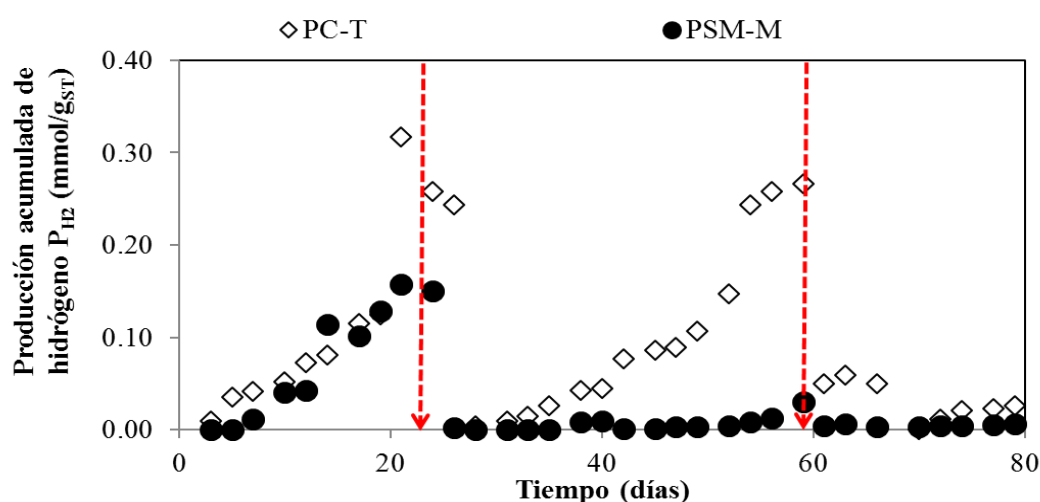


Figura 8-11. Evolución temporal de la producción de  $H_2$  en lote de PC-termofílico y PSM-mesofílico. Las flechas verticales indican venteo de espacio de cabeza de biorreactor con  $N_2$

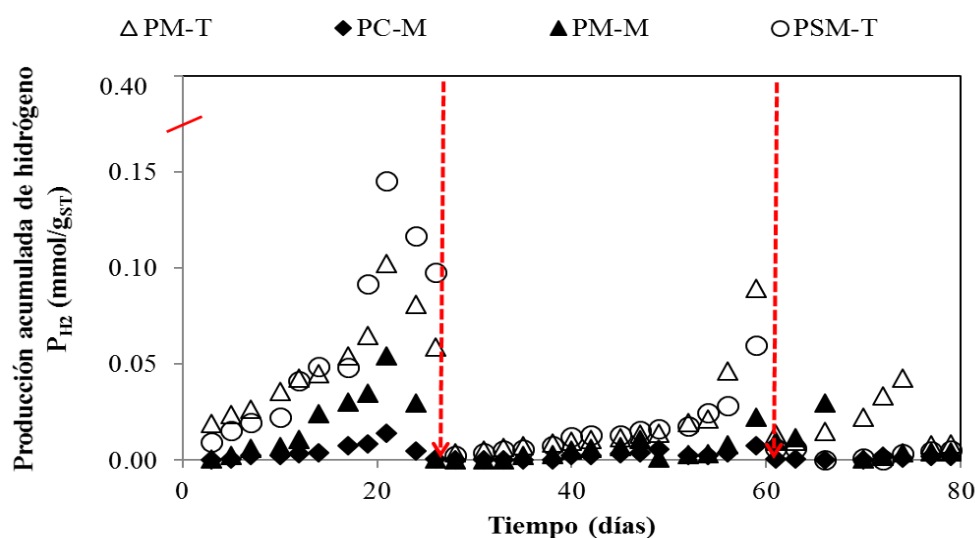


Figura 8-12. Evolución temporal de la producción de  $H_2$  en para los cuatro tratamientos con menor producción. Las flechas verticales indican venteo de espacio de cabeza de biorreactor con  $N_2$

La producción acumulada de bioH<sub>2</sub> fue mayor a 55 °C que a 35 °C, en especial para PC y PSD. Esto podría ser debido a la actividad metabólica más rápida de las bacterias reportada para el rango termófilo (Madigan *et al.*, 2012; Valdez-Vázquez y Poggi-Varaldo, 2009b; Verhaart *et al.*, 2010). Zeidan y van Niel (2010) encontraron que la fermentación oscura en rango termófilo fue más eficaz que en el mesófilo; observaron rendimientos de H<sub>2</sub> cercanos al rendimiento teórico de 4 moles de H<sub>2</sub> mol<sup>-1</sup> de glucosa en el régimen termófilo. Los autores probaron la fermentación oscura de 10 g L<sup>-1</sup> de glucosa o xilosa usando *Caldicellulosiruptor owensensis* cepa OL<sup>T</sup> (un archaea hipertermófilico) en reactores a escala de laboratorio de lote a 70 °C. Los rendimientos de H<sub>2</sub> y de acetato de xilosa fueron más bajos que en la glucosa. Los rendimientos de H<sub>2</sub> que encontraron para la glucosa fueron 3.8 ± 0.1 mol H<sub>2</sub> mol<sup>-1</sup> glucosa. Los resultados de esta investigación fueron significativamente inferiores a los de Zeidan y van Niel (2010), aunque debe señalarse que había varias diferencias entre los experimentos: Zeidan y van Niel utilizaron una cepa pura y un sustrato soluble puro y llevaron a cabo la fermentación sumergida a una temperatura relativamente alta. En este caso, se utilizó un consorcio microbiano no definido y un sustrato complejo, que era un material en partículas y menos propenso a la biodegradación rápida que la glucosa; la temperatura de operación fue inferior a la de Zeidan y van Niel. Es decir, el experimento de Zeidan y van Niel se realizó bajo condiciones más favorables. Un inconveniente de la obra de Zeidan y Van Niel podría estar relacionado con la falta de análisis de los requisitos de energía adicional para mantener su sistema/biorreactor a 70 °C, así como la energía necesaria para la esterilización del sustrato, en oposición a las fermentaciones llevadas a cabo a cualquiera 55 °C, 35 °C o temperatura ambiente (Muñoz-Páez *et al.*, 2013) con un sustrato complejo no estéril. Es probable que los requisitos de energía adicionales en el proceso de Zeidan y van Niel pudieran compensar las ganancias asociadas a los altos rendimientos de H<sub>2</sub>.

En este trabajo la producción más alta de H<sub>2</sub> se obtuvo en el primer ciclo en todos los casos (tabla 8-12). No se observó producción de H<sub>2</sub> en el control. El promedio de producción acumulado de H<sub>2</sub> siguió curiosamente el orden PC>PSM>PM, diferente a lo esperado, ya que se predecía una mayor producción en aquellos reactores donde no había presencia de plásticos. Se puede especular que, o bien el plástico podría servir como un soporte para el crecimiento microbiano (Characklis y D Bryes, 2009; Peyton y Characklis, 1995;

Stoodley *et al.*, 2002), mejorando así el proceso de fermentación oscura del material degradable (Poggi-Varaldo *et al.*, 2009, 2012), o que los plásticos presentes en el PC podrían ser al menos parcialmente degradables.

Tabla 8-12. BioH<sub>2</sub> de los pañales desechables usados por cada ciclo y producción total

Factor		P <sub>H</sub> por ciclo de incubación			Total P <sub>H</sub> (Σ <sub>1-3</sub> P <sub>H</sub> ) <sup>§</sup>	pH Inicial	pH Final	ΔpH
Condición	Temperatura	1	2	3				
PC	35	0.014±0.002	0.008±0.001	0.002±0.001	0.024±0.001	7.08	4.69	2.39
PC	55	0.317±0.016	0.266±0.033	0.026±0.002	0.609±0.017	7.11	5.76	1.35
PM	32	0.054±0.003	0.022±0.009	0.004±0.000	0.081±0.004	8.75	5.05	3.70
PM	55	0.102±0.005	0.089±0.001	0.008±0.001	0.200±0.014	7.08	5.66	1.42
PSM	35	0.158±0.025	0.030±0.005	0.000±0.000	0.188±0.01	7.11	5.40	1.71
PSM	55	0.145±0.007	0.060±0.000	0.005±0.000	0.21±0.002	8.75	7.24	1.51

Las producciones más altas de H<sub>2</sub> de PC podrían ser también debidas a una composición de materia orgánica distinta de este sustrato. Se observó que tanto el contenido de los sólidos volátiles (SV) y la DQO soluble fueron mayores en el sustrato PC, que mostró la más alta P<sub>H2</sub> en el experimento. Los SV iniciales fueron 88.99, 81.29 y 84.39 para PC, PM, y PSM, respectivamente; DQO solubles fueron 3900, 3240, y 1840 mg L<sup>-1</sup> para PC, PM y PSM, respectivamente. Es probable que una mayor P<sub>H2</sub> de PC pudiera estar relacionada, al menos en parte, a su mayor contenido de materia orgánica inicial.

La P<sub>H2</sub> acumulada obtenida en este trabajo es baja en comparación con la obtenida a partir de la fracción orgánica de los residuos sólidos municipales (FORM) que está en el rango de 0.25 a 4.8 mmol H<sub>2</sub>/g<sub>TS</sub> (Váldez-Vázquez *et al.*, 2005; Lee *et al.*, 2010; Robledo-Narvaez *et al.*, 2013). Un examen de los posibles factores que podrían explicar las diferencias en los rendimientos de H<sub>2</sub> indicó que la baja producción de H<sub>2</sub> de pañales de desecho en comparación con la de la FORM podría estar relacionado con una proporción significativamente más baja relación C/N en pañales de desecho (12) que la de FORM (55). Esto, a su vez, podría haber estado relacionado con las liberaciones superiores de especies de N amoniacal (NH<sub>3</sub> y NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) a través de la hidrólisis de la urea y otra materia orgánica rica en proteínas (heces). Por lo tanto, es probable que una inhibición de amoníaco más importante de los consorcios microbianos puede haber ocurrido durante la fermentación de los pañales de desecho (Angelidaki y Ahring, 1993; Chen *et al.*, 2008; Heinrichs *et al.*, 1990; Kayhanian, 1999; Koster y Koomen, 1988; Poggi-Varaldo *et al.*, 1991; Poggi-Varaldo *et al.*, 1997; Siles *et al.*, 2010; Yenigun y Demirel, 2013; Zumar y Mohee, 2016).

El pH se reconoce como un factor importante que influye en la actividad de bacterias productoras de H<sub>2</sub> y la producción fermentativa de H<sub>2</sub>, ya que afecta a la actividad de hidrogenasa, así como la vía metabólica, entre otros efectos (De Giannis *et al.*, 2014; Kumar *et al.*, 2016; Robledo-Narvaez *et al.*, 2013; Zagrodnik y Lanieki, 2015). Un alto  $\Delta$ pH podría estar asociada con un pH final mucho más bajo de la fermentación, que podría afectar a los productores de H<sub>2</sub> ya que los microorganismos no podían ajustarse al cambio rápido y posiblemente un cambio (parcial) para solventogénesis podría haber ocurrido (Khanal *et al.*, 2004; Muñoz-Páez *et al.*, 2014). Sin embargo, en el presente trabajo, se encontró que hay una tendencia clara del patrón de pH a disminuir, lo que puede deberse a diferencias en el pH inicial de cada tratamiento. Además, que se aprecia que los dos casos PC y PM a 35 °C con la más grande diferencia de pH final mostraron la menor producción de hidrógeno. Cabe señalar que el pH inicial no se ajustó a un valor establecido en este experimento (tabla 8-12).

Ácido acético, ácido propiónico, ácido butírico, ácido láctico, acetona, metanol, etanol y butanol fueron los productos microbianos solubles detectados en este trabajo (tabla 8-13). La fermentación alcohólica se ha relacionado con una baja producción de H<sub>2</sub> en diferentes estudios (Guo *et al.*, 2008; Koskinen *et al.*, 2007, 2008; Ren *et al.*, 1997). En este caso, una de las razones del bajo rendimiento de H<sub>2</sub> podría ser la alta producción de etanol, que en general mostró concentraciones que representaban aproximadamente el 40% de las concentraciones globales de disolventes.

Tabla 8-13. Perfil de acumulación de solventes en la producción de biohidrógeno a dos diferentes temperaturas

Reactor	Metabolitos (mgDQO/K <sub>gbs</sub> )					$\rho^b$
	AcOH	MetOH	EtOH	BuOH	$\Sigma$ solv	
PC-M	7.20	2182	4183	2580	8952	4.52
PC-T	5.18	1890	4010	3487	9392	2.35
PM-M	2.45	ND	6540	ND	6542	2.69
PM-T	1.61	ND	7140	ND	7142	2.06
PSM-M	1.00	800	650	ND	1451	32.23
PSM-T	0.61	893	773	ND	1666	6.04

AcOH: acetona; MetOH: metanol; EtOH: etanol; BuOH: butanol;  $\Sigma$ solv: suma de solventes; factor  $\rho$ ;  $\Sigma$ AOV/ $\Sigma$ solventes

La relación entre el ácido acético y el ácido butírico (A/B), es un parámetro que puede indicar la ruta metabólica favorecida en el proceso fermentativo, el



valor umbral de la relación expresada en unidades de DQO-equivalente es 0.79: por lo tanto, si el valor de A/B es menor que 0.79, la producción de H<sub>2</sub> a través de H<sub>Bu</sub> es probablemente predominante, y si el valor de A/B es más alta que 0.79, la producción de H<sub>2</sub> a través de H<sub>Ac</sub> es probablemente predominante (Robledo-Narvaez *et al.*, 2013). En este experimento, las relaciones A/B en todos los reactores fueron inferiores a 0.79, por lo que se puede decir que la producción de H<sub>2</sub> a través de ácido butírico fue probablemente predominante.

Se sabe que el ácido láctico puede estar relacionado con la baja producción de H<sub>2</sub> (Escamilla-Alvarado *et al.*, 2012), ya que puede estar formado por dos vías, homoláctica y heteroláctica, en el que el primero utiliza la hexosa y da 2 moles de HLac sin generación de H<sub>2</sub>. Además de la pérdida de producción de H<sub>2</sub> de HLac, otra cuestión es el posible efecto tóxico de las bacterias del ácido láctico en otros miembros del consorcio de producción de H<sub>2</sub> a través de bacteriocinas (Muñoz-Páez *et al.*, 2008; Noike *et al.*, 2002).

Como se mencionó anteriormente, PC termófilo mostró el más alto  $P_{H_2}$ , pero también el más alto HLac, que parece ser contradictorio. Zumar y Mohee (2016) examinaron la relación de la presencia de HLac en la producción de la fermentación oscura, resumieron mecanismos seleccionados de acción de HLac (competición por el sustrato y la liberación de toxinas, que también fueron abordadas por Muñoz-Páez *et al.*, 2008). Zumar y Mohee también destacaron las tendencias opuestas típicas entre HLac y  $P_{H_2}$ , es decir, cuando la concentración de HLac es alta o se acumula,  $P_{H_2}$  es baja o disminuye. Sin embargo, hay un informe de Wang *et al.*, (2010), donde la adición de HLac resultó en un aumento del 40% de producción de H<sub>2</sub>, 102-139 ml g<sup>-1</sup><sub>TS</sub>, en comparación con la fermentación oscura de pulpa de manzana sin adición láctico. En este sentido, parece que el efecto de HLac en la fermentación oscura y la relación entre la acumulación de HLac y baja  $P_{H_2}$  necesitan más investigaciones. En resumen, a pesar de que la relación “HLac alta -  $P_{H_2}$  baja” presentada en varios trabajos previos sobre fermentación oscura podría tener excepciones, se sabe poco sobre los mecanismos relacionados con las excepciones.

Las concentraciones tanto de H<sub>Ac</sub> como de H<sub>Bu</sub> en sólidos fermentados del proceso fueron relativamente altas (tabla 8-14). Se sabe que la producción de H<sub>2</sub> puede ser inhibida por la presencia o acumulación de ácidos grasos volátiles o ácidos orgánicos volátiles (AGV o AOV), en particular el ácido acético

y ácido n-butírico, que se forman en los procesos de fermentación oscura (Jones *et al.*, 2015; Muñoz-Páez *et al.*, 2012; Ntaikou *et al.*, 2010; Zumar y Mohee, 2016). De hecho, van Ginkel y Logan (2005) y Zhang *et al.*, (2012) han informado que el ácido butírico es más tóxico que el ácido acético para este tipo de procesos.

Los AOV puede perjudicar la generación de H<sub>2</sub> al menos por dos mecanismos: inhibición del producto (Hawkes *et al.*, 2007; Jones *et al.*, 2015), y lisis celular de las bacterias productoras de H<sub>2</sub> (Choudhari *et al.*, 2014; Jones *et al.*, 2015). Otros estudios han ensayado la reducción de las concentraciones de ácidos mediante el lavado de los sólidos fermentados en sustrato sólido de la FORM (Muñoz-Páez *et al.*, 2012) o por electrodiálisis de membrana bipolar en licores fermentados, aumentando la generación de hidrógeno en fermentación oscura (Zumar y Mohee, 2016).

Tabla 8-14. Perfil de acumulación de AOV en la producción de biohidrógeno a dos diferentes temperaturas

Reactor	Metabolitos (mgDQO/K <sub>gbs</sub> )					Radio A/B <sup>a</sup>
	HAc	HPr	HBu	ΣAOV	HLac	
PC-M	3843	24352	12232	40427	6502	0.31
PC-T	201	3366	18502	22069	3305	0.01
PM-M	930	3088	13573	17591	7821	0.07
PM-T	131	2020	12583	14734	1955	0.01
PSM-M	2651	6902	37217	46770	872	0.07
PSM-T	135	3221	6703	10059	2469	0.02

HAc: ácido acético; HPr: ácido propiónico; HBu: ácido butírico; HLac: ácido láctico; A/B: Relación ácido acético sobre ácido butírico en base DQO

El análisis estadístico (tabla 8-15), de la producción total de bioH<sub>2</sub> en la fermentación oscura, que involucra a dos factores (temperatura y pañales acondicionados) se presenta en la tabla 8-15. El factor “temperatura” tuvo un efecto significativo (p=0.06). De hecho, en general, la generación de bioH<sub>2</sub> a 55 °C fue superior a la obtenida a 35 °C. Curiosamente, el factor “Condición de pañal” no fue significativo (p> 0.10). La interacción (Temperatura x condición de pañal) fue ligeramente significativa (p=0.15).

Tabla 8-15. Análisis de varianza para producción acumulada de bioH<sub>2</sub>

Fuente	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	F	p(F)
Efectos principales					
A: Temperatura	0.264	1	0.264	4.39	0.06
B: Condición de pañal	0.096	2	0.048	0.80	0.47
INTERACCIONES					
AB	0.271	2	0.135	2.26	0.15
RESIDUOS	0.721	12	0.060		
TOTAL (CORREGIDO)	1.353	17			

La figura 8-13 muestra la gráfica que indica que hubo una interacción entre los dos factores. La interacción fue traducida en una tendencia diferente en P<sub>H<sub>2</sub></sub> con la temperatura para el PM y PSM comparado con la de PC. En efecto, P<sub>H<sub>2</sub></sub> de PM y PSM aumenta a 55 °C en comparación con 35 °C que fue muy bajo, mientras que el aumento de P<sub>H<sub>2</sub></sub> para PC con el cambio de temperatura de proceso a 55 °C fue muy drástico (casi 12 veces).

