**S.E.P.** **S.E.S.T.N.M.** **T.N.M.**

# INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TOLUCA

## “CARACTERIZACIÓN MICROBIANA DURANTE EL PROCESO DE DEGRADACIÓN ACELERADA DE RESIDUOS SÓLIDOS URBANOS”

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

**MAESTRA EN CIENCIAS EN INGENIERÍA AMBIENTAL**

P R E S E N T A:

**I.Q. GISELA INÉS HERNÁNDEZ CONTRERAS**

**No. de Control:** 0128M1250

DIRECTORA DE TESIS:

**DRA. MARÍA DEL CONSUELO HERNÁNDEZ BERRIEL**

CODIRECTOR DE TESIS:

**DR. ISAÍAS DE LA ROSA GÓMEZ**

**METEPEC, ESTADO DE MÉXICO, NOVIEMBRE DE 2015**

SEP
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA

TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO
Instituto Tecnológico de Toluca

"2015, Año del Generalísimo José María Morelos y Pavón"

Metepec, Méx., 18/Noviembre/2015

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
E INVESTIGACIÓN

DEPI-395-1442/2015

ASUNTO: AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN DE TESIS

**C. GISELA INÉS HERNÁNDEZ CONTRERAS.**
**CANDIDATA AL GRADO DE MAESTRA EN CIENCIAS,**
**EN INGENIERÍA AMBIENTAL**
**P R E S E N T E.**

De acuerdo con el Reglamento de Titulación del Sistema Nacional de Educación Superior Tecnológica de la Subsecretaría de Educación Superior de la Secretaría de Educación Pública y habiendo cumplido con todas las indicaciones que la Comisión Revisora realizó con respecto a su Trabajo de Tesis titulado **"CARACTERIZACIÓN MICROBIANA DURANTE EL PROCESO DE DEGRADACIÓN ACELERADA DE RESIDUOS SÓLIDOS URBANOS"**, la División de Estudios de Posgrado e Investigación concede autorización para que proceda a la impresión del mismo.

Sin más por el momento, quedo de usted.

**A T E N T A M E N T E**
**"Educación, integridad y ciencia"**

SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA
TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO
INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TOLUCA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

**DRA. YESICA I. SAAVEDRA BENÍTEZ**
**JEFA DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN**

YISB/MICM

SEP
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA

TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO
Instituto Tecnológico de Toluca

"2015, Año del Generalísimo José María Morelos y Pavón"

Metepec, Méx., 13/Noviembre /2015

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
E INVESTIGACIÓN

DEPI-395-1382/2015

**DRA. YESICA I. SAAVEDRA BENÍTEZ**
**JEFA DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**
**E INVESTIGACIÓN**
**P R E S E N T E.**

Por este medio comunicamos a usted que la Comisión Revisora designada para analizar la tesis denominada **"CARACTERIZACIÓN MICROBIANA DURANTE EL PROCESO DE DEGRADACIÓN ACELERADA DE RESIDUOS SÓLIDOS URBANOS"**, que como parte de los requisitos para obtener el grado académico de Maestra en Ciencias en Ingeniería Ambiental presenta la **C. GISELA INÉS HERNÁNDEZ CONTRERAS**, con número de control 0128M1250 para sustentar el acto de Recepción Profesional, ha dictaminado que dicho trabajo reúne las características de contenido y calidad necesario para proceder a la impresión del mismo.

ATENTAMENTE

DRA. MARÍA DEL CONSUELO HERNÁNDEZ BERRIEL
DIRECTORA DE TESIS

DR. ISAÍAS DE LA ROSA GÓMEZ
CO-DIRECTOR DE TESIS

DRA. CLAUDIA ROSARIO MURO URISTA
REVISORA

DRA. LILIANA MÁRQUEZ BENAVIDES
REVISORA

DR. OTONIEL BUENROSTRO DELGADO
REVISOR

# RESUMEN

La generación de residuos sólidos urbanos (RSU) es una de las consecuencias de las actividades antropogénicas, las cuales van en aumento proporcionalmente con el crecimiento demográfico a nivel mundial, por lo que su disposición y tratamiento requiere de tecnologías para reducir los problemas de contaminación ambiental. El 74% de los RSU generados en México se dispone en rellenos sanitarios (RESA) y/o sitios controlados que cumplen con la NOM-083-SEMARNAT-2003, los cuales generan biogás y lixiviados como resultado de la biodegradación realizada por los microorganismos presentes en la matriz de RSU.

Los estudios sobre estos microorganismos son escaso, por lo que el objetivo de este trabajo fue caracterizar los microorganismos aeróbicos (Mesófilos y Hongos y levaduras) y anaeróbicos (Celulolíticas, Fermentativas, Acetoclásticas Metanogénicas y Sulfato-reductoras), durante el proceso de degradación acelerada de los RSU con recirculación de lixiviados a 40 %V/semana en biorreactores escala laboratorio aeróbicos (BLAB-A) y anaeróbicos (BLAB-AN); para ello se utilizaron técnicas analíticas de cuantificación como Cuenta en Placa y Número Más Probable (NMP). Adicionalmente, se implementó el método Filtración de Membrana (FM) para la cuantificación de microorganismos anaeróbicos.

En los BLAB-A se obtuvieron las mayores remociones de carga orgánica en lixiviados, así como de sólidos volátiles totales, materia orgánica y compuestos lignocelulósicos en los RSU. La mayor generación de biogás fue en los BLAB-AN. Las técnicas FM y NMP presentaron una correlación de 65.6%. Se caracterizaron microorganismos aerobios, facultativos y anaerobios en RSU y lixiviados, en las diferentes fases de la biodegradación, encontrando como predominantes bacilos Gram (-), levaduras Gram (+), *Clostridium, Plectridium*, *Methanosaetas* y *Methanobacterium*.

## ABSTRACT

The Municipal Solid Wastes (MSW) generation is one consequence of the anthropogenic activities which are increasing proportionally with the global population rate, so their treatment and disposal require technologies to reduce pollution problems. The 74% of the MWS generated in Mexico are disposed on landfills or controlled sites that comply with the NOM-083-SEMARNAT-2003. These MSW generate biogas and leachate as result of biodegradation made by the microorganisms.

The objective of this work was characterize the aerobic microorganism (Mesophilic and Fungi and Yeast) and anaerobic (Cellulolytics, Fermentatives, Acetoclastics Methanogenics and Sulfate reducers). This during the accelerated degradation of the MSW with leachate recirculation to 40%V once a week in laboratory scale bioreactors aerobic (LSB-A) and anaerobic (LSB-AN). Above mentioned by the use of quantification analytic technics as Count Direct and Most Probable Number (MPN). Additionally, the Membrane Filtration Method (MFM) for quantification of the anaerobic microorganisms is implemented.

In LBS-A the highest removal of organic load in leachate, as in total volatile solids, organic matter and lignocellulosic compounds in the MSW treated were obtained. The largest generation of biogas was in the LSB-AN. The techniques NMP and MFM presented 65.6 % of correlation. Aerobes, Facultative and Anaerobes microorganisms were characterized at different stages of biodegradation of MSW, finding as predominant to bacilli Gram (-), yeasts Gram (+), *Clostridium, Plectridium, Methanobacterium* and *Methanosaetas*.

# ÍNDICE

**Pág.**

ÍNDICE ..... I
ÍNDICE DE FIGURAS ..... III
ÍNDICE DE TABLAS ..... V
INTRODUCCIÓN ..... 1
1. FUNDAMENTOS ..... 3
1.1 LOS RESIDUOS SÓLIDOS URBANOS ..... 3
1.1.1 Generación de los RSU ..... 6
1.1.2 Composición y características de los RSU ..... 9
1.1.3 Gestión de los RSU ..... 13
1.2 DEGRADACIÓN DE LOS RESIDUOS SÓLIDOS URBANOS ..... 18
1.2.1 Productos de la degradación de los RSU ..... 19
1.2.2 Fases de la degradación de los RSU ..... 23
1.3 MICROBIOLOGÍA DE LOS RESIDUOS SÓLIDOS URBANOS ..... 26
1.3.1 Tipos de microorganismos biodegradadores de RSU ..... 26
1.3.2 Caracterización de microorganismos degradadores de RSU ..... 29
1.3.3 Degradación biológica de los RSU ..... 34
1.4 DEGRADACIÓN ACELERADA DE RESIDUOS Y CASOS DE ESTUDIO. 39
2. PARTE EXPERIMENTAL ..... 52
2.1 MUESTREO Y CARACTERIZACIÓN ..... 53
2.1.1 Residuos Sólidos Urbanos ..... 53
2.1.2 Lixiviados ..... 55
2.2 PUESTA A PUNTO DE EQUIPOS ..... 55
2.2.1 Biorreactores escala laboratorio ..... 56
2.2.2 Cromatógrafo de Gases ..... 59
2.2.3 Cámara Anaeróbica ..... 60
2.3 MONTADO DE BIORREACTORES Y PUESTA EN MARCHA ..... 60
2.4 SEGUIMIENTO DE LA OPERACIÓN Y DESMONTADO PERIÓDICO ..... 61
2.5 CARACTERIZACIÓN DE MICROORGANISMOS ..... 63

**Pág.**

2.5.1 Preparación de medios de cultivo ..... 64
2.5.2 Cuantificación de Microorganismos ..... 66
2.5.3 Caracterización e identificación de microorganismos ..... 69
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... 70
3.1 MUESTREO Y CARACTERIZACIÓN ..... 70
3.1.1 Residuos sólidos urbanos ..... 71
3.1.2 Lixiviados ..... 75
3.2 SEGUIMIENTO DE LA OPERACIÓN Y DESMONTADO PERIÓDICO ..... 76
3.2.1 Lixiviados recirculados y drenados ..... 77
3.2.2 Producción de biogás ..... 84
3.2.3 Degradación de RSU ..... 91
3.3 CUANTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS ..... 97
3.3.1 Microorganismos aerobios ..... 97
3.3.2 Microorganismos anaerobios. ..... 100
3.4 CARACTERIZACIÓN DE MICROORGANISMOS..... 108
3.4.1 Caracterización Macroscópica. ..... 108
3.4.2 Caracterización Microscópica. ..... 109
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES ..... 116
FUENTES CONSULTADAS..... 119
ANEXO A. CARACTERIZACIÓN DE RSU..... 127
ANEXO B. PUESTA A PUNTO DE EQUIPOS ..... 130
ANEXO C. CARACTERIZACIÓN DE MICROORGANISMOS..... 140
ANEXO D. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS..... 150
ANEXO E. PLUBLICACIONES ..... 155

## ÍNDICE DE FIGURAS

**Pág.**


Figura 1.1 Óleo representativo de la plaga bubónica en Europa..... 4
Figura 1.2 Generación mundial de RSU en kg /hab*año, en el 2011 ..... 7
Figura 1.3 Generación de RSU Total y per cápita en México del 2003 al 2012 ... 7
Figura 1.4 Generación de RSU por zonas geográficas ..... 8
Figura 1.5 Composición porcentual de subproductos de los RSU en el 2012.....10
Figura 1.6 Disposición final o eliminación de RSU en el mundo .....14
Figura 1.7 Esquema general del MIRSU en México.....15
Figura 1.8 Evolución de la disposición final en México de 2003 a 2012.....18
Figura 1.9 Fases generales de la generación de biogás y lixiviados de RSU .....23
Figura 1.10 Formas celulares representativas .....34
Figura 1.11 Diagrama sistemático de la biodegradación aeróbica y anaeróbica...35
Figura 1.12 Sistema semi-aeróbico (Método Fukuoka).....44
Figura 2.1 Diagrama de flujo del experimento..... 52
Figura 2.2 Esquema y componentes del BLAB-AN.....57
Figura 2.3 Esquema y adecuación del BLAB-A.....57
Figura 2.4 Instalado de BLAB con sistemas de biogás y lixiviado.....58
Figura 2.5 Cromatógrafo de gases TRACE GC Ultra.....59
Figura 3.1 Ubicación y municipios que disponen en el RESA de Zinacantepec 70
Figura 3.2 Toma de muestra .....71
Figura 3.3 Montículo de RSU para cuarteo .....71
Figura 3.4 Peso volumétrico.....71
Figura 3.5 Separación manual .....71
Figura 3.6 Pesado de subproductos.....71
Figura 3.7 Paquetes individuales .....71
Figura 3.8 Tanque con muestra de lixiviados .....76
Figura 3.9 Fosa dos de lixiviados del RESA.....76
Figura 3.10 BLAB para inicio de operación .....77
Figura 3.11 Lixiviados drenados.....78

**Pág.**

Figura 3.12 Dinámicas de pH en lixiviados .....79
Figura 3.13 Dinámicas de temperatura en lixiviados.....80
Figura 3.14 Dinámicas de CE en lixiviados .....81
Figura 3.15 Dinámicas de DQO en lixiviados.....82
Figura 3.16 Dinámicas de ST en lixiviados .....83
Figura 3.17 Dinámicas de SVT en lixiviados .....84
Figura 3.18 Producción de acumulada de Biogás. .....85
Figura 3.19 Concentración de $CH_4$ en biogás .....87
Figura 3.20 Producción acumulada de $CH_4$ .....88
Figura 3.21 Concentración de $CO_2$ en biogás.....90
Figura 3.22 Producción acumulada de $CO_2$ .....90
Figura 3.23 Dinámicas de pH en RSU .....92
Figura 3.24 Dinámicas de %Humedad de los RSU.....93
Figura 3.25 Dinámicas de % SVT Removidos.....94
Figura 3.26 Dinámicas de % MO removida.....94
Figura 3.27 Dinámicas de bacterias aeróbicas mesófilas .....98
Figura 3.28 Dinámicas de hongos y levaduras.....99
Figura 3.29 Dinámicas de bacterias celulolíticas.....101
Figura 3.30 Dinámicas de bacterias fermentativas.....104
Figura 3.31 Dinámicas de bacterias acetoclásticas metanogénicas .....105
Figura 3.32 Dinámica de bacterias sulfato-reductoras .....107
Figura 3.33 Identificación macroscópica de UFC.....108
Figura 3.34 Microorganismos del Lixiviados inicial.....110
Figura 3.35 Microorganismos aeróbicos en los lixiviados.. .....111
Figura 3.36 Microorganismos aeróbicos en los RSUd-A.....111
Figura 3.37 Microorganismos anaeróbicos en los Lixiviados .....112
Figura 3.38 Microorganismos anaeróbicos en los RSUd .....113
Figura 3.39 Microorganismos anaeróbicos en Lixiviados.....114
Figura 3.40 Microorganismos anaeróbicos en los RSUd .....115

## ÍNDICE DE TABLAS

**Pág.**


Tabla 1.1 Proyección de la generación de RSU (2010-2020) ..... 8
Tabla 1.2 Generación en México de RSU por subproducto ..... 9
Tabla 1.3 Propiedades físicas de los RSU .....10
Tabla 1.4 Propiedades químicas de los RSU .....12
Tabla 1.5 Propiedades biológicas de los RSU .....13
Tabla 1.6 Tipos de RESA según operación y diseño .....16
Tabla 1.7 Composición química del lixiviado.....21
Tabla 1.8 Composición y características del biogás.....22
Tabla 1.9 Clase de bacteria según el requerimiento de $O_2$. .....27
Tabla 1.10 Clase de bacteria según el requerimiento de temperatura. .....28
Tabla 1.11 Nutrientes requeridos por los microorganismos .....30
Tabla 1.12 Técnicas analíticas aplicadas al monitoreo de microorganismos en RESA para el tratamiento de RSU .....31
Tabla 1.13 Microorganismos en una muestra de RSU de RESA-biorreactor. .....50
Tabla 2.1 Parámetros para muestras de RSU.....54
Tabla 2.2 Parámetros fisicoquímicos para lixiviados.....55
Tabla 2.3 Programa de operación y desmontado de BLAB .....62
Tabla 2.4 Soluciones base para medios de cultivo anaeróbico.....65
Tabla 2.5 Cantidad de soluciones y reactivos para medios de cultivo .....66
Tabla 2.6 Materiales y equipo de seguridad para cultivos anaerobios .....67
Tabla 2.7 Criterios de selección de tubos (+) para NMP .....69
Tabla 3.1 Composición de RSU en el RESA de 2012-2014.....72
Tabla 3.2 Subproductos de los RSU cargados en cada BLAB.....74
Tabla 3.3 Caracterización fisicoquímica de los RSU iniciales .....75
Tabla 3.4 Caracterización fisicoquímica inicial del lixiviado .....76
Tabla 3.5 Reportes de producción de $CH_4$ en estudios anaerobios.....88
Tabla 3.6 Parámetros de biodegradación de RSU con recirculación .....96
Tabla 3.7 Caracterización macroscópica .....108

# INTRODUCCIÓN

Como resultado de las actividades que desarrolla el hombre, diariamente se generan en promedio 1.45 kg de residuos sólidos urbanos (RSU) por habitante en el mundo (OCDE, 2014), procedentes de casas habitación, establecimientos o de la vía pública (LGPGIR, 2015), los cuales aumentan proporcionalmente con la tasa de urbanización y los patrones de consumo (EPA, 2014). En México el 74% de los RSU son depositados en rellenos sanitarios (RESA) o sitios controlados que cumplen total o parcialmente con la NOM-083-SEMARNAT-2003 (SEMARNAT, 2014a).

Dentro de las celdas de los RESA diferentes consorcios de microorganismos degradan los RSU produciendo lixiviados y biogás (Tchobanoglous *et al*., 1994) y esta degradación puede continuar por más de 20 años hasta que se estabiliza (Reinhart *et al.*, 2002), por lo que se han realizado diversas investigaciones para acelerar el proceso de degradación como la recirculación de lixiviados (Chugh *et al.*, 1998; Sponza & Ağdağ, 2004) en combinación con la aireación (Erses *et al.*, 2008; Sinan *et al.,* 2006), sin embargo el estudio microbiológico de los RSU aún es limitado (Barlaz *et al.*, 1989; Sang *et al.*, 2012).

Debido a lo anterior el objetivo de este trabajo fue caracterizar los microorganismos aeróbicos (Mesófilos y Hongos y levaduras) y anaeróbicos (Celulolíticas, Fermentativas, Acetoclásticas Metanogénicas y Sulfato-reductoras) (Barlaz *et al.*, 1989; Márquez-Benavides, 2004), durante el proceso de degradación acelerada de los RSU con recirculación de lixiviados a 40 porciento el volumen de los RSU (%V) una vez a la semana en biorreactores escala laboratorio aeróbicos (BLAB-A) y anaeróbicos (BLAB-AN) (Hernández-Berriel, 2010; Olay-Romero, 2014). Para la caracterización se cuantificaron e identificaron macro y microscópicamente dichos microorganismos. En la cuantificación se utilizaron las técnicas de Cuenta en Placa y

Número Más Probable (NMP) por ser económicos y los más empleados; y además se propuso el uso del método de Filtración por Membrana (FM) como una técnica alterna para los microorganismos anaeróbicos, debido a que no existe estudio alguno que haya realizado cuantificaciones en RSU y lixiviados. Esta investigación pretende contribuir con información de lo que ocurre internamente en el RESA a nivel microscópico y coadyuvar a la toma de decisiones en la implementación del tratamiento con recirculación de lixiviados en ambientes anaeróbico y aeróbico.

El presente trabajo consta de tres apartados, el primero proporciona información de los RSU como datos de generación en el mundo y en México, así como su composición, gestión y fases de degradación de los RSU, el estudio del arte en materia de degradación acelerada con recirculación de lixiviados, aireación y análisis microorganismos en los RESA.

El segundo apartado describe cada una de las actividades realizadas en la parte experimental de la investigación, incluyendo la adecuación de equipos, preparación de medios, técnicas, pruebas preliminares y consideraciones a guardar durante las mismas. Posteriormente como apartado tres, se presentan los resultados obtenidos en cuanto a muestreo y caracterización de los RSU y lixiviados, así como el seguimiento a la operación de los BLAB y caracterización fisicoquímica y/o microbiológica de lixiviados, biogás y RSU degradados. Por último se presentan conclusiones, recomendaciones y anexos.

# 1. FUNDAMENTOS

Calentamiento global, cambio climático, gases efecto invernadero (GEI), alteración del equilibrio ecológico, contaminación de los recursos, escases de agua, entre otros; son problemas que se hacen cada vez más constantes, siendo de interés para los gobiernos de los países y de la sociedad, los cuales han ido aumentando a través del tiempo, debido principalmente al crecimiento de la población a nivel mundial ya que sus actividades modifican poco a poco el entorno en el que se desarrollan, así como al crecimiento tecnológico el cual ha generado materia que al incorporarse a los ecosistemas, modifican su composición y funcionamiento. La Ley General de Equilibrio Ecológico y Protección al Ambiente (LGEEPA) denomina a esta materia como contaminante (LGEEPA, 2015).

## 1.1 LOS RESIDUOS SÓLIDOS URBANOS

Los contaminantes del tipo residuos sólidos son definidos por la LGEEPA como material generado en los procesos de extracción, beneficio, transformación, producción, consumo, utilización, control o tratamiento cuya calidad no permita usarlo nuevamente en el proceso que lo generó. Existen diferentes tipos de residuos sólidos y en función de sus características y origen, se clasifican en tres grandes grupos: Residuos Peligrosos (RP), Residuos de Manejo Especial (RME) y Residuos Sólidos Urbanos (RSU) (LGEEPA, 2015; LGPGIR, 2015).