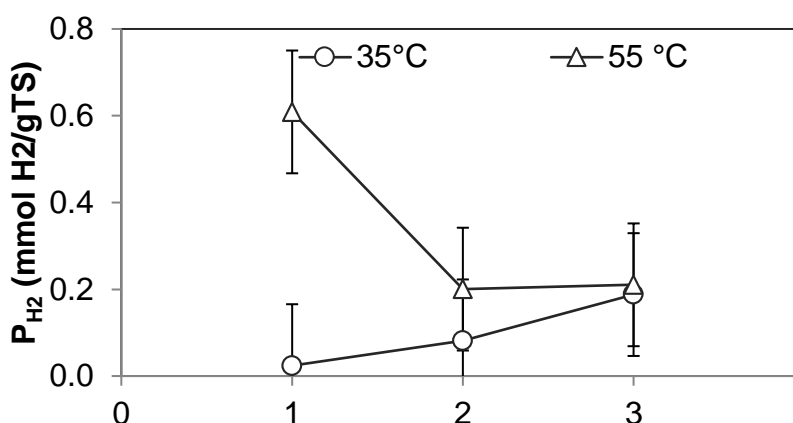


Figura 8-13. Interacción entre los factores "temperatura" y "condición de pañal" para la variable de respuesta de producción acumulada de bio-hidrógeno; 1: PC; 2: PM; 3: PSM

## 8.7 ENSAYO 4: EVALUACIÓN DE LA POSIBLE INHIBICIÓN POR EL HIDROGEL

Los resultados de este ensayo se presentan en la figura 8-14, donde se puede apreciar que el hidrogel no aporta hidrógeno al sistema, como se esperaba, sin embargo, cuando se combina con el papel se puede apreciar una disminución de la producción, lo que debe evaluarse, ya que eliminar por completo el hidrogel de los pañales puede aumentar el rendimiento en la producción de hidrógeno. Se lograron dos ciclos para el caso de papel solo y un tercer ciclo fue logrado para el caso de papel-hidrogel. Sin embargo, la producción de H<sub>2</sub> en el tercer ciclo de biorreactores P-H no pudo compensar la

alta producción de  $H_2$  obtenida en 2 ciclos de unidades P. Como se aprecia en la tabla 8-16 la disminución en la producción de hidrógeno debida a la presencia de hidrogel fue de alrededor de 23.27% con respecto al producido en los reactores con papel solo. FAHSS-VI de re

Además de que el SAP fue recalcitrante en el ensayo con residuos de papel, también provocó un efecto tóxico o inhibitor moderado sobre la producción de  $bioH_2$  a partir de desechos celulósicos. Probablemente, este efecto también puede ocurrir con la fermentación del pañal, que contiene hasta 35% de celulosa.

Estos resultados sugieren que los fabricantes de pañales podrían considerar el reemplazo de SAP en pañales teniendo en cuenta la optimización de los rendimientos de  $H_2$  durante el tratamiento de pañales de desecho. Por razones de sostenibilidad, el SAP podría ser reemplazado por almidones especiales, como los utilizados por la industria alimentaria, que se sabe que absorben cantidades importantes de agua y son degradables por fermentación oscura. Alternativamente, la aclimatación del inóculo a la degradación del acrilato podría explorarse usando pequeñas cantidades de ácido acrílico o acrilatos de bajo peso molecular en el sustrato celulósico.

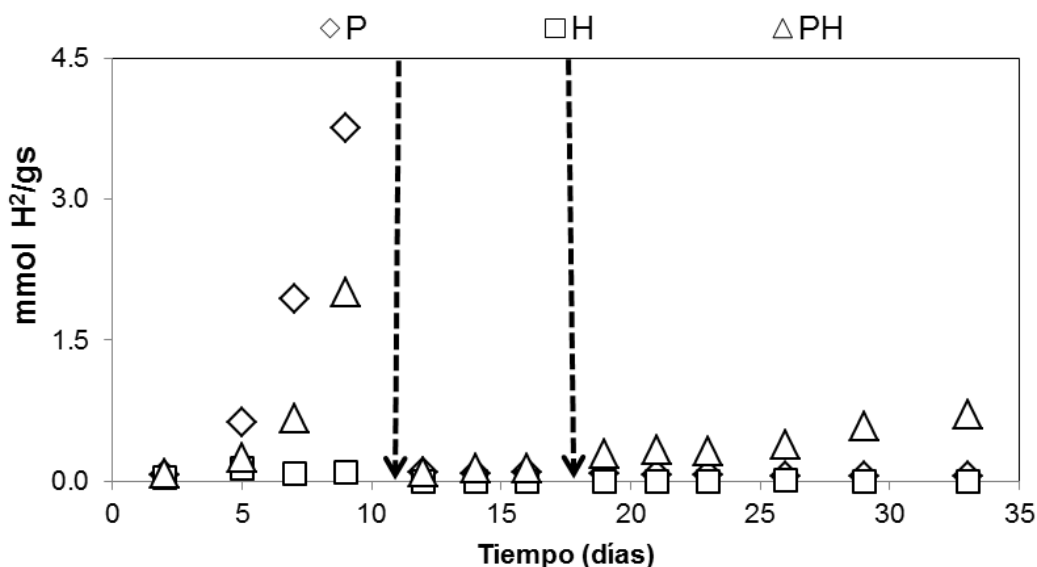


Figura 8-14. Resultados del análisis de inhibición por la presencia de hidrogel (P=papel, H=hidrogel, PH=papel-hidrogel)

Tabla 8-16. Bio-H<sub>2</sub> en ensayo de inhibición por hidrogel

Reactor	P <sub>H2</sub> por ciclo de incubación (mmol H <sub>2</sub> /g <sub>ST</sub> )			Total P <sub>H2</sub> ( $\sum_1^3 P_{H2}$ )
	1	2	3	
P	5.25	0.14	0.11	5.50±0.89
H	0.01	0.01	0.01	0.02±0.005
P-H	2.82	0.41	0.99	4.22±0.66

La tabla 8-17 muestra el análisis estadístico ANOVA tomando como referencia un solo factor (tipo de sustrato), los resultados del mismo, indican que la presencia de SAP fue significativa ( $p < 0.05$ ). Hasta donde se sabe, ésta es la primera vez que existe una evidencia documentada de efecto perjudicial de SAP sobre la fermentación oscura hidrogénica de desechos celulósicos.

Tabla 8-17. Análisis de varianza para la evaluación de inhibición por la presencia de SAP

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza		
P	3	16.49	5.50	0.79		
P-H	3	12.65	4.22	13.42		
H	3	0.04	0.01	0.00		
Fuente de variación	SS	df	MS	F	Valor P	F crit
Entre grupos	49.39	2	24.69	5.21	0.049	5.14
Dentro grupos	28.42	6	4.74			
Total	77.81	8				

## 8.8 ENSAYO 5. EVALUACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE HIDROGENO EN LA FORPA POR SUPERFICIE DE RESPUESTA

De acuerdo a la metodología establecida para este ensayo se lograron 4 ciclos de venteo con N<sub>2</sub>; se intentó un quinto ciclo, pero no se mostró una producción significativa de hidrógeno en los reactores.

La ecuación 8.1 muestra el polinomio basado en un modelo de segundo orden que relaciona las variables evaluadas (C/N, T y ST) sobre la variable de respuesta de P<sub>H2</sub>, lo que indica que existen curvaturas en la descripción del sistema y que la regresión entre las variables es relativamente pequeña (Montgomery, 2012). La figura 8-15 muestra los gráficos de superficie de

respuesta para cada pareja de variables con respecto a la producción acumulada de hidrógeno y la figura 8-16 muestra los contornos de la superficie de respuesta.

$$P_{H_2} = -20.16 + 0.880CN + 0.210ST + 0.1778 - 0.00649CN^2 - 0.00259ST^2 - 0.000805T^2 - 0.00762 CN * ST - 0.00507 CN * T + 0.00242 ST * T \quad (8.1)$$

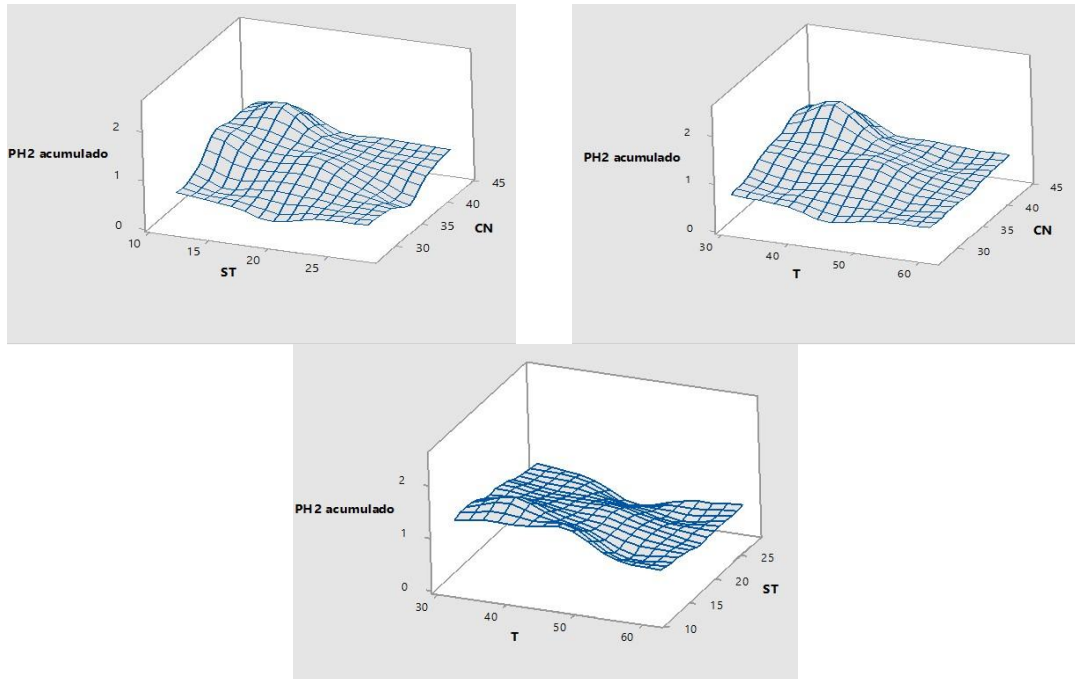


Figura 8-15. Gráficos de superficie de respuesta para las diferentes parejas de variables sobre la producción de H<sub>2</sub> de la FORPA

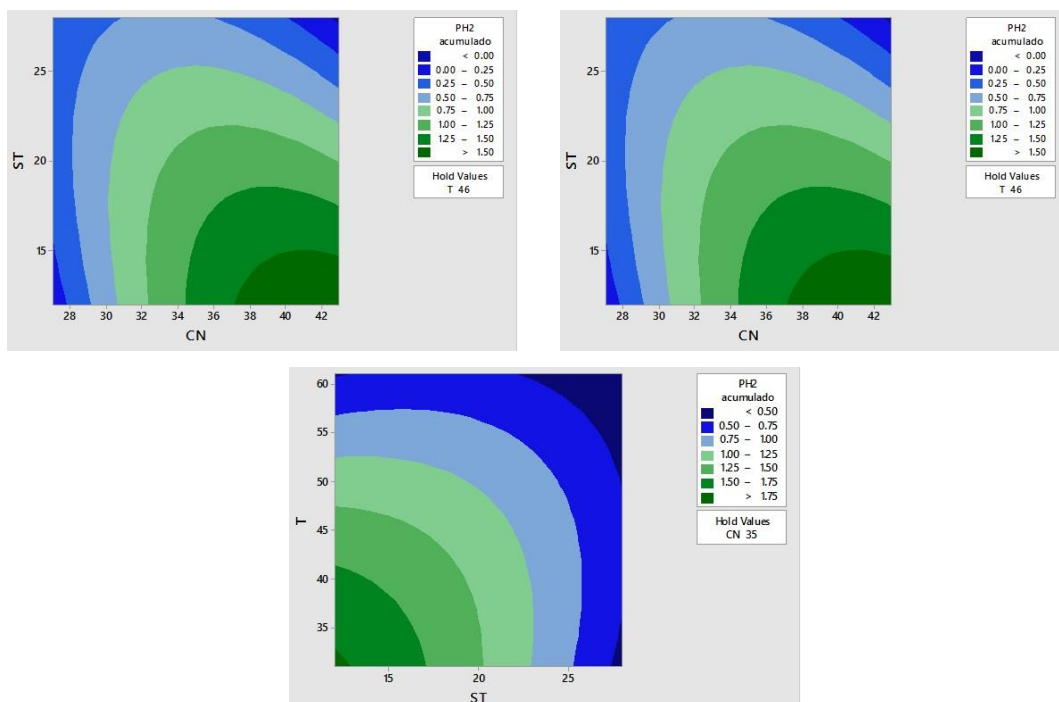


Figura 8-16. Gráficos de contorno para las diferentes parejas de variables sobre la producción de H<sub>2</sub> de la FORPA

La tabla 8-18 muestra el análisis de varianza para  $P_{H_2}$  vs CN, ST, T; el estadístico  $R^2$  indica que el modelo así ajustado explica 66.3% de la variabilidad en  $P_{H_2}$  acumulado. El estadístico  $R^2$  ajustado, que es más apropiado para comparar modelos con diferente número de variables independientes, es 56.28%. El error estándar del estimado muestra que la desviación estándar de los residuos es 0.328019. Puesto que los valores P en la tabla ANOVA son menores que 0.05, existe una relación estadísticamente significativa entre las variables con un nivel de confianza del 95.0%.

Tabla 8-18. Análisis de varianza para la regresión de superficie de respuesta:  $P_{H_2}$  vs CN, ST, T

Fuente	GI	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor F	Valor P	
Modelo	9	6.3702	0.70780	6.58	0.000	
Lineal	3	3.9614	1.302048	12.27	0.000	
CN	1	1.0511	1.050106	9.77	0.004	
ST	1	1.5932	1.59316	14.81	0.001	
T	1	1.3172	1.31722	12.24	0.001	
Cuadrado	3	0.8059	0.26863	2.50	0.079	
CN*CN	1	0.6533	0.65326	6.07	0.020	
ST*ST	1	0.1043	0.10431	0.97	0.333	
T*T	1	0.1200	0.12001	1.12	0.299	
2-Interacción	3	1.6029	0.53430	4.97	0.006	
CN*ST	1	0.5808	0.58078	5.40	0.027	
CN*T	1	0.8319	0.83193	7.73	0.009	
ST*T	1	0.1902	0.19019	1.77	0.194	
Error	30	3.2279	0.10760			
Falta de ajuste	5	0.7317	0.14634	1.47	0.236	
Error puro	25	2.4962	0.09985			
Total	39	9.5981				
<b>Resumen del modelo</b>						
<b>S</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>R<sup>2</sup> ajustado</b>	<b>R<sup>2</sup> predicho</b>			
0.328019	66.3 %	56.28%	37.36%			
<b>Coefficientes codificados</b>						
<b>Termino</b>	<b>Efecto</b>	<b>Coefficiente</b>	<b>Coefficiente SE</b>	<b>Valor T</b>	<b>Valor P</b>	<b>VIF</b>
Constante		1.0861	0.0942	11.53	0.000	
CN	0.640	0.320	0.102	3.13	0.004	1.00
ST	-0.788	-0.394	0.102	-3.85	0.004	1.00
T	-0.735	-0.367	0.105	-3.50	0.001	1.00
CN*CN	-0.831	-0.415	0.169	-2.46	0.020	1.01
ST*ST	-0.332	-0.166	0.169	-0.98	0.333	1.01
T*T	-0.362	-0.181	0.172	-1.06	0.299	1.01
CN*ST	-0.975	-0.488	0.210	-2.32	0.027	1.00
CN*T	-1.216	-0.608	0.219	-2.78	0.009	1.00
ST*T	0.851	0.291	0.219	1.33	0.194	1.00
<b>Ajustes y diagnósticos para observaciones inusuales</b>						
<b>Observación</b>	<b>P<sub>H2</sub></b>	<b>Ajuste</b>	<b>Residuo</b>	<b>Residuo estándar</b>		
28	0.355	0.991	-0.635	-2.30 R		
R Residuo grande						

La optimización del diseño experimental para la producción acumulada de hidrógeno por el diseño de superficie de respuesta indica que una maximización de este parámetro se puede lograr con la combinación de factores de 43, 12 y 31 para CN, ST y T respectivamente (tabla 8-19), logrando con ello una máxima producción predecible de 2.792 mmol/g<sub>ST</sub>, que experimentalmente fue 2.476 mmol/g<sub>ST</sub>, menor en un 11.32% a lo esperado.

Tabla 8-19. Optimización de la respuesta para P<sub>H2</sub>

Respuesta	Meta	Bajo	Objetivo superior	Peso	Importancia
P <sub>H2</sub>	Maximizar	0.118803	2.47600	1	1
<b>Solución</b>					
Solución	CN	ST	T	P <sub>H2</sub> ajustado	Deseabilidad compuesta
1	43	12	31	2.7902	1
Respuesta	Ajuste	Error cuadrado ajustado	95% CI	95% PI	
P <sub>H2</sub>	2.792	0.478	(1.815,3.769)	(1.607,3.977)	

Un polinomio basado en modelo de segundo grado relaciona las variables C/N, ST y T sobre la variable de respuesta de la sumatoria de ácidos orgánicos volátiles, lo que indica que la regresión entre las variables es relativamente pequeña (Ec. 8.2).

$$\begin{aligned} \sum AOV = & 2484 + 78 CN - 75 ST - 131 T - 1.63 CN^2 - 0.94 ST^2 + \\ & 1.704T^2 + 4.09 CN * ST - 0.73 CN * T - 0.48 ST * \\ & T \end{aligned} \quad [8.2]$$

La figura 8-17 muestra los gráficos de superficie de respuesta para cada pareja de variables con respecto a la sumatoria de ácidos orgánicos (acético, butírico y propiónico) y la figura 8-18 muestra los contornos de la superficie de respuesta.



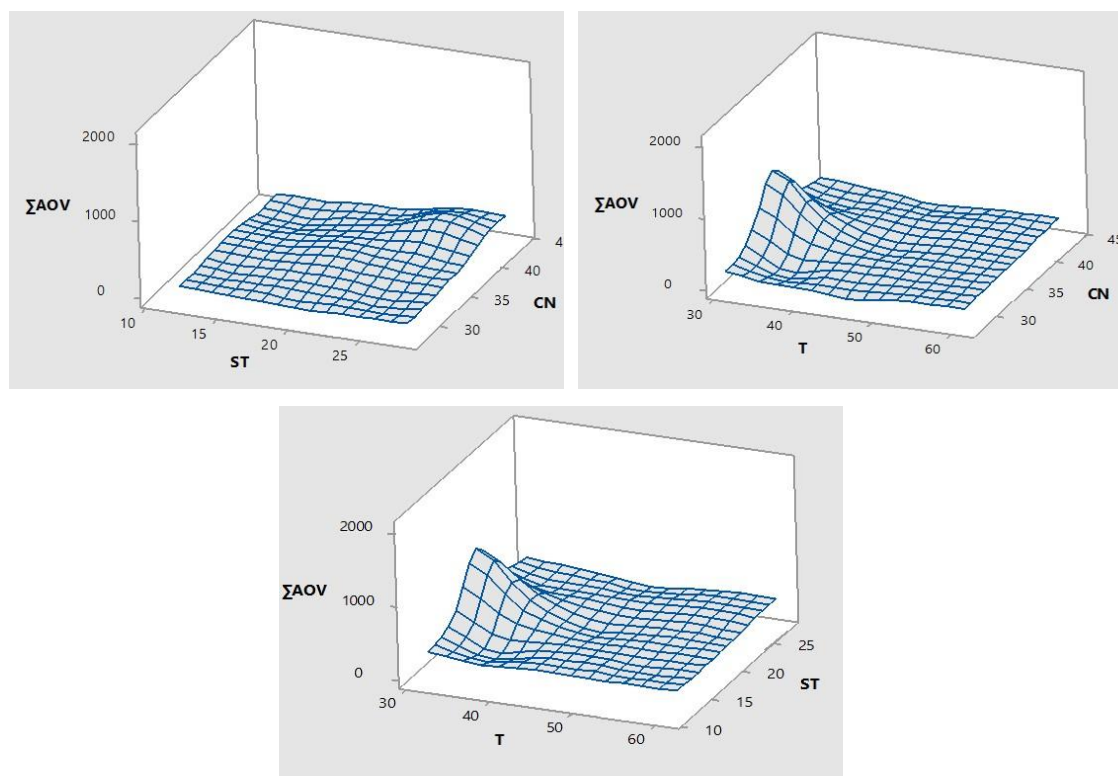


Figura 8-17. Gráficos de superficie de respuesta para las diferentes parejas de variables sobre la sumatoria de ácidos orgánicos volátiles

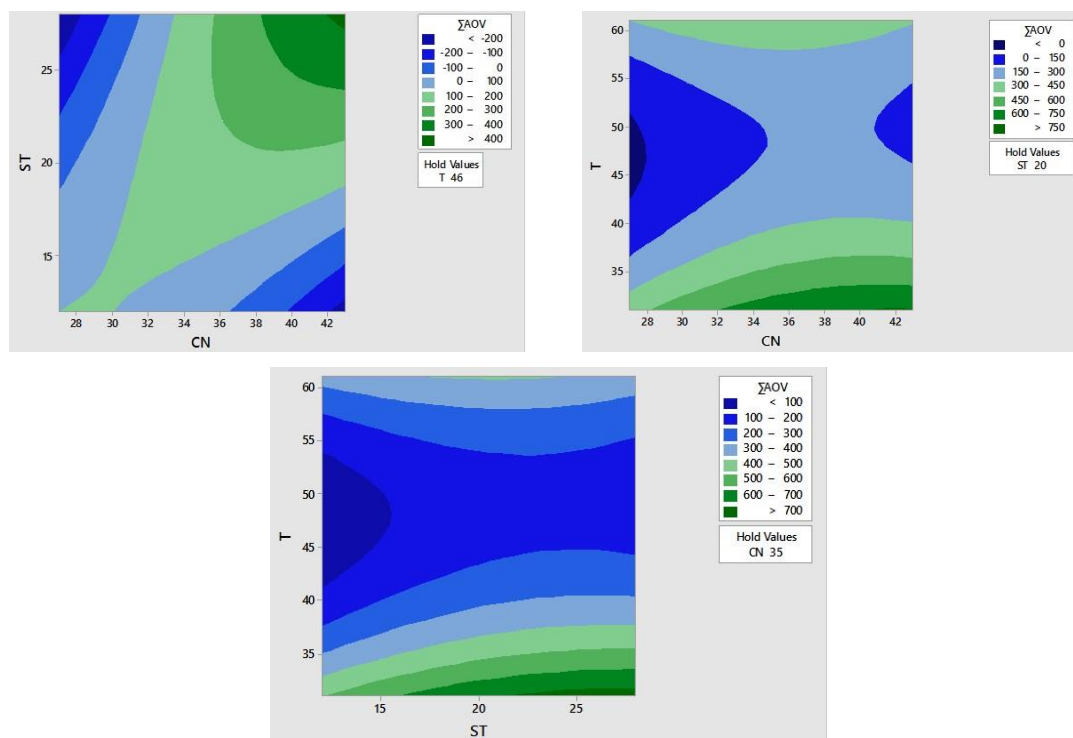


Figura 8-18. Gráficos de contorno para las diferentes parejas de variables sobre la sumatoria de ácidos orgánicos volátiles

El análisis ANOVA para la  $\sum AOV$  vs CN, ST, T indica una variabilidad para este parámetro de 24.52% definido por el estadístico  $R^2$ , mientras que el  $R^2$  ajustado muestra una variación, de 1.88% con una desviación estándar de los residuos de 341.513. Puesto que los valores P son mayores a 0.05, no existe una relación estadísticamente significativa para este parámetro con un nivel de confianza de 95%, con excepción de la relación entre las temperaturas (tabla 8-20).

Tabla 8-20. Análisis de varianza para la regresión de superficie de respuesta:  $\sum AOV$  vs CN, ST, T

Fuente	GI	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor F	Valor P	
Modelo	9	1136633	126293	1.08	0.404	
Lineal	3	317192	105731	0.91	0.450	
CN	1	87700	87700	0.75	0.393	
ST	1	48064	48064	0.41	0.526	
T	1	181428	181428	1.56	0.222	
Cuadrado	3	627487	209162	1.79	0.170	
CN*CN	1	41276	41276	0.35	0.556	
ST*ST	1	13633	13633	0.12	0.735	
T*T	1	537746	537746	4.61	0.040	
2-Interacción	3	191953	63984	0.55	0.653	
CN*ST	1	167209	167209	1.43	0.241	
CN*T	1	17274	17274	0.15	0.703	
ST*T	1	7470	7470	0.06	0.802	
Error	30	3498941	116631			
Falta de ajuste	5	720685	144437	1.30	0.297	
Error puro	25	2778256	111130			
Total	39	4635574				
<b>Resumen del modelo</b>						
<b>S</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>R<sup>2</sup> ajustado</b>	<b>R<sup>2</sup> predicho</b>			
341.513	24.52%	1.88%	0.00%			
<b>Coefficientes codificados</b>						
<b>Termino</b>	<b>Efecto</b>	<b>Coefficiente</b>	<b>Coefficiente SE</b>	<b>Valor T</b>	<b>Valor P</b>	<b>VIF</b>
Constante		163.9	98.1	1.67	0.105	
CN	185	92	107	0.87	0.393	1.00
ST	137	68	107	0.64	0.526	1.00
T	-273	-136	109	-1.25	0.222	1.00
CN*CN	-209	-104	175	-0.59	0.556	1.01
ST*ST	-120	-60	175	-0.34	0.735	1.01
T*T	767	383	179	2.15	0.040	1.01
CN*ST	523	262	219	1.20	0.241	1.00
CN*T	-175	-88	228	-0.38	0.703	1.00
ST*T	-115	-58	228	-0.25	0.802	1.00
<b>Ajustes y diagnósticos para observaciones inusuales</b>						
<b>Observación</b>	<b><math>\sum AOV</math></b>	<b>Ajuste</b>	<b>Residuo</b>	<b>Residuo estándar</b>		
1	2034	684	1350	4.74 R		
30	46	684	-638	-2.24 R		
R Residuo grande						

La máxima  $\sum AOV$  se logra con la combinación de 43, 28 y 31 para CN, ST y T respectivamente, la cual no se corrió en este experimento, sin embargo, para corroborar esta optimización se recomienda hacer un ensayo con estos parámetros establecidos (tabla 8-21).

Tabla 8-21. Optimización de la respuesta para  $\sum AOV$ .

Respuesta	Meta	Bajo	Objetivo superior	Peso	Importancia
$\sum AOV$	Maximizar	9.36946	2033.56	1	1
<b>Solución</b>					
Solución	CN	ST	T	$\sum AOV$ ajustado	Deseabilidad compuesta
1	43	28	31	1087.19	0.532468
Respuesta	Ajuste	Error cuadrado ajustado	95% CI	95% PI	
$\sum AOV$	1087	498	(70,2105)	(-146,2321)	

La ecuación 8.3 describe un modelo de segundo grado para la variable de respuesta de sumatoria de solventes obtenida en el proceso de fermentación oscura para la FORPA. Dicho modelo implica que la regresión entre las variables es relativamente pequeña.

$$\begin{aligned} \sum SOLV = & -244 + 8.24CN + 0.27ST + 4.40T - 0.0995CN^2 - 0.0399ST^2 \\ & - 0.0206T^2 + 0.0434 CN * ST - 0.0443 CN * T - 0.0560 ST \\ & * T \end{aligned} \quad [8.3]$$

La figura 8-19 muestra los gráficos de superficie de respuesta para cada pareja de variables con respecto a la sumatoria de solventes (acetona, butanol, metanol y etanol) y la figura 8-20 muestra los contornos de la superficie de respuesta.

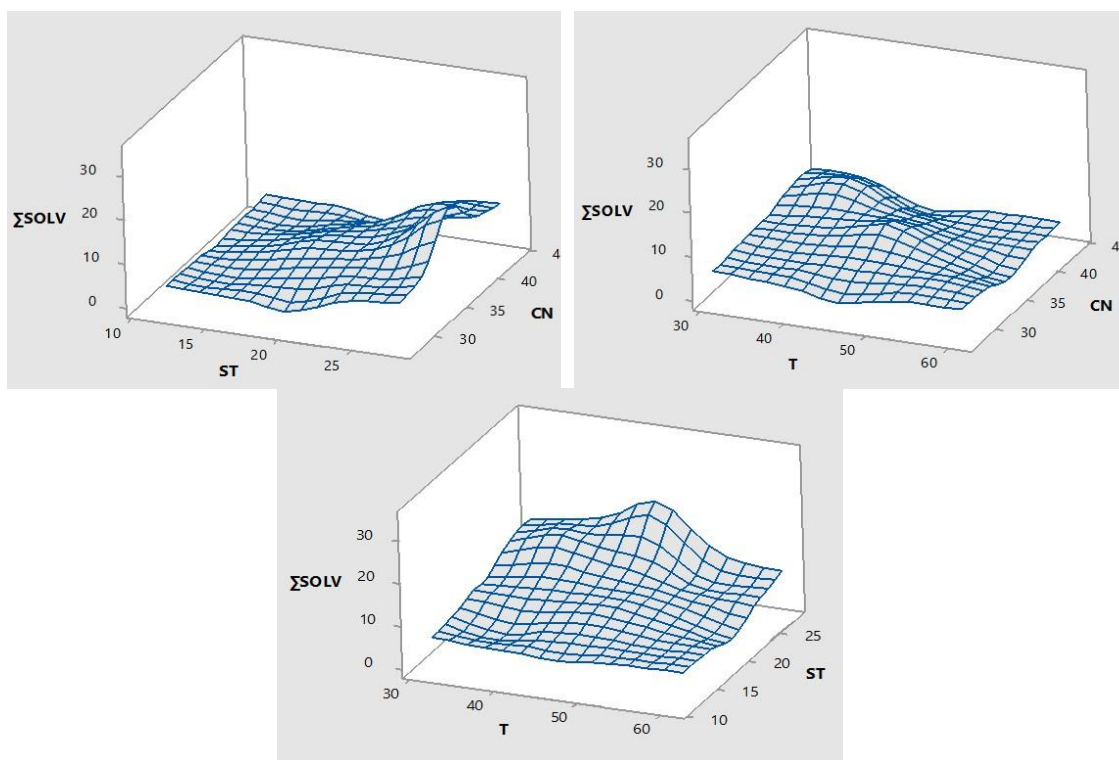


Figura 8-19. Gráficos de superficie de respuesta para las diferentes parejas de variables sobre la sumatoria de solventes

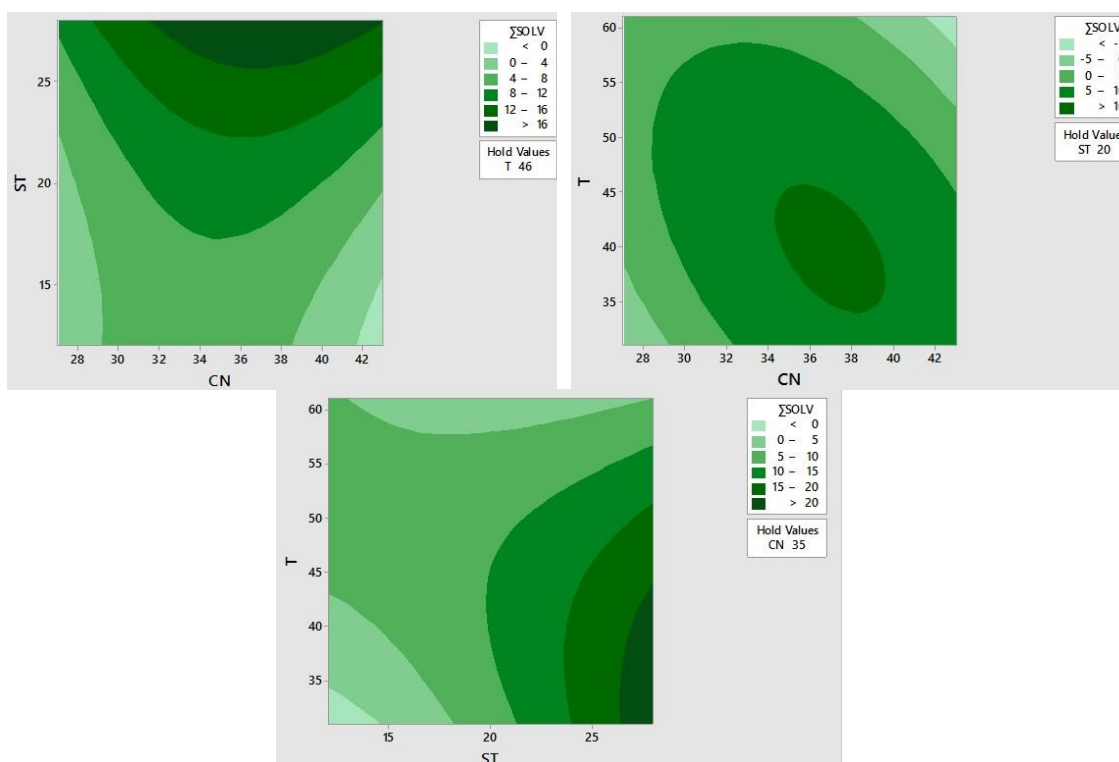


Figura 8-20. Gráficos de contorno para las diferentes parejas de variables sobre la sumatoria de solventes

El estadístico  $R^2$  para el análisis de varianza de  $\Sigma\text{SOLV}$  indica una variabilidad del 23.19% y el  $R^2$  ajustado de 7.95 % con una desviación estándar de los residuos de 8.69484, donde los valores P mayores a 0.05 indican que no existe diferencia significativa en esta respuesta, con la excepción de la cantidad de ST (tabla 8-22).

Tabla 8-22. Análisis de varianza para la regresión de superficie de respuesta:

$\Sigma\text{SOL}$  vs CN, ST,

Fuente	GI	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor F	Valor P	
Modelo	9	935.14	103.904	1.37	0.243	
Lineal	3	495.14	165.046	2.18	0.111	
CN	1	7.91	7.911	0.10	0.749	
ST	1	424.82	424.823	5.62	0.024	
T	1	62.40	62.404	0.83	0.371	
Cuadrado	3	255.73	85.242	1.13	0.354	
CN*CN	1	153.45	153.454	2.03	0.165	
ST*ST	1	24.66	24.661	0.33	0.572	
T*T	1	78.41	78.407	1.04	0.317	
2-Interacción	3	184.27	61.424	0.81	0.497	
CN*ST	1	18.83	18.832	0.25	0.621	
CN*T	1	63.68	63.678	0.84	0.366	
ST*T	1	101.76	101.761	1.35	0.255	
Error	30	2268.12	75.600			
Falta de ajuste	5	99.88	19.977	0.23	0.946	
Error puro	25	2168.12	86.725			
Total	39	3203.14				
<b>Resumen del modelo</b>						
<b>S</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>R<sup>2</sup> ajustado</b>	<b>R<sup>2</sup> predicho</b>			
8.69484	29.19%	7.95%	0.00%			
<b>Coefficientes codificados</b>						
<b>Termino</b>	<b>Efecto</b>	<b>Coefficiente</b>	<b>Coefficiente SE</b>	<b>Valor T</b>	<b>Valor P</b>	<b>VIF</b>
Constante		9.91	2.50	3.97	0.000	
CN	1.76	0.88	2.72	0.32	0.749	1.00
ST	12.88	6.44	2.72	2.37	0.024	1.00
T	-5.06	-2.53	2.78	-0.91	0.371	1.00
CN*CN	-12.73	-6.37	4.47	-1.42	0.165	1.01
ST*ST	5.10	2.55	4.47	0.57	0.572	1.01
T*T	-9.26	-4.63	4.55	-1.02	0.317	1.01
CN*ST	5.55	2.78	5.56	0.50	0.621	1.00
CN*T	-10.64	-5.32	5.80	-0.92	0.366	1.00
ST*T	-13.45	-6.73	5.80	-1.16	0.255	1.00
<b>Ajustes y diagnósticos para observaciones inusuales</b>						
<b>Observación</b>	<b><math>\Sigma\text{SOLV}</math></b>	<b>Ajuste</b>	<b>Residuo</b>	<b>Residuo estándar</b>		
9	29.06	9.91	19.15	2.30 R		
26	34.74	9.91	24.83	2.98 R		
R Residuo grande						

La máxima sumatoria de solventes se muestra con una relación CN de 40, ST de 28 y a una temperatura de 31°C (tabla 8-23), para verificar esta optimización se recomienda llevar a cabo un banco de ensayos experimentales con el ajuste de los factores.

Tabla 8-23. Optimización de la respuesta para  $\sum$ SOLV

Respuesta	Meta	Bajo	Objetivo superior	Peso	Importancia
$\sum$ SOLV	Maximizar	0	34.7365	1	1
<b>Solución</b>					
<b>Solución</b>	<b>CN</b>	<b>ST</b>	<b>T</b>	<b><math>\sum</math>AOV ajustado</b>	<b>Deseabilidad compuesta</b>
1	40	28	31	26.6867	0.768320
<b>Respuesta</b>	<b>Ajuste</b>	<b>Error cuadrado ajustado</b>	<b>95% CI</b>	<b>95% PI</b>	
$\sum$ SOLV	26.7	10.6	(5.0,48.4)	(-1.4,54.7)	

## 8.9 ENSAYO 6. PRODUCCIÓN DE METANO A PARTIR DE SÓLIDOS FERMENTADOS

La etapa-H con ventilación intermitente (FAHSS-VI) de los pañales desechables permitió tres ciclos de generación de hidrógeno sin adición de nuevo sustrato o inóculo entre ciclos (figura 8-21a y figura 8-21b), se intentó un cuarto ciclo, pero no se encontró generación notable de hidrógeno. En el caso de la etapa-M se establecieron dos ciclos (figura 8-21c y figura 8-21d). La producción acumulada  $P_{H_2}$  (producción de  $H_2$ ) y  $P_{CH_4}$  (producción de  $CH_4$ ) en ciclos de incubación posteriores en este trabajo fueron inferiores a los obtenidos en el primer ciclo para ambos casos (tabla 8-15), como se esperaba.

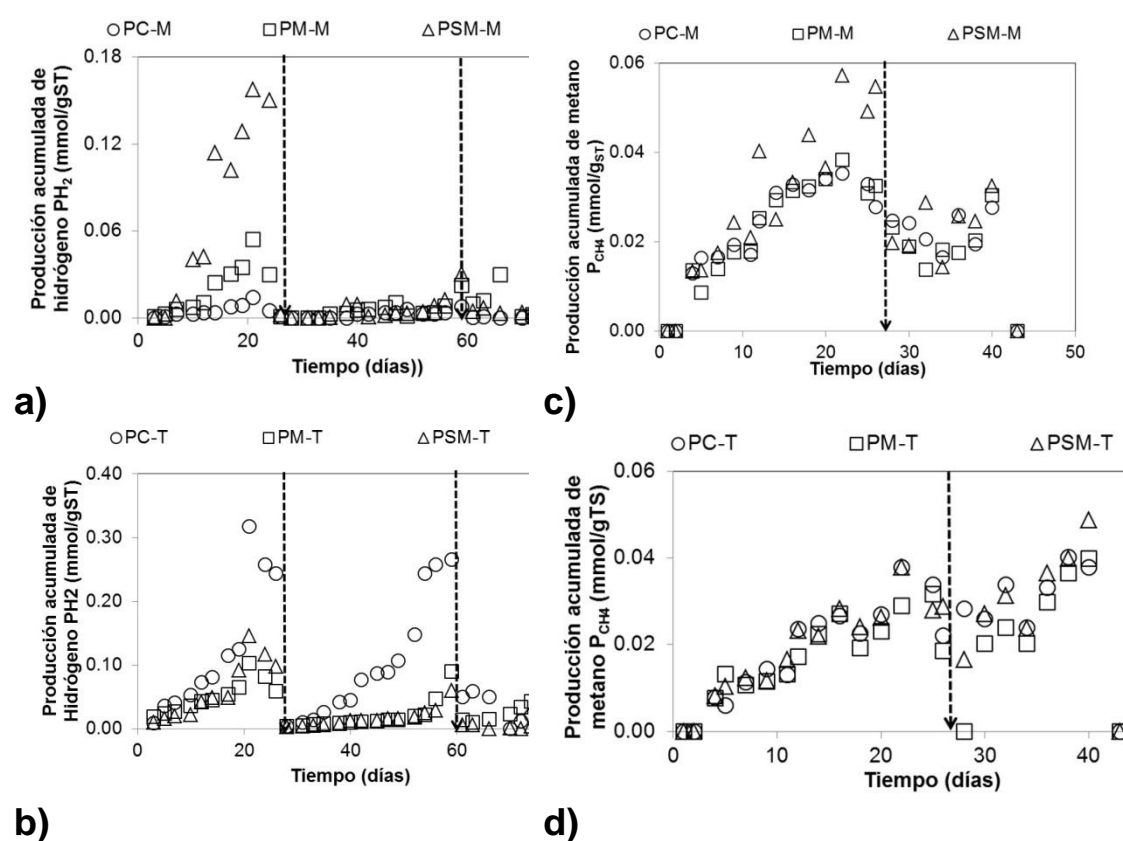


Figura 8-21. Dinámica de la etapa hidrogénica y metanogénica: a) Etapa-H mesofílica, etapa-H termofílica, c) etapa-M mesofílica, d) etapa-M termofílica; las líneas verticales indican lavado con  $N_2$ .