Cada tipo de residuos requiere estrategias y metodologías específicas para su uso y desuso, sin embargo los del tipo RSU han ido en aumento, desde la aparición del hombre en la tierra hasta la actualidad, por lo que se consideraran objeto de estudio del presente trabajo, ya que diariamente cada habitante del mundo de manera intrínseca, directa o indirectamente los genera, en sus casas habitación, que resultan

de la eliminación de los materiales que utilizan en sus actividades domésticas, de los productos que consumen y de sus envases, embalajes o empaques; los residuos que provienen de cualquier otra actividad dentro de establecimientos o en vía pública que genera residuos con características domiciliarias, y los resultantes de la limpieza de las vías y lugares públicos, siempre que no sean considerados por la Ley como residuos de otra índole (LGPGIR, 2015).

Fuente: National Geographic, 2015

Figura 1.1 Óleo representativo de la plaga bubónica en Europa

Dichos RSU antes de la revolución industrial no eran un problema significativo, ya que la población que los generaba era pequeña y la composición era mayormente orgánica por lo que se reincorporaba fácilmente a la biosfera, éstos comenzaron a ser un problema a mediados del siglo XIV en la edad media, debido a que se arrojaban a las calles y a terrenos vacíos sin control, lo que provocó la proliferación de moscas, ratas y sus insectos asociados, agentes transmisores de una *zoonosis* (enfermedad que pasa de los animales a los seres humanos) conocida como plaga bubónica y/o la muerte negra (Figura 1.1), dicha plaga mató a la mitad de la población de europeos por ello se le considera como la epidemia más mortífera (National Geographic, 2015; Tchobanoglous *et al.*, 1994).

En la actualidad el problema no solo radica en las grandes cantidades de residuos que se generan, sino también en el cambio en su composición ya que los elementos son de lenta degradación, lo cual ha superado la capacidad de la biosfera para reintegrarlos nuevamente, aunado a que sí el tratamiento y/o la disposición son inadecuados, se puede provocar un impacto ambiental negativo y económico como los que a continuación se describen (OCDE, 2014; Robles-Martínez, 2008):

a) La calidad del agua y del suelo, ya que los lixiviados provenientes de la descomposición de los RSU, llegan a infiltrarse en el suelo y/o subsuelo, o logran alcanzar fuentes superficiales y subterráneas de agua susceptible a ser utilizada por el hombre para su consumo.

b) La calidad del aire, principalmente por la producción de biogás que está compuesto básicamente por dióxido de carbono ($CO_2$) y metano ($CH_4$), los cuales son GEI, o cuando son incinerados con la producción de humos y cenizas, así como la detección de olores putrefactos.

c) La calidad del paisaje, cuando éstos son desechados en la vía pública, así como en los terrenos aledaños a un sitio de disposición, generando fauna nociva, que ocasiona problemas de salud y seguridad.

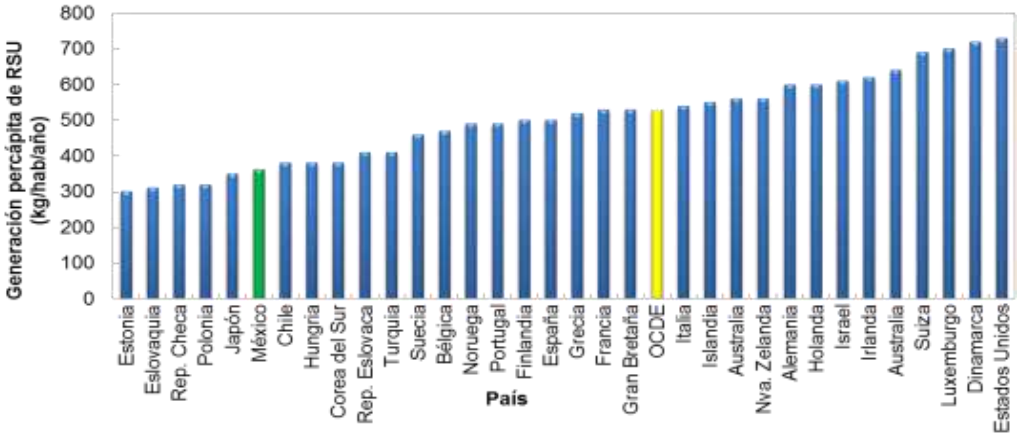
d) Y económica, ya que su gestión y tratamiento a menudo absorbe más de un tercio de los recursos financieros del sector público para reducir y controlar la contaminación.

### 1.1.1 Generación de los RSU

La cantidad de RSU generados en un país se relaciona con la tasa de urbanización, los tipos y los patrones de consumo, los ingresos de los hogares y estilos de vida, por lo que las autoridades competentes han establecido estrategias de prevención, control y/o remediación, sin embargo éstas no han sido del todo suficientes, debido a que la cantidad y las características de los RSU generado es cada vez más diverso, por lo que el problema ambiental persiste.

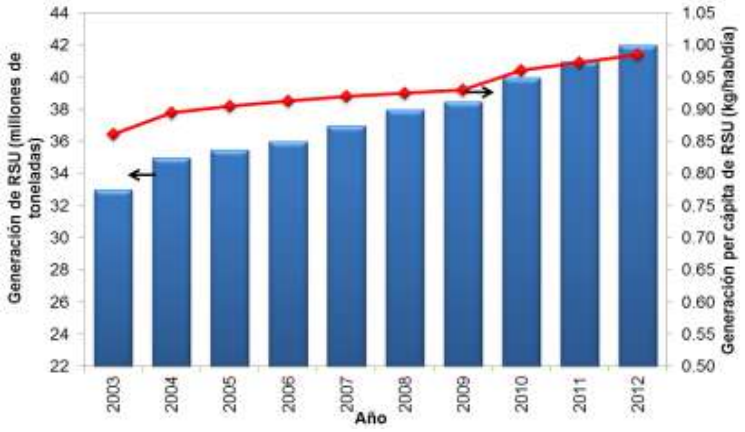
La Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE) indica que en el 2011, la generación mundial de RSU promedio correspondió a 530 kg/hab*año, 19% más que en 1990, pero 7% menos que en el 2002, ya que a nivel mundial los países de la OCDE han implementado mecanismos para separar RSU antes de ser depositados en los sitios de disposición final, reintegrándolos a la economía mediante el reciclaje y/o compostaje. Las estimaciones indican que la generación de estos residuos varía mucho entre países y que los mayores generadores son: Estados Unidos, Dinamarca, Luxemburgo y Suiza como se observa en la figura 1.2 (OCDE, 2014).

La Secretaria del Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT), indica que la generación de RSU en México para el año 2012, fue de 42.103 millones de toneladas (Mt) y 361.4 kg/hab*año es decir 0.99 kg/hab*día, generación 32% menor al promedio de la OCDE (530 kg/hab*año). En la figura 1.3 se muestra datos desde el 2003, donde se observa un aumento del 35% en la generación de RSU en un periodo de 10 años. El estado de México es la entidad que más contribuyó en el volumen de RSU con 6.8 Mt (16% del total nacional), seguido del Distrito Federal con 4.9 Mt (12%).




Fuente: Adaptado de OCDE, 2014

Figura 1.2 Generación mundial de RSU en kg /hab*año, en el 2011




Fuente: Adaptado de SEMARNAT, 2014a

Figura 1.3 Generación de RSU Total y per cápita en México del 2003 al 2012

La generación de RSU está relacionada con los factores demográficos, los patrones de consumo y los económicos (estilos de vida) que se mencionan a continuación (SEMARNAT, 2014a):

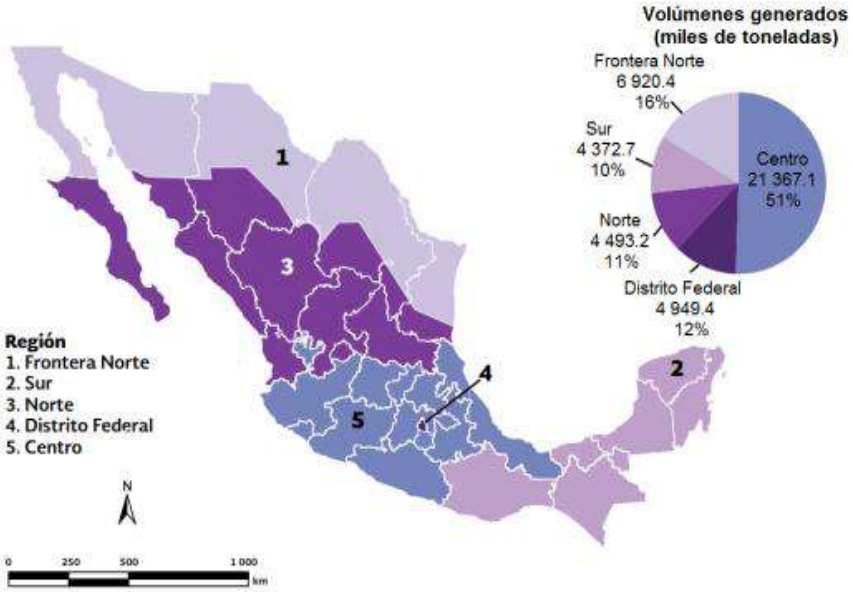
a) Demográfico. El aumento en el número de habitantes propicia que la generación de RSU se incremente, como se puede observar en la tabla 1.1 donde en el 2010, 112 millones de habitantes generaron 39 Mt, dichas cifras a la fecha han ascendido proporcionalmente, por lo que se proyecta que para el 2020 la generación de RSU aumente un 7.7%.

Tabla 1.1 Proyección de la generación de RSU (2010-2020)

| Año | Millones de habitantes | Generación de RSU | | |
|---|---|---|---|---|
| | | kg/hab*día | mt/día | Mt/año |
| **2010** | 112 | 0.96 | 107 | 39 |
| **2015** | 116 | 1.01 | 118 | 42 |
| **2020** | 120 | 1.06 | 128 | 47 |

mt (miles de toneladas) y Mt (Millones de toneladas)
Fuente: SEMARNAT-INE, 2006

b) Zona geográfica y económica. La urbanización es un proceso que se deriva del desarrollo tecnológico y económico, es por ello exista una diferencia en la generación de RSU entre la población que vive en ciudades urbanas y en zonas rurales. Lo anterior es claramente identificable en la figura 1.4, donde la región Centro contribuyó con el 51%, seguido por la región Frontera Norte (16%) y Distrito Federal (12%).




Fuente: Adaptado de SEMARNAT, 2014a
Figura 1.4 Generación de RSU por zonas geográficas

c) Cultural. Éste se deriva de los hábitos de consumo según tradiciones y de la conciencia social de cada individuo, respecto al ambiente.

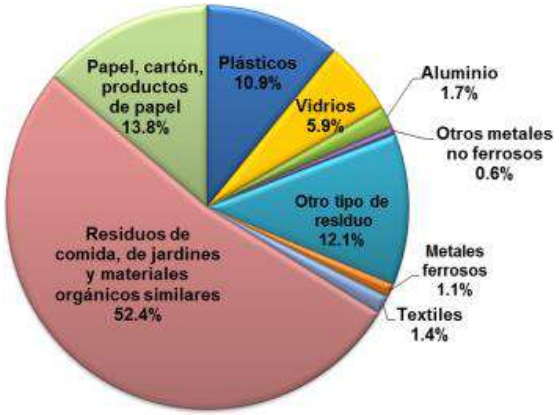
### 1.1.2 Composición y características de los RSU

Los RSU son diferentes entre; países, estados, municipios, localidades, años y épocas de año, por lo que resulta complejo homologar los elementos que los componen, debido a la diversidad de los subproductos y a los factores que se mencionaron anteriormente. Lo anterior se puede observar en la tabla 1.2 que muestra la generación en México de RSU y sus subproductos en los años 2004 y 2012, donde por ejemplo el subproducto de plástico cambió considerablemente en su composición aumentando un 84% del año 2007 al 2008. En la figura 1.5 se muestra la composición porcentual de los RSU en el año 2012, donde los residuos orgánicos (Residuos de comida, de jardines y materiales orgánicos similares) representan el mayor porcentaje (52.4%) en promedio nacional, seguidos del papel y cartón (13.8%).

Tabla 1.2 Generación en México de RSU por subproducto

| RSU (mt) | 2004 | 2005 | 2006 | 2007 | 2008 | 2009 | 2010 | 2011 | 2012 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Cartón, papel, productos de papel** | 5 160 | 5 275 | 5 338 | 5 489 | 5 199 | 5 300 | 5 401 | 5 679 | 5 823 |
| **Textiles** | 520 | 530 | 542 | 552 | 538 | 548 | 558 | 587 | 602 |
| **Plásticos** | 2 116 | 2 162 | 2 208 | 2 223 | 4 094 | 4 173 | 4 253 | 4 472 | 4 585 |
| **Vidrios** | 2 210 | 2 262 | 2 309 | 2 341 | 2 211 | 2 253 | 2 296 | 2 415 | 2476 |
| **Metales** | 1 160 | 1 186 | 1 210 | 1 298 | 1 293 | 1 318 | 1 377 | 1 413 | 1 448 |
| **Comida, jardines y orgánicos similares** | 17 441 | 17 968 | 18 335 | 18 576 | 19 707 | 20 090 | 20 472 | 21 595 | 22 070 |
| **Otro tipo (Finos, pañales, etc.)** | 5 996 | 6 022 | 6 143 | 6 386 | 4 553 | 4 641 | 4 729 | 4 973 | 5 099 |
| **Total** | 34 603 | 35 405 | 36 135 | 36 865 | 37 595 | 38 325 | 39 055 | 41 063 | 42 103 |

mt (miles de toneladas)
Fuente: Adaptado de SEMARNAT, 2014a




Fuente: Adaptado de SEMARNAT, 2014a

Figura 1.5 Composición porcentual de los subproductos de los RSU en el 2012

Los RSU poseen características físicas, químicas y biológicas tales como; si son inertes, fermentables, solubles, volátiles, flamables, compostables, etc., las cuales son importantes para efectuar un planteamiento, diseño y desarrollo de un sistema de gestión, así como establecer metodologías para su tratamiento. Estas propiedades se describen en las tablas 1.3, 1.4 y 1.5 (Orta de Vázquez *et al.*, 2003; SEMARNAT, 2014b; Tchobanoglous *et al.*, 1994):

Tabla 1.3 Propiedades físicas de los RSU

| PROPIEDAD | DESCRIPCIÓN | FORMULA |
|---|---|---|
| **Temperatura** [b] | Es la medida del grado calorífico en los RSU y tiene que ver con la velocidad de la degradación. Esta propiedad carece de norma en RSU para su medición por lo que usa la NMX-AA-007-SCFI- 2013, con medición directa (Ec. 1.1). | $T = \frac{T1+T2+T3}{3}$ (Ec. 1.1)<br>$T$ =Temperatua<br>$T1, T2\ y\ T3$ =Temperatura replicas 1,2 y 3. |
| **Potencial de Hidrógeno** [b] **(pH)** | Se basa en la NMX-AA-013-SCFI-2006, es la actividad de los iones hidrógeno presentes en una solución acuosa. Indica si un RSU es ácido o básico. El pH es alterado por procesos de formación de amonio y $CO_2$. | $pH = \frac{pH1+pH2+pH3}{3}$ (Ec. 1.2)<br>$pH$ =Potencial de Hidrogeno<br>$pH1, pH2\ y\ pH3$ = replicas 1,2 y 3. |

Fuente: [a]Orta de Vázquez *et al.*, 2003; [b]SEMARNAT, 2014b; [c]Tchobanoglous *et al.*, 1994.

Tabla 1.3 Propiedades físicas de los RSU (continuación)

| PROPIEDAD | DESCRIPCIÓN | FORMULA |
|---|---|---|
| **Peso volumétrico *in situ*** [b] | La MNX-AA-019-1985 indica que es el peso de los RSU por unidad de volumen (Ec. 1.3). Valor que se ocupa para dimensionar los recipientes y equipos de almacenamiento, recolección y capacidad de los Rellenos Sanitarios (RESA). | $Pv = \frac{P}{V}$ (Ec. 1.3)<br>$Pv$ =Peso volumétrico del RSU (kg/m$^3$)<br>$P$ =Peso del RSU (kg)<br>$V$ =Volumen (m$^3$) |
| **Tamaño de partícula y distribución de tamaño** [c] | Esta propiedad se considera para la recuperación de materiales especialmente con medios mecánicos como cribas, tromel y separadores magnéticos, bidimensionales (Ec. 1.4) y tridimensionales (Ec. 1.5). | $S_c = (l - w)^{1/2}$ (Ec. 1.4)<br>$Sc = (l \cdot w \cdot h)^{1/3}$ (Ec. 1.5)<br>$S_c$ =Tamaño del componente (mm)<br>$l$ =Largo (mm)<br>$w$ =Ancho (mm)<br>$h$ =Altura (mm) |
| **Capacidad de campo** [a; c] | Es la cantidad total de humedad que puede ser retenida por una muestra de RSU (Ec. 1.6) sometida a la acción de la gravedad, Dato necesario para determinar la formación de lixiviados. | $Cc = \frac{\left(\frac{H*Pv*V}{100}\right)+(Si-Di)*\partial}{\left[Pv*V*\left(1-\frac{H}{100}\right)\right]}$ (Ec. 1.6)<br>$Cc$ =Capacidad de campo<br>$H$ =% de humedad<br>$Si$ =Agua introducida (L)<br>$Di$ =Agua drenada (L)<br>$\partial$ =Densidad de agua (kg/L)<br>$Pv$ $y$ $V$ de la Ec. 1.3 |
| **Contenido de humedad** [b] | La NMX-AA-16-1984 que determina el % de humedad, de los RSU es la pérdida de peso a 60°C por 2h. (Ec. 1.7). Algunos autores reportan 50ºC durante 12 h. Aporta datos para la cantidad de lixiviados, y biogás. | $H = \left(\frac{G-G1}{G}\right) * 100$ (Ec. 1.7)<br>$H$ =Humedad en %<br>$G$ =Peso inicial de muestra húmeda (g)<br>$G1$ =Peso de muestra seca (g) |
| **Permeabilidad de los residuos compactados** [c] | Esta propiedad gobierna el movimiento de líquidos y gases dentro de un relleno (Ec. 1.8 y 1.9). Los valores típicos de $k$ de los RSU compactados en un RESA se encuentran dentro de la gama $10^{-11}$ y $10^{-11}$ m$^2$ en la dirección vertical y unos $10^{-10}$ m$^2$ en la dirección horizontal.<br>El término $Cd^2$ se conoce como k, la cual depende solamente de las propiedades del material sólido, incluyendo la distribución de los tamaños de poro, la complejidad, la superficie específica y la porosidad. | $K = Cd^2 \frac{\gamma}{\mu}$ (Ec. 1.8)<br>$K = k \frac{\gamma}{\mu}$ (Ec. 1.9)<br>$K$ =Coeficiente de permeabilidad.<br>$C$ =Constante adimensional<br>$d$ =Tamaño medio de los poros.<br>$\gamma$ = Peso específico del agua.<br>$\mu$ = Viscosidad dinámica del agua.<br>$k$ = impermeabilidad intrínseca |

Fuente: [a]Orta de Vázquez *et al.*, 2003; [b]SEMARNAT, 2014b; [c]Tchobanoglous *et al.*, 1994.

Tabla 1.4 Propiedades químicas de los RSU

| PROPIEDAD | DESCRIPCIÓN | FORMULA |
|---|---|---|
| **Sólidos volátiles totales (SVT)**[a] | Se establece con la NMX-AA-018-1984 Este análisis determina el contenido de ceniza y SVT que resulta de la incineración de la muestra a 800°C por una hora en un crisol (Ec.1.9). Los SVT frecuentemente se utilizan como una medida de biodegradabilidad de la FO de los RSU. | $C = \left(\frac{G3-G1}{G2-G1}\right) * 100$ (Ec. 1.10)<br>$C$ =% de ceniza en base seca.<br>$G1$ = Peso del crisol<br>$G2$ =Peso del crisol más muestra seca<br>$G3$ =Peso del crisol más muestra calcinada |
| **Análisis elemental de los componentes de los RSU** [b] | Este análisis implica la determinación de % de carbono (C), Hidrogeno ($H_2$), Oxígeno ($O_2$), Nitrógeno ($N_2$) y Azufre (S). Este análisis se utiliza para caracterizar la composición química de la materia orgánica en los RSU, además para conseguir la relación C/N para los procesos de conversión biológica. | No Aplica |
| **Nutrientes eséncials y otros elementos** [b] | Esta determinación permite tener información respecto a los sustratos presentes en los RSU, ya que son esenciales para la actividad microbiológica. A fin de conocer los productos que se pueden obtener como el $CH_4$, *compost*, Ácidos grasos volátiles (AGV), entre otros. | No Aplica |
| **Contenido energético de los componentes de los RSU** [b] | Es decir el potencial calorífico que es la cantidad de calor que puede entregar un cuerpo. Propiedad importante para evaluar la viabilidad de la incineración y el aprovechamiento energético. Se calcula con Calorímetro (caldera o bomba) (Ec. 1.11) o con formula de Dulong (Ec. 1.12), si se conoce el análisis elemental. | $C_E = resd * \left(\frac{100}{100-H}\right)$ (Ec. 1.11)<br>$C_E = [145C + 610\left(H_2 - \frac{1}{8}O_2\right) + + 405 + 10N] * 2.3261$ (Ec. 1.12)<br>$C_E$ =Contenido Energético (KJ/kg)<br>$resd$ =Residuos desechados<br>$H$ =% Humedad |

Fuente: [a]SEMARNAT, 2014b; [b]Tchobanoglous *et al.*, 1994.