La tabla 8-24 muestra la producción acumulada de H<sub>2</sub> y CH<sub>4</sub> en las diferentes etapas, se puede ver que se obtuvo la mayor producción de H<sub>2</sub> en el rango termófilo para las tres condiciones de sustrato, especialmente la producción de pañales completos con las heces, la orina y los plásticos (PC), casi tres veces mayor que los otros dos a la misma temperatura. La producción de metano en la etapa metanogénica mostró similitudes en todos los casos.

Tabla 8-24. H<sub>2</sub> y CH<sub>4</sub> en cada ciclo de incubación y producción total de hidrógeno y metano

Factor		P <sub>H<sub>2</sub></sub> <sup>a</sup> por ciclo de incubación			Total P <sub>H</sub> (Σ <sub>1-3</sub> P <sub>H</sub> ) <sup>b</sup>	P <sub>CH<sub>4</sub></sub> <sup>c</sup> por ciclo de incubación		Total P <sub>CH<sub>4</sub></sub> (Σ <sub>1-2</sub> P <sub>H</sub> ) <sup>d</sup>
Condición	Temperatura	1	2	3		1	2	
PC	M	0.014±0.002	0.008±0.001	0.002±0.001	0.024±0.001	0.035±0.001	0.030±0.005	0.063±0.007
PM	M	0.054±0.003	0.022±0.009	0.004±0.000	0.081±0.004	0.034±0.009	0.025±0.004	0.059±0.006
PSM	M	0.158±0.025	0.030±0.005	0.000±0.000	0.188±0.01	0.044±0.014	0.032±0.007	0.075±0.022
PC	T	0.317±0.016	0.266±0.033	0.026±0.002	0.609±0.017	0.038±0.006	0.040±0.007	0.078±0.001
PM	T	0.102±0.005	0.089±0.001	0.008±0.001	0.200±0.014	0.032±0.001	0.040±0.001	0.072±0.002
PSM	T	0.145±0.007	0.060±0.000	0.005±0.000	0.210±0.002	0.038±0.012	0.049±0.028	0.087±0.040

<sup>a</sup>Producción neta de H<sub>2</sub> en promedio por cada ciclo (mmoles H<sub>2</sub>/gTS), <sup>b</sup> Producción aculada de H<sub>2</sub> en los tres ciclos, (mmoles H<sub>2</sub> /  
<sup>c</sup>Producción neta de CH<sub>4</sub> en promedio por cada ciclo (mmoles CH<sub>4</sub>/gTS), <sup>d</sup> Producción acumulada de CH<sub>4</sub> in los ciclos, (mmoles CH<sub>4</sub>/gTS)

La mayor parte de los trabajos presentados en la literatura reportan altos rendimientos de metano comparados con los rendimientos de hidrógeno para sustratos evaluados en dos etapas, en las cuales los sólidos fermentados de la etapa de hidrogénesis son utilizados en una segunda etapa metanogénica (tabla 8-25). Estos resultados se pueden atribuir a que, una vez que los sólidos ya fueron parcialmente degradados en la fermentación oscura, resultan un sustrato fácilmente degradable. Sin embargo, en este caso de estudio no se presenta dicha tendencia, se puede atribuir el bajo desempeño metanogénico a una relación baja inóculo/sustrato, lo cual debe ser confirmado con estudios posteriores.



Tabla 8-25. Rendimientos de hidrógeno y metano en etapas en estudios previos

Sustrato	Etap a	Reactor	Conc. (% ST)	Temp. Op (°C)	Rendimiento (mol/kg)	Referencia
Pañales desechables	H	Lote	20	35	0.098	Este trabajo
	M	Lote	20	35	0.066	
	H	Lote	20	55	0.340	
	M	Lote	20	55	0.079	
FORSU	H	Lote	20.9	55	1.2	Escamilla-Alvarado et al., 2014
	M	Semi-contonuo	18.4	55	15.8	
FORSU	H	Semi-contonuo	10	55	9.15	Chu et al., 2008
	M	Semi-contonuo	10	32	20.71	
FORSU y papel	H	CSTR <sup>a</sup>		60	2.450	Ueno et al., 2007
	M	IRPR <sup>b</sup>		55	17.320	
FORSU	H	Semi-contonuo	11.7	37	1.92	Liu et al., 2006
	M	Semi-contonuo	11.7	37	22.4	

En el caso del acoplamiento de la fase H-M para los pañales desechables usados se puede apreciar que, a pesar de tener un bajo rendimiento de metano a partir de los sólidos fermentados de la etapa H, el potencial energético de metano aumenta comparado con el de hidrógeno para la mayoría de los casos (tabla 8-26).

Tabla 8-26. Potencial energético del sistema H-M

Factor		Hidrógeno		Metano		Sistema H-M
Codición	Temperatura	H <sub>2</sub> Acumulado (mol/Kg)	E <sub>H<sub>2</sub></sub> (KJ/Kg <sub>db</sub> )	CH <sub>4</sub> Acumulado (mol/Kg)	E <sub>CH<sub>4</sub></sub> (KJ/Kg <sub>db</sub> )	E <sub>H<sub>2</sub>CH<sub>4</sub></sub> (KJ/Kg <sub>db</sub> )
PC	M	0.024	6.860	0.063	56.095	62.955
PM	M	0.081	23.153	0.059	52.534	75.687
PSM	M	0.188	53.738	0.075	66.780	120.518
PC	T	0.609	174.077	0.078	69.451	243.528
PM	T	0.200	57.168	0.072	64.109	121.277
PSM	T	0.210	60.026	0.087	77.465	137.491

De acuerdo a lo observado se puede decir, que los pañales desechables usados son una buena fuente de carbohidratos, los cuales pueden ser empelados como sustrato para producir H<sub>2</sub>.





# Conclusión





## 9. Conclusión

La utilización de pañales desechables como sustrato en fermentación oscura fue técnicamente factible, sin embargo, se encontró un bajo rendimiento en la producción de hidrógeno ( $P_{H_2}$ ) comparado con la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos (FORSU). Así, el máximo de  $P_{H_2}$  en este trabajo fue 82.74% menor que el máximo reportado para FORSU en la literatura.

El proceso pudo ser mejorado en aproximadamente 85.59% de biohidrógeno adicional aplicando la técnica de venteo intermitente. En promedio, la producción acumulada bio $H_2$  siguió el orden pañal completo (PC) > pañal molido (PM) > pañal separado manualmente (PSM). En general, el funcionamiento en régimen termofílico se asoció con los valores de producción acumulada de hidrógeno ( $P_{H_2}$ ) más altos que en régimen mesofílico. Hubo una interacción entre temperatura y tipo de acondicionamiento del pañal, levemente significativa.

Se comprobó la hipótesis 2, ya que el poliacrilato de sodio (SAP), constituyente de los pañales desechables aplicado en experimentos con papel bond y papel filtro combinados, y esa combinación más SAP, señalaron que la  $P_{H_2}$  del 2º tratamiento (con SAP) fue 23.73% menor. Esto confirma un efecto inhibitorio de SAP sobre la fermentación oscura de sustratos celulósicos.

Se desarrolló un método en base húmeda para la obtención de la fracción orgánica de los pañales (FORPA) utilizando cloruro de calcio (1.25% p/v) para la remoción del poliacrilato de sodio (SAP), con una recuperación de 60% de FORPA (base seca) con un contenido de 85% de celulosa.

Se verificó la veracidad de la hipótesis 3 con la FORPA libre de SAP que fue sometida a la fermentación oscura mediante la metodología de diseño experimental con superficie de respuesta, la cual sirvió para definir que los parámetros que ayudan a maximizar la producción de bio $H_2$  se encuentran establecidos en la combinación de factores de 43, 12 y 31 para CN, ST y T respectivamente, logrando con ello una máxima producción predecible de 2.792 mmol $H_2$ /g $_{ST}$ , que experimentalmente fue 2.476 mmol $H_2$ /g $_{ST}$ , menor en un 11.32% a lo esperado. Dicho diseño experimental encontró que las tres principales variables de respuesta definidas como la producción acumulada de hidrógeno

( $P_{H_2}$ ), la sumatoria de ácidos orgánicos volátiles ( $\Sigma AOV$ ) y la sumatoria de solventes ( $\Sigma SOLV$ ) se describen por un polinomio basado en un modelo de segundo orden que relaciona las variables evaluadas (C/N, T y ST), lo que indica que existen curvaturas en la descripción del sistema y que la regresión entre las variables es relativamente pequeña. La optimización dirigida hacia la maximización de la producción de AOV mostró que la mejor combinación de los factores CN, ST y T, correspondiente a 43, 28 y 31, en el caso de los SOLV la mejor relación de parámetros se estableció en CN de 40, ST de 28 y a una temperatura de 31 °C, para verificar tanto la optimización de  $\Sigma AOV$  como  $\Sigma SOLV$  se recomienda llevar a cabo un banco de ensayos experimentales con el ajuste de los factores ya que en este experimento no se ajustaron a esos valores en ambos casos.

El experimento con FORPA (exenta de SAP) siguiendo un modelo de superficie de respuesta (factores temperatura, sólidos totales iniciales, y relación C/N inicial) demostró que la máxima  $P_{H_2}$  obtenida fue 238% mayor que la correspondiente a pañales (con SAP) en experimentos previos, confirmando de manera independiente el efecto inhibitorio de SAP sobre la producción de biohidrógeno, por ello, la importancia de eliminar este componente de los pañales desechables para utilizarlo como sustrato en la fermentación oscura y mejorar la producción de bioH<sub>2</sub>. Mediante estos tres parámetros de respuesta se verificó que la interacción entre los factores sólidos totales, temperatura y relación C/N, afectan la producción de hidrógeno, así como la de producción de metabolitos.

Por otra parte, aunque no se contempló en un inicio, la utilización de los sólidos fermentados de la etapa hidrogénica para la producción de metano de pañales desechables usados mostró ser viable, ya que el acoplamiento en serie de estos procesos es perfectamente complementario, sin embargo, la producción neta de metano a partir de los sólidos fermentados fue baja.

A pesar de que la implementación en serie de las etapas hidrogénica-metanogénica (H-M), que forman parte de la misma ruta metabólica de degradación, su acoplamiento no aumentó significativamente el potencial energético neto obtenido para este tipo de residuo. Sin embargo, la ejecución de dos sistemas biológicos en serie permitió la obtención de un segundo producto de interés, mejorando con ello el proceso y la producción energética del total del proceso.



# **Perspectivas**







La contaminación generada por los residuos es un problema a nivel mundial y la ciudad de México no es la excepción. Casi el 7% de los residuos generados representan a los pañales desechables usados, los cuáles pueden ser tratados por fermentación oscura.

En este trabajo se demostró la factibilidad de producir hidrógeno a partir de la fermentación oscura de los pañales desechables usados. Este proceso es una opción para la obtención de energía, evitando que estos residuos se vayan a disposición final sin tratamiento alguno.

Sin embargo, de acuerdo a los resultados obtenidos en los experimentos se observaron aspectos que se deben evaluar en trabajo futuro con el fin de optimizar el proceso, entre los cuales se puede citar:

- Se recomienda llevar a cabo un banco de ensayos experimentales con el ajuste de los factores establecidos por la superficie de respuesta, ya que en este experimento no se ajustaron a esos valores en ambos casos (producción de AOV y solventes).
- Evaluar la inhibición de la presencia de poliacrilato de sodio (SAP) con un banco de ensayos más detallado, con la finalidad de comprobar dicho efecto sobre la fermentación oscura.
- Establecer el efecto del pH en la producción de hidrógeno a partir de pañales desechables.
- Evaluar la etapa H-M eliminando posibles errores como la relación de sustrato-inóculo el cual pudo haber afectado la etapa metanogénica en este caso de estudio.
- Examinar las comunidades microbianas del sistema durante la operación de los biorreactores.





**Referencias  
bibliográficas**



- Alshiyab H., Kalil M. S., Hamid A. A. and Wan Y. W. M. (2008). Effects of salts addition on hydrogen production by *C. acetobutylicum*. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 11, 2193-2200.
- Alvarez-Zeferino, J. C., Beltrán-Villavicencio, M. y Vázquez-Morillas, A. (2015). Degradation of plastics in seawater in laboratory *Open Journal of Polymer Chemistry* 5(4):55-62.
- Andrady, A. L. (2011). Microplastics in the marine environment, *Marine Pollution Bulletin* 62(8):1596–1605.
- Angelidaki, I. y Ahring, B. K. (1993). Thermophilic anaerobic-digestion of livestock waste and the effect of ammonia, *Applied Microbiology and Biotechnology* 38(4):560-564.
- APHA-AWWA-WPCF. (2005), Method 2540B gives the method for total solids dried at 103-105 °C; 2540C gives the method for total dissolved solids dried at 180 °C; 2540D for total suspended solids dried at 103-105°C; 2540E for fixed and volatile solids ignited at 550°C; 2540F for settleable solids; and, 2540G for total, fixed, and volatile solids in solid and semisolid samples. American public health association, Washington, U. S. A.
- Argun, H. y Kargi, F. (2011). Bio-hydrogen production by different operational modes of dark and photo-fermentation. *International Journal of Hydrogen Energy*, 36(13), pp.7443–7459.
- Armor, J.N., (1999). The multiple roles for catalysis in the production of H<sub>2</sub>. *Applied Catalysis A. General*, 176, pp.156–176.
- Artham, T., Sudhakar, M., Venkatesan, R., Nair, C. M., Murty, K. y Doble, M. (2009). Biofouling and stability of synthetic polymers in sea water, *International Biodeterioration and Biodegradation* 63(7):884–890
- Atlanta Diaper Service: (2013). Disponible en: [http://atlbirthservices.com/category\\_12/Compost-Diaper-Service.htm](http://atlbirthservices.com/category_12/Compost-Diaper-Service.htm). Consultado: Agosto, 2014.
- Aumonier, S. y Collins, M. (2005). *Life cycle assessment of disposable and reusable nappies in the UK*, Environment Agency: Bristol, UK. p. 203.
- Balasubramanian, V., Natarajan, K., Hemambika, B., Ramesh, N., Sumathi, C. S., Kottaimuthu, R. y Kannan, V. R. (2010). High-density polyethylene (HDPE)-degrading potential bacteria from marine ecosystem of Gulf of Mannar India, *Letters in Applied Microbiology* 51(2):205–211.

- Bisaillon, A., Turcot, J. y Hallenbeck, P.C. (2006). The effect of nutrient limitation on hydrogen production by batch cultures of *Escherichia coli*. *International Journal of Hydrogen Energy*, 31(11), pp.1504–1508.
- Blessed Bums. (2011). Disponible en:<http://www.blessedbums.com/pages/CompostDiaperService.htm>. Consultado: Agosto, 2014.
- Cai, M., Liu, J., Wei, Y. (2004). Enhanced biohydrogen production from sewage sludge with alkaline pretreatment. *Environ. Sci. Technol*, 38, 3195-3202.
- Cakır, A., Ozmihci, S. y Kargi, F. (2010). Comparison of bio-hydrogen production from hydrolyzed wheat starch by mesophilic and thermophilic dark fermentation. *International Journal of Hydrogen Energy*, 35(24), pp.13214–13218.
- Carson, H. S., Nerheim, M. S., Carroll, K.A. y Eriksen M. (2013). The plastic-associated microorganisms of the North Pacific Gyre, *Marine Pollution Bulletin* 75(1): 126-132.
- Castañeda, B. M. T. (2004). Microbiología aplicada. Manual de laboratorio, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Azcapotzalco, México, D. F.
- Cavinato, C., Bolzonella, D., Pavan, P., Fatone, F., Cecchi, F. (2013). Mesophilic and thermophilic anaerobic co-digestion of waste activated sludge and source sorted biowaste in pilot- and full-scale reactors. *Renewable Energy*, 55, pp.260–265.
- Cesaro, A. y Belgiorno, V. (2014). Pretreatment methods to improve anaerobic biodegradability of organic municipal solid waste fractions. *Chemical Engineering Journal*, 240, pp.24–37.
- Characklis, W. G. y D Bryes, J. I. (2009). Bioengineering Report. Fouling biofilm development: a process analysis *Biotechnology and bioengineering* 102(2):1923-1960.
- Chen, C-C., Lin, C-L., Chang, J. S. (2001). Kinetics of hydrogen production with continuous anaerobic culture utilizing sucrose and the limiting substrate. *Appl. Microbiol. Biotechnol*, 57, 56-64.
- Chen, W.-M., Tseng, Z-J., Lee, K-S., Chang, J-S. (2005). Fermentative hydrogen production with *Clostridium butyricum* CGS5 isolated from anaerobic sewage sludge. *International Journal of Hydrogen Energy*, 30(10), pp.1063–1070.
- Chen, Y., Cheng, J. J. y Creamer, K. S. (2008). Inhibition of anaerobic digestion process: a review, *Bioresource technology* 99(10):4044-64.
- Cheng, J., Ding, L., Lin, R., Yue, L., Liu, J., Zhou, J. y Cen, K. (2016). Fermentative biohydrogen and biomethane co-production from mixture of food waste and sewage

sludge: Effects of physiochemical properties and mix ratios on fermentation performance. *Applied Energy*, 184, 1–8.

- Choudhari, S. K., Errone, F., Woods, T., Joyce, K., Flaherty, V. O., Connor, K. O. y Babu, R. (2014). Pervaporation separation of butyric acid from aqueous and anaerobic digestion (AD) solutions using PEBA based composite membranes, *Journal and Industrial Engineering Chemistry* 23 :163–170
- Chu, C.-F., Li, Y.-Y., Xu, K.-Q., Ebie, Y., Inamori, Y., & Kong, H.-N. (2008). A pH- and temperature-phased two-stage process for hydrogen and methane production from food waste. *International Journal of Hydrogen Energy*, 33(18), 4739–4746.
- Ciranna, A., Ferrari, R, Santala, V. y Karp, M. (2014). Inhibitory effects of substrate and soluble end products on biohydrogen production of the alkalithermophile *Caloramator celer*: Kinetic, metabolic and transcription analyses. *International Journal of Hydrogen Energy*, 39, 6391-6401.
- Colón, J., Mestre-Montserrat, M., Puig-Ventosa, I., Sánchez, A. (2013). Performance of compostable baby used diapers in the composting process with the organic fraction of municipal solid waste. *Waste management*.
- Colón, J., Ruggieri, L., Sánchez, A., González, A., Puig, I. (2011). Possibilities of composting disposable diapers with municipal solid wastes. *Waste management research the journal of the International Solid Wastes and Public Cleansing Association ISWA*, 29, pp.249–259.
- Conway, M., Jooste, F. y Smith, M. (1996). Treatment of absorbent sanitary paper products. ,p.14.
- Cook, B.D., Bloom, P.R. y Halbach, T.R. (1997). Fate of a Polyacrilate Polymer during Composting of Simulated Municipal Solid Waste. *Journal of Enviromental Quality*, 26, pp.618–625.
- Cordella, M., Bauer, I., Lehmann, A., Schulz, M., Wolf, O. (2015). Evolution of disposable baby diapers in Europe. Life cycle assessment of environmental impacts and identification of key areas of improvement. *Journal of Cleaner Production*. 95, 322-331.
- Das, D. y Veziroglu, T.N., (2001). Hydrogen production by biological processes: a survey of literature. *International Journal of Hydrogen Energy*, 26(1), pp.13–28.
- De Gioannis, G., Friargiu, M., Massi, E., Muntoni, A., Polettino, A., Pomi, R. y Spiga, D. (2014). Biohydrogen production from dark fermentation of cheese whey: Influence of pH *International Journal of Hydrogen Energy* 39(36):20930-20941.

- Demirbas, A., (2008). Biodiesel A Realistic Fuel Alternative for Diesel Engines 1a. Edició. Springer-Verlag London Limited, ed., London: Springer-Verlag London Limited.
- Do Good Diapers. (2011). Disponible en: <http://www.dogooddiapers.com/home>. Consultado: Agosto, 2014.
- DRAE, Real Academia Española. (2001). Diccionario de la Real Academia Española. 22ª. edición. Consultado en: <http://lema.rae.es/drae/?val=pa%C3%B1al>.
- Earth Baby. (2008). Disponible en: <http://earth-baby.com/home.php>. Consultado: Agosto, 2014.
- EDANA, (2008). Sustainability Report 2007-2008. Absorbent Hygiene Products EDANA.
- EDANA, (2011). Sustainability Informe 2011. EDANA.
- Elsamadony, M. y Tawfik, A. (2015). Dry anaerobic co-digestion of organic fraction of municipal waste with paperboard mill sludge and gelatin solid waste for enhancement of hydrogen production. *Bioresource Technology*, 191, 157–165.
- Environcomp. (2011). Disponible en: <http://www.envirocomoglobal.com>. Visitado: Agosto, 2014.
- Escamilla-Alvarado, C., Ponce-Noyola, M. T., Poggi-Varaldo, H. M., Ríos-Leal, E., García-Mena, J., & Rinderknecht-Seijas, N. (2014). Energy analysis of in-series biohydrogen and methane production from organic wastes. *International Journal of Hydrogen Energy*, 39(29), 16587–16594.
- Escamilla-Alvarado, C., Ponce-Noyola, T., Ríos-Leal, E., Poggi-Varaldo, H. M. (2013). A multivariable evaluation of biohydrogen production by solid substrate fermentation of organic municipal wastes in semi-continuous and batch operation. *International Journal of Hydrogen Energy*, 38(28), pp.12527–12538.
- Escamilla-Alvarado, C., Ríos-Leal, E., Ponce-Noyola, M. T., Poggi-Varaldo, H. M. (2012). Gas biofuels from solid substrate hydrogenogenic–methanogenic fermentation of the organic fraction of municipal solid waste. *Process Biochemistry*, 47(11), pp.1572–1587.
- Escamilla-Alvarado, C. (2009). Proceso integrado para la producción de energía y enzimas a partir de la fracción orgánica de residuos sólidos urbanos. Tesis para obtener el grado de maestría. Departamento de Biotecnología y Bioingeniería, Centro de Investigación y Estudios Avanzados del IPN, Ciudad de México.
- Espinosa, R. M. (2002). Estudio comparativo del desarrollo de *Pleurotus ostreatus* utilizando como sustratos pañales desechables y Paja. Tesis para obtener el grado de maestría. Universidad Nacional Autónoma de México. (UNAM). México. D. F.

- Espinosa, R.M., Delfin-Alcalá, I., Turpin, S., Contreras, J. L. (2003). Kinetic Study of Batch Biodegradation of Diapers. *International Journal of Chemical Reactor Engineering*, 1.
- Espinosa, V. R. M., García, R. M. A., Quecholac, P. X., Sotelo, N. P. X. y Vázquez, M. A. (2013). Plan de negocios. Sistema de tratamiento para la biodegradación de pañales desechables usados. Planta piloto para la biodegradación de pañales desechables usados. Convenio ICyTDF-294-2011.
- Espinosa, V. R. M., Sotelo, N. P. X., Quecholac, P. X., García, R. M. A., Beltrán, V. M., Ojeda, B. S. y Vázquez, M. A. (2014). Biological recycling of used baby diapers in a small-scale composting system. *Resources, Conservation and Recycling*, 87, pp. 153-157.
- Espinosa, V.R.M., (2010). Manual de Prácticas de Taller IV. Análisis Físicoquímicos de Residuos Sólidos Municipales. Universidad Autónoma Metropolitana-Unidad Azcapotzalco. México, D. F.
- Espinosa-Valdemar, R.M., Turpin-Marion, S., Delfín-Alcalá, I., Vázquez-Morilas, A. (2011). Disposable diapers biodegradation by the fungus *Pleurotus ostreatus*. *Waste Management*, 31, pp.1683–1688.
- Favaro, L., Alibardi, L., Lavagnolo, M. C., Casella, S. y Basaglia, M. (2013). Effects of inoculum and indigenous microflora on hydrogen production from the organic fraction of municipal solid waste. *International Journal of Hydrogen Energy*, 38(27), 11774–11779.
- Fernández, L. L. C., Rojas, A. N. G., Roldán, C. T. G., Ramírez, I. M. E., Zerraga, M. H. G., Uribe, H. R., Reyes, A. R. J., Flores, H. D., Arce, O. J. M. (2006). Manual de técnicas de análisis de suelos aplicadas a la remediación de suelos contaminados. Instituto Mexicano del Petróleo. Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Instituto Nacional de Ecología. México, D. F.
- Fujikawa, H., Kai, A., Morozumi, S.A. (2004). New logistic model for *Escherichia coli* growth at constant and dynamic temperatures. *Food Microbiol.* 21, 501–509.
- Gadhamshetty, V., Arudchelvam, Y., Nagamany, N., David, C. J. (2010). Modeling dark fermentation for biohydrogen production: ADM1-based model vs. Gompertz model. *International Journal of Hydrogen Energy*, 35(2), pp.479–490.
- Gerba, C.P., Huber, M. S., Naranjo, J., Rose, J. B., Brandford, S. (1995). Occurrence of enteric pathogens in composted domestic solid waste containing disposable diapers. *Waste Management & Research*, 13(4), pp.315–324.



- Ghimire, A., Frunzo, L., Pirozzi, F., Trably, E., Escudie, R., Lens, P. N. L., Esposito, G. (2015). A review on dark fermentative biohydrogen production from organic biomass: Process parameters and use of by-products. *Applied Energy*, 144, 73-95.
- Giroto, F., Matsufuji, Y., Tanaka, A. (2015). Removal of ammonia using Ca-P (calcium polymer) from wastewaters produced in the recycling of disposable diapers. *J Mater Cycles Waste Manag.*
- Green Bin Organics Program. (2013). Disponible en: <http://toronto.ca/greenbin/>. Consultado: Agosto, 2014.
- Grimes, D. y Greenfield. (2010). Methods for separation and conditioning of products containing super absorbent polymers. Patente USA número 0292401 A1, p. 10.
- Guo, W. Q., Ren, N. Q., Wang, X. J., Xiang, W. S., Meng, Z. H., Ding, J., Qu, Y. Y. y Zhang, L. S. (2008). Biohydrogen production from ethanol-type fermentation of molasses in an expanded granular sludge bed (EGSB) reactor *International Journal of Hydrogen Energy* 33:4981-4988.
- Hajji, A. y Rhachi, M. (2013). The Influence of Particle Size on the Performance of Anaerobic Digestion of Municipal Solid Waste. *Energy Procedia*, 36, pp.515–520.
- Hakala, S., Virtanen, Y., Meinander, K., Tanner, T. (1997). Life-cycle assessment, comparison of biopolymer and traditional diaper systems. Technical Research Centre of Finland.
- Hallenbeck, P. C. y Benemann, J. R. (2007). Biological hydrogen production; fundamentals and limiting process. *International Journal of Hydrogen Energy*, 27, 1185-1193.
- Hallenbeck, P.C. y Ghosh, D. (2009). Advances in fermentative biohydrogen production: the way forward? *Trends in Biotechnology*, 27(5), pp.287–297.
- Han, S.K. y Shin, H.S. (2004). Biohydrogen production by anaerobic fermentation of food waste. *International Journal of Hydrogen Energy*, 29, pp.569–577.
- Heinrichs, D. M., Poggi-Varaldo, H. M. y Oleszkiewicz, J. A. (1990). Effects of ammonia on anaerobic digestion of simple organic substrates, *Journal of Environmental Engineering* 116(4):698-710.
- Hendriks, A.T. y Zeeman, G., (2009). Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, 100(1), pp.10–18.
- Hill G.T., Mitkowski N.A., Aldrich-Wolfe L., Emele L.R., Jurkonie D.D., Ficke A., Maldonado-Ramirez S., Lynch S.T., Nelson E.B. (2000). Methods for assessing the

- composition and diversity of soil microbial communities. *Applied Soil Ecology*, 15: 25–36.
- Hu, W.C., Thayanithy, K., Forster, C.F. (2002). A kinetic study of the anaerobic digestion of ice-cream wastewater. *Process Biochem.* 37, 965–971.
- Hussy, I., Hawkes, F. R., Dinsdale, R., Hawkes, D. L. (2003). Continuous fermentative hydrogen production from a wheat starch co-product by mixed microflora. *Biotechnology and Bioengineering*, 84(6), pp.619–626.
- Ivy's Diaper Service. (2011). Disponible en: <http://ivysdiaperservice.com/home.php>. Consultado: Agosto, 2014.
- Jones, R. J., Massanet-Nicolau, J., Guwy, A., Premier, G. C., Dinsdale, R. M. y Reilly, M. (2015). Removal and recovery of inhibitory volatile fatty acids from mixed acid fermentations by conventional electrodialysis, *Bioresource Technology* 189:279-284.
- Kanai, T., Imanaka, H., Nakajima, A., Uwamori, K., Omori, Y., Fukui, T., Atomi, H., Imanaka, T. (2005). Continuous hydrogen production by the hyperthermophilic archaeon, *Thermococcus kodakaraensis* KOD1. *Journal of Biotechnology*, 116(3), pp.271–282.
- Kapdan, I.K. y Kargi, F. (2006). Bio-hydrogen production from waste materials. *Enzyme and Microbial Technology*, 38, pp.569–582.
- Karagad, D. (2011). Anaerobic H<sub>2</sub> production at elevated temperature (60 °C) by enriched mixed consortia from mesophilic sources. *International Journal of Hydrogen Energy*, 36, 458-465.
- Kayhanian, M. (1999). Ammonia inhibition in high-solids biogasification: an overview and practical solutions, *Environmental Technology* 20(4):355-365.
- Khanal, S. K., Chen, W. H., Lin, L. y Sung. (2004). Biological hydrogen production: effects of pH and intermediate products. *International Journal of Hydrogen Energy*. 29: 1123-1131.
- Kim, D.-H., Jang, S., Yun, Y.-M., Lee, M.-K., Moon, C., Kang, W.-S., ... Kim, M.-S. (2014). Effect of acid-pretreatment on hydrogen fermentation of food waste: Microbial community analysis by next generation sequencing. *International Journal of Hydrogen Energy*, 39(29), 16302–16309.
- Knowast. (2017). Disponible en: <http://www.knowaste.com>. Consultado: Abril, 2017.

- Koskinen, P. E. P., Beck, S. R., Orlygsson, J. y Puhakka, L. A. (2008). Ethanol and hydrogen production by two thermophilic anaerobic bacteria isolated from Icelandic geothermal areas *Biotechnology and Bioengineering* 101(4):679-690.
- Koskinen, P. E. P., Kaksonenb, A. H. y Puhakka, J. A. (2007). The relationship between instability of H<sub>2</sub> production and compositions of bacterial communities within a dark fermentation fluidized-bed bioreactor *Biotechnology and Bioengineering* 97(4):752-758.
- Koster, I. W. y Koomen, E. (1988). Ammonia inhibition of the maximum growth rate ( $\mu$ m) of hydrogenotrophic at various pH-levels and temperatures, *Applied Microbiology and Biotechnology* 28(4):500-505.
- Kumar, G., Zhen, G., Kobayashi, T., Sivagurunathan, P., Kim, S. H. y Xu, K. Q. (2016). Impact of pH control and heat pre-treatment of seed inoculum in dark H<sub>2</sub> fermentation: A feasibility report using mixed microalgae biomass as feedstock *International Journal of Hydrogen Energy* 41(7):4382-4392.
- Kumar, N., Monga, P. S., Biswas, A. K., Das, D. (2000). Modeling and simulation of clean fuel production by *Enterobacter cloacae* IIT-BT 08. *International Journal of Hydrogen Energy*, 25(10), 945–952.
- Lay, J.-J., Lee, Y.-J. y Noike, T. (1999). Feasibility of biological hydrogen production from organic fraction of municipal solid waste. *Water Research*, 33(11), pp.2579–2586.
- Lee, D. Y., Ebie, Y., Xu, K. Q., Li, Y. y Inamori, Y. (2010). Continuous H<sub>2</sub> and CH<sub>4</sub> production from high-solid food waste in the two-stage thermophilic fermentation process with the recirculation of digester sludge *Bioresource Technology* 101(1).S42-S47.
- Lee, K.S., Lin, P.J. y Chang, J.S. (2006). Temperature effects on biohydrogen production in a granular sludge bed induced by activated carbon carriers. *International Journal of Hydrogen Energy*, 31, pp.465–472.
- Lee, Y., Miyahara, T., Noike, T. (2001). Effect of iron concentration on hydrogen fermentation. *Bioresource Technology*, 80(3), 227-231.
- Leflaive J., Céréghino R., Danger M., Lacroix G., Ten-Hage L. (2005). Assessment of self-organizing maps to analyze sole-carbon source utilization profiles. *Journal of Microbiological Methods*, 62: 89-102.
- Levin, D.B., Pitt, L. y Love, M. (2004). Biohydrogen production: prospects and limitations to practical application. *International Journal of Hydrogen Energy*, 29, pp.173–185.

- Li, R., Zhi, Z. and Wang, H. (2014). Influence of carbon/nitrogen ratio on the anaerobic fermentative hydrogen production with cow dung compost, *Journal of Renewable and Sustainable Energy*, 6: 033139.
- Li, C. y Fang, H.H.P. (2007). Fermentative Hydrogen Production from Wastewater and Solid Wastes by Mixed Cultures. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 37(1), pp.1–39.
- Light, K. L., Chirmuley, D. G. y Ham, R. K. (1995). A laboratory study of compaction characteristics of disposable diapers in a land fill. *Resources, Conservation and Recycling*. 13, 89-96.
- Lin, C. Y. and Lay, C. H. (2004). Carbon/nitrogen-ratio effect on fermentative hydrogen production by mixed microflora, *International Journal of Hydrogen Energy*, 29(1):41-45.
- Lin C- Y. y Shei S-H. (2008). Heavy metals effects of fermentative hydrogen production using natural mixed microflora. *International Journal of Hydrogen Energy*. 33, 587-593.
- Lin, C.Y. y Lay, C.H., (2005). A nutrient formulation for fermentative hydrogen production using anaerobic sewage sludge microflora. *International Journal of Hydrogen Energy*, 30(3), pp.285–292.
- Liu, D., Liu, D., Zeng, R. J., & Angelidaki, I. (2006). Hydrogen and methane production from household solid waste in the two-stage fermentation process. *Water Research*, 40(11), 2230–2236.
- Liu, X., Zhu, Y. y Yang, S.-T. (2006). Construction and Characterization of a Deleted Mutant of *Clostridium tyrobutyricum* for Enhanced Butyric Acid and Hydrogen Production. *Biotechnology Progress*, 22(5), pp.1265–1275. Disponible en : <http://dx.doi.org/10.1021/bp060082g>.
- Ljunggren, M., Willquist, K., Zacchi, G. y Van Niel, W. J. (2011). A kinetic model for quantitative evaluation of the effect of hydrogen and osmolarity on hydrogen production by *Caldicellulosiruptor saccharolyticus*. *Biotechnology for Biofuels*, 4(31), 2-15.
- Long, C., Cui, J., Lui, Z., Lui, Y., Long, M., Hu, Z. (2010). Statistical optimization of fermentative hydrogen production from xylose by newly isolated *Enterobacter sp.* CN1. *International Journal of Hydrogen Energy*, 35(13), pp.6657–6664.
- MacLeod, J.A., Sanderson, J. B., Douglas, B. y Henry, R. (1998). Use of municipal compost in potato rotation. *National Agricultural Compost Trials. Results of Year III*.

- Madigan MT, Martinko JM, Stahl DA y Clark DP. (2012). Brock. Biology of Microorganism. 13ª edición. Pearson.
- Mirabella, N., Castellani, V. y Sala, S. (2013). Life cycle assessment of bio-based products: a disposable diaper case study. *The International Journal of Life Cycle Assessment*, 18(5), pp.1036–1047.
- Montgomery, D. (2012). *Design and analysis of experiments* 8<sup>th</sup>. ed New York, USA: John Wiley Inc.
- Montgomery, D. C. y Runger, G. C. (2011). *Probabilidad y estadística aplicadas a la ingeniería*. 2da. Ed. México, Limusa Wiley.
- Mu, Y., Wang, G. y Yu, H.-Q., (2006). Kinetic modeling of batch hydrogen production process by mixed anaerobic cultures. *Bioresource Technology*, 97(11), pp.1302–1307.
- Mu, Y., Yu, H.-Q. y Wang, G., (2007). A kinetic approach to anaerobic hydrogen-producing process. *Water Research*, 41(5), pp.1152–1160.
- Mullai, P. y Yogesweri, M.K. (2014). Substrate removal kinetics of hydrogen production in an anaerobic sludge blanket filter. *Separation Science and Technology*, 50(7).
- Muñoz-Páez K M, Ríos-Leal E, Valdez-Vazquez I, Rinderknecht-Seijas N y Poggi-Varaldo H M (2012) Re-fermentation of washed spent solids from batch hydrogenogenic fermentation for additional production of biohydrogen from the organic fraction of municipal solid waste *Journal of Environmental Management* 95:S355-S359.
- Muñoz-Páez, K. M., Poggi-Varaldo, H. M., García-Mena, J., Ponce-Noyola, M. T., Ramos-Valdivia, A. C., Barrera-Cortés, J., Robles-González, I. V., Ruiz-Ordaz, N., Villa-Tanaca, L., Rinderknecht-Seijas, N. (2014) Cheese whey as substrate of batch hydrogen production: Effect of temperature and addition of buffer *Waste Management & Research* 32(5):434-440.
- Muñoz-Páez, K. M., Ríos-Leal, E., Ponce-Noyola, M. T., Esparza-García, F., García-Mena, J. y Poggi-Varaldo, H. M. (2008) Hydrogen from fermentation of municipal organic wastes mixed with fruit-juice industry. In *Proceedings of the IWA 5th International Symposium on Anaerobic Digestion of Solid Waste and Energy Crops*, Hammament, Tunisia.
- Muñoz-Páez, K. M., Ruiz-Ordáz, N., García-Mena, J., Ponce-Noyola, M. T., Ramos-Valdivia, A. C., Robles-González, I. V., Villa-Tanaca, L., Barrera-Cortés, J., Rinderknecht-Seijas, N. y Poggi-Varaldo, H. M. (2013). Comparison of biohydrogen

- production in fluidized bed bioreactors at room temperature and 35 °C, *International Journal of Hydrogen Energy* 38(28): 12570-12579.
- Nath K. y Das D. (2004). Improvement of fermentative hydrogen production: various approaches. *Appl Microbiol Biotechnol.* 65, 520–9.
- Nath, K., Muthukumar, M., Kumar. A., Das, D. (2008). Kinetics of two-stage fermentation process for the production of hydrogen. *Internayional Journal of Hydrogen Energy*, 33, 1195-1203.
- Noike, T., Takabatake, H., Mizuno, O. y Ohba, M. (2002). Inhibition of hydrogen fermentation of organic wastes by lactic acid bacteria *International Journal of Hydrogen Energy* 27(11-12):1367-1371.
- Ntaikou, I., Antonopoulou, G. y Lyberatos, G. (2010). Biohydrogen Production from Biomass and Wastes via Dark Fermentation: A Review. *Waste and Biomass Valorization*, 1(1), pp.21–39.
- Ntaikoui, I., Gavala, H. N., Lyberatos, G. (2009). Modelling of fermentative hydrogen production from tha bacterium *Ruminococcus albus*: Definition of metabolism and kinetics during growth
- Nuñez, S., Garelli, F., De Battista, H. (2014). Second-order sliding mode observer for biomass concentration and growth rate estimation in batch photo-bioreactors. *International Journal of Hydrogen Energy*, 39, 8772-8779.
- OCDE, Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico. (2014). Factbook 2014: Economic, enviromental and social statistics. *Factbook OECD*, 258.
- Oh, T. K. y Shinogi, Y. (2013). Characterization of the pyrolitic solid derived from used disposable diapers. *Enviromental Technology*. 34:24, 3153-3160.
- OPS, Organización Panamericana de la Salud. (2010). Informe de la evaluación regional del manejo de los residuos sólidos urbanos en América Latina y el Caribe 2010. Pag. 164
- Peyton, B. y Characklis, W. G. (1995). Microbial biofilms and biofilm reactors *Bioprocess technology* 20:187-231.
- Pish Posh Diaper Co. (2013). Disponible en: <http://pishposhdiaperco.com/catalog.php?category=30>. Consultado: Agosto, 2014.
- Poggi-Varaldo, H. M., Bárcenas-Torres, J. D., Moreno-Medina, C. U., García-Mena, J., Garibay-Origel, C., Ríos-Leal, E. y Rinderknecht-Seijas, N. (2012). Influence of discontinuing feeding degradable cosubstrate on the performance of a fluidized bed

bioreactor treating a mixture of trichlorophenol and phenol *Journal of environmental management* 113:527-37.