Tabla 1.5 Propiedades biológicas de los RSU

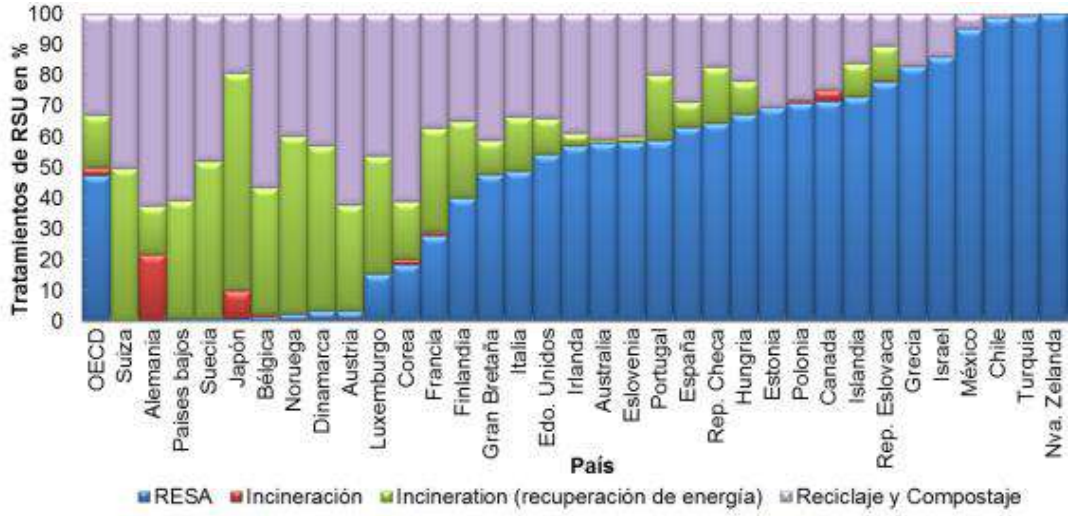
| PROPIEDAD | DESCRIPCIÓN | FORMULA |
|---|---|---|
| **Fracción orgánica (FO)** | Casi todos los componentes orgánicos excepto el plástico, goma y cuero puede convertirse en gases y sólidos orgánicos e inorgánicos relativamente inertes, compuestos de azucares, aminoácidos, AGV, hemicelulosa, celulosa, lípidos, alcoholes, lignina, lignocelulosa y proteínas. (Ec. 1.13). | $FO = a + b + c + d + e$ (Ec. 1.13)<br>$a$ = Residuos de comida<br>$b$ = Papel<br>$c$ = Cartón<br>$d$ = Residuos de jardín<br>$e$ = Madera |
| **Biodegra-dabilidad** | Algunos de los constituyentes orgánicos son altamente volátiles pero bajos en biodegradabilidad, por lo que el uso de SV como factor de biodegradabilidad es erróneo, debido a lo anterior se usa el contenido de lignina de un residuo para estimar la fracción biodegradable (Ec. 1.14) | $\mathrm{BF} = 0.83 - 0.028\mathrm{LC}$ (Ec. 1.14)<br>BF =Fracción biodegradable expresada en base a los SV.<br>LC =Contenido de lignina de los SV expresado como un % de peso seco. |

Fuente: Tchobanoglous *et al.*, 1994.

### 1.1.3 Gestión de los RSU

La gestión integral de los residuos (GIRS) se define como un conjunto articulado e interrelacionado de acciones normativas, operativas, financieras, de planeación, administrativas, sociales, educativas, de monitoreo, supervisión y evaluación, para el manejo de los residuos, desde su generación hasta la disposición final, a fin de lograr beneficios ambientales, la optimización económica de su manejo y aceptación social, respondiendo a las necesidades y circunstancias de cada localidad o región (LGPGIR, 2015). La GIRS está integrada por una parte técnica denominada manejo integral de los RSU (MIRSU) que comprende barrido, recolección, almacenamiento, transferencia, transporte, tratamiento, hasta la disposición final de los RSU y otra parte no técnica que contempla las cuestiones de planeación y programación, financieras, sociales, legales, administrativas, políticas y de educación ambiental (SEMARNAT-INECC, 2012; Tchobanoglous *et al.*, 1994).

Cada país ha implementado diferentes acciones en su GIRS para hacer frente a la problemática de generación, así como a la disposición final o eliminación de RSU, dando como resultado lo que se muestra en la figura 1.6, donde en promedio mundial el 48% de los RSU se dispone en RESA, el 33% se recicla y *compostea* y el 19% se incinera. No obstante países como Alemania, Austria, Corea y los Países bajos reciclan y hacen *compost* de más del 60% de sus RSU, mientras que en Japón el 71% son incinerados y la generación de calor y vapor es aprovechada como fuente de energía alternativa, el 19% es reciclado, el 9% es incinerado sin aprovechamiento y solo el 1% es dispuesto en RESA. Por otro lado en México el método más utilizado para el tratamientos de los RSU es la disposición en RESA siendo del 95% (OCDE, 2014).

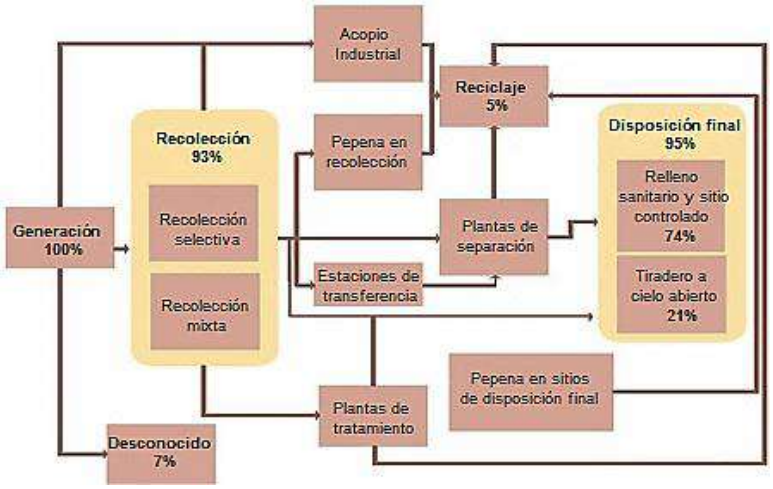



Fuente: Adaptado de OCDE, 2014

Figura 1.6 Disposición final o eliminación de RSU en el mundo

Las anteriores diferencias son debidas principalmente a las acciones que se establecen en la GIRS de cada país, ya que por ejemplo, España divide su gestión en cuatro subsistemas: Recogida y transporte, Recuperación y reciclaje de materiales, Valorización energética y Eliminación (RESA, incineración y compostaje). Realiza una recogida selectiva para la recuperación y reciclaje, así como la

valorización de los RSU para la incineración o compostaje como aprovechamiento de energía (Munizaga J. & Lobo A., 2013). Mientras que en México la SEMARNAT en conjunto con el Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático (INECC) muestra un esquema general de la GIRS en la figura 1.7, donde del 100% de los RSU generados el 93% es recogido por el sistema municipal, de los cuales el 11% es recogida selectiva provenientes mayormente de los estados de Querétaro, Jalisco y Nuevo León. El 95% de los RSU recolectados son dispuestos en RESA, sitios controlados y en tiraderos a cielo abierto y solo el 5% es separado principalmente por segregadores primarios (pepenadores) en la recolección y en los sitios de disposición final (SEMARNAT-INECC, 2012).




Fuente: Adaptado de SEMARNAT-INECC, 2012

Figura 1.7 Esquema general del MIRSU en México

La disposición final de los RSU, en términos de la Ley se define como la acción de depositar o confinar permanentemente residuos en sitios (habilitados total o parcialmente) e instalaciones cuyas características permitan prevenir su liberación al ambiente y las consecuentes afectaciones a la salud de la población y a los ecosistemas y sus elementos. A continuación se describen los sitios de disposición final que se utilizan (EPA, 2014, LGPGIR, 2015; Robles-Martínez, 2008; SEGEM-GTZ, 2002; SEMARNAT, 2014c):

a) Relleno sanitario o RESA-Biorreactor: La norma NOM-083-SEMARNAT-2003 lo define como una obra de infraestructura que involucra métodos y obras de ingeniería, con el fin de controlar los impactos ambientales y proteger la salud pública en general desde la selección del sitio, diseño, construcción, operación, monitoreo, clausura, hasta la posclausura y obras complementarias. La Agencia para la Protección Ambiental le da el nombre de RESA-biorreactor debido a que mediante la adición de líquido y/o aire se pueden crear las condiciones óptimas para el desarrollo de microorganismos, propiciando que la FO se transforme y degrade rápidamente a fin de lograr la pronta estabilización del sitio. Dependiendo de la operación y diseño del RESA se tienen diferentes tipos de sitios, en la tabla 1.6 se describe cada uno.

Tabla 1.6 Tipos de RESA según operación y diseño

| TIPO DE RESA | DESCRIPCIÓN |
|---|---|
| **RESA-tradicional o Humedo** | Antes de ser llenado de RSU este sitio, se prepara el suelo para evitar la infiltración utilizando plástico de alta densidad, así como la construcción de los pozos de venteo e instalaciones para la recolección de lixiviados. Los residuos se colocan en capas compactadas cubriendo con suelo propio del terreno, utilizando maquinaria pesada, se debe realizar un monitoreo constante de asentamiento, lixiviados y biogás estos se mantienen hasta por 25 años o más. |
| **RESA-seco o Tumba seca** | El principal objetivo es la alta compactación los RSU en pacas (850 a 950 $kg/m^3$) para deducir el volumen y aumentar la capacidad del sitio, lo anterior aumenta la vida útil de un RESA hasta 50%, sin embargo prolonga el tiempo de descomposición de la FO hasta por 100 años. |
| **RESA-Biorreactor Aeróbico** | Los lixiviado se drenan, almacenan y posteriormente se recirculan en el RESA de manera controlada, adicional se inyecta aire directamente en la matriz de RSU por medio de pozos verticales u horizontales, a fin de promover la actividad aeróbica y acelerar la estabilización. |
| **RESA-Biorreactor Anaeróbico** | Se mantiene una humedad óptima para los microorganismos en la matriz de RSU por medio de la recirculación de lixiviados u otras fuentes, se procura la ausencia de $O_2$ que favorece a la biodegradación anaeróbica, dando inicio a la pronta aparición de biogás principalmente $CH_4$ que puede ser capturado para minimizar las emisiones de GEI así como para su aprovechamiento como energía alternativa. |
| **RESA-Biorreactor Híbrido** | Se acelera la degradación de los RSU mediante un tratamiento aeróbico-anaeróbico secuencial para degradar rápidamente la FO en los niveles superiores del RESA y recoger el biogás de los niveles inferiores. |

Fuente: Robles-Martínez, 2008; SEGEM-GTZ, 2002; SEMARNAT, 2014c

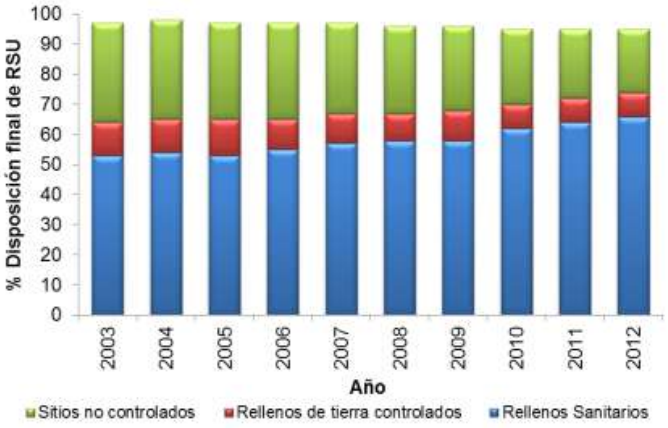
b) Relleno controlado: Sitio que cuenta con vigilancia y aplicación de las medidas necesarias para el cumplimiento parcial de la NOM-083-SEMARNAT-2003 y las disposiciones establecidas.

c) Tiradero a cielo abierto: Comúnmente son sitios donde ilegalmente se depositan y acumulan los RSU, sin ningún control técnico y/o infraestructura básica para su operación, que evidentemente afecta al ambiente.

El uso de los RESA como método para el tratamiento de RSU un RESA es económicamente sustentable y tiene como ventajas: prevenir problemas de contaminación de los mantos acuíferos debida a la percolación de los lixiviados por el subsuelo, captar el biogás generado por la degradación para el aprovechamiento como fuente de energía alternativa, evitar la proliferación de fauna nociva capaz de transmitir enfermedades infecciosas, proporcionar una disposición definitiva de los RSU buscando su reintegración en el ambiente.

La norma oficial mexicana NOM-083-SEMARNAT-2003, publicada en el Diario oficial de la federación el 20 de octubre de 2004, establece las especificaciones de selección del sitio, diseño, construcción, operación, monitoreo, clausura y obras complementarias, de manera general establece las actividades que se deben realizar en el RESA desde la planificación (selección del sitio, el diseño y construcción), en la operación (compactación para reducir su volumen, recirculación de lixiviados, recubrimiento de suelo al finalizar la jornada diaria) y en la clausura (mantenimiento, clausura y posclausura) (SEMARNAT, 2014c).

La evolución de la disposición final de los RSU en México, se muestra en la figura 1.8, donde para el año 2012 el 66% se deposita en RESA, 8% en sitios controlados y un 21% aún en tiraderos a cielo abierto, lo anterior representa un incremento con respecto a las cifras del año 2003, según las cuales la disposición de RSU en sitios no controlados era del 33%. El estado de México cuenta con 28 RESA, 18 sitios controlados y 42 tiraderos a cielo abierto, y según datos de la SEMARNAT, la disposición de los RSU correspondió a 68% en RESA, 29% en sitios controlados y 3% en tiraderos a cielo abierto. Los RESA con mayor disposición de RSU del estado son: Nezahualcóyotl, Tecamac y San Antonio la Isla, siendo de 1 782, 1 578 y 1 045 toneladas diarias (t/día) respectivamente. (GEM-SCS, 2013; SEMARNAT, 2014a).




Fuente: Adaptado de SEMARNAT, 2014a

Figura 1.8 Evolución de la disposición final en México de 2003 a 2012

## 1.2 DEGRADACIÓN DE LOS RESIDUOS SÓLIDOS URBANOS

Desde el momento que son generados en la fuente, la FO de la que están compuestos los RSU comienza a degradarse primero en una etapa aeróbica, dicha degradación continua y se intensifica al ser depositados en el RESA, debido a que cuando son cubiertos con capas de suelo propio del terreno se limita el acceso al $O_2$ y éste se consume debido a la actividad microbiológica, dando inicio a una segunda

etapa la anaeróbica (Gerardi, 2003; Márquez-Benavides, 2004). Durante este proceso se llevan a cabo una serie de reacciones biofisicoquímicas y su duración está en función de las velocidades de biodegradación y de los sustratos contenidos en los RSU, dando como resultado la producción de lixiviados y biogás y un remanente de residuos no biodegradables. La FO que se degrada de los RSU se puede clasificar de la forma siguiente (Tchobanoglous *et al.*, 1994):

- Constituyentes solubles en agua, tales como polisacáridos, féculas, aminoácidos, y diversos ácidos orgánicos,
- Hemicelulosa, un producto de condensación de azúcares con cinco y seis átomos de carbono,
- Celulosa, un producto de condensación de glucosa de azúcar con seis átomos de Carbono.
- Grasas, Aceites y Ceras, que son ésteres de alcoholes y ácidos grasos de cadena larga,
- Lignina (Lig), un material polímero que contiene añillos aromáticos y está presente principalmente en las paredes celulares del reino *plantae*,
- Lignocelulosa, una combinación de lignina y celulosa,
- Proteínas, que están formadas por cadenas de aminoácidos y,
- Holocelulosa (Hol), que es la suma de la celulosa y la hemicelulosa.

### 1.2.1 Productos de la degradación de los RSU

Cambio simultáneos físicos, químicos y biológicos se llevan a cabo en la FO de los RSU, principalmente debida a la actividad de poblaciones mixtas de microorganismos, que los degradan en lixiviados y biogás como productos finales. Estos productos deben ser controlados y monitoreados pues contienen compuestos altamente contaminantes, a continuación se detallan sus características:

a) Lixiviado. Es el líquido que se forma por la reacción, arrastre o filtrado de los materiales que constituyen los residuos y que contiene en forma disuelta o en suspensión, sustancias que pueden infiltrarse en los suelos o escurrirse fuera de los sitios en los que se depositan los residuos y que puede dar lugar a la contaminación del suelo y de cuerpos de agua, provocando su deterioro y representar un riesgo potencial a la salud humana y de los demás organismos vivos (LGPGIR, 2015; SEMARNAT, 2014c).

La cantidad de lixiviado generado depende de las características propias de los RSU depositados como: composición, densidad, contenido de humedad, capacidad de campo, grado de compactación y de las características ambientales del sitio como: precipitación pluvial, humedad atmosférica, temperatura, la evapotranspiración, tipo de suelo, etc. En la tabla 1.7 se presenta la composición química del lixiviado de acuerdo a la edad del RESA (Davis & Masten, 2005; Tchobanoglous *et al.*, 1994).

Como puede observase en la tabla 1.7 los lixiviado de los RESA jóvenes tienen concentraciones altas en comparación con los RESA antiguos, pudiéndose considerar que son más contaminantes, sin embargo con el tiempo el potencial de hidrogeno (pH) cambia de ácido a neutro y la demanda química de oxigeno (DQO) y la demanda biológica de oxigeno (DBO) disminuyen considerablemente. La norma establece que se debe garantizar su captación y extracción y que el lixiviado debe ser recirculado en las celdas en función de los requerimientos de humedad para la descomposición de los RSU o bien ser tratados o una combinación de ambas (SEMARNAT, 1014c), por lo que su monitoreo y control es un factor importante, para controlar la potencial contaminación de aguas subterráneas y por añadidura los daños a la salud animal, vegetal y al ambiente.

Tabla 1.7 Composición química del lixiviado

| PARÁMETROS | RESA NUEVO (menos de 2 años) mg/L [a] | | RESA MADURO (más de 10 años) |
|---|---|---|---|
| | RANGO [b] | TIPICO [c] | |
| pH[a] | 4.5 - 7.5 | 6 | 6.6 - 7.5 |
| $DBO_5$ | 2 000 - 30 000 | 10 000 | 100 - 200 |
| Carbono Orgánico Total | 1 500 - 20 000 | 6 000 | 80 - 160 |
| DQO | 3 000 - 60 000 | 18 000 | 100 - 500 |
| Sólidos Suspendidos Totales | 200 - 2 000 | 500 | 100 - 400 |
| Nitrógeno Orgánico | 10 - 800 | 200 | 80 - 120 |
| Amoniaco | 10 - 800 | 200 | 20 - 40 |
| Nitratos | 5 - 40 | 25 | 5 - 10 |
| Fósforo Total | 5 - 100 | 30 | 5 - 10 |
| Ortofosfatos | 4 - 80 | 20 | 4 - 8 |
| Alcalinidad como $CaCO_3$ | 1 000 - 10 000 | 3 000 | 200 - 1 000 |
| Dureza Total como $CaCO_3$ | 300 - 10 000 | 3 500 | 200 - 500 |
| Calcio | 200 - 3 000 | 1 000 | 100 - 400 |
| Magnesio | 50 - 1 500 | 250 | 50 - 200 |
| Potasio | 200 - 1 000 | 300 | 50 - 400 |
| Sodio | 200 - 2 500 | 500 | 100 - 200 |
| Cloruros | 200 - 3 000 | 500 | 100 - 400 |
| Sulfatos | 50 - 1 000 | 300 | 20 - 50 |
| Hierro Total | 50 - 1 200 | 60 | 20 - 200 |

[a] Excepto pH porque no tiene unidades, [b] Rango representativo de valores, [c] Los valores típicos para RESA nuevos varían con el estado metabólico en el que se encuentra.
Fuente: Tchobanoglous et al, 1994.

b) Biogás. Se define por la norma como una mezcla gaseosa resultado del proceso de descomposición anaeróbica de la FO de los RSU constituida principalmente por $CH_4$ y $CO_2$ (SEMARNAT, 2014c), así como de otros elementos traza (Tabla 1.18), y algunos compuestos orgánicos volátiles (COVs) como acetona, benceno, tolueno, alcoholes, entre otros.

La generación de biogás depende de las características de los RSU, de las condiciones ambientales del sitio y entre otros de la disponibilidad de nutrientes para la actividad microbiológica que propician las reacciones biofisicoquímicas. La concentración de $CH_4$ es un indicador que aporta información acerca de la fase de

degradación en la que se encuentran los RSU, además de tener olor es fétido (causado por los mercaptanos), tóxico y explosivo. La emisión de biogás a la atmósfera en México contribuye con el 2.06% de los GEI causantes del cambio climático (INE, 2012). Por lo anterior es otro factor importante para el control, captación, almacenamiento y monitoreo, la norma establece garantizar la extracción, captación, conducción y control del biogás generado y una vez que los volúmenes y la edad de los RSU lo permitan y en caso de no disponer de sistemas para su aprovechamiento, se debe quemar a través de pozos individuales o mediante una red de quemadores centrales (SEMARNAT, 2014c), con la finalidad de emitir $CO_2$ en lugar de $CH_4$ debido a que es fácil para la naturaleza reintegrarlo al ciclo del carbono a diferencia del $CH_4$ aunado a que éste tiene un potencial de contribución al calentamiento global (propiedad de atrapar el calor en la atmósfera) 25 veces mayor al $CO_2$ (EPA, 2011).

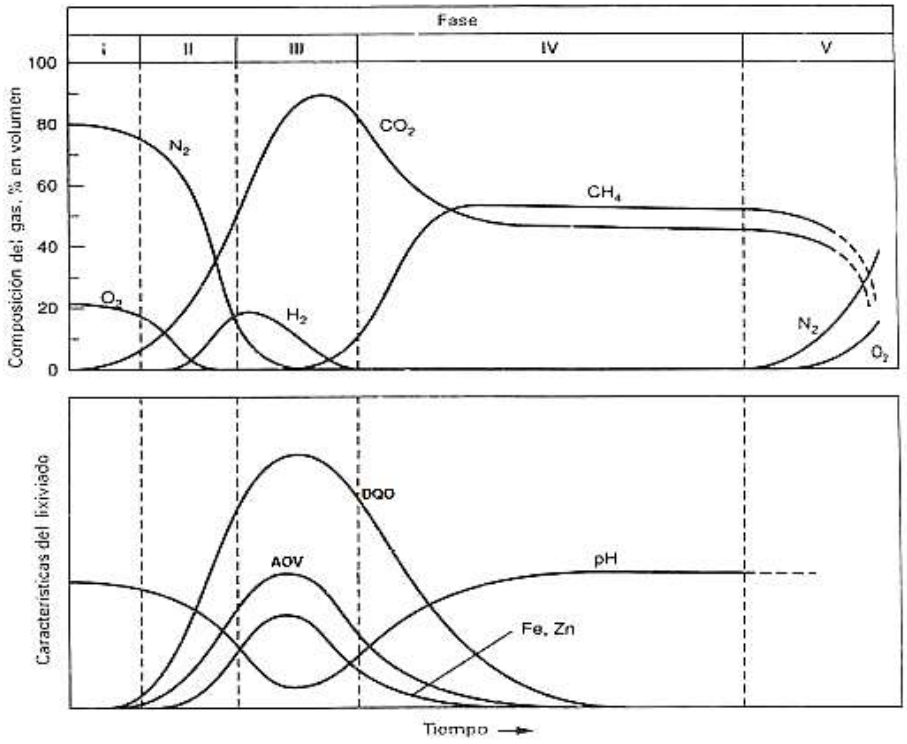
Tabla 1.8 Composición y características del biogás

| **COMPONENTES** | **% DEL COMPONENTE (volumen, base seca)** |
|---|---|
| Metano ($CH_4$) | 45 - 60 |
| Bióxido de Carbono ($CO_2$) | 40 - 60 |
| Nitrógeno ($N_2$) | 2 - 5 |
| Oxigeno ($O_2$) | 0.1 - 1.0 |
| Hidrogeno ($H_2$) | 0 - 0.2 |
| Sulfuros, bisulfuros, mercaptanos | 0 - 1.0 |
| Monóxido de Carbono (CO) | 0 - 0.2 |
| Amoniaco | 0.1 - 1.0 |
| Compuestos traza | 0.01 - 0.6 |
| **CARACTERISTICA** | **VALOR** |
| Capacidad Calorífica kcal/$m^3$ | 890 - 1 233 |
| Gravedad Especifica | 1.02 - 1.06 |
| Contenido de Humedad | saturado |
| Temperatura en la Fuente | 37 - 67ºC |

Fuente: Tchobanoglous et al, 1994.

### 1.2.2 Fases de la degradación de los RSU

En un RESA se pueden tener las condiciones para que se desarrollen los microorganismos y éstos biodegraden la FO, sin embargo debido a la heterogeneidad de los RSU (composición, humedad, nutrientes, acidez o alcalinidad) y a una serie de factores abióticos del sitio de disposición (temperatura ambiental, precipitación pluvial, radiación solar), los microorganismos responsables de la biodegradación están expuestos a un entorno muy diverso que puede intervenir en la velocidad de degradación de los RSU (EPA, 2014; Márquez-Benavides, 2004). Los trabajos realizados al respecto han establecido una secuencia teórica de fases de degradación y cambios en la composición del biogás y de los lixiviados. La figura 1.9 ilustra dicha secuencia de cinco fases, las cuales se describen enseguida (Hernández-Berriel *et al.*, 2014; Márquez-Benavides, 2004; Tchobanoglous *et al.*, 1994):




Fuente: Adaptado de Tchobanoglous *et al.*, 1994.

Figura 1.9 Fases generales de la generación de biogás y lixiviados de RSU

a) Fase I o ajuste inicial. Es una fase aeróbica de corto plazo. Se lleva a cabo inmediatamente después de ser generados en la fuente y al ser colocados en el RESA. En ella la FO rápidamente biodegradable se descompone aeróbicamente y los microorganismos aeróbicos llevan a cabo sus actividades metabólicas usando el $O_2$ atrapado en los intersticios de los RSU, degradando la FO en compuestos orgánicos residuales parcialmente degradados, $CO_2$, nitritos ($NO_2^-$), nitratos ($NO_3^-$) y agua ($H_2O$), se generan calor que es retenido dentro del sitio (60 a 80°C) debido a las propiedades aislantes de las capas de RSU, la generación del lixiviado es mínima y el pH de éste es tendientemente ácido debido a que la FO se degrada a ácidos carbónicos, su composición son sales solubles y materia orgánica solubilizada.

b) Fase II o ácida de transición. En esta fase empieza a descender el $O_2$ y comienza la anaerobiosis, los productos de la fase de ajuste inicial comienzan a ser convertidos en ácidos carboxílicos, amonio, $CO_2$, $H_2$, alcoholes (etanol, propanol y butanol) y ácidos orgánicos volátiles (AOV) de cadena corta (fórmico, acetato, propionato, n-e isobutirato, y n- e valérico), los nitritos ($NO_2^-$), nitratos ($NO_3^-$) son degradados a $N_2$ y los sulfatos ($SO_4^{2-}$) en sulfuro de hidrogeno ($H_2S$). El pH de lixiviado comienza a descender hasta por debajo de 6.0 debido a la presencia de los AOV y la fermentación de los azucares.

c) Fase III o ácida. Se intensifica la actividad microbiana iniciada en la fase II, se tienen los valores más altos de $CO_2$ e $H_2$, así como trazas de $CH_4$. En el lixiviado, la DQO, $DBO_5$, AOV y conductividad es alta, mientras que el pH más bajo (menores de 5.0), debido altas concentraciones de AOV, ésta condición ácida puede precipitar metales que se disolvieron en la fase de transición, debido a que puede contener altas concentraciones de ácidos grasos, calcio, hierro, metales pesados y el amoníaco. El sulfuro puede precipitar en hierro, manganeso.

d) Fase IV o producción acelerada de $CH_4$. En esta fase los microorganismos convierten el ácido acético y el $H_2$ producidos en la fase ácida, por lo que hay un rápido aumento en la tasa de producción de $CH_4$ alcanzando concentraciones entre 50 y 70 % volumen, en equilibrio con el gas $CO_2$, así como la consecuente disminución de AOV, se consumen más rápido los ácidos carboxílicos a medida que aumenta la tasa de producción de $CH_4$. También existe la producción de sulfato que consumen el $H_2$ y que podrían estar en competencia con las bacterias que forman $CH_4$ e inhibir la producción. El consumo de acetato y de AOV permite que el pH en los lixiviados aumente a más de 7.0 y las concentraciones de DQO, $DBO_5$ y la conductividad disminuye.

e) Fase V o de maduración. Una vez el material fácilmente biodegradable ha sido convertido en $CH_4$ y $CO_2$, queda el remanente de materia difícilmente biodegradable y las tasas de generación de biogás disminuyen, porque la mayoría de los nutrientes disponibles se han agotado en las fases anteriores. Sin embargo la humedad continúa en la matriz de RSU por lo que se continúan teniendo porciones de material biodegradable que anteriormente no estaba disponible para los microorganismos. El lixiviado contiene ácidos húmicos y fúlvicos que son difíciles de degradar biológicamente.

El tiempo de duración de cada una de las fases es variable en cada RESA ya que depende de la distribución de los componentes orgánicos, la disponibilidad de nutrientes, la humedad, el grado de compactación y los factores abióticos así como la localización del sitio, que interfieren en la velocidad de la bioconversión y la producción del biogás e RESA. Se puede estimar que la fase aeróbica inicial tiene una duración de días, para las subsecuentes fases podrían ser de meses, años y décadas, pudiendo tener una duración de hasta 25 años o más.

## 1.3 MICROBIOLOGÍA DE LOS RESIDUOS SÓLIDOS URBANOS

La secuencia de fases descrita en el apartado anterior, es efectuada por una población mixta de microorganismos intrínsecos de los RSU, los cuales con la actividad metabólica y enzimática convierten la FO de los RSU y en ausencia de éstos las formas superiores de vida nunca habrían surgido, ya que los hombres, las plantas y los animales están íntimamente ligados a los microorganismos y en cuanto a la degradación de los RSU sin duda sería completamente diferente a lo que se conoce en la actualidad (Madigan *et al.*, 2009; Stainer *et al.*, 1992).

Los organismos microscópicos son un grupo amplio y diverso, que existen como células aisladas o agrupadas, capaces de realizar sus propios procesos vitales de crecimiento, generación de energía, reproducción, para lo cual, requieren condiciones nutrimentales y ambientales. La evolución en la composición de los RSU, la heterogeneidad, el ambiente en que se desarrollan entre otros, causa que los microorganismos degradadores sean muy diversos, por lo que es necesario conocer los diferentes tipos de microorganismos que están involucrados en la degradación de los RSU en el RESA (Gerardi, 2003; Madigan *et al.*, 2009; Stainer *et al.*, 1992),

### 1.3.1 Tipos de microorganismos biodegradadores de RSU

La amplia diversidad de organismos ha propiciado que se hayan establecido a lo largo de la historia distintas formas para clasificarlos como: Filogenia aquella que los clasifica por la evolución en su estructura celular (procariotas y eucariotas), sin embargo la clasificación aceptada a la fecha es la establecida por Whittaker en 1969 el cual nombra cinco reinos: *Monera,* organismos procariotes que carecen de modo ingestivo, *Protista,* organismos eucariotes unicelulares con nutrición continua*, Fungí,*

*Animalia y Plantae,* organismos eucariotes multicelulares y multinucleados. Los microorganismos se encuentran en tres de los cinco reinos en: *Monera* (bacterias, arquea y algas-azul-verdosas), *Protista* (microalgas y protozoos) y *Fungí* (Hongos o mohos y levaduras) (Pelczar *et al.*, 1985). A continuación de describen brevemente algunos tipos de microorganismos responsables de la degradación de los RSU (Gerardi, 2003; Madigan *et al.*, 2009; Manahan, 2007; Pelczar *et al.*, 1985, Stainer *et al.*, 1992):

a) Bacterias: Tiene estructura unicelular procariota, crecen individualmente o en grupo, su tamaño es menor a un micrómetro (µm), aquí se encuentran las patógenas como la *Rickettsia*, existen millones de especies diferentes y según su especie tienen diferencias en: morfología (cocos, bacilos, espirilos, etc), mecanismos metabólicos (autótrofos, heterótrofos, quimioorganotrofos, etc), movilidad (flagelos, ciliados, vibratorios), reproducción (mayormente por fisión binaria), entre otras). El desarrollo de las bacterias se puede ver afectado por las condiciones físicas del medio, por ejemplo, la disponibilidad de $O_2$ (Tabla 1.9) y la temperatura (Tabla 1.10) (Gerardi, 2003; Madigan *et al.*, 2009; Pelczar *et al.*, 1985; Stainer *et al.*,1992; Tchobanoglous *et al.*, 1994):

Tabla 1.9 Clase de bacteria según el requerimiento de $O_2$.

| BACTERIAS | DESCRIPCIÓN |
|---|---|
| **Aeróbicas** | Conocidas como bacterias óxicas. Son bacterias que solo pueden obtener energía de los compuestos en presencia de $O_2$ por que requieren de éste como receptor de electrones como se describe en la ecuación 1.15 a la cual se le conoce como respiración. El resultado de su actividad metabólica por consumo de carbono es $CO_2$, $H_2O$ y energía.<br>$C_6H_{12}O_6 + 6\,O_2 \rightarrow 6\,CO_2 + 6\,H_2O + \Delta$ (Ec. 1.15)<br>Los aerobios son capaces de crecer a condiciones de $O_2$ normales (21% es aire) y muchos toleran concentraciones más elevadas de $O_2$ (oxígeno hiperbárico), por el contrario existen aquellas que pueden usar el $O_2$ cuando está presente a niveles más bajos que el aire, normalmente causada por su limitada capacidad para respirar o porque contienen alguna molécula sensible al $O_2$ se denominan microaerófilas. |

Fuente: Gerardi, 2003; Madigan *et al.*, 2009; Stainer *et al.*, 1992; Tchobanoglous *et al.,* 1994.

Tabla 1.9 Clase de bacteria según el requerimiento de $O_2$ (continuación)

| BACTERIAS | DESCRIPCIÓN |
|---|---|
| **Anaeróbicas** | Conocidas como anóxicas. Son aquellas que obtienen su energía de una molécula inorgánica distinta al $O_2$ en la Ec. 1.16 se muestra la reacción general. Son metabólicamente lentas, algunas tienen un tiempo de generación que permite obtener crecimiento visible en 24 ó 48 horas y otras necesitan varios días para crecer o para observar algunas propiedades, esto obliga a prolongar la incubación. Debido a su aversión por el $O_2$, condicionan su actividad metabólica y requieren medios adecuados que proporcionen un ambiente con un bajo poder de óxido-reducción. Los medios de cultivo, aparte de ser frescos, deben estar libres de $O_2$ e incubarse en una atmósfera anaerobia. Ésta se puede conseguir bien por procedimientos catalíticos, en los que el $O_2$ es eliminado combinándolo con hidrógeno en presencia de un catalizador, o por sustitución de la atmósfera normal con una mezcla de gases sin $O_2$, como ocurre en las cámaras de anaerobiosis.<br><br>$FO + H_2O + nutrientes \rightarrow nuevas\ celulas + FO\ resistente + CO_2 + CH_4 + NH_3 + H_2S + \Delta$ (Ec. 1.16) |
| **Facultativas** | Pueden crecer tanto en condiciones aeróbicas o anaeróbicas si tienen condiciones apropiadas de nutrientes en el medio. Utilizan $O_2$ libre cuando está disponible y usa otras sustancias como receptores de electrones (oxidantes) cuando el $O_2$ no está disponible. Los compuestos comunes que sustituyen al $O_2$ en el agua son el ion nitrato y el ion sulfato |

Fuente: Gerardi, 2003; Madigan *et al.*, 2009; Stainer *et al.*, 1992; Tchobanoglous *et al.,* 1994.

Tabla 1.10 Clase de bacteria según el requerimiento de temperatura.

| BACTERIAS | DESCRIPCIÓN<br>La temperatura optima de desarrollo es 37 ± 1°C |
|---|---|
| **Psicrófilas** | Capaces de desarrollarse a menos de 0 °C, aunque creen mejor a temperaturas superiores, cercanas a 15 o 25 °C |
| **Mesófilas** | Crecen en los límites de temperatura de 20 a 45°C |
| **Termófilas** | Crecen mejor entre 45 y 65°C. Los límites de algunas bacterias termófilas se extienden a la región mesófila. |
| **Hipertermófilo** | Crecen en los límites de temperatura de 65 a 110°C |
| **Esporuladas** | Crecen en los límites de temperatura de 110 a 120°C |

Fuente: Madigan *et al.*, 2009; Pelczar *et al.*, 1985; Tchobanoglous *et al.,* 1994.

b) Arquea: Las bacterias y las arqueas comparten muchas propiedades relacionadas con su estructura celular, son unicelulares procariotes, su reproducción es por fisión binaria mayormente pero también por gemación, se diferencian porque genéticamente son un organismo más evolucionado y en su pared celular carecen de peptidoglicano en su lugar tienen pseudomureina, frecuentemente se desarrollan como hipertermófilas, aquí se encuentran las arqueas productoras de $CH_4$ y son anaeróbicas estrictas.

c) Hongos. Son protistas multicelulares, no poseen raíces, tallos, ni hojas y su tamaño y forma varían desde lo microscópico hasta lo macroscópico, están desprovistos de clorofila por lo que no son fotosintéticos, son quimiorganótrofos ya que utilizan la celulosa y lignina como fuente de carbono y energía, la mayoría tiene la capacidad de crecer en condiciones de baja humedad, además de tolerar valores de pH relativamente bajos. Su metabolismo es esencialmente aerobio y crecen con largos filamentos llamados hifas, su reproducción es por fisión binaria, gemación y esporulada principalmente.

d) Levaduras: Son hongos pero se distinguen por que son unicelulares, tienen formas esférica y elípticas, son industrialmente utilizadas para fermentar azucares en alcohol y $CO_2$. Se reproducen por gemación y su velocidad de crecimiento es más rápida que los hongos y en proporción a su peso son más aptas para realizar cambios químicos porque tienen mayor área superficial.

### 1.3.2 Caracterización de microorganismos degradadores de RSU

Los microorganismos han sido un instrumento clave para aclarar numerosos procesos bioquímicos, para tal efecto la identificación y determinación de los

atributos específicos de éstos en la degradación de los RSU es relevante de modo que claramente se distingan en cada una de las fases. Para identificar debidamente a un microorganismo es necesario realizar lo que a continuación se describe:

a) Necesidades nutrimentales: Es decir el sustrato o el alimento que requieren los microorganismos para llevar a cabo el metabolismo donde las moléculas son transformadas con reacciones químicas y biológicas catabólicas (liberan energía para degradar las moléculas) y anabólicas (requiere de energía para sintetizar las moléculas), sin embargo dichas reacciones no se podrían llevar a cabo sin la intervención de moléculas proteínicas llamadas enzima (catalizadores) las cuales aceleran la velocidad de las reacciones ($10^8$ a $10^{20}$). Las enzimas son selectivas, ya que catalizan solo un tipo de sustrato sin modificar su estructura proteínica dando como resultado una molécula degradada a un monómero de fácil acceso para los microorganismos, para que éste sea consumido como fuente de energía para su desarrollo y reproducción. (Madigan *et al.*, 2009, Stainer *et al.*, 1992).

Tabla 1.11 Nutrientes requeridos por los microorganismos

| **NUTRIENTES** | |
|---|---|
| **Macronutrientes** | Carbono (C), Fosforo (P), Hidrógeno ($H_2$), Oxígeno ($O_2$), Nitrógeno ($N_2$), Azufre (S), Potasio (K), Magnesio (Mg), Calcio (Ca) y Sodio (Na) |
| **Micronutrientes (elementos traza)** | Cromo (Cr), Cobalto (Co), Manganeso (Mn), Molibdeno (Mo) y Níquel (Ni). |
| **Elementos Minerales** | Cobre (Cu), Zinc (Zn) y Hierro (Fe). |
| **Fuentes de Carbono** | Carbono (C) y Dióxido de Carbono ($CO_2$). |
| **Fuente de Energía** | Luz solar, Compuestos orgánicos e inorgánicos |
| **Vitaminas** | Ácido p-aminobenzoico, ácido Fólico, Biótina, Cobalamina, ácido Nicotínico, ácido lípoico, Ácido Pantoténico, Rivoflavina, Tiamina, Piridoxina. |

Fuente: Madigan *et al.*, 2009; Tchobanoglous *et al.*, 1994

La adición de ciertas sustancias químicas en la preparación de los medios de cultivo, permiten el desarrollo de un grupo de bacterias y no permitirá el desarrollo de otros grupos, por lo que se les denomina medios de cultivo selectivos, en la tabla 1.11 se enlista los nutrientes esenciales usados en los medios del cultivo para el desarrollo de los microorganismos (Madigan *et al.*, 2009, Pelczar *et al.*, 1985; Tchobanoglous *et al.*, 1994).

b) Crecimiento de las poblaciones: Después de la siembra ocurre un incremento en el número de células, en algunas especies se alcanza la población máxima a las 24 h (densidad microbiana) pero otras necesitan un periodo más prolongado pues su metabolismo es más lento como las anaeróbicas (Hernández-Contreras *et al.*, 2014). La cuantificación se puede realizar por muchas técnicas: microscópicas o directos; químicos que permiten relacionar el aumento de la masa celular o constituyentes celulares, lecturas turbidimétricas; de cuenta en placa; de unidades formadoras de colonias (UFC), etc. Las técnicas analíticas que se han usado para el monitoreo de los microorganismos en los RESA se citan en la tabla 1.12 (Madigan *et al.*, 2009; Sang *et al.*, 2012; Stainer *et al.*, 1992).

Tabla 1.12 Técnicas analíticas aplicadas al monitoreo de microorganismos en RESA para el tratamiento de RSU

| **Técnicas Analíticas** | **Método** | **Microorganismo** |
|---|---|---|
| **Ensayo de Adenosintrifosfato (ATP).** | Cuantificación de células de diferentes bacterias usando un sistema de luciferasa a 1ηmol de ATP por 200 células. | Diferentes bacterias. |
| **Cuenta en placa.** | Cuantificación en UFC formadas en cada placa | Heterótrofas, metanogénas, actinimicetos y hongos. |
| **Inmunoensayo luminicente.** | Cuantificación de células, basado en la especificidad de la reacción antígeno-anticuerpo. | Oxidantes del amoniaco. |

Fuente: Sang *et al.*, 2012.