- Poggi-Varaldo, H. M., Carmona Martínez, A., Vázquez-Larios, A. L. y Solorza-Feria, A. (2009). Effect of inoculum type on the performance of a microbial fuel cell fed with spent organic extracts from hydrogenogenic fermentation of organic solid wastes *Journal of New Materials for Electrochemical Systems* 12(1):49-54.
- Poggi-Varaldo, H. M., Tingley, J. y Oleszkiewicz, J. A. (1991). Inhibition of growth and acetate uptake by ammonia in batch anaerobic digestion, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 52(1):135-143.
- Poggi-Varaldo, H.M., Trejo-Espino, J., Fernández-Villagómez, G., Esparza-García, F., Caffarel-Mñendez, S. y Rinderknecht-Seijast, N. (1999). Quality of anaerobic compost from paper mill and municipal solid wastes for soil amendment. *Water Science and Technology*, 40(11-12), pp.179–186.
- Poggi-Varaldo, M. H., Rodríguez-Vázquez, R., Fernández-Villagómez, G. y Esparza-García, F. (1997). Inhibition of mesophilic solid-substrate anaerobic digestion by ammonia nitrogen, *Applied Microbiology and Biotechnology* 47(3):284-291.
- PROFECO. Procuraduría Federal del Consumidor. (2011). Estudio de calidad de pañales desechables. La misión anti-escurrimientos. *Revista del consumidor*. El laboratorio Profeco informa. 52-65.
- Puig, V. I. y Calaf, F. M. (2009a). Viabilidad de recogida y el tratamiento de pañales de un solo uso en Cataluña. Reporte técnico. ENT, Environment and Management. Cataluña, España.
- Puig, V.I. y Calaf, F. M. (2009b). Pañales reutilizables como estrategia de prevención de residuos. ENT Environment and Management.
- Ren, N., Wang, B. y Huang, J. C. (1997). Ethanol-type fermentation from carbohydrate in high rate acidogenic reactor *Biotechnology and Bioengineering* 54(5):428-433.
- Riber, C. (2007). Evaluation of waste specific environmental impacts from incineration. Tesis Doctoral. Technical University of Denmark.
- Robledo-Narváez, P., Escamilla-Alvarado, C., Ponce-Noyola, M. T y Poggi-Varaldo, H. M. (2008). Biohydrogen from wastes and combination of biological processes for energy yield improvement: a review. In: Sastre-Conde I, editor. The Third International Meeting in Environmental Biotechnology Engineering Palma de Mallorca. 2008.

- Robledo-Narváez, P.N., Muñoz-Páez, K. M., Poggi-Varaldo, H. M., Ríos-Leal, E., Calva-Calva, G., Ortega-Clemente, L. A., Rinderknecht-Seijas, N., Estrada-Vázquez, C., Ponce-Noyola, M. T., Salazar-Montoya, J. A. (2013). The influence of total solids content and initial pH on batch biohydrogen production by solid substrate fermentation of agroindustrial wastes. *Journal of Environmental Management*, 128, pp.126–137.
- Saady, N. M. C. (2013). Homoacetogenesis during hydrogen production by mixed cultures dark fermentation: Unresolved challenge, *International Journal of Hydrogen Energy*, 38(30): 13172-13191.
- SAGARPA, Secretaría de Agricultura Ganadería Desarrollo Rural Pesca y Alimentación. (2012). Programa de Producción Sustentable de Insumos para Bioenergéticos y de Desarrollo Científico y Tecnológico, México, D. F.
- Samoray, C. (2016). Ocean's plastics offer a floating fortress to a mess of microbes. The plastisphere is potentially causing changes in ocean environments, *Science News* 189(4):20.
- SCFI (1984). NMX-AA-016—1984. Protección al ambiente -Contaminación del suelo - Residuos sólidos municipales - Determinación de humedad. Secretaria de Comercio y Fomento Industrial. Publicada en el DOF 14 de diciembre de 1984.
- SCFI (1984). NMX-AA-018-1984. Protección al ambiente -Contaminación del suelo - Residuos sólidos municipales - Determinación de cenizas. Secretaria de Comercio y Fomento Industrial. Publicada en el DOF 14 de diciembre de 1984. SCFI (1984). NMX-AA-018-1984. Protección al ambiente -Contaminación del suelo - Residuos sólidos municipales - Determinación de cenizas. Secretaria de Comercio y Fomento Industrial. Publicada en el DOF 14 de diciembre de 1984.
- SCFI (1985). NMX-AA-067-1985. Protección al ambiente -Contaminación del suelo - Residuos sólidos municipales - Determinación de a relación carbono/nitrógeno. Secretaria de Comercio y Fomento Industrial. Publicada en el DOF 08 de agosto de 1985.
- Scow K.M., Schwartz E., Johnson M.J., Macalady J.L. (2001). Microbial Biodiversity, measurement of. *Encyclopedia of Biodiversity*, Volume 4, Academic Press.
- Sekoai, P. T. y Gueguim Kana, E. B. (2013). A two-stage modelling and optimization of biohydrogen production from a mixture of agro-municipal waste. *International Journal of Hydrogen Energy*, 38(21), 8657–8663.
- SEMARNAT, Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2012). Diagnóstico Básico para la Gestión Integral de los Residuos, México, D. F.



- Shah, A. T., Favaro, L., Alibardi, L., Cagnin, L., Sandon, A., Cossu, R., ... Basaglia, M. (2016). *Bacillus* sp. strains to produce bio-hydrogen from the organic fraction of municipal solid waste. *Applied Energy*, 176, 116–124.
- Shimao, M. (2001). Biodegradation of plastics *Current Opinion in Biotechnology* 12(3):242-247.
- Show, K.Y., Lee, D. J. y Chang, J.S., (2011). Bioreactor and process design for biohydrogen production. *Bioresource Technology*, 102(18), pp.8524–8533.
- Siles, J. A., Brekelmans, J., Matín, M. A., Chica, A. F. y Martín, A. (2010). Impact of ammonia and sulphate concentration on thermophilic anaerobic digestion. *Bioresource Technology* 101: 9040–9048.
- Sivan, A. (2011). New perspectives in plastic biodegradation *Current Opinion in Biotechnology* 22(3):422-426.
- Sotelo-Navarro, P.X., (2014). Composteo de pañales desechables usados mediante biorreactores aerobios y pilas aireadas. Tesis para obtener el título de Maestría. Universidad Autónoma Metropolitana. México, D. F.
- Sparling, R., Risbey, D. y Poggi-Varaldo, H. M. (1997). Hydrogen production from inhibited anaerobic composters. *International Journal of Hydrogen Energy*, 22, 563-566.
- Standard Test Method for Acid-Insoluble Lignin in Wood. (2001). Technical Association of Pulp and Paper Industry. Standard Method. D1106.
- Stefanowicz A. (2006). The Biolog Plates Technique as a Tool in Ecological Studies of Microbial Communities. *Polish J. of Environ. Stud.*,15: 669-676.
- Stegmann, R., Lotter, S., King, L., Hopping, W. D. (1993). Fate of an absorbent gelling material for hygiene paper products in landfill and composting. *Waste Management & Research*, 11, pp.155–170.
- Stoodley, P., Sauer, D., Davies, D. G. y Costerton, J. W. (2002). Biofilms as complex differentiated communities *Annual review of microbiology* 56:187-209.
- Sukhvinder, P. S. B, Sarbjit, G. and Munnings C. (2012). Hydrogen production via solid electrolytic routes, *WIREs Energy and Environment*, 2(5):473-487.
- Tang J, Yuan Y, Guo W. Q. y Ren N.Q. (2012). Inhibitory effects of acetate and ethanol on bio-hydrogen production of *Ethanoligenens Harbinense* B49. *Int J Hydrogen Energy*;37(1), 741-747.
- Tang, J., Jia, S., Qu, S., Xiao, Y., Yuan. Y. y Ren N. Q. (2014). An integrated biological hydrogen production process based on ethanol-type fermentation and bipolar

membrane electrodialysis. *International Journal of Hydrogen Energy*, 39, pp. 13375-13380.

- Tiny Tots Diaper Service. (1996). Disponible en: <http://tinytots.com/diaperservice/compost.html>. Consultado: Agosto, 2014.
- Tiwari, M.K., Guha, S., Harendranath, C. S., Tripathi, S. (2006). Influence of extrinsic factors on granulation in UASB reactor. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 7(2), pp.145–154.
- Tokiwa, Y., Calabia, B. P., Ugwu, C. U. y Aiba, S. (2009). Biodegradability of plastics *International Journal of Molecular Sciences* 10(9):3722-3742.
- Torrijos, M., Sousbie, P., Rouez, M., Lemunier, M., Lessard, Y., Galtier, L., Simao, A., Steyer, J. P. (2014). Treatment of the biodegradable fraction of used disposable diapers by co-digestion with waste activated sludge. *Waste Management*, 34(3), 669-675.
- Ueno, Y., Fukui, H., & Goto, M. (2007). Operation of a two-stage fermentation process producing hydrogen and methane from organic waste. *Environmental Science and Technology*, 41(4).
- Yadvika, Santosh, Sreekrishnan, T. R., Sangeeta, K., and Vineet, R. (2004). Enhancement of biogas production from solid substrates using different techniques-a review. *Bioresource Technol.*, 95: 1-10
- Valdez-Vázquez, I. y Poggi-Varaldo, H. M. (2009b). Alkalinity and high total solids affecting H<sub>2</sub> production from organic solid waste by anaerobic consortia, *International Journal of Hydrogen Energy*, 34(9): 3639-3646.
- Váldez-Vázquez, I. y Poggi-Varaldo, H.M. (2009a). Hydrogen production by fermentative consortia. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 13(5), pp.1000–1013.
- Valdez-Vazquez, I., Ponce-Noyola, M. T. y Poggi-Varaldo, H. M. (2009). Nutrients related to spore germination improve H<sub>2</sub> production from heat-shock-treated consortia. *International Journal of Hydrogen Energy*, 34(10), pp 4291-4295.
- Váldez-Vázquez, I., Ríos-Leal, E., Carmona-Martínez, A., Muñoz-Páez-K. M., Poggi-Varaldo, H. M. (2006a). Improvement of biohydrogen production from solid wastes by intermittent venting and gas flushing of batch reactors headspace. *Environmental Science and Technology*, 40(10), pp.3409–3415.
- Váldez-Vázquez, I., Ríos-Leal, E., Muñoz-Páez, K. M., Carmona-Martínez, A., Poggi-Varaldo, H. M. (2006b). Effect of inhibition treatment, type of inocula, and incubation temperature on batch H<sub>2</sub> production from organic solid waste. *Biotechnology and Bioengineering*, 95(3), pp.342–349.

- Váldez-Vázquez, I., Sparling, R., Risbey, D., Rinderknecht-Seijas, N. Poggi-Varaldo, H. M. (2005). Hydrogen generation via anaerobic fermentation of paper mill wastes. *Bioresource Technology* 96,
- Valentine, D.L., Blanton, D.C. y Reeburgh, W.S. (2000). Hydrogen production by methanogens under low-hydrogen conditions. *Archives of Microbiology*, 174(6), pp.415–421.
- Van Ginkel, S. y Logan, B. E. (2005). Inhibition of Biohydrogen Production by Undissociated Acetic and Butyric Acids. *Environ. Sci. Technol.* 39, pp 9351-9356.
- Van Niel, E.W.J., Claassen, P.A.M. y Stams, A.J.M. (2003). Substrate and product inhibition of hydrogen production by the extreme thermophile, *Caldicellulosiruptor saccharolyticus*. *Biotechnology and bioengineering*, 81(3), pp.255–62.
- Van Soest, P.J. y Wine, R.H. (1967). Use of detergents in the analysis of fibrous feed. IV. Determination on plant cell-wall constituents. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 50:50-55.
- Venkata M. S. (2009). Harnessing of biohydrogen from wastewater treatment using mixed fermentative consortia: Process evaluation towards optimization. *International Journal of Hydrogen Energy*, 34(17), pp.7460–7474.
- Verhaart, M. R. A., Bielen, A. A. M., van der Oost J., Stams, A. J. M. y Kengen, S. W. M. (2010). Hydrogen production by hyperthermophilic and extremely thermophilic bacteria and archaea: Mechanisms for reductant disposal, *Environmental Technology* 31(8-9): 993-1003.
- Wallis, I. (2012). 50 Best Business Ideas That Changed the World, Jaico Publishing House.
- Wang, B., Wan, W y Wang J. (2008c). Inhibitory effect of ethanol, acetic acid, propionic acid and butyric acid on fermentative hydrogen production. *International Journal of Hydrogen*, 33, pp. 7013-7019
- Wang, B., Wan, W. y Wang, J. (2010). Inhibitory effect of ethanol, acetic acid, propionic acid and butyric acid on fermentative hydrogen production, *International Journal of Hydrogen Energy* 33(23): 7013-7019.
- Wang, C.-H., Lu, W.-B. y Chang, J.-S. (2007). Feasibility study on fermentative conversion of raw and hydrolyzed starch to hydrogen using anaerobic mixed microflora. *International Journal of Hydrogen Energy*, 32, 3849-3859.
- Wang, J. y Wan, W. (2008a). The effect of substrate concentration on biohydrogen production by using kinetic models. *Science in China, Series B: Chemistry*, 51(11), pp.1110–1117.

- Wang, J. y Wan, W. (2009a). Application of desirability function based on neural network for optimizing biohydrogen production process. *International Journal of Hydrogen Energy*, 34(3), pp.1253–1259.
- Wang, J. y Wan, W. (2009b). Experimental design methods for fermentative hydrogen production: A review. *International Journal of Hydrogen Energy*, 34(1), pp.235–244.
- Wang, J. y Wan, W., (2009c). Factors influencing fermentative hydrogen production: A review. *International Journal of Hydrogen Energy*, 34(2), pp.799–811.
- Wang, J. y Wan, W., (2009d). Kinetic models for fermentative hydrogen production: A review. *International Journal of Hydrogen Energy*, 34(8), pp.3313–3323.
- Wang, J. y Wang, Y., (2008b). Effect of temperature on fermentative hydrogen production by mixed cultures. *International Journal of Hydrogen Energy*, 33(20), pp.5392–5397.
- Wang, Y., Zhao, Q. B. Mu, Y., Yu, H. Q., Harada, H. y Li, Y. Y. (2008). Biohydrogen production with mixed anaerobic cultures in the presence of high-concentration acetate. *International Journal of Hydrogen Energy*, 33, pp 1164-1171.
- Weisbrod, A. V. y Van Hoof, G. V. (2012). LCA-measured environmental improvements in Pampers® diapers. *International Journal Life Cycle Assess.* 17: 145-153.
- Winter, C. J. (2010). Hydrogen energy - Abundant, efficient, clean: A debate over the energy-system-of-change, *International Journal of Hydrogen Energy*, 34(14):pp.S1-S52.
- Winter, C.J., (2005). Into the hydrogen energy economy. *International Journal of Hydrogen Energy*, 30, pp.681–685.
- Yeh, Y., Ogai, H., Yiu, R., Morita, H., Takabayashi, Y. (2006). Modeling of waste disposal system for disposable diapers. 2006 IEEE Conference on Computer Aided Control System Design 2006 IEEE International Conference on Control Applications 2006 IEEE International Symposium on Intelligent Control.
- Yenigun, O. y Demirel, B. (2013). Ammonia inhibition in anaerobic digestion: a review, *Process Biochem* 48(5-6):901-11.
- Zagrodnik, R. y Laniecki, M. (2015). The role of pH control on biohydrogen production by single stage hybrid dark-and photo-fermentation *Bioresource Technology* 194 :187-195.
- Zeidan, A. A. y van Niel, W. J. (2010). A quantitative analysis of hydrogen production efficiency of the extreme thermophile *Caldicellulosiruptor owensensis* OLT. *International Journal of Hydrogen Energy*, 35, 1128-1137.

- Zettler, E. R., Mincer, T. J. y Amaral-Zettler, L. A. (2013). Life in the “Plastisphere”: Microbial communities on plastic marine debris, *Environmental Science and Technology* 47(13): 7137-7146.
- Zhang, S., Kim, T-H., Lee, Y. y Hwang, S-J. (2012). Effects of VFAs Concentration on Bio-hydrogen Production with *Clostridium Bifermentans* 3AT-ma, *Energy Procedia* 14: 518-523.
- Zhang, T., Liu, H. y Fang, H.H.P. (2003). Biohydrogen production from starch in wastewater under thermophilic condition. *Journal of Environmental Management*, 69(2), pp.149–156.
- Zhang, Z.-P., Show, K-Y., Tay, J-H., Liang, D-T., Lee, D-J., Jiang, W-J. (2006). Effect of hydraulic retention time on biohydrogen production and anaerobic microbial community. *Process Biochemistry*, 41(10), pp.2118–2123.
- Zheng, X. J. y Yu, H. Q. (2005). Inhibitory effects of butyrate on biological hydrogen production with mixed anaerobic cultures. *Journal of Environmental Management*, 74, pp 65-70.
- Zhou, P., Elbeshbishy, E. y Nakhla, G. (2013). Optimization of biological hydrogen production for anaerobic co-digestion of food waste and wastewater biosolids. *Bioresource Technology*, 130, 710–718.
- Zhu, H., Stadnyk, A., Béland, M., Seto, P. (2007). Co-production of hydrogen and methane from potato waste using a two-stage anaerobic digestion process. *Bioresour Technol*; 99:5078–84.
- Zumar, B. M. A. y Mohhe, R. (2016). Inhibition of dark fermentative bio-hydrogen production: A review, *International Journal of Hydrogen Energy* 41(16): 6713-6733.
- Zwietering, M.H., Jongenburger, I., Rimbouts, F.M., van't Riet, K. (1990). Modeling of the bacterial growth curve. *Appl. Environ. Microbiol.* 56, 1857–1881.