Tabla 1.12 Técnicas analíticas aplicadas al monitoreo de microorganismos en RESA para el tratamiento de RSU (continuación)

| Técnicas Analíticas | Método | Microorganismo |
|---|---|---|
| **Número Más Probable (NMP).** | Cuantificación de células basada en el principio del NMP estadístico. | Hemicelulolíticas, celulolíticas, acetoclásticas e hidrogenofilicas metanogénicas. |
| **NMP-PCR** | La cuantificación de los productos de PCR y de ADN mediante la combinación de los principios de la estadística de la MPN y técnica de PCR | Eubacterias, oxidantes del amoniaco, denitricantes, hongos y metanogénos |
| **Hibridación Fluorescente in situ (FISH).** | Visualización y cuantificación de genes en los microorganismos | Eubacterias y *archeas Methanosetaceae, Methanosarcinaceae, Methanococcales, Methanomicrobiales* |
| **PCR en tiempo real.** | Amplificación y cuantificación simultanea de ADN molecular | Eubacterias y *archeas* |
| **Restricción terminal de polimorfismo de fragmento de longitud (T-RFLP)** | La cuantificación de la abundancia relativa de los fragmentos de ADN de diferentes secuencias de los productos de PCR. | Eubacterias y *archeas* |
| **Electroforesis en gel del gradiente de desnatura-lización (DGGE).** | Separación de los productos PCR utilizando electroforesis basado en diferencias en las secuencias de ADN o mutaciones. | Eubacterias, *archeas* y metanótrofos. |
| **Microarray** | Identificación de ADN por hibridación en una superficie sólida | Metanótrofos. |
| **Clonación y secuenciación de DNA** | Identificación taxonómica de los genes rRNA | Eubacterias, *archeas*, hongos, *clostridium*, oxidantes de amoniaco, metanogénas. |

Fuente: Sang *et al.*, 2012.

El estudio acerca de la densidad bacteriana en el proceso de degradación de los RSU ha recurrido frecuentemente al método de cuenta en placa para medios de cultivo sólidos (Hassen *et al.*, 2002; Hirata *et al.*, 2011) y Número Más Probable (NMP) para medios de cultivo líquido (Barlaz *et al.*, 1989; Márquez-Benavides,

2004; Martínez-Cámara, 2011) por ser métodos económica y prácticamente sencillos, sin embargo éstos métodos no son del todo satisfactorios, por lo que se han propuesto técnicas moleculares (Calli *et al.*, 2006; Fei *et al.*, 2014; Sang *et al.*, 2008; Sang *et al.*, 2009; Staley *et al.*, 2011) que han sido usadas para superar las técnicas analíticas. Las técnicas moleculares encarecen el estudio y el conocimiento no está fácilmente al alcance, por lo anterior se ha propuesto el método de Filtración por Membrana (FM) que es menos exacto que las moleculares pero más preciso que NMP (Hernández-Contreras, 2013).

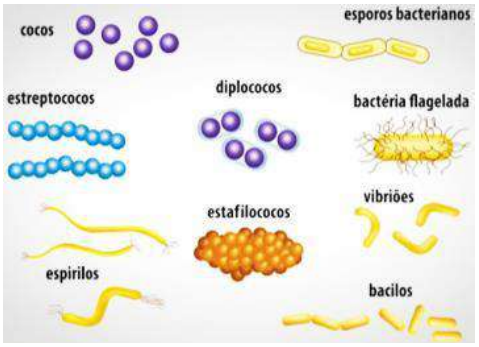
En México se han elaborado normas con la descripción de las técnicas para la cuantificación de microorganismos como las siguientes: Cuenta en placa (NOM-092-SSA1-1994), NMP (NMX-AA-42-1987) que utiliza la ecuación 1.17 y FM (NMX-AA-102-SCFI-2006) por medio de la ecuación 1.18 (CONAGUA, 2014a; CONAGUA, 2014b; SSA, 2014).

$$\frac{NMP}{100ml} = \frac{No.de\ tubos\ positivos \times 100}{\sqrt{ml\ de\ muestra\ en\ tubos\ negativos \times ml\ de\ muestra\ en\ tubos\ totales}} \quad \text{(Ec. 1.17)}$$

$$\frac{UFC}{Volumen\ de\ referencia} = \frac{UFC\ contadas \times Volumen\ de\ referencia}{Volumen\ filtrado\ de\ muestra} \quad \text{(Ec. 1.18)}$$

c) Morfología: La morfología celular, hace referencia a la forme de la célula, por lo que después de la siembra, la incubación y la cuantificación, se pueden determinar las características morfológicas generales de la UFC o NMP cultivadas, pueden ser visibles sin amplificación (observación macroscópica) como: el color (cromatogénesis), el tamaño de las células, la forma, la elevación, el borde (Stainer *et al.*, 1992), y la observación de cada una de las células que requiere del uso de un microscopio: óptico para células intactas con *frotis* (fijar la UFC en un portaobjetos) y con tinción (la ampliamente usada es la Gram) con ésta se pueden

observar aspectos peculiares como las formas celulares y su agrupación así como la tinción como las mostradas en la figura 1.10. Con el microscopio electrónico se observan estructuras internas o detalles de las superficies celulares y una tercera la microscopia tridimensional (Madigan *et al.*, 2009).




Fuente: Madigan *et al.,* 2009.

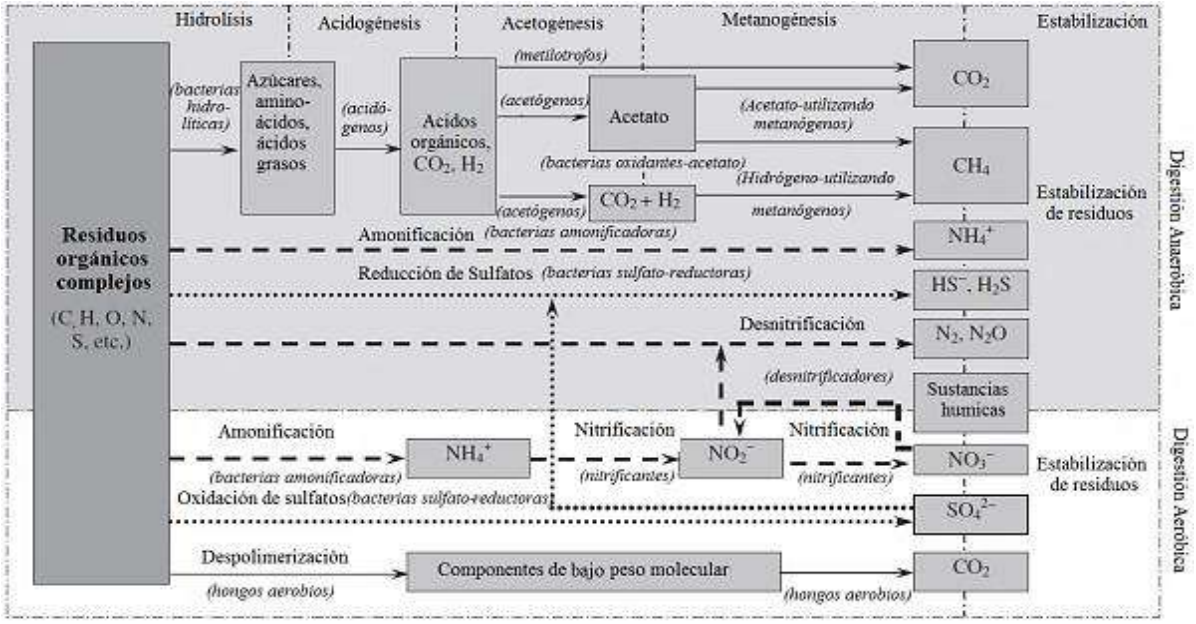
Figura 1.10 Formas celulares representativas

d) Taxonomía: Es la clasificación o agrupamiento sistemático de los organismos. Se divide en tres partes: 1) Clasificación, el agrupamiento ordenado de unidades o grupos dentro de unidades mayores, 2) Nomenclatura, la denominación de las unidades definidas (caracterizadas) y 3) haciendo uso del criterio establecido por los dos anteriores, se identifican comparando las características de las unidades con las descripciones publicadas de los microorganismos (Pelczar *et al.*, 1985).

### 1.3.3 Degradación biológica de los RSU

La degradación de los RSU es un proceso que puede tomar dos vías: la digestión aerobia y la anaerobia. En los RESA los RSU frescos (recientemente depositados) experimentan una digestión aeróbica y conforme se continúan depositando van quedando en la parte interna donde se efectúa una digestión anaeróbica (Robles-Martínez, 2008). Cualquiera que sea la vía, los microorganismos de los RSU y del

suelo del sitio llevan a cabo la degradación, por lo que se le denomina degradación biológica o biodegradación. En la figura 1.11 se ilustra sistemáticamente los principales procesos de la biodegradación anaeróbica en un RESA: Hidrólisis, Acidogénesis, Acetogénesis y Metanogénesis y en el proceso aeróbico: Amonificación, Nitrificación y Desnitrificación, así como las interacciones entre los grupos de bacterias, los sustratos y los productos intermedios relevantes (Madigan *et al.*, 2009; Sang *et al.*, 2012):




Fuente: Adaptado de Sang *et al.*, 2012.

Figura 1. 11 Diagrama sistemático de la biodegradación aeróbica y anaeróbica de los RSU en un RESA.

Estos procesos tienen un orden de dependencia (producto-sustrato), sin embargo no necesariamente debe concluirse un proceso para que inicie el siguiente, lo que sí es necesario, como se mencionó anteriormente, es que deben predominar bacterias con actividad enzimática específica para degradar el sustrato de la etapa anterior. A continuación se describen estas etapas (Barlaz *et al.*, 1990; Gerardi, 2003; Madigan *et al.*, 2009; Márquez-Benavidez, 2004; Sang *et al.*, 2012; Warounsak, 2007):

a) Hidrólisis. Es la primera etapa de la biodegradación de los RSU en el RESA y es la división con agua de un polímero a un monómero. Los RSU frescos contienen residuos orgánicos complejos como: polisacáridos, proteínas, lípidos y ácidos nucleicos, los cuales son hidrolizados con ayuda de las enzimas como: celulasa (celulosa), amilasa (almidones), proteasas (proteínas-aminoácidos), lipasa (lípidos, glicerol y ácidos grasos) y son degradados por las bacterias celulolíticas y otras bacterias hidrolíticas en sus respectivos monómeros: monosacáridos, aminoácidos, polipéptidos, bases púricas, compuestos aromáticos, glicerol, ácidos grasos y carboxílicos y alcoholes. Las bacteria hidrolíticas representativas de esta etapa se pueden clasificar en cuatro tipos: *Amilolíticas, Celulolíticas, Hemicelulolíticas y Proteolítica, a*lgunas de ellas provienen de varias familias y géneros como: *Bacillaceace, Cellulomonas, Microbacterium, Cytophagaceae, Enterobacter, Lactobacillus y Enterococcus*.

b) Acidogénesis. También se le conoce como etapa fermentativa, donde los productos fragmentados por las bacterias hidrolíticas ya solubles, son transformados por bacterias fermentativas primarias en: amonio, $CO_2$, $H_2$, alcoholes (etanol, propanol y butanol), ácidos carboxílicos de cadena corta también conocidos como ácidos grasos volátiles (AGV) o AOV (ácido fórmico, butirato, acetato, propionato, *n-e* isobutirato, y *n-e* isovalérico). También es posible que se produzca: acetona, butanona, formaldehído, acetaldehído, butiraldehido, entre otros ácidos. El acetato, $H_2$ y $CO_2$ puede ser utilizado directamente por los metanogénos, mientras que la mayor parte del carbono permanece en forma de AGV y alcoholes. Es común que algunos autores aborden este proceso junto con el de Hidrólisis, sin embargo, se mencionan por separado, con el propósito de aclarar que la Hidrólisis solo solubiliza las moléculas, “corta” los polímeros en dímeros o monómeros y, que estos productos serán los sustratos de procesos posteriores, en los que en un momento determinado, predominará la fermentación. En las reacciones mostradas por las ecuaciones 1.19 al 1.21 se describen de

manera general el proceso bioquímico acidogénico con fermentación alcohólica. Los fermentadores son un grupo grande y heterogéneo de bacterias anaerobias y anaerobias facultativas. *Clostridium y pseudomonas* son el género más representativo de entre las principales como: *Bacillumm, Cetovibrio, Zymomonas, Propionobacterium, Escherichia y Streptococcus.* También las levaduras son microorganismos representativos en la fermentación.

$$C_6H_{12}O_6 + 2\,H_2O \rightarrow\ 2\,CH_3COOH + 4\,H_2 + 2\,CO_2 \qquad \text{(Ec. 1.19)}$$

$$C_6H_{12}O_6 \rightarrow\ CH_3CH_2CH_2COOH + 2\,H_2 + 2\,CO_2 \qquad \text{(Ec. 1.20)}$$

$$C_6H_{12}O_6 \rightarrow\ 2\,CH_3CH_2OH + 2\,CO_2 \qquad \text{(Ec. 1.21)}$$

c) Acetogénesis. Durante esta etapa se realiza una fermentación secundaria de los AGV y los alcoholes formados en la fermentación primaria para ser convertidos en $CO_2$, $H_2$ y acetato , sin embargo el desarrollo de las bacterias acetogénicas es relativamente lento y forman poblaciones distintas, por ejemplo: El consorcio denominado bacterias homoacetogénicas son aquellas que solo producen acetato y otra población denomina acetogénicas productoras obligadas de hidrógeno OHPA (siglas en ingles *Obligate Hydrogen Producing Acetogen),* las cuales oxidan los productos de la fermentación primaria como etanol, propionato y butirato en acetato, $CO_2$ e $H_2$, a concentraciones muy bajas de $H_2$, por lo que establecen una asociación sintrófica con bacterias consumidoras de $H_2$ (hidrogenofílicas) como las sulfato-reductoras y las metanogénas. En las ecuaciones 1.22 a 1.24 se muestran algunas de las reacciones que se llevan a cabo en la Acetogénesis. Entre las baterías homoacetogénicas se encuentran: C*lostridium, formicoaceticum, Acetobacter, Gluconobacter, Syntrophomona y Sporomusa sp*; y de entre las segundas fermentadoras se tiene las *Selenomonas*, *Clostridium, Ruminococus*.

$$C_6H_{12}O_6 \rightarrow 3\,CH_3COOH \qquad \text{(Ec. 1.22)}$$

$$4\,CH_3OH + 2\,CO_2 \rightarrow 3\,CH_3COOH + \ 2\,H_2O \qquad \text{(Ec. 1.23)}$$

$$2\,CO_2 + 4\,H_2 \rightarrow CH_3COOH + 2\,H_2O \qquad \text{(Ec. 1.24)}$$

d) Sulfato-reducción. Si hay acumulación de sulfuros en el medio habrá competencia por el $H_2$ producido para formar $H_2S$ (Ec. 1.25) a esto se le conoce como sulfato-reducción. La energía de reducción del $SO_4$ con el $H_2$ es más favorable que la energía de reducción del $CO_2$ con el $H_2$ a $CH_4$ o acetato, solo cuando hay minoría en nitratos o sulfatos, se tienen las condiciones para que la siguiente etapa se efectué correctamente. Los microorganismos participantes pertenecen a la familia de quimioorganotrofos conocidos bajo el nombre de bacterias sulfato-reductoras pertenecientes a los géneros: *Desulfovibrio y Desulfotomaculum, Desulfobacter* y *Desulforomonas.*

$$SO_4 + 4\,H_2 \rightarrow H_2S + 4\,H_2O \qquad \text{(Ec. 1.25)}$$

e) Metanogénesis. Esta es la última etapa de la degradación anaeróbica y es donde se lleva a cabo la producción biológica del $CH_4$, debido a un grupo de arqueas anaerobias estrictas (metanogénas), mediante la conversión del $CO_2$ y $H_2$ como la vía principal (Ec. 1.26) alrededor de un tercio, también se forma a partir de algunos compuestos orgánicos como: acetato (Ec. 1.27) unas dos terceras partes, formiato (Ec. 1.28), metanol (Ec. 1.29), aminas metiladas y sulfuros metilados. Esta etapa en los RESA es la que más puede durar, debido al que el metabolismo de las metanogénas para la mineralización son lentos en comparación con las anteriores. Las metanógenas son a*rcheas* y se pueden dividir en dos subgrupos tróficos: Acetoclásticas Metanogénicas, son aquellas que metabolizan el acetato, el metanol, las metilaminas y la mezcla de $H_2$ y $CO_2$; Y las Hidrogenotróficas Metanogénicas las que utilizan la mezcla de $H_2$ y $CO_2$ y el formiato, entre ellas destacan: *Methanobacterium, Methanosarcina, Methanosphaera, Methanosaeta y Methanothermobacter.*

$$CO_2 + 4H_2 \rightarrow CH_4 + 2\,H_2O \qquad \text{(Ec. 1.26)}$$

$$CH_3COOH \rightarrow CH_4 + CO_2 \quad \text{(Ec. 1.27)}$$

$$2\,HCOOH \rightarrow CH_4 + CO_2 \quad \text{(Ec. 1.28)}$$

$$CH_3OH + H_2 \rightarrow CH_4 + H_2O \quad \text{(Ec. 1.29)}$$

f) Amonificación. En la fase aeróbica los residuos orgánicos complejos son rápidamente transformados a compuestos de menor peso molecular como amoniaco ($NH_4$), $CO_2$ y $H_2O$ y en sustancias húmicas estabilizadas en lugar de $CH_4$. El proceso aeróbico contiene altos niveles de energía debido a que se genera un crecimiento y reproducción acelerada de microorganismos.

g) Nitrificación. El $NH_4$ es convertido en nitrito ($NO_2$) por las bacterias amino-oxidantes y posteriormente en nitrato ($NO_3$) por bacterias nitrito-oxidantes.

h) Desnitrificación. En condiciones de anoxia, las bacterias desnitrificantes convierten $NO_2$ y $NO_3$ en $N_2$ a través del óxido de nitrógeno ($N_2O$). Sin la combinación de estas reacciones aerobias y anóxicas, el $N_2$ no se puede quitar eficientemente de la matriz de RSU. Se pueden encontrar bacterias fijadoras de nitrógeno como: *Azotobacter* y *Azomonas.*

## 1.4 DEGRADACIÓN ACELERADA DE RESIDUOS Y CASOS DE ESTUDIO

Como se ha comentado anteriormente, el RESA es el método más utilizado para el tratamiento de los RSU en el mundo (OCDE, 2014) y los microorganismos son los principales responsable de la degradación de los RSU en biogás, lixiviados y residuos no biodegradables (Barlaz *et al.*, 1990; Márquez-Benavides, 2004). Esta degradación es variable en cada RESA debido a que factores como: la forma de explotar y operar el relleno, la cantidad de RSU retenidos, la compactación (tamaño

de partícula y densidad), la composición (rápidamente y lentamente biodegradable e inorgánico), la disponibilidad de nutrientes, la humedad (contenida inicialmente y adicionada), el material de cobertura (características del suelo y altura), el clima (temperatura, lluvia y radiación solar), entre otros (Tchobanoglous *et al.*, 1994), provocan que el control se complique y que su degradación se prolongue hasta 30 años o más para su estabilización, incluso después del cierre y clausura del sitio (Hernández-Berriel *et al.*, 2014; Reinhart *et al.*, 2002).

Por lo anterior se han realizado un sinnúmero de investigaciones para proponer e implementar las mejores técnicas de recirculación que aceleren la degradación y por lo tanto disminuyan el tiempo de estabilización de los RESA, así como los riesgos latentes de contaminación. Hace más de 30 años Pohland F. D., propuso adicionar agua y/o recircular lixiviados a los RSU y esta técnica es en la actualidad las más usada para estimular la actividad microbiana, proporcionando un mejor contacto entre los sustratos y los microorganismos a fin de crear mejores condiciones para su desarrollo y así acelerar la descomposición de los RSU, a estos sitios se les denomina como RESA-biorreactor (EPA. 2014; Reinhart *et al.*, 2002).

Las ventajas de su implementación son las siguientes: acelera el proceso de degradación, disminuye el tiempo para su estabilización hasta un 50%, reduce el costos del tratamiento y eliminación de lixiviados, prevé la contaminación de las aguas subterráneas, propicia la pronta aparición del biogás, acorta el periodo de producción de biogás, aumenta la tasa de producción del $CH_4$, reduce el potencial en el periodo de atención después del cierre y los costos de mantenimiento (Haydar & Khire, 2007; Jones-Lee & Lee, 2000), por tal motivo se han realizado estudios para determinar la mejor forma de operar un RESA mediante la recirculación de lixiviados, investigaciones como las que a continuación se describen:

Sponza & Ağdağ (2004) en Turquía, realizaron un estudio a escala en tres biorreactores anaeróbicos de 70 L. Los cuales simularon la degradación de un RESA-biorreactor con el objetivo de determinar los efectos de la recirculación y el % en volumen de recirculación. La operación consistió en: uno de ellos con recirculación de 9 L/día (13% Volumen del biorreactor) ($R_9$), al segundo 21 L/día (30% V) ($R_{21}$) y al tercero sin recirculación como control ($R_c$) por un periodo de 220 días, obteniendo como resultado que la recirculación redujo el tiempo de estabilización de los RSU mejoró la aparición del $CH_4$ siendo de 40 y 60% en los $R_9$ y $R_{21}$ en comparación con 10-25% en el $R_c$. El $R_9$ fue el mejor reactor en términos de decrecimiento de la materia orgánica, carbono, eficiencia de remoción y cantidad de volumen de residuos.

Benbelkacem *et al.* (2010) en Francia, operaron tres biorreactores escala de piloto de 1.2 $m^3$, investigaron el efecto de los modos de inyección de lixiviados y la producción de biogás a partir de 412 kg peso húmedo de RSU cargados en cada biorreactor. Consistió de un biorreactor A1 con una sola recirculación saturada con 390 L de lixiviados, un A2 al cual se le recirculó 8 L/día y un tercero A3 que le correspondieron 2 L/día por un periodo de 200 días. Dando como resultado que el A2 fue el primero que produjo biogás, así como el de mayor generación, confirmado que, el aumentar el contenido de humedad, es un parámetro clave para impulsar las reacciones biológicas y que la recirculación paulatina de lixiviados provee mejores resultados en términos de biogás que la saturación de lixiviado.

Cuartas-Hernández (2012) en España, realizó una reingeniería a un sistema de simulación de RESA denominado MODUELO V4 considerando tres subsistemas: hidrológico, biodegradación y asentamiento. En dicho simulador fue posible modelizar distintas estrategias de recirculación de lixiviados por lo que planteó tres casos: sin recirculación, con recirculación mediante riego superficial, que solo se

llevaría a cabo durante la explotación, y con recirculación por pozos, que se prolongaría en el periodo de posclausura. Obteniendo como resultado de las simulaciones prueba, que la recirculación de lixiviados por riego superficial y por pozos, favoreció la generación de biogás, aumentó la humedad máxima alcanzada y los asentamientos de los RSU en los RESA.

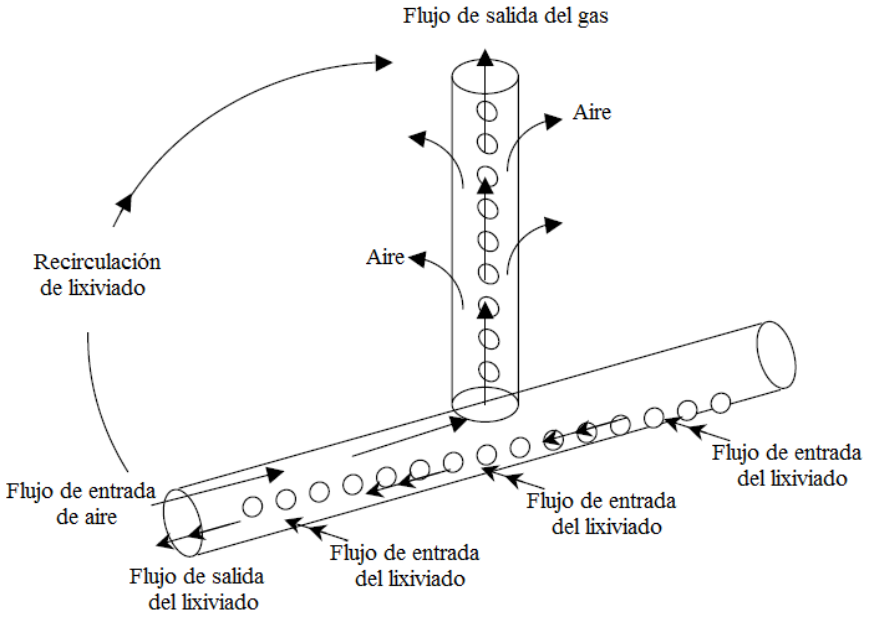
Hernández-Berriel (2010) en Michoacán, México, diseñó biorreactores escala laboratorio (BLAB) de 412.3 $cm^3$, y en ellos realizó una investigación para determinar la tasa de recirculación de lixiviados que provea las mejores condiciones para la degradación anaeróbica (DA) para obtener la mayor generación de $CH_4$. El intervalo estudiado correspondió de 15 a 120%V, los primeros diez BLAB fueron a nivel exploratorio para: un control (sin recirculación), 15, 30, 60 y 120%V de recirculación por duplicado. Los datos de remoción SVT, así como Holocelulosa/Lignina y C/N de los RSU mostraron que la tasa más alta de DA se produjo con la recirculación del 60%V. Por lo anterior se montaron 28 BLAB más, para obtener un estudio acotado de 40, 60 y 80%V más un control formando cinco grupos con siete réplicas, éstos se desmontaron periódicamente (uno de cada %V recirculado) por 201 días. Finalmente los resultados indican que la recirculación mayor al 80%V no son adecuadas para la biometanización de los RSU y el intervalo de 15 a 80%V, tienen una correlación directa de biodegradación de RSU con respecto de la generación de $CH_4$. En cuanto a la mayor generación $CH_4$ la tasa recomendada es 30 a 40% V.

Olay-Romero (2014) en Metepec, México, operó 30 BLAB anaeróbicos a dos tasas de recirculación (30% y 40%) y a dos frecuencias de recirculación de lixiviados (1 y 2 veces a la semana) con la finalidad de determinar el efecto en la degradación con estos tipos de operación. Obtuvo como resultado que el lixiviado inicialmente utilizado para la recirculación con valor de DQO menor a 5 500 mg/L retardó la aparición de la fase metanogénica, realizando un cambio de lixiviado por uno con

DQO de 44 000 mg/L, lo que favoreció considerablemente la generación de $CH_4$ en el biogás y que los BLAB con mayor tasa y menor frecuencia resultaron con mejor producción de biogás en cuanto al mayor contenido de $CH_4$.

Aunque en los últimos 15 años se han implementado técnicas para degradar los RSU de manera acelerada, el $CH_4$ sigue siendo emitido por los RESA y depósitos viejos de RSU en todo el mundo, representado el 11-12% mundial de las emisiones de $CH_4$, por lo que paralelamente a los estudios de aceleración de la degradación por medio de recirculación de lixiviados, se han efectuado investigaciones para establecer estrategias de operación en los RESA que contribuyan con la disminución de emisiones de biogás, así como la mejora continua en los procesos de tratamiento de los RSU (Ritzkowski & Stegmann, 2007). El desarrollo de RESA con aireación, se ha estudiado no solo porque disminuye de $CH_4$ emitido, sino porque el metabolismo aeróbico es energéticamente mejor en comparación con el anaeróbico, propiciando una tasa de degradación más alta (Erses *et al.*, 2008; Lee *et al.*, 2005).

En la cuidad de Fukuoka en Japón, el profesor Hanashima introdujo la operación de los RESA semi-aeróbico, los cuales se basan en el mecanismo de convección de calor (diferencia entre las temperaturas exterior e interior). Diseñó el RESA de tal manera que el aire ambiente ingresa naturalmente en la matriz de RSU a través de la tubería de recolección de lixiviados y por los pozos de venteo de biogás (Figura 1.12), reduciendo el proceso de estabilización hasta por 5 años. Dicha metodología adoptó el nombre de método Fukuoka (Shimaoka *et al.*, 2000). Por lo anterior se han llevado a cabo investigaciones haciendo uso de esta técnica en conjunto con la recirculación de lixiviados como las que enseguida se describen:




Fuente: Adaptado de Lee *et al.*, 2005

Figura 1.12 Sistema semi-aeróbico (Método Fukuoka).

Sinan *et al.* (2006) en Turquía, estudiaron el efecto de la recirculación de lixiviados en la degradación aeróbica y anaeróbica de RSU, utilizando cuatro reactores (50 cm de diámetro y 200 cm de altura) cargados con 176 ± 3 kg de residuos frescos. La operación consistió en un reactor aeróbico sin recirculación de lixiviados (A2) con un flujo de aire de 0.084 L/min*kg, otro aeróbico con recirculación (A1) con flujo de aire de 0.086 L/min*kg, ambos operados por 250 días, un tercer reactor anaeróbico sin recirculación (AN2) y un reactor anaeróbico con recirculación (AN1) por un periodo de 500 días. Se tiene como resultado que se recirculó el 53.3% de los lixiviados generados por el reactor A1 y el 49.5% del reactor AN1, por lo que la aireación disminuyó la humedad de los RSU aeróbicos, por lo tanto la generación de lixiviado de 29 L en el A1 fue menor en comparación con los 35 L del AN1. Las concentraciones más bajas de Demanda química de oxigeno (DQO), Amoniaco y Nitrógeno total Kjeldahl se obtuvieron en los A1 y A2. Es importante mencionar que este trabajo no presenta datos concretos de los parámetros indicados, solo presenta gráficos donde se pueden estimar dichas aseveraciones.

Erses *et al.* (2008) en Turquía, realizaron una comparación en la operación de dos biorreactores (aeróbico y anaeróbico) de 96 L, operados a una temperatura controlada de 32 °C. Los biorreactores se cargaron con 19.5 kg de RSU fraccionados con recirculación de lixiviados y las condiciones aeróbicas para el biorreactor aeróbico se efectuó mediante el uso de un compresor de aire a 2.2 L/min x cinco horas. El resultado de la experimentación indicó que el biorreactor aeróbico tuvo mayores eficiencias de remoción de orgánicos, nitrógeno, fosforo y metales que el biorreactor anaeróbico. El 90% de la DQO fue removida al día 70 por el biorreactor aeróbico en contraste con los 462 días del biorreactor anaeróbico. El tiempo de estabilización disminuye considerablemente cuando se utilizan procesos aeróbicos con recirculación de lixiviados en comparación con procesos anaeróbico con el mismo esquema de recirculación.

Aziz *et al.* (2010) en Malasia, hicieron una comparación en las características del lixiviado generado de dos RESA (20 parámetros): Uno de ellos basado en el método Fukuoka es un RESA semi-aeróbico (estanque aireado y estanque intermitente gaseoso) con recirculación de lixiviados que recibe 2 200 t/día, el segundo es un RESA-anaeróbico que recibe 240 t/día ambos con más de 10 años de operación y a las mismas condiciones de recirculación de lixiviados. Entre los resultados que se obtuvieron son: Fenol (1.2, 6.7, y 2.6 mg/L), Nitrógeno total (448, 1200 y 300 mg/L de N-TN), Amoníaco-N (542, 1 568 y 538 mg/L de $NH_3$-N), Nitrito (91, 49 y 52 mg/l $NO_2^-$-N), Fósforo total (21, 17 y 19 mg/L), $DBO_5$ (83, 243 y 326 mg / L), DQO (935, 2 345, y 1 892 mg/L), $DBO_5$/DQO (0.096, 0.1124 y 0.205 %), SS (906-374, 232-2220 y 1372-1374), pH (8.20, 8.28, y 7.76), entre otros, mostrando que los valores de los contaminantes del RESA-anaeróbico son ligeramente superiores a los del RESA semi-aeróbico (alto pH, baja $DBO_5$, y baja relación $DBO_5$/DQO) característicos de la fase metanogénica como RESA estabilizado.

Sun *et al.* (2011) en China, estudiaron los diferentes efectos del proceso recirculación de lixiviados (semi-aeróbico y anaeróbico). Con cuatro biorreactores de 91.9 L, dos de ellos con RSU frescos (F1 y F2) que operaron en condiciones semi-aeróbicas y anaeróbicas respectivamente, de los cuales su lixiviado se recirculó a dos biorreactores con RSU con 10 años haber sido dispuestos (A1 y A2) y sus lixiviados fueron inyectados en los F1 y F2. El proceso de recirculación aeróbica permite la reducción de la cantidad de lixiviado por evaporación y los resultados en sus parámetros de contaminación (DQO, AGV, carbono, amoniaco, fosforo y conductividad eléctrica) presenta valores bajos y el asentamiento de los RSU fue mayor, en comparación con el proceso de recirculación anaeróbico. Al final de experimento el asentamiento de los RSU en F1 y F2 fue de 35.5% y 18% respectivamente.

Las investigaciones anteriores han demostrado, que operar un RESA con recirculación de lixiviados y la variante “aire” puede proporcionar: una biodegradación de la FO de los RSU más rápida, minimizar los riesgos sanitarios y ambientales, permitir una mayor disponibilidad de espacio libre, así como extender la vida útil del RESA y reducir costos de gestión (Heyer *et al.,* 2005; Sang *et al.*, 2012). Con dichas técnicas implementadas se crean las condiciones propicias para que las poblaciones de microorganismos se desarrollen y degraden los RSU, incluso son indicadores del grado de estabilización de los RESA. Por lo anterior monitorear y caracterizar a los microorganismos aeróbicos y anaeróbicos de los RESA ha sido motivo para que paralelamente se lleven a cabo estudios a nivel microscópico. El estudio de la microbiología en los RESA comenzó en 1967 por Cook H., que concentró y aisló bacterias aeróbicas (Barlaz *et al.*, 1989), subsecuentemente se han realizado investigación donde se enumeran las bacterias fermentativas (Palmisano *et al.*, 1993; Pourcher *et al.*, 2001) o donde el lixiviado recirculado se inocula con microorganismos eficientes para propiciar la metalogénesis de los RSU (He *et al.*, 2005). A continuación se describen investigaciones que han abordado este tema:

Barlaz *et al.* (1989) en Estados Unidos de América (EUA), realizaron un estudio con 37 BLAB anaeróbicos con recirculación diaria de lixiviados, desmontando uno de ellos semanalmente para análisis microbiológicos (utilizando la técnica NMP para la enumeración de los microorganismos anaeróbicos, con la elaboración de medios específicos de cultivo) y químicos, por un periodo de 111 días. El objetivo fue caracterizar los microorganismos y los cambios químicos que ocurren en los RSU, durante la conversión anaeróbica en $CH_4$. Los resultados mostraron que en general las bacterias incrementaron, sin embargo los grupos celulolíticos y acetogénicos incrementaron lentamente en comparación con las metanogénicas después de la aparición del $CH_4$. La combinación de los resultados de la composición del biogás, los parámetros fisicoquímicos y el desarrollo microbiano formularon una descripción actualizada de la descomposición de los RSU en cuatro fases: aeróbica, ácida anaeróbica, producción acelerada de $CH_4$ y producción desaceleración de $CH_4$.

Palmisano *et al.* (1993) en EUA, muestrearon RSU de tres RESA para cultivar y enumerar las bacterias fermentativas (anaeróbicas y aeróbicas), así como estimar la población de microorganismos degradadores de polímeros (amilolítica y proteolítica) en los RSU, usando recuento microscópico directo. La densidad de bacterias anaeróbicas osciló en el rango de $10^5$ y $10^8$ UFC por gramo de peso seco de la muestra de RSU (UFC/g de RSUs) y las aeróbicas en el rango de $10^4$ y $10^7$ UFC/g de RSUs. Del total de las bacterias anaeróbicas encontradas en los RSU las bacterias que hidrolizan el almidón correspondieron a 0.2-14% y a las proteínas representa de un 0.6 -15%, lo anterior indicó que a pesar de las cantidades de microorganismos en el RESA, las bacterias que hidrolizan los polímeros representan un pequeño porcentaje de la población fermentativa.

Márquez-Benavides (2004) en Reino Unido, realizó un estudio acerca del efecto de la inclusión de diferentes tipos de suelos (turba de jardín, arenoso, calizo y franco

arenoso) como capas intermedias o las cubiertas en la degradación anaeróbica de un RESA, con el objetivo de comprobar que la inclusión de ellos permite el desarrollo de una DA de RSU y producción del $CH_4$ más vigorosa. Operó cinco pares de BLAB de 1 L, cuatro pares de BLAB contenían los RSU fraccionados y el suelo y otro par solo con RSU como referencia. La recirculación de lixiviados fue por 180 días. Realizó cuantificaciones de los consorcios microbianos: totales fermentativas, celulolíticas, hidrogenotróficas metanogénicas, acetoclásticas metanogénicas y sulfato-reductoreas con el método NMP. Los resultados mostraron que el suelo turba de jardín y el arenoso, influyó en el tiempo de estabilización especialmente en la fase acidogénica y el asentamiento de la Metanogénesis y que el suelo calizo deprimió las tasas de generación del $CH_4$. Respecto a las cuantificaciones de microorganismos en los RSU se obtuvo de 8.93, 1.83, 0.82, 1.79 y 1.23 Log células /g de RSUs, en la densidad de las bacterias fermentativas, celulolíticas, acetogénicas, hidrogénitroficas y Sulfato reductoras respectivamente.

Calli *et al.* (2006) en Turquía, estudiaron poblaciones microbianas que existen en los lixiviados de un RESA, provenientes de RSU de cinco años (K1), tres años (K2), cuatro meses (K3) y RSU frescos (K4) de disposición, para comparar los microorganismos que prevalecen en las diferentes fases de estabilización, así como su análisis químico. Uso las técnicas de identificación de fluorescencia de hibridación *in situ* (FISH), reacción en cadena de la polimerasa selectiva (PCR) y electroforesis en gel del gradiente desnaturalizante (DGGE). FISH reveló que había una correlación entre la abundancia de los metanógenos que utilizan acetato con la estabilidad de los RESA. Identificaron *Methanosarcina* y *Methanosaeta* consumidoras de acetato predominando en lixiviados jóvenes y maduros, y cantidades pequeñas de metanogénas consumidoras de $H_2$ (*Methanobacteriales* y *Methanomicrobiales* con DGGE). Existieron diferencias significativas de diversidad microbiana entre las diferentes secciones de un RESA en los diferentes tiempos de disposición.

Hirata *et al.* (2011) en Japón, compararon el mecanismo de estabilización de RSU con recirculación en un relleno semi-aeróbico con un sistema de aireación con parámetros fisicoquímicos y biológicos (bacterias aeróbicas y anaeróbicas totales). El estudio se realizó en biorreactores de 47.25 L por 1 100 días. Los mecanismos analizados fueron: aeróbicos (Ae), anaeróbico (An), semi-aeróbico (Se), semi-aeróbico con recirculación (SeR) y semi-aeróbico con recirculación con sistema de aireación (SeRA). Las enumeración de microorganismos ser realizaron en tres profundidades del biorreactor (superficie, medio y fondo). Se comprobó con los resultados de C y $N_2$ del lixiviado, que el sistema SeRA fue un mejor tratamiento que el sistema Ae. En cuanto a eliminación de $N_2$ los sistemas SeR y SeRA mostraron la eficacia de estabilización de los RSU superior que los otros sistemas. Por otra parte, el sistemar An mostró menor densidad no solo de bacterias aeróbicas ($10^5$ a $10^6$ UFC/g de RSUs) sino también de anaeróbicas ($10^6$ UFC/ g de RSUs). Los sistemas SeR y SeRA mostraron mayor densidad de bacterias aeróbicas ($10^7$ a $10^8$ UFC/ g de RSUs) que anaeróbicas ($10^6$ a $10^7$ UFC/ g de RSUs).

Martínez-Cámara, (2011) en Morelia, México, analizó el efecto de diferentes regímenes de humidificación vía recirculación de lixiviados sobre la densidad bacteriana de poblaciones celulolíticas (PC) y hemicelulolíticas (PHe), durante la DA de la FO de RSU, mediante la operación de 28 BLAB anaeróbicos de 412.3 $cm^3$, divididos en cuatro grupos de siete BLAB cada uno: un grupo como control sin recirculación y los restantes tres grupos con recirculación de 40, 60 y 80 % V dos veces a la semana, desmontándose uno de cada grupo gradualmente. El método de cuantificación para las PC y PHe fue por NMP y para las PC se usó como variante de análisis de tubos positivos la 3,5-DNS (concentración de azucares reductores). Obtuvo como resultado entre otros que las PC y PHe crecieron constantemente independientes del régimen de humificación empleado, y las mayores poblaciones de PC se encuentran en el régimen del 40%V (22 a 32 NMP/mL de PC) mientras que para las PHe las mayores se encuentran en el régimen 60% (16 a 51 NMP/mL).

Sang *et al.* (2012) en Japón, realizaron una revisión de los microorganismos de RESA-biorreactores para la estabilización acelerada de los RSU, donde los microorganismos en los RESA provocan diversas reacciones con las FO, las cuales están relacionadas con la recirculación de lixiviados con o sin aireación. Los estudios de enumeración y caracterización, han identificado parcialmente las especies dominantes de bacterias presentes en los RESA (Tabla 1.13). Sin embargo los datos obtenidos permanecen limitados a causa de las características heterogéneas de los RSU en cada RESA.

Tabla 1.13 Microorganismos en una muestra de RSU de RESA-biorreactor.

| RESA-biorreactor | Residuos tratados | Microorganismos dominantes |
|---|---|---|
| **Anaeróbico** | Residuos orgánicos sintéticos (ROS) | *Bacillus, Clostridium, Enterobacter, Escherichia, Empedobacter, Flavobacterium, Klebsiella, Lactobacillus, Leuconostoc, Providentia, Schineria, Sporanaerobacter, Thermacetogenium Methanoculleus bourgensis, Methanofolli, formosanus, Methanosphaera stadtmanae.* |
| **Semi-aeróbico** | RSU sin recirculación | *Clostridium ghoni, C. cluyveri, Shigella, Thermodesulfovibrio yellowstonii, Yersinia Pestis.* |
| | RSU con recirculación | *Listonella anguillarum, Pseudomonas.* |
| | Residuos sólidos industriales (RSI) sin recirculación | *Clostridium ghoni, Collinsella aeofaciens, Hydrogenobacter acidophilus, Rhodopseudomonas, Thrmotoga thermarum, Yersinia pestis.* |
| **Hibrido** | RSI con recirculación | *Clostridium josui, Pseudomonas stutzeri, Rhodospirillum rubrum, Thiomicrospira.* |
| | ROS con aireación intermintente y recirculación | *Arthrobacter, Bacteroidetes, Cycloclasticus, Clostridium cellulovorans, C. estertheticum, Desulfovibrio giganteus, Thermoactinomyces dichotomicus, Methanoculleus palmolei, Methanosarcina, Symbiont of Trimyema compress.* |
| **Aeróbico** | RSO con aireación continua y recirculación | *Azospirillum lipoferum, Bacteroidetes, Chlorobiaceae, bacterium, Desulforhopalus, vacuolatus, Natronoanaerobium salstagnum, Thermoactinomyces dichotomicus, Methanosarcina, Methanosphaera, Methanoculleus palmolei.* |

Fuente: Sang *et al.*, 2012

Fei *et al.* (2014) en EUA, duplicaron y caracterizaron los RSU obtenidos al excavar un RESA. Se reconstruyó la composición en dos simuladores de 37.1 L (simulador A) y 36.6 L (simulador B), con recirculación de lixiviados, por un periodo de 1 año. Utilizaron la técnica de identificación molecular de ADN-PCR. La concentración de ADN en el lixiviado se correlacionó con tasa de generación de metano ($r_{CH4}$) y tasa de reducción de volumen de muestra ($r_{Vt}$). El $r_{CH4}$ estaba relacionado con demanda química de oxigeno soluble en el lixiviado ($r_{sDQO}$) y $r_{Vt}$ cuando la biodegradación de residuos fue intensiva. Las estructuras de las comunidades arqueas en los lixiviados y RSU en ambos simuladores fueron similares y la *Methanobacteriaceae* fue la familia arquea dominante.