# Anexos







### 12.1 Anexo A. Cálculo de la cantidad de hidrógeno producido

1. **Calibración:** Para realizar la calibración se inyectan volúmenes fijos del gas a calibrar ( $H_2$ ,  $CH_4$ ,  $N_2$ ) y se procede a realizar los cálculos correspondientes para pasar ese volumen a milimoles. Tomando en cuenta las condiciones de presión y temperatura del laboratorio al momento de llevar a cabo la calibración.

$$V_j = 0.0; 0.2; 0.4; 0.6; 0.8; 1.0 \text{ mL} \quad , \quad P = P_{lab}, \quad T = T_{lab}$$

$$P_{lab} = \frac{580}{760} * 1.012 \times 10^5 \text{ Pa} \quad (A.1)$$

Típicamente la temperatura se toma como 298 K, sin embargo, es conveniente tomarla al momento de la determinación.

$$T_{lab} = 298 \text{ (medir } T_{lab}) \quad (A.2)$$

1.1. **Número de moles:** Para determinar el número de moles en el volumen inyectado ( $n_j$ ) se procede de la manera siguiente, se recomienda usar sistema internacional (SI) de unidades.

$$1 \text{ mL} = 10^{-6} \text{ m}^3$$

$$PV_j = n_j RT \rightarrow n_j(\text{mol}) = \frac{PV_j}{RT} \rightarrow n_j(\text{mmol}) = \frac{1000PV_j}{RT} \quad (A.3)$$

dónde:

$$P = \text{Pa}; V = \text{m}^3; T = \text{K} \text{ y } R = \frac{\text{Pa m}^3}{\text{K mol}}$$

Con el cromatógrafo se obtiene el área correspondiente a cada volumen de gas inyectado y se construye la tabla siguiente, donde el área no tiene unidades o se conocen como unidades arbitrarias:

$n_j (\text{m}^3)$	****	****
$A_j (\text{u}^*a_i)$	****	****

1.2. **Ajuste:** Con los datos obtenidos en el cromatógrafo se lleva a cabo el ajuste correspondiente, llevando a cabo una regresión lineal, como se muestra a continuación:

$$y = n_j; x = A_j \rightarrow n_j = b_0 + b_1 A_j; R^2 = p(F) \quad (A.4)$$

## 2. Cantidad de H<sub>2</sub> en muestra

Se inyecta un volumen definido de la muestra problema, el cual se denomina V<sub>p</sub>; para este caso es igual a 1 mL y con el cromatógrafo se obtendrá la correspondiente área de la muestra (A<sub>p</sub>); con la curva de calibración se determinan los milimoles (n<sub>p</sub>) de hidrógeno presentes en la muestra problema:

$$n_p = b_0 + b_1 * A_p \quad (A.5)$$

3. **Cantidad de H<sub>2</sub> en reactor, N<sub>p</sub>:** una vez calculados los milimoles presentes en el volumen de inyección se determinan los milimoles producidos en el reactor. Para esto se deberá tomar en cuenta el volumen de espacio vacío en el reactor (headspace) V<sub>hs</sub>.

$$N_p = N_p * \frac{V_{hs}}{V_p} \quad (mmol) \quad (A.6)$$

$$V_p = V_{hs} = mL$$

4. **Cantidad de sustrato seco en reactor, m<sub>s</sub>:** se determina la cantidad de sustrato seco en el reactor para expresar la cantidad de hidrógeno producido por gramo de sólidos totales.

$$m_s = m_{wb} * ST \quad (g_{ST}) \quad (A.7)$$

dónde:

$m_s = g_{db}$  son gramos de base seca

$m_{wb} = g_{wb}$  son gramos de base húmeda

$ST$  (sólidos totales) = decimal

5. **Producción de H<sub>2</sub> por unidad de masa sustrato seco inicial**  
**'Pseudorendimiento Y'** cuando no hay venteo intermitente.

$$Y' = \frac{N_p}{m_s} ; \frac{mmol}{g_{TS}} \quad (A.8)$$

$$N_p = N_{reactor}$$

### 6. Expresar $N_p$ en % $H_2$ v/v en el espacio gaseoso al final de incubación sin venteo intermitente

En el momento de la medición, si el reactor se ha sometido a incubación a temperatura controlada la  $T$  de la muestra será la de incubación ( $T_{hs}$ )=35+273 K; si no es así la  $T$  será a  $T_{amb}$ ; entonces las condiciones en el espacio gaseoso al máximo serán:

$$P_{hs} \text{ (desconocido); } T_{hs}; V_{hs}$$

Masa de  $H_2 = N_p$ ; masa de otros gases: desconocida :  $N_g$

Por la **Ley de Amagat** o ley de volúmenes parciales, se establece que, en una mezcla de gases, cada gas ocupa su volumen como si los gases restantes no estuvieran presentes:

$$V_{hs} = V_{H_2} + V_g \quad (A. 9)$$

$$V_{H_2} = \frac{N_p RT_{hs}}{P_{hs}} \quad (A. 10)$$

$$V_g = \frac{N_g RT_{hs}}{P_{hs}} \quad (A. 11)$$

$$V_{hs} = \frac{RT_{hs}}{P_{hs}} (N_p + N_g) \quad (A. 12)$$

Hasta ahora se cuenta con una ecuación con dos incógnitas:  $P_{hs}$  y  $N_g$ .

$$V_{hs} P_{hs} = (N_p + N_g) RT_{hs} \quad (A. 13)$$

$$\%H_2 = \left( \frac{N_p}{N_p + N_g} \right) * 100 = \frac{V_{H_2}}{V_{hs}} = \frac{\frac{N_p RT_{hs}}{P_{hs}}}{V_{hs}} \quad (A. 14)$$

Evaluando la dinámica de producción de gas en  $t=0$  en el ciclo  $k$ -ésimo ( $k^{\text{th}}$  en inglés): gas  $N_2$  100%

$$N_{N_{2,0}} = \frac{P_0 V_{hs}}{RT_0} \quad (A.15)$$

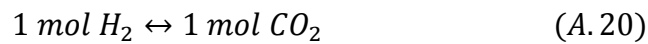
$$P_0 = \frac{580}{760} * 1.012 * 10^5 Pa \quad (A.16)$$

$$T_0 = 298 K \text{ o } 308 K \quad (A.17)$$

$$N_{final} = N_{H_2} + N_{N_{2,0}} + N_{CO_2} + N_{CH_4} + N_{N_{2,dentro}} + N_{H_2O} + others \quad (A.18)$$

$N_{H_2O} \rightarrow$  sale por presión de vapor de agua a 308K ;  $\Delta t = t_f$

Como aproximación en fermentación H butirato:



$$N_{final} \approx N_{H_2} + N_{N_{2,0}} + N_{H_2} + N_{H_2O} \quad (A.21)$$

dónde:

$$N_p = N_{H_2}$$

$$N_g = N_{N_{2,0}} + N_{H_2} + N_{H_2O} \quad (A.22)$$

$$N_{final} \approx N_g ; N_{H_2} = N_p \quad (A.23)$$

$$N_{final} \cong 2N_p + N_{N_{2,0}} + N_{H_2O} \quad (A.24)$$

$$\%N_2 \cong \frac{N_p}{2N_p + N_{N_{2,0}} + N_{H_2O}} * 100 \quad (A.25)$$

Si hay evidencias de fermentaciones mixtas, entonces suponer:



*en forma general*

$$1 \text{ mol } H_2 \leftrightarrow x \text{ mol } CO_2; x \geq 1 \quad (A.27)$$

$$N_{final} \cong N_p + N_{N_{2,0}} + xN_p + N_{H_2O} \quad (A.28)$$

$$N_{final} \cong (1 + x)N_p + N_{N_{2,0}} + N_{H_2O} \quad (A.29)$$

$$\%N_2 \cong \frac{N_p}{(1 + x)N_p + N_{N_{2,0}} + N_{H_2O}} \quad (A.30)$$

**Nota:** Para cálculos de % H<sub>2</sub> más exactas: medir N<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> ó medir la presión del espacio gaseoso al final del ciclo a la temperatura de muestreo

Realizar el seguimiento y análisis cuando hay venteo intermitente durante el ciclo como se muestra en la Figura A-1.

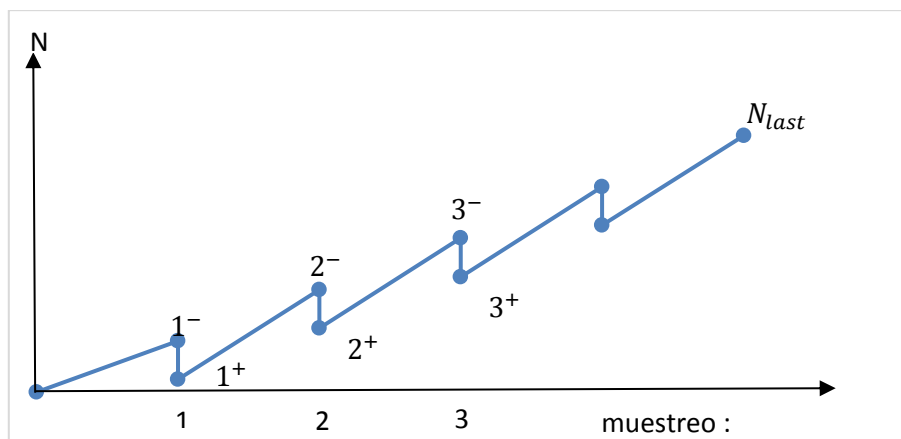


Figura A-1. Seguimiento de análisis con venteo intermitente

$$\Delta N_i = N_{i^-} - N_{i^+} \quad (A.31)$$

$$N_{acum} = N_{last} + \Delta N_1 + \Delta N_2 + \Delta N_3 + \dots + \Delta N_{last-1} \quad (A.32)$$

**El procedimiento es así:**

En el momento de ventear orden  $i$ ; antes de ventear determinar  $H_2$  (& gases)  $\rightarrow N_{i^-}$ , ventear en sello hidráulico e inmediatamente determinar  $H_2$  (& gases)  $\rightarrow N_{i^+}$

$$\Delta N_i = N_{i^-} - N_{i^+} \quad (A.33)$$

Conviene sustituir la notación:  $i^- = i$ ;  $i^+ = i'$ ;  $\Delta N_i = N_i - N_{i'}$

Como en cada venteo intermitente se pierden 2 mL de gases que contienen H<sub>2</sub>; 1 mL en  $i$  y 1 mL en  $i'$ .

$$N_i \text{ está en } V_{hs} ; N_{i'} \text{ está en } V_{hs}$$

Si las pérdidas molares de H<sub>2</sub> por extracciones de 1 mL de muestra, gas en cada muestreo, se representa con  $v_i$  y  $v_{i'}$  respectivamente:

$$v_i = \frac{N_i}{V_{hs}} ; v_{i'} = \frac{N_{i'}}{V_{hs}} \quad (\text{A. 34})$$

Si "last" =  $l$

$$N_{acum_{H_2}} = N_l + \sum_1^{l-1} \Delta N_i + \sum_1^l v_i + \sum_1^{l-1} v_{i'} \quad (\text{A. 35})$$

$$N_{acum_{H_2}} = N_l + \sum_1^{l-1} \Delta N_i + \sum_1^l \frac{N_i}{V_{hs}} + \sum_1^{l-1} \frac{N_{i'}}{V_{hs}} \quad (\text{A. 36})$$

$$N_{acum_{H_2}} = N_l + \sum_1^{l-1} \Delta N_i + \frac{1}{V_{hs}} \sum_1^l N_i + \frac{1}{V_{hs}} \sum_1^{l-1} N_{i'} \quad (\text{A. 37})$$

$$N_{acum_{H_2}} = N_l + \sum_1^{l-1} \Delta N_i + \frac{1}{V_{hs}} \sum_1^l (N_i + N_{i'}) + \frac{N_l}{V_{hs}} \quad (\text{A. 38})$$

$$N_{acum_{H_2}} = N_l + \sum_1^{l-1} N_i - \sum_1^{l-1} N_{i'} + \frac{1}{V_{hs}} \sum_1^l N_i + \frac{1}{V_{hs}} \sum_1^{l-1} N_{i'} + \frac{N_l}{V_{hs}} \quad (\text{A. 39})$$

$$N_{acum_{H_2}} = N_l + \sum_1^{l-1} \left(1 + \frac{1}{V_{hs}}\right) N_i - \sum_1^{l-1} \left(1 + \frac{1}{V_{hs}}\right) N_{i'} + \frac{N_l}{V_{hs}} \quad (\text{A. 40})$$

$$N_{acum_{H_2}} = N_l + \left(1 + \frac{1}{V_{hs}}\right) \sum_1^{l-1} N_i - \left(1 + \frac{1}{V_{hs}}\right) \sum_1^{l-1} N_{i'} + \frac{N_l}{V_{hs}} \quad (\text{A. 41})$$

$$N_{acum_{H_2}} = N_l \left(1 + \frac{1}{V_{hs}}\right) + \left(1 + \frac{1}{V_{hs}}\right) \sum_1^{l-1} N_i - \left(1 - \frac{1}{V_{hs}}\right) \sum_1^{l-1} N_{i'} \quad (\text{A. 42})$$

$$N_{acum_{H_2}} = \left(1 + \frac{1}{V_{hs}}\right) \sum_i^l N_i - \left(1 - \frac{1}{V_{hs}}\right) \sum_1^{l-1} N_i' \quad (A.43)$$

Otra notación propuesta:  $N_i = N_i$ ;  $N_{i+} = N_i' = N_i^*$

$$N_{acum_{H_2}} = \left(1 + \frac{1}{V_{hs}}\right) \sum_i^l N_i - \left(1 - \frac{1}{V_{hs}}\right) \sum_1^{l-1} N_i^* \quad (A.44)$$

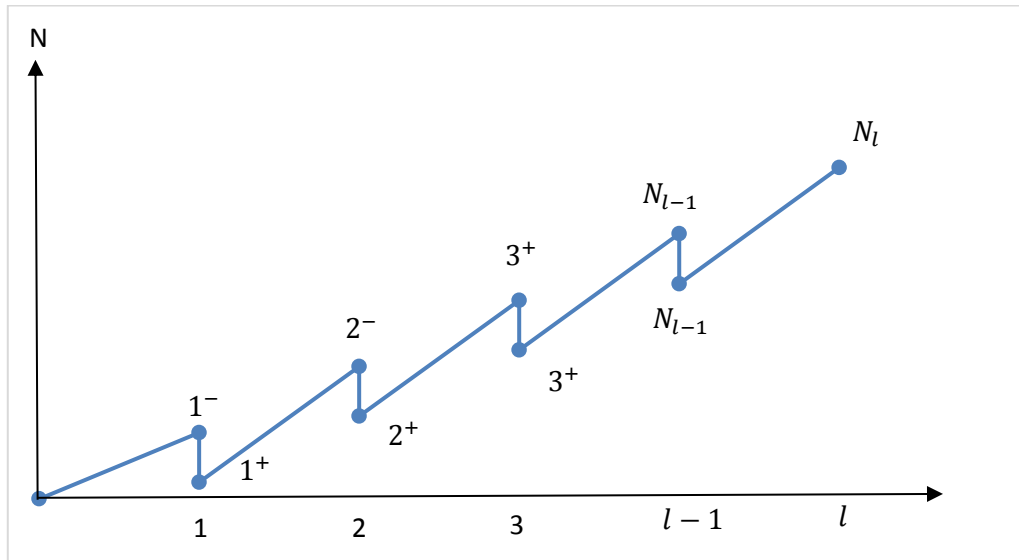


Figura A-2. Análisis de venteo intermitente antes y después

### Término de corrección

$$C = \frac{1}{V_{hs}} \sum_1^{l-1} (N_i + N_i^*) \quad (A.45)$$

### Aproximación

$$\sum_{i=1}^{l-1} N_i \cong (0.5 \text{ a } 0.67) * (l-1) * N_l \quad (A.46)$$

$$\bar{N}_l \cong (0.5 \text{ a } 0.67) * N_l \quad (A.47)$$

$$\bar{N}_l^* = \bar{N}_l - \frac{\sum_{i=1}^{l-1} \Delta N_i}{l-1} \quad (A.48)$$

$$C \approx \frac{1}{V_{hs}} \left[ 2 * (0.5 \lambda 0.67)(l-1)N_l - \sum_{i=1}^{l-1} \Delta N_i \right] \quad (A.49)$$

$$C \approx \frac{1}{V_{hs}} \left[ 2 * (0.5 a 0.67)(l-1)N_l - \sum_1^{l-1} \Delta N_i \right] \quad (A.50)$$

$$\sum_1^{l-1} \Delta N_i \cong (l-1) \left( \frac{\Delta N_l + \Delta N_{l-1}}{2} \right) \quad (A.51)$$

$$C \approx \frac{1}{V_{hs}} \left[ 2 * (0.5 a 0.67)(l-1)N_l - (l-1) \left( \frac{\Delta N_l + \Delta N_{l-1}}{2} \right) \right] \quad (A.52)$$

$$C \approx \frac{(l-1)}{V_{hs}} [1.3N_l - 0.5(\Delta N_l + \Delta N_{l-1})] \quad (A.53)$$

C aumentará la magnitud de  $N_i$  con el número de puntos de ventilación.

C disminuirá con grandes liberaciones de  $V_{hs}$  en los eventos de ventilación.



## 12.2 Anexo B. Técnicas para los análisis fisicoquímicos

### pH

- Se solubilizan 10 g de muestra sólida húmeda en 50 ml de agua destilada a 4 °C.
- Se agita la solución vigorosamente con una varilla de vidrio y se deja reposar en refrigeración a 5 °C. Posteriormente se agita nuevamente la solución y se mide el pH con un potenciómetro.

### Alcalinidad

Capacidad cuantitativa para neutralizar un ácido fuerte a un determinado pH.

- Después de medir el pH la solución se pasa a un tubo falcón de 50 ml y se centrifuga a 3000 rpm por 15 min.
- Se toman 20 ml del sobrenadante y se determina la alcalinidad titulando potenciométricamente con una solución de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 0.1 N.
- Se registra el volumen gastado V<sub>1</sub> utilizado para llevar la solución a pH 5.75 (alcalinidad parcial) y el volumen V<sub>2</sub> para llevar a pH 4.3 (alcalinidad total). La alcalinidad expresada como CaCO<sub>3</sub> se calcula de la siguiente manera (Ec. A.54):

$$\text{Alcalinidad} = \frac{V_2 * N * \text{Peq CaCO}_3}{m_h} \left[ \frac{\text{mg CaCO}_3}{\text{Kg}} \right] \quad (\text{A. 54})$$

donde:

V<sub>2</sub>: volumen de titulación de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> para llegar hasta pH 4.3 (ml)

N: normalidad de la solución titulante de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (meq/ml)

Peq CaCO<sub>3</sub>: peso equivalente del carbonato de calcio (50 mg CaCO<sub>3</sub>/ meq)

m<sub>h</sub>: peso de la muestra (Kg)

### Factor α

Relación entre la alcalinidad debida a ácidos orgánicos y la originada por compuestos como carbonatos, bicarbonatos e hidróxidos (Ec. A.55)

$$\alpha = \frac{\text{alcalinidad intermedia}}{\text{alcalinidad parcial}} = \frac{V_2 - V_1}{V_1} \quad (\text{A. 55})$$

dónde:

α: relación alfa

$V_1$ : volumen de titulación con  $H_2SO_4$  hasta pH 5.75

$V_2$ : volumen de titulación con  $H_2SO_4$  hasta pH 4.3

### Ácidos orgánicos y solventes

Del sobrenadante del cual se toma la muestra para la determinación de alcalinidad, se toman 2 ml y se filtran usando un filtro de acetato ( $0.45 \mu$ ) en un tubo Eppendorf de 1.5 ml y se congela a  $-20 \text{ }^\circ\text{C}$  hasta su análisis.

Para la determinación de acetona, etanol, metanol, butanol, ácido acético, propiónico y butírico, se inyecta una alícuota del tubo Eppendorf en el cromatógrafo de gases Varian Star 3400 equipado con un detector de ionización de flama (FID) para la determinación de metabolitos volátiles. La temperatura del inyector y del detector son de  $250$  y  $100 \text{ }^\circ\text{C}$  respectivamente.

El programa de la temperatura del horno es de  $50 \text{ }^\circ\text{C}$  por 7 min, segundo incremento de  $12 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$  hasta  $220 \text{ }^\circ\text{C}$ , manteniéndose a ésta temperatura por 4 min.

Se utiliza una columna de Agilent Technologies 19091N-133  $30 \text{ m} \times 0.250 \text{ mm}$  de diámetro interno recubierta con una película de  $0.25 \mu\text{m}$  de HP-INNOWAX.

Se emplea nitrógeno como gas acarreador con un flujo de  $20 \text{ ml}/\text{min}$ . Se usan estándares de acetona, etanol, metanol, butanol, ácido acético, propiónico y butírico para identificar los metabolitos. Las concentraciones de los metabolitos se obtienen comparando las áreas de los metabolitos en los cromatogramas contra la curva de calibración estándar. El ácido láctico se determina en el HPLC ConstaMetric 3500 (LCD analytical, E.U.A.) usando una fase móvil (1:99) de acetonitrilo en  $\text{KH}_2\text{PO}_4$   $20 \text{ mM}$ , pH 2.0 (ajustado con  $\text{H}_3\text{PO}_4$ ). Se utiliza una columna de Agilent Technologies  $4.6 \text{ mm} \times 150 \text{ mm} \times 5 \mu\text{m}$  empacada con ZORBAX 5B-Aq, con un flujo de  $0.5 \text{ ml}/\text{min}$ . La absorbancia se mide en un detector SpectroMonitor 3200 (Thermo separation products, E. U. A.) con lámpara UV-DAD a una longitud de onda/ventana de  $210/8 \text{ nm}$ .