Las investigaciones anteriores han aportado un amplio conocimiento acerca de la estabilización acelerada de los sitios donde se disponen los RSU para su eliminación y han favorecido la toma de decisiones, respecto a la forma de operar un RESA a escala real, debido a que el objetivo común de dichos trabajos ha sido proporcionar herramientas (experimentadas y comprobadas) que contribuyan positivamente con la aceleración del proceso de degradación de los RSU. Sin embargo, como lo han expresado algunos autores, el estudio microbiológico de los RSU aún es limitado (Barlaz *et al.*, 1989; Sang *et al.*, 2012), por lo que continua siendo necesario ampliar el conocimiento de lo que ocurre internamente en el RESA desde el punto de vista microbiológico. El profundizar en dicho conocimiento ayudará a establecer estrategias que mejoren la operación de los sitios, acelerando la biodegradación en la matriz de los RSU y por ende, acorten los periodos de estabilización en los RESA, y disminuyan el riesgo ambiental y los costos posclausura.

# 2. PARTE EXPERIMENTAL

En la figura 2.1 se muestra el diagrama de flujo con las actividades realizada en la experimentación para caracterizar los microorganismos durante el proceso de degradación acelerada de los RSU con recirculación de lixiviados. Las actividades detalladas se describen en los apartados siguientes:

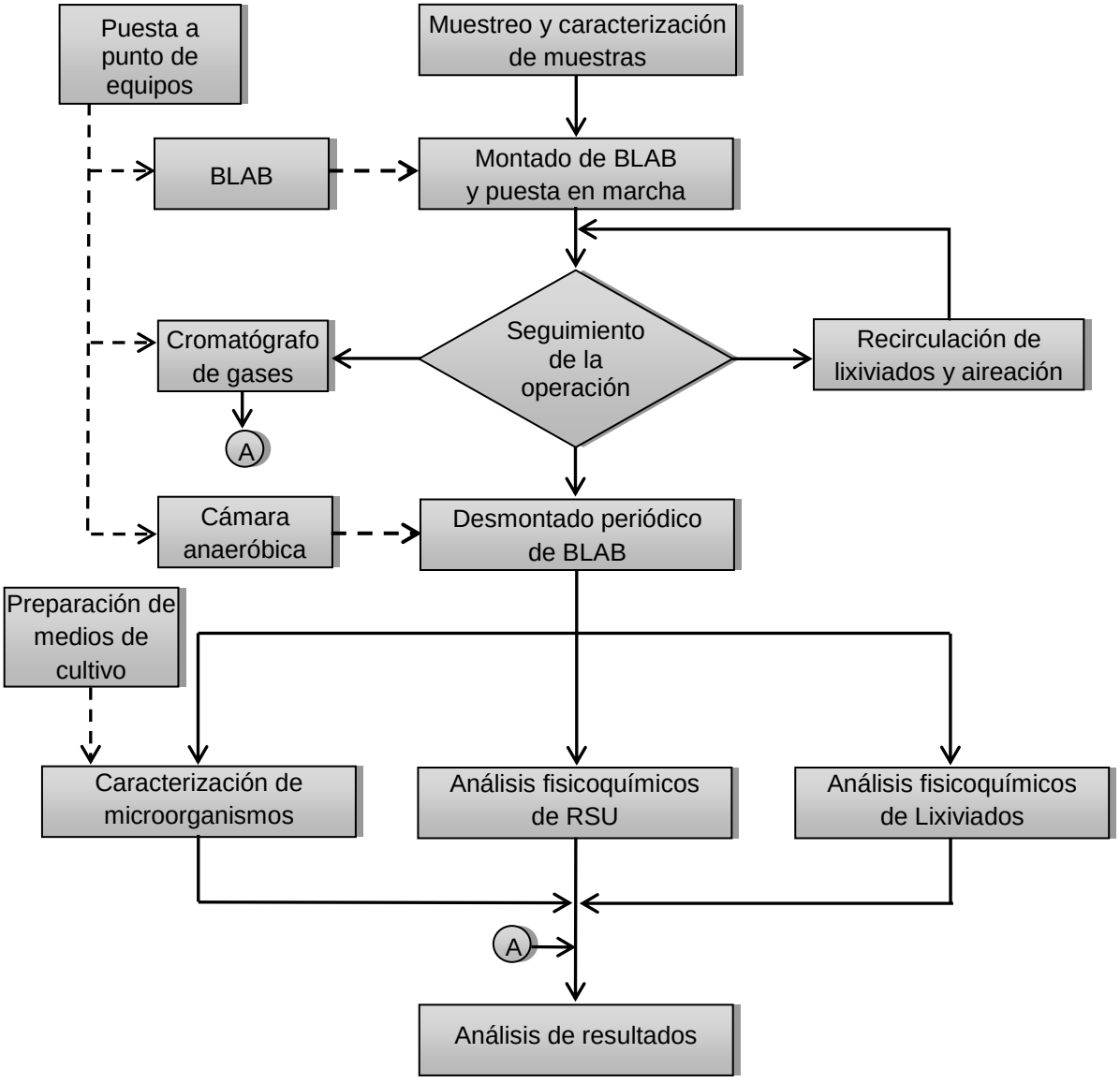



Figura 2.1 Diagrama de flujo del experimento

## 2.1. MUESTREO Y CARACTERIZACIÓN

Para la toma de muestra de RSU y Lixiviado, se seleccionó el RESA ubicado en el municipio de Zinacantepec, del Estado de México.

### 2.1.1 Residuos Sólidos Urbanos

Una vez seleccionado el sitio, se tomó la muestra de los RSU, realizando las actividades siguientes (SEMARNAT, 2014b):

a) Método de cuarteo. Los RSU frescos se tomaron del frente de trabajo de la celda tres. Conforme a la NMX-AA-015-1985 se formó un montículo de RSU mezclando hasta homogenizar, se dividió en cuatro partes aproximadamente iguales, se eliminaron las partes opuestas, se repitió hasta dejar un aproximado de 50 kg de RSU y se requisitó el formato de campo de dicha norma (Anexo A.1).

b) Peso volumétrico. Basado en la NMX-AA-019-1985, los RSU homogenizados y eliminados del primer cuarteo, se depositaron hasta tope en un recipiente de polietileno de 200 L (previamente pesado), golpeandolo contra el suelo tres veces, dejándolo caer a una altura de 10 cm, nuevamente se llenó hasta tope sin ejercer presión, se pesó y se restó el valor del recipiente para obtener el peso neto (Ec. 1.3). Finalmente se llenó el formato indicado en la norma (Anexo A.2).

c) Selección y cuantificación de subproductos. En el área de compostaje del Instituto Tecnológico de Toluca (ITT), los RSU se separaron en 27 subproductos como lo establece la NMX-AA-022-1985, colocándolos en bolsas previamente etiquetadas. Posteriormente se pesaron en una balanza granataria de capacidad de 10 kg con

sensibilidad de 1 gramo y el resultado se registró en la hoja de campo del anexo A.3, para obtener la composición porcentual de cada subproducto.

d) Preparación y caracterización fisicoquímica de los RSU. Los subproductos de los RSU se fraccionaron hasta un tamaño de particula aproximado de un $cm^2$, utilizando un mazó o martillo y cinsel para el material resistente (cerámica, material de construccion y vidro), tijeras y pinzas para el metal y madera, un molino de cuchillas para los residuos alimenticios y tijeras para los subproductos restantes. Una vez establecida la composición de los RSU a utilizar se preparó una mezcla para su caracterización fisicoquímica mediante las pruebas de laboratorio enlistadas en la tabla 2.1. Los subproductos fraccionados se pesaron en paquetes individuales, conforme a la densidad de compactación para este estudio (650 $kg/m^3$) y se mantuvieron a 4 °C (NMX-052-1985), hasta que fueron mezclados y cargados los BLAB.

Tabla 2.1 Parámetros para muestras de RSU.

| **PARÁMETROS** | **NORMAS/METODOS** |
|---|---|
| Temperatura (°C) | *NMX-AA-007-SCFI- 2013[c] |
| pH | NMX-AA-013-SCFI-2006[c] |
| Humedad, base húmeda (%Hbh) | NMX-AA-16-1984[c] |
| SVT (%) | Método 2540G[a] |
| Lignina (Lig) (%) | ASTM D1106-56 modificado [b] |
| Holocelulosa (Hol) (%) | Método de Clorito[d] |
| Materia Orgánica (MO) (%) | **NMX-AA-021-1985[c] |
| N (%) | NMX-AA-024-1984 [c] |
| C/N | NMX-AA-067-1985[c] |

*Se utiliza la norma de agua, porque carece de norma para residuos.
**Adaptada con base a capacitación de ICAMEX (Instituto de Investigación y Capacitación, Agropecuaria, Acuícola y Forestal del estado de México)
Fuente: [a]APHA, 2005; [b]Colin-Urrieta *et al.*, 2011; [c]Semarnat, 2014b; [d]Wise *et al.*, 1946

### 2.1.2 Lixiviados

Considerando que los lixiviados son aguas residuales del proceso de degradación de los RSU, se tomó una muestra de la fosa 2 con base a la NMX-AA-003-1980 (SEMARNAT, 2014b). Se utilizó un recipiente de polietileno de capacidad de 200 L (tanque), el cual se enjuagó con los mismos lixiviados, posteriormente con un bote de 20 L se tomaron lixiviados de dos puntos de la fosa y se vertieron aproximadamente 150 L en el tanque, éste se cerró con una tapa hermética y se trasladó al Laboratorio de Investigación de Ingeniería Ambiental (LIIA) del ITT, en donde se homogenizó los lixiviados y se tomó una muestra, a la cual se le hicieron las determinaciones indicadas en la tabla 2.2 para su caracterización. Cabe mencionar que las técnicas y métodos analíticos son para aguas residuales, por lo que se realizaron las diluciones necesarias para su aplicación.

Tabla 2.2 Parámetros fisicoquímicos para lixiviados

| PARÁMETROS | NORMAS/METODOS |
|---|---|
| *pH | NMX-AA-008-SCFI- 2011[b] |
| *Temperatura (°C) | NMX-AA-007-SCFI- 2013[b] |
| *Conductividad Electrolítica (CE) (mS/cm) | NMX-AA-93-SCFI-2000[b] |
| DQO (mg/L) | Método Dicromato, USEPA[a] |
| Solidos Totales (ST) y SVT (mg/L) | NMX-AA-034-SCFI- 2001[b] |

*Realizadas *in situ* en la toma de muestra
Fuente: [a]HACH, 1997; [b]SEMARNAT, 2014b.

## 2.2. PUESTA A PUNTO DE EQUIPOS

Previó al inició de la experimentación se aseguró que el equipo utilizado estuviera en condiciones de operación, por lo que se realizaron las actividades que se describen a continuación:

### 2.2.1 Biorreactores escala laboratorio

Los BLAB están construidos de PVC con tubería y tapas de 2” cédula 40 (C-40). El cuerpo de cada BLAB tiene un diámetro interno de 5.4 cm y una altura de 18 cm, dando como resultado un volumen total de 412.24 $cm^3$ (Hernández-Berriel, 2010). La puesta a punto de los BLAB se describe a continuación:

a) Acondicionamiento de componentes. Los BLAB han sido utilizados en otras investigaciones (Hernández-Berriel, 2010; Martinez-Cámara, 2011; Olay-Romero, 2014), por lo que cada uno de sus componentes se limpiaron, revisaron y repararon con pegamento para PVC (si fue necesario).

b) Ensamblado de BLAB y pruebas de hermeticidad. Se armaron 18 BLAB y debido a las necesidades de la investigación se dividieron en 12 BLAB de tipo anaeróbico (BLAB-AN) y seis BLAB de tipo aeróbico (BLAB-A). En la figura 2.2 se muestra un esquema general de un BLAB-AN y sus componentes.

   Para los BLAB-A se realizó una adecuación al diseño original basado en el método Fukuoka, que consistió en la inserción de un sistema de aireación, mediante un tubo de poliuretano de 4 mm de diametro interno, al cual se le hicieron perforaciones solo en la parte en contacto con los RSU con una broca de 0.15 mm, alternados en forma de cruz cada cm y en el extremo final se selló con flama (Figura 2.3). Los procedimientos para el ensamblado correcto de los BLAB-AN y BLAB-A se presentan en el anexo B.1. Posteriormente se realizaron pruebas de hermeticidad con la finalidad de prevenir fugas en la experimentación. Los pasos para realizar las pruebas se describen en la tabla B.3.

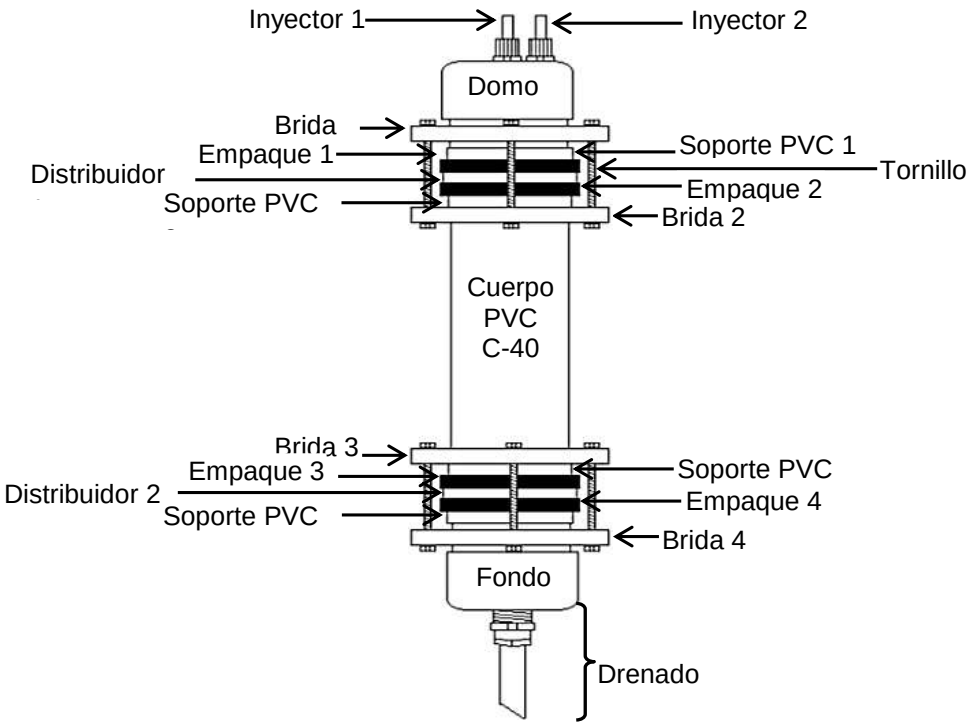



Figura 2.2 Esquema y componentes del BLAB-AN

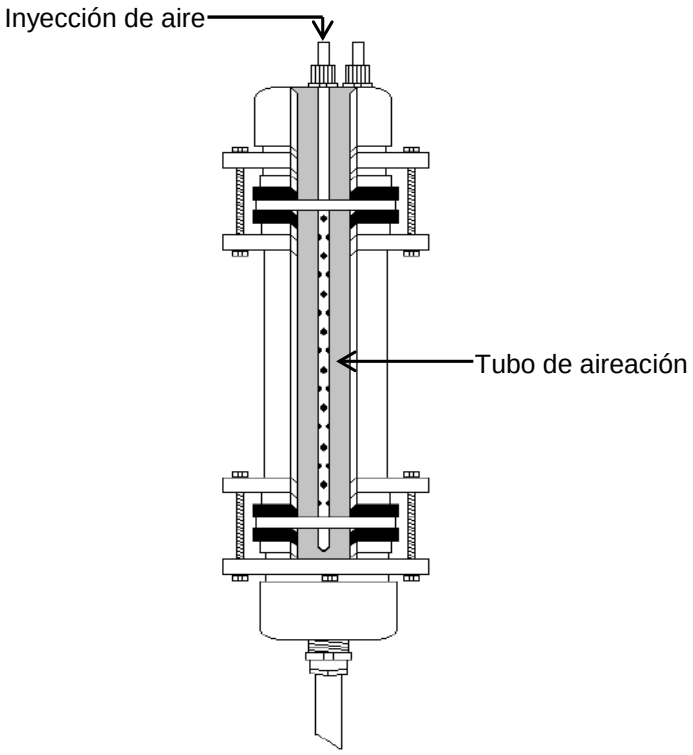



Figura 2.3 Esquema y adecuación del BLAB-A

c) Cargado de RSU en los BLAB. Los subproductos empaquetados de los RSU que se almacenaron a 4 °C se mezclaron, para reconstruir la composición de la muestra obtenida del RESA. A cada BLAB se le cargaron 267.93 g de RSU con el fin de tener una densidad de compactación para este estudio de 650 kg/m$^3$. Los BLAB-AN se cargaron quitando el domo y a los BLAB-A desmontando el fondo. Una vez que los RSU estuvieron dentro de los BLAB, se ensamblaron las partes correspondientes y se realizaron pruebas de hermeticidad con nitrógeno a los BLAB-AN y con aire a los BLAB-A.

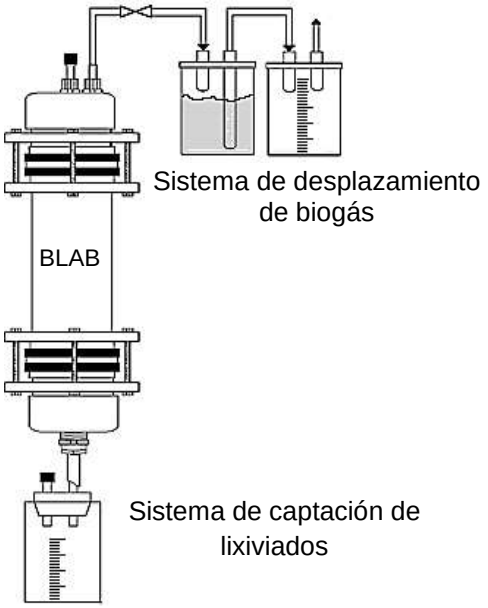



Figura 2.4 Instalado de BLAB con sistemas de biogás y lixiviado.

d) Instalación de BLAB con sistemas de biogás y lixiviado. A cada BLAB se le instaló un sistema de monitoreo de biogás en el inyector 2, que consistió en dos frascos de vidrio de 150 mL de capacidad, uno graduado (vacio) y otro con 120 mL de salmuera saturada de cloruro de sodio (NaCl) a un pH de 4.0. Cada frasco cuenta con tapones de hule que tiene insertadas dos varillas de vidrio y mantiene interconectados los frascos con mangera latex (Figura 2.4). En el fondo de cada BLAB se instaló un sistema de captación de lixiviados, conformado por un

recipiente graduado de vidrio de 410 mL, con un tapón de hule al que se le incrustaron dos varillas de vidrio con manguera de látex, una estuvo conectada al drenado del BLAB (Figura 2.4) y a la otra se tapó con un subaseal (tapon de hule para cierre hermético) (Hernández-Berriel, 2010).

### 2.2.2 Cromatógrafo de Gases

El equipo utilizado para la caracterización del biogás fue un cromatógrafo de gases (CG) Trace GC Ultra marca Thermo Electron Corporation (Figura 2.5), el cual opera con un detector de conductividad térmica (TCD). Se le instaló una columna capilar TG-BOND Q (marca Thermo Scientific), de 30 m x 0.32 mm x 10 μm. El gas de arrastre utilizado fue Helio con un flujo de 70.6 mL/min. En dicho CG se programó el método denominado "CH4_CO2_P6_AeAn", donde las temperaturas fueron: 200 $^{o}$C en Inyector, 180$^{o}$C en Block temp, 160 $^{o}$C en Trans temp, 33$^{o}$C en Horno, y 270$^{o}$C en el filamento. Se introdujeron curvas de calibración (Anexo B.2) inyectando muestras de gas estandar (50% v/v $CH_4$ y 50% v/v $CO_2$) a diferentes volumenes, de manera que las lecturas se pudieran obtener tanto en área como en %(v/v) en un lapso de 3 minutos. La curva para $CH_4$ tuvo un $R^2$ de 0.9980 (Figura B.17) y la de $CO_2$ de 0.9975 (Figura B.18). Los tiempos de retención se observaron en el cromatograma (Figura B.19) de 1.6 min en $CH_4$ y 2.07 min en $CO_2$. (Muñiz-De la Mora, 2002).

Figura 2.5 Cromatógrafo de gases TRACE GC Ultra

### 2.2.3 Cámara Anaeróbica

Para realizar la caracterización de los microorganismos anaerobicos se utilizó una cámara aneróbica (propiedad de la Universidad Michoacana de San Nicolas de Hidalgo), construida de acrílico transparente de 5mm de espesor (Baltierra-Trejo, 2007). Se revisó minuciosamente cada una de sus partes, así como en sus endiduras, posteriormente se realizó una prueba de hermeticidad y se corrigierón las fugas (Hernández-Contreras, 2013). Las dimensiones, los elementos que la conforman y el procedimiento para las pruebas de hermeticidad se muestran en el anexo B.3.