### Humedad, sólidos totales, sólidos volátiles y cenizas

Se pesan aproximadamente 5 g de muestra de una cápsula de porcelana llevada a peso constante, se coloca en un horno a  $103 \text{ }^\circ\text{C}$  por 12 h para llevar a sequedad. Pasado el tiempo, se enfría la cápsula en un desecador y se registra el peso, el porcentaje de humedad se calcula:

$$\text{Humedad (\%)} = \frac{P_1 - P_2}{P_1 - P_0} * 100 \quad (\text{A.56})$$

### Sólidos totales

$$ST (\%) = \frac{P_2 - P_0}{P_1 - P_0} * 100 \quad (A.57)$$

Para determinar los sólidos volátiles y las cenizas, se calcina la muestra seca a 550 °C por 6 h, se enfría en un desecador hasta peso constante y se pesa.

$$SV (\% \text{ base seca}) = \frac{P_2 - P_3}{P_2 - P_0} * 100 \quad (A.58)$$

$$\text{Ceniza (\% base seca)} = \frac{P_3 - P_0}{P_2 - P_0} * 100 \quad (A.59)$$

donde:

P<sub>0</sub>: masa constante de la cápsula vacía

P<sub>1</sub>: masa de la cápsula con la muestra húmeda

P<sub>2</sub>: masa constante de la cápsula con la muestra seca

P<sub>3</sub>: masa de la cápsula con la muestra calcinada



Figura B-1. Determinación de humedad

### Determinación de nitrógeno total

La determinación de nitrógeno total se realiza con el método Micro-Kjeldahl que comprende tres fases fundamentales:

- a) **Digestión de la muestra.** La muestra se somete a una digestión por calentamiento con ácido sulfúrico y por una mezcla de sales que aceleran y facilitan tanto la oxidación de la materia orgánica como la conversión de todas las formas de nitrógeno a N<sup>+3</sup>, que en medio ácido se encuentran en forma de radical amonio (NH<sup>4+</sup>); es decir, se llevan las formas orgánicas a formas minerales de nitrógeno (figura B-2).

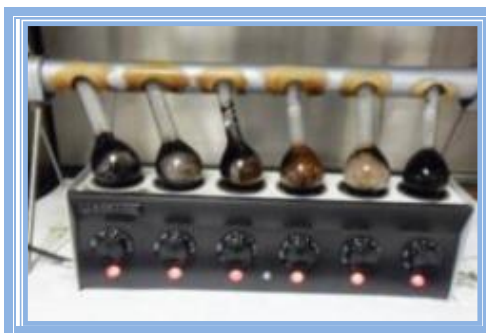


Figura B-2. Digestión por Micro-Kjeldahl

b) **Destilación.** Una vez transformado el nitrógeno en  $\text{NH}_4^+$ , se expone a una base fuerte como el hidróxido de sodio para formar hidróxido de amonio, que por la acción del calor se descompone en amoniaco ( $\text{NH}_3$ ) y agua (figura B-3).



Figura B-3. Destilación por Micro-Kjeldahl

c) **Valoración.** El amoniaco desprendido por la reacción se recoge en un volumen conocido de solución valorada de ácido bórico y por comparación con un blanco se determina la cantidad de ácido que reaccionó con el  $\text{NH}_3$  (figura B-4).

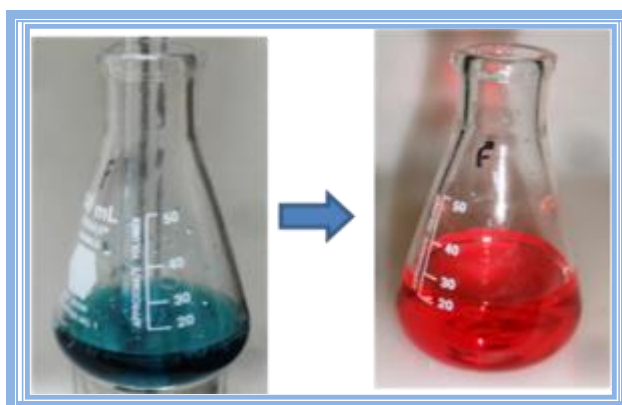


Figura B-4. Valoración de nitrógeno total

Se pesa una muestra seca de los diferentes sustratos de 0.25 g en una balanza analítica OHAUS Analytical Plus ( $\pm 0.0001$ g), se coloca en un matraz Kjeldahl seco y se adicionan 2 g de mezcla de catalizadores, agregando 5 mL de ácido sulfúrico concentrado. La mezcla se somete a digestión en un micro-digestor LABCONCO y se deja enfriar.

Posteriormente se somete a destilación en una unidad de destilación rápida LABCONCO, añadiendo 25 mL de agua destilada y mezclando vigorosamente hasta una disolución completa. Se adicionan 15 mL de la solución de hidróxido de sodio 10 N. Se coloca en la salida del aparato de destilación un vaso de precipitados con 10 mL de la solución de ácido bórico con indicador, hasta que el volumen alcance la marca de 20 mL en el vaso de precipitados. Se titula el nitrógeno amoniacal con la solución de ácido sulfúrico 0.01 N hasta que se observe el vire de verde a rosado fuerte (Fernández *et al.*, 2006).

Se calcula la concentración de nitrógeno total mediante la ecuación A.60:

$$\text{Nitrógeno (\%)} = \frac{(T - B) \times N \times 1.4}{S} \quad (\text{A. 60})$$

dónde:

T = mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> gastados en la muestra

B = mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> gastados en el blanco

N = Normalidad exacta H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

S = masa de la muestra

#### **Determinación de materia orgánica**

Se incluye bajo el término de materia orgánica todo el material de una muestra seca que se volatiliza a la temperatura máxima de 650°C.

Siguiendo la metodología descrita por Espinosa (2010), se coloca en un crisol aproximadamente 1 g de la muestra y se pesa en una balanza analítica OHAUS Analytical Plus con aproximación de 0.0001g. Se calcina en la mufla de microondas Phoenix Microwave Furnace a 650 °C hasta obtener peso constante, el cual se comprueba transcurrida una hora.

La calcinación se realiza a 650 °C por 3 h, aumentado una hora más si no se habían eliminado todas las partículas de carbón. Se calcula la cantidad de materia orgánica mediante la ecuación A.61:

$$M.O. (\%) = \frac{(G2 - G3)}{G2 - G1} \times 100 \quad (\text{A. 61})$$

dónde:

M.O. = porcentaje de materia orgánica

G1 = masa en g del crisol vacío

G2 = masa en g de crisol más muestra

G3 = masa en g de la muestra calcinada (650 °C)

#### **Relación carbono/nitrógeno**

Según la norma NMX-AA-067-1985, la relación C/N es el parámetro utilizado como control de calidad de los residuos sólidos dentro de un sistema, utilizando como base la materia orgánica. La relación carbono/nitrógeno (C/N) está en función del % de materia orgánica (%M.O.) obtenido a partir de la constante de Jackson y del % de Nitrógeno total (%N).

Para determinar el contenido de carbono se multiplica el % de materia orgánica x 0.58, que es la constante que Jackson, ya que sugiere que sólo el 58 % de la materia orgánica es carbón, donde:

$$\frac{C}{N} = \frac{\% M.O. \times 0.58}{\%N} \quad (A.62)$$

dónde:

%N = porcentaje de nitrógeno total

%M.O. = porcentaje de materia orgánica

#### **Determinación de celulosa**

Para un gramo de muestra seca se añaden 15 mL de 80% de ácido acético y 1.5mL de ácido nítrico concentrado y se somete a reflujo durante 20 minutos. El residuo, se filtra, se lava con etanol, se seca en el horno a 100-105°C y se pesa (A). Luego, se incinera a 540°C (B). El contenido de celulosa se determina de acuerdo con Van Soest y Wine, (1967).

$$\% \text{ Celulosa} = \frac{(\text{Materia A}) - (\text{Material B})}{\text{Peso de la muestra tomada}} \times 100 \quad (A.63)$$

### 12.3 Anexo C. Características de las pruebas microbiológicas

Se denomina crecimiento al incremento en el número de células en una población o al incremento de la masa celular. La velocidad de crecimiento es el cambio en el número de células o en la masa celular experimentado por unidad de tiempo. El crecimiento es un componente esencial de la función microbiana, ya que en la naturaleza cualquier célula tiene un período de vida finito y la especie se mantiene como resultado del crecimiento continuo de la población. En la mayoría de los microorganismos el crecimiento de una célula individual continúa hasta que se divide en dos células nuevas, un proceso que se denomina fisión binaria. Durante el ciclo de crecimiento todos los constituyentes celulares aumentan. El tiempo necesario para completar un ciclo de crecimiento celular en las bacterias es muy variable y depende de varios factores, tanto nutricionales como genéticos.

El crecimiento de las poblaciones se mide estimando los cambios en el número de células, en la cantidad de algún componente de las mismas (por ejemplo, proteína) o en el peso total seco de las células. Existen diversos métodos para evaluar el tamaño de la población bacteriana presente en una muestra determinada, adecuados para diferentes organismos o diferentes situaciones. Algunos de ellos son directos y otros indirectos, en función de que cuenten microorganismos o calculen otros parámetros a partir de los cuales se puede inducir la magnitud de la población microbiana, en este caso se determinó por conteo en placa, huella metabólica y por turbidimetría.

#### ***Conteo en placa***

De acuerdo al protocolo descrito por Castañeda (2004), la determinación del conteo de bacterias en una muestra se realiza, normalmente, por siembra en placa, de un volumen determinado de muestra, por incubación a una temperatura concreta y en un tiempo determinado, y por el posterior recuento de las colonias desarrolladas y con la aceptación implícita de que cada colonia es originada por una bacteria de la muestra inicial, por lo tanto, el número de colonias equivaldrá al número de bacterias en el volumen sembrado.

#### ***Determinación de la huella metabólica del inóculo anaerobio***

Se utilizó el equipo Biolog para caracterizar a las comunidades bacterianas a emplear para la producción de hidrógeno en este trabajo. El método está basado en el seguimiento de la utilización de 95 diferentes fuentes

de carbono (Hill *et al.*, 2000) por el/los microorganismo(s) estudiado(s). Entre estas moléculas se distinguen algunos grupos de componentes químicos, como: carbohidratos, aminoácidos, ácidos carboxílicos, aminas, amidas y polímeros. Adicionalmente, los pozos contienen tetrazolio (Stefanowicz, 2006). Durante su incubación a temperatura constante (37 °C), los microorganismos oxidan al sustrato (fuentes de carbono) y, simultáneamente, reducen al colorante tetrazolio a violeta de formazán, sal de tetrazolio de color púrpura (Stefanowicz, 2006) debido a la respiración bacteriana (Leflaive *et al.*, 2005). Los cambios del color se cuantifican espectrofotométricamente (Hill *et al.*, 2000). La rapidez de utilización de los diferentes sustratos varía en función del microorganismo, por lo que se puede observar una gran variabilidad en la tasa de desarrollo del color y su intensidad en función de la composición de la comunidad microbiana. En las microplacas Biolog® se realizan 95 reacciones simultáneamente y dan un patrón de reacción característico llamado “huella metabólica”, con cual es posible determinar la cinética de desarrollo de los microorganismos (figura C-1).

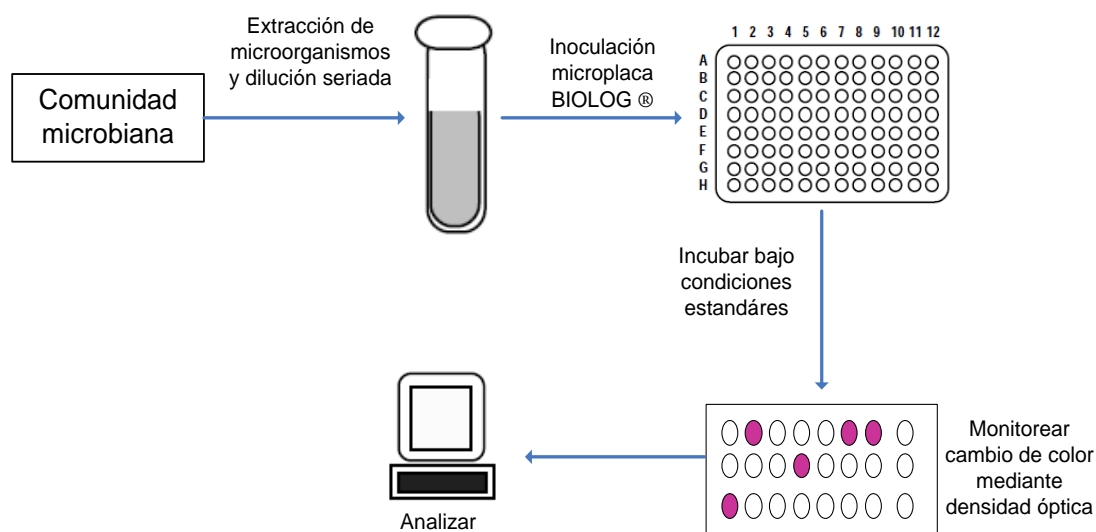


Figura C-1. Descripción del protocolo para determinar la cinética de crecimiento por medio del BIOLOG

Tanto la intensidad como la rapidez del desarrollo del color, son funciones de la cantidad de microorganismos presentes. Si la placa se inocula directamente con una muestra (Scow *et al.*, 2001), la densidad del inóculo inicial es variable, y los resultados deberán ser estandarizados para poder comparar muestras diferentes (Hill *et al.*, 2000).



## 12.5 Anexo D. Publicaciones emanadas de la tesis

### 12.5.1 Artículos en revistas internacionales con arbitraje estricto indizadas en SCIE-JCR Thomson Reuters

Sotelo-Navarro, P. X., Poggi-Varaldo, H. M., Turpin-Marion, S. J., Vázquez Morillas, A., Beltrán-Villavicencio, M., Espinosa-Valdemar, R. M. (2017). Biohydrogen production from used diapers: Evaluation of effect of temperature and substrate conditioning. *Waste Management and Research*, 1-9.

Original Article

WM&R

## Biohydrogen production from used diapers: Evaluation of effect of temperature and substrate conditioning

Waste Management & Research  
1-9  
© The Author(s) 2017  
Reprints and permissions:  
sagepub.co.uk/journalsPermissions.nav  
DOI: 10.1177/0734242X16677324  
wmr.sagepub.com  
SAGE

PX Sotelo-Navarro<sup>1</sup>, HM Poggi-Varaldo<sup>2</sup>, SJ Turpin-Marion<sup>1</sup>,  
A Vázquez-Morillas<sup>1</sup>, M Beltrán-Villavicencio<sup>1</sup> and  
RM Espinosa-Valdemar<sup>1</sup>

### Abstract

This research assessed the viability to use disposable diapers as a substrate for the production of biohydrogen, a valuable clean-energy source. The important content of cellulose of disposable diapers indicates that this waste could be an attractive substrate for biofuel production. Two incubation temperatures (35 °C and 55 °C) and three diaper conditioning methods (whole diapers with faeces, urine, and plastics, WD; diapers without plastic components, with urine and faeces, DWP; diapers with urine but without faeces and plastic, MSD) were tested in batch bioreactors. The bioreactors were operated in the solid substrate anaerobic hydrogenogenic fermentation with intermittent venting mode (SSAHF-IV). The batch reactors were loaded with the substrate at ca. 25% of total solids and 10% w/w inoculum. The average cumulative bioH<sub>2</sub> production followed the order WD > MSD > DWP. The bio-H<sub>2</sub> production using MSD was unexpectedly higher than DWP; the presence of plastics in the first was expected to be associated to lower degradability and H<sub>2</sub> yield. BioH<sub>2</sub> production at 55 °C was superior to that of 35 °C, probably owing to a more rapid microbial metabolism in the thermophilic regime. The results of this work showed low yields in the production of H<sub>2</sub> at both temperatures compared with those reported in the literature for municipal and agricultural organic waste. The studied process could improve the ability to dispose of this residue with H<sub>2</sub> generation as the value-added product. Research is ongoing to increase the yield of biohydrogen production from waste disposable diapers.

### Keywords

Biohydrogen production, dark fermentation, diaper conditioning, disposable diaper, temperature

### Introduction

Modern societies face major problems regarding the management, treatment, and disposal of solid wastes, including organic waste that could be harnessed and converted into value-added products by conventional methods of treatment (Poggi-Varaldo et al., 2014). In Mexico, used (or waste) disposable diapers constitute up to 6.52% of the national municipal solid waste (MSW). So far, used diapers and most MSW are landfilled without treatment (Espinosa-Valdemar et al., 2011; SEMARNAT, 2012).

Disposable diapers are primarily composed of cellulose and synthetic fibres that can be treated by biological methods. Typical composition of a disposable baby diaper, as described by HDANA (2011), is 36.6% cellulose pulp, 30.7% sodium polyacrylate (SAP), 16% polypropylene, 6.2% low-density polyethylene, and 10.5% of elastic and adhesive tapes. A few biological treatments had been successfully applied in the treatment of used diapers. Composting feasibility has been demonstrated (Colfen et al., 2010, 2013; Das and Vezirglu, 2001; Espinosa-Valdemar et al., 2014, 2015). A recent study conducted by Torrijos et al. (2014) showed that co-digestion of used diapers with acidified sludge was successful and yielded significant amounts of methane.

Dark fermentation of wastes seems to be an attractive technique for H<sub>2</sub> production (Das and Vezirglu, 2001; Poggi-Varaldo et al., 2014; Valdez-Vázquez and Poggi-Varaldo, 2009a). H<sub>2</sub> can be considered the best energy alternative because it can be produced by biological means and it has the highest energy density of fuel; it is versatile since it can be used both as a primary or secondary energy source. It is environmentally friendly since water is its main combustion product and no aggressive pollutants are generated in H<sub>2</sub> use or combustion (Mizuno et al., 2002; Muñoz-Páez et al., 2012; Nath and Das, 2004; Ragossnig, 2007).

<sup>1</sup>Department of Energy, Sustainable Technologies Laboratory, México City, México

<sup>2</sup>Department of Biotechnology and Bioengineering, CINVESTAV del IPN, México City, México

### Corresponding author:

HM Poggi-Varaldo, CINVESTAV del IPN, Department of Biotechnology and Bioengineering, Environmental Biotechnology and Renewable Energies Group, PO Box 14-740, México City 07000, México.  
Email: rfcapel@yahoo.com

### 12.5.2 Capítulos en libros

Used disposable diapers as substrate for hydrogen production: Effect of temperature and diaper conditioning. Chapter 1.10. Advances in Hydrogen Energy 2015. Sociedad Mexicana de Hidrógeno A. C. 1<sup>st</sup>. Edition. **Perla X. Sotelo-Navarro**, Héctor M. Poggi-Varaldo, Sylvie J. Turpin Marion, Alethia Vázquez-Morillas, Margarita Beltrán-Villavicencio.

### 12.5.3 Publicaciones en congresos internacionales

1. Book of abstracts XV International Congress of the Mexican Hydrogen Society. "Used disposable diapers as substrate for hydrogen production: Effect of temperature and diaper conditioning". Perla X. Sotelo-Navarro, Héctor M. Poggi-Varaldo, Sylvie J. Turpin Marion, Alethia Vázquez-Morillas, Margarita Beltrán-Villavicencio. Del 22 al 25 de Septiembre de 2015 en México, D. F. México.
2. Memorias del ISWA'15 World Congress. "*Feasibility of production of biohydrogen from used disposable diapers*". Perla X. Sotelo-Navarro, Sylvie J. Turpin-Marion, Rosa M. Esponisa-Valdemar, Alethia Vázquez-Morillas, Margarita Beltrán-Villavicencio, Héctor M. Poggi-Varaldo. Del 7 al 9 de Septiembre 2015. Antwerp, Bélgica. ISBN: 9789075367317.
3. Memorias en abstracts The 4to International Symposium on Environmental Biotechnology and Engieniering. Con el tema "*Perspectivas en la gestión de pañales desechables usados: una revisión*". Perla X. Sotelo-Navarro, Sylvie J. Turpin-Marion, Rosa M. Espinoza-Valdemar, Alethia Vázquez-Morillas, Margarita Beltrán-Villavicencio, Héctor M. Poggi-Varaldo. Ciudad de México, México del 9 al 12 de septiembre de 2014. ISBN: 978-607-9023-24-9
4. Memorias en abstracts the 4to International Symposium on Environmental Biotechnology and Engieniering. Con el tema "*Cinética de inhibición de producción de hidrógeno mediante fermentación oscura: una revisión*". Perla X. Sotelo-Navarro, Sylvie J. Turpin-Marion, Rosa M. Espinoza-Valdemar, Alethia Vázquez-Morillas, Margarita Beltrán-Villavicencio, Héctor M. Poggi-Varaldo. Ciudad de México, México del 9 al 12 de septiembre de 2014. ISBN: 978-607-9023-24-9