## 2.3. MONTADO DE BIORREACTORES Y PUESTA EN MARCHA

Los BLAB cargados con RSU y sellados herméticamente se colocaron en una área del LIIA con temperatura ambiente controlada de 26 ± 1 °C, en la cual se acondicionó una estructura metálica a la pared para sostener los 18 BLAB y sus respectivos sistemas de biogás y lixiviado (Figura 2.4). Se dividierón en tres grupos de seis BLAB que operaron a diferentes condiciones. Un grupo de BLAB operó anaerobicamente, sin recirculación de lixiviados y sin aireación, funcionando como controles o blancos (BLAB-B). El grupo de los BLAB-AN operaron con recirculación de lixiviados y el de los BLAB-A operó con recirculación de lixiviados e inyección de aire.

Tomando como antecedente los estudios de Hernández-Berriel (2010) y Olay-Romero (2014), la puesta en marcha de los BLAB-AN y BLAB-A consistió en inyectar a cada uno por la mañana 164.88 mL de los lixiviados muestreados en la fosa dos a un flujo de 2 mL/min. La inyección se realizó con una jeringa de 20 mL en el inyector 1 a los BLAB-AN y en el inyector 2 a los BLAB-A, a éstos últimos se les desconectó el sistema de medición de biogás durante la inyección. Adicionalmente por la tarde a

cada BLAB-A se le inyectó 27.5 mL/min de aire durante 15 min, tomando como base el flujo reportado por Sinan *et al.* (2006) y Sang *et al.* (2012) de 0.94 L/min-kg y con el fin de cubrir un volumen próximo al del cuerpo de un BLAB (412.23 mL).

## 2.4. SEGUIMIENTO DE LA OPERACIÓN Y DESMONTADO PERIÓDICO

Para este trabajo se consideró una tasa de recirculación de lixiviados de 40 %V y la frecuencia de una vez por semana (Hernández-Berriel, 2010; Olay-Romero, 2014). Las actividades para el seguimiento de la operación fueron las siguientes:

a) Recirculación de lixiviados. Los primeros lixiviados drenados (LD) de los BLAB-AN y BLAB-A se cuantificaron (medición y registro) a la semana de inicio de su operación. De cada BLAB se retiró del sistema de captación de lixiviados, colocando una pinza en la manguera de látex del fondo para evitar romper la anaerobiosis en el interior de los BLAB-AN. Los LD de cada grupo se mezclaron y una vez tomada la muestra para su caracterización fisicoquímica, se vertieron en el tanque de 200 L, que simuló la fosa del RESA. De este tanque fueron tomados los lixiviados para su recirculación a una tasa de 40%V (~165 mL), con una jeringa de 20 mL a un flujo de 2 mL/min. Los lixiviados recirculados (LR) se adicionaron a cada BLAB repitiendo semanalmente las actividades descritas desde la cuantificación de los LD. Para el caso de los BLAB-AN que se taponearon al recircular lixiviado, se colocó un globó con $N_2$ en el inyector 1 y se esperaró su drenado, mientras que en los BLAB-A se succionabá aire con una jeringa del contenedor de lixiviados, se espero a que drenará para recircular el lixiviado restante.

b) Aireación. La aireación se realizó diariamente de lunes a viernes con una jeringa de 20 mL, inyectando 27.5 mL/min de aire ambiente durante 7.5 min por la

mañana y 7.5 min por la tarde. Lo anterior fue con el fin de mantener aireados el mayor tiempo posible los RSU en los BLAB-A, sin exceder 412.23 mL y 0.94 L/min-kg (Sang *et al.,* 2012; Sinan *et al.*, 2006).

c) Desmontado de BLAB. Esta actividad se realizó periodicamente de acuerdo a los tiempo presentados en la tabla 2.3, con el fin de determinar el grado de degradación de los residuos y los microorganismos en las diferentes condiciones de operación. Los BLAB-A se desmontaron en una área en condiciones de asepsia, mientras que los BLAB-B y BLAB-AN dentro de la cámara anaeróbica.

Tabla 2.3 Programa de operación y desmontado de BLAB

| DÍAS / GRUPO | 17 | 38 | 66 | 101 | 143 | 223 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **BLAB-B** | | | | | | |
| **BLAB-AN** | | | | | | |
| **BLAB-A** | | | | | | |

Lo primero que se determinó al abrir cada BLAB (aeróbico o anaeróbico) fue el asentamiento de los RSU, para lo cual se midió con un vernier la diferencia de altura del filo del cuerpo del BLAB a los residuos y se estimó en porcentaje (%). Posteriormente se tomaron muestras de los residuos degradados y lixiviados para su caracterización fisicoquímica y microbiológica.

d) Caracterización fisicoquímica. A los LD y LR se les determinaron pH, temperatura y DQO en las semana 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 15, 18, 21, 25 y 32, así como CE, ST y SVT a los LD de los BLAB desmontados (Tabla 2.2). La generación de biogás de cada BLAB fue monitoreada diariamente mediante el sistema de desplazamiento de biogás y su caracterización se realizó semanalmente tomando una muestra de 5 mL con una jeringa en el inyector 1, la cual se transfirió inmediatamente a un vial de plástico con 10 mL de salmuera (pH 4) y tapado con un subaseal No. 33. El vial se invirtió para perdurar la muestra (Hernández-Berriel, 2010) y en un periodo no mayor a 2 h se realizó la lectura de la composición de $CH_4$ y $CO_2$ en el biogás en un CG (Figura 2.5). Los cálculos de la producción de estos gases se realizaron multiplicando su composición (%v/v) con el volumen de biogás normalizado. A los residuos descargados de los BLAB desmontados periódicamente se les analizaron los parámetros listados en la tabla 2.1, para determinar su grado de biodegradación y se estimó la capacidad de campo mediante la ecuación 1.6.

e) Análisis de resultados. Los resultados se conjuntaron en una hoja de cálculo y se analizaron estadísticamente mediante el software Minitab V.16 con pruebas de ANOVA y con Tukey (95% de significancia) para aquellos que fueron significativamente diferentes (Montgomery, 2004).

## 2.5. CARACTERIZACIÓN DE MICROORGANISMOS

Como se mencionó en el desmontado periódico, los BLAB-A se descargaron en un área aséptica y los BLAB-AN dentro de la cámara anaeróbica, donde aproximadamente 30 g de los RSU descargados, se colocaron en un vaso de licuadora desinfectado con cloro y enguajado con agua desionizada esteril a la que se le adicionaron 300 mL de solución buffer de pH 7.0, se licuaron por un minuto y se

filtraron en un embudo con algodón (previamente estériles); de la fase líquida resultante se tomó un mililitro para realizar pruebas microbiológicas. Por otro lado, para los LD se tomó un mililitro directamente del sistema de captación de lixiviados y para los LR se tomó un mililitro obtenido del grifo inferior del tanque de lixiviados, también para pruebas microbiológicas.

Para los BLAB-A se seleccionaron las bacterias mesófilas totales (Hassen *et al.*, 2002), así como hongos y levaduras y para los BLAB-B y BLAB-AN se eligieron los consorcios Celulolíticos, Fermentativos, Acetoclásticos Metanogénicos y Sulfato-reductoras (Barlaz *et al.,* 1989; Márquez Benavidez, 2004; Martínez-Cámara, 2011), para determinar el grado de biodegradación de la FO de los lixiviados y RSU.

### 2.5.1 Preparación de medios de cultivo

Para la caracterización de los microorganismos se usó un medio de cultivo específico que permitió el desarrollo de los consorcios seleccionados, por lo anterior para los BLAB-A se usaron medios de cultivo comerciales como el Agar nutritivo Triptona (TSA) para mesófilos y Agar Sabouraud (SAB) para hongos y levaduras. Para los BLAB-B y BLAB-AN fue necesario elaborar los medios de cultivo selectivos con sustratos específicos (celulosa, carbohidratos, acetato y sulfatos).

Dichos medios de cultivo se prepararon usando los equipos y el material indicado en el Anexo C.1, las soluciones base y reactivos que se indican en la tabla 2.4 y la preparación con las cantidades que se muestran en la tabla 2.5. Los procedimientos para la elaboración de cada uno de los medios de cultivo se adjuntan en el anexo C.1, los cuales se desarrollaron tomando como referencia los estudios de Barlaz *et al.* (1989) y Márquez-Benavides (2004)

Tabla 2.4 Soluciones base para medios de cultivo anaeróbico

| SOLUCION | REACTIVOS Y CANTIDAD |
|---|---|
| Solución de fosfatos (g/L) | $KH_2PO_4$, 16.1 y $K_2HPO_4$, 20.7 |
| Solución concentrada de fosfatos (g/100mL) | $KH_2PO_4$, 15 y $K_2HPO_4$, 22.14 |
| Solución de vitaminas (mg/L) | Biotina, 2; Ácido Fólico, 2; Hidrocloruro de Piridoxina, 20; Riboflavina, 30; Tiamina, 20; Acido Nicotínico 50; Ácido Pantoténico, 30; Vitamina B12, 20; Ácido ρ-aminobenzoico, 19; y Ácido α-lipóico, 20. |
| Solución M3 (g/L) | $NH_4Cl$, 10; NaCl, 9; $MgCl_2 \cdot 6H_20$, 2; y $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, 1 |
| Solución mineral (g/L) | Ácido Nitrilotriacético (EDTA), 15; $FeSO_2 \cdot 7H_20$, 0.1; $MnCl_2 \cdot 4H_20$, 0.1; $CoCl_2 \cdot 6H_20$, 0.17; $CaCl_2 \cdot 2H_20$, 0.1; $ZnSO_4$, $7H_20$ 0.1; $NiCl_2.6H_20$, 0.026; $CuCl_2$, 0.02; $H_3B0_3$, 0.01; $NaMoO_4 \cdot 2H_20$, 0.01; NaCl, 1.0; y $Na_2SeO_3$, 0.016. |
| Ácidos grasos volátiles (AGV) (en 100 mL) | Ácido Acético, 17 mL; Ácido Fenilacético, 0.0068 g; Ácido 3-Fenilpropionico, 0.0075 g; Ácido Propiónico, 6 mL; Ácido Butírico, 4 mL; Ácido Isobutírico, 1 mL; Ácido n-valérico, 1 mL; Ácido Iso-valérico, 1 mL. El pH de la solución debe ser ajustado a 7.5 con NaOH. |
| Carbohidrátos (g/L) | Celobiosa, 9.01; Glucosa, 4.51; Maltosa, 9.01; Xilosa, 3.75; Galactosa, 4.51; Arabionosa, 3.75; Manosa, 4.51 y Ácido Galacturónico 5.3. |
| Resazurina | Solución al 0.1% (w/v) |
| Hidroclururo de Cisteína | Solución al 5% (w/v) |
| $Na_2CO_3$ | Solución al 8% (w/v) |
| Solución de dilución (L) | $KH_2PO_4$, 16.1 g; $K_2HPO_4$, 20.7 g; resarzurina al 0.1%, 2 mL y HCl Cisteina al 5%, 10 mL. |
| Solución de dispersión (g/L) | $KH_2PO_4$, 3.85; $K_2HPO_4$, 6.15; Solución 0.01M |

Fuente: Barlaz *et al.*, 1989; Márquez Benavidez, 2004.

Tabla 2.5 Cantidad de soluciones y reactivos para medios de cultivo

| SOLUCIÓN\REACTIVO (L de medio) | MEDIOS DE CULTIVO | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Celulítico | Fermentativo | Acetoclástico Metanogénico | Sulfato-reductor |
| Fosfatos (mL) | 100 | 100 | - | - |
| Fosfatos conc. (mL) | - | - | 0.1 | - |
| M3 (mL) | 100 | 100 | 100 | - |
| Mineral (mL) | 10 | 10 | 10 | - |
| Vitaminas (mL) | 10 | 10 | 10 | - |
| Resazurina al 1% (mL) | 2 | 2 | 2 | - |
| AGV (mL) | 10 | 10 | - | - |
| Extracto de levadura (g) | 1 | 1 | 2 | 1 |
| Peptona tripticaseina (g) | 2 | 2 | 2 | - |
| Bicarbonato de sodio (g) | - | - | 0.5 | - |
| *Carbohidrátos (mL) | - | 100 | - | - |
| *Acetato de sodio (g) | - | - | 6.56 | - |
| *Celulosa (g) | 4 | - | - | - |
| Almidón (g) | - | 0.41 | - | - |
| Glicerol 1.8% (mL) | - | 10 | - | - |
| $Na_2CO_3$ al 8%(mL) | 50 | 50 | - | - |
| HCl Cisteína al 5% (mL) | 10 | 10 | 10 | - |
| *$(NH_4)_2SO_4$ (g) | - | - | - | 7 |
| Lactato de Na (mL) | - | - | - | 6 |
| $NH_4Cl$ (g) | - | - | - | 1 |
| $KH_2PO_4$ (g) | - | - | - | 0.5 |
| Citrato de Na.$2H_2O$ (g) | - | - | - | 0.3 |
| *$FeSO_4.7H_2O$ (g) | - | - | - | 0.1 |
| $CaCl_2.H_2O$ (g) | - | - | - | 0.06 |
| *$MgSO_4.7H_2O$ (g) | - | - | - | 0.06 |
| Triglicolato de Na (g) | - | - | - | 0.1 |

* Sustrato específico
Fuente: Barlaz *et al.*, 1989; Márquez Benavidez, 2004.

### 2.5.2 Cuantificación de Microorganismos

Para la cuantificación de los microorganismos se consideró la densidad de población de las bacterias, usando el método de Cuenta en placa para la enumeración de microorganismos aeróbicos (Hassen *et al.*, 2002; Hirata *et al.*, 2011), mientras que para los anaerobios se utilizó el método NMP (Barlaz *et al.*, 1989; Márquez-Benavides, 2004; Martínez-Cámara, 2011). Como innovación, en este trabajo se propuso el uso del método de FM para anaerobios, debido a que no existe estudio

alguno que haya realizado cuantificaciones en RSU y lixiviados con este método, aunado a que es más preciso que NMP (Hernández-Contreras, 2013).

Estos métodos cuentan con normativa en México para su uso, siendo la NOM-092-SSA1-1994 para cuenta de bacterias aerobias en placa, la NMX-AA-42-1987 para NMP y NMX-AA-102-SCFI-2006 para FM. La técnica FM fue establecida para cuantificar microorganismos aerobios o facultativos, por lo anterior se realizaron adecuaciones a lo indicado en la NMX-AA-102-SCFI-2006 para la incubación de microorganismos anaerobios en RSU y en lixiviados. En el anexo C.2 se detallan los procedimientos para los métodos NMP y FM, y en la tabla 2.6 se listan los equipos y materiales utilizados (CONAGUA, 2014a; CONAGUA, 2014b).

Tabla 2.6 Materiales y equipo de seguridad para cultivos anaerobios

| METODO | EQUIPOS | MATERIALES |
|---|---|---|
| **NMP**[a] | **SEGURIDAD** | ▪ Pipetas o micropipetas de 1mL |
| | ▪ Bata de algodón | ▪ Perilla de 3 vías |
| | ▪ Guantes de neopreno o látex | ▪ Gradilla |
| | | ▪ Tubos de dilución (9mL de DI) |
| | ▪ Lentes de seguridad | ▪ Tubos con medio de cultivo |
| | ▪ Cubrebocas o mascarilla | ▪ Puntas para micropipeta |
| | | ▪ Algodón |
| | **EQUIPOS LABORATORIO** | ▪ Encendedor |
| | ▪ Cámara anaeróbica | ▪ Gas $N_2$ |
| | ▪ Incubadora | |
| **FM**[b] | **SEGURIDAD** | ▪ Cajas Petri 47mm (cP) |
| | ▪ Bata de algodón | ▪ Dosificador de PADs |
| | ▪ Guantes de neopreno o látex | ▪ Gas $N_2$ |
| | | ▪ Matraz Kitazato |
| | ▪ Lentes de seguridad | ▪ Medio de Cultivo |
| | ▪ Cubrebocas o mascarilla | ▪ Membranas 0.45µM 47mm |
| | | ▪ PADs |
| | **EQUIPOS LABORATORIO** | ▪ Pinzas para membrana |
| | ▪ Bomba de vacío | ▪ Perilla de 3 vías |
| | ▪ Cámara anaeróbica | ▪ Pipetas de 1, 2 y 10 mL |
| | ▪ Incubadora | ▪ Solución dispersante |
| | | ▪ Soporte magnético para Filtros |
| | | ▪ Tubos de dilución (9mL de DI) |

Fuente: [a]CONAGUA, 2014a; [b] CONAGUA, 2014b.

Debido a que el método FM para la cuantificación de microorganismos anaeróbicos es introductorio, previo a este experimento se realizó una prueba comparativa, donde se tomaron muestras de RSU degradados y de LD de cuatro BLAB, que operaron anaeróbicamente a una tasa de recirculación 40% V dos veces por semana (Olay-Romero, 2014), se cuantificaron con ambos métodos (NMP y FM) y se compararon los resultados por medio de gráficas (Anexo C.3).

Después del desmontado de cada BLAB y obtenidas las muestra de RSU y Lixiviados, éstas se diluyeron sucesivamente hasta una concentración de $1x10^{-6}$, para sembrar por triplicado en los tubos para NMP y por duplicado en las cP para Cuenta en placa y para FM, incubándose como se indica en anexo C.2. Una vez transcurrido el periodo de incubación respectivo a cada tipo de microorganismo, se cuantificaron con base a las normas. Sin embargo la técnica NMP tiene como peculiaridad ser un método cualitativo, a diferencia de las técnicas de Cuenta en placa y FM que son cuantitativas, por lo que para homologar el criterios en todo el proceso, se elaboró la tabla 2.7 para determinar en la observación si un tubo se iba a considerar positivo (+) o negativo (-), comparándolo con el tubo sin inocular (control) (CONAGUA, 2014a; CONAGUA, 2014b; Hernández-Contreras, 2013; Márquez-Benavidez, 2004).

Los resultados de cuantificación de los microorganismos se concentraron en una hoja de cálculo organizada por tipo de: Operación del BLAB, Consorcio de microorganismos, Muestra y Método utilizado. Posteriormente se graficaron para mostrar las dinámicas de crecimientos, que describieron el desarrollando los microorganismos durante el proceso de la biodegradación acelerada de RSU con recirculación de lixiviados. Finalmente se llevaron a cabo los análisis estadísticos con Minitab V.16 y SPSS, determinándose mediante el coeficiente de correlación de Pearson (p), que entre  más cercano a 1 positivo fue su valor, mejor fue el grado de relación entre los métodos NMP y FM (Montgomery, 2004).

Tabla 2.7 Criterios de selección de tubos (+) para NMP

| Microorganismo | CRITERIO 1 Sustrato | CRITERIO 2 Turbidez y Gas |
|---|---|---|
| Celulolítico | Sí hubo una visual desaparición de celulosa en el tubo [a; c] | Sí el medio líquido del tubo presentó turbidez evidente[b] |
| Fermentativo | NA | Sí el medio líquido del tubo presentó turbidez[b] y si por espectrofotómetro se obtiene una densidad óptica > a 0.1 a 640 ηm de longitud de onda [a; c] |
| Metanogénico | Sí dentro del tubo Durham hubo gas derivado de la conversión del acetato de sodio en $CH_4$ y $CO_2$ [a; c] | Sí el medio líquido del tubo presentó turbidez evidente y se formó gas dentro de los tubos Durham. [b] |
| Sulfato-reductor | Si el tubo presentó precipitado color negro como resultado de la conversión de sulfatos [a; c] | Sí el medio líquido del tubo presentó turbidez evidente[b] |

NA: No aplica
Fuente: [a]Barlaz *et al.*, 1989, [b]CONAGUA, 2014; [c] Márquez-Benavides, 2004.

### 2.5.3 Caracterización e identificación de microorganismos

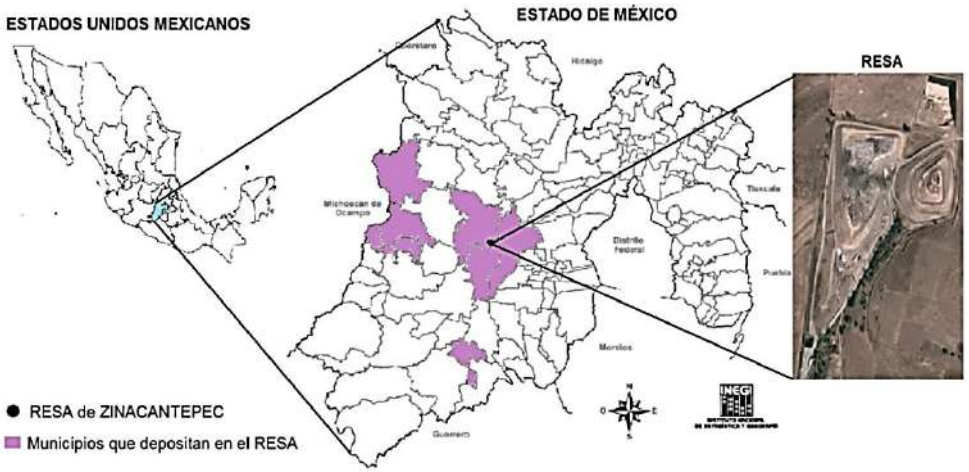
Después de haber cuantificado los microorganismos, se seleccionó un tubo (NMP) o una UFC de una cP (FM). Inicialmente se observaron y registraron en una hoja de cálculo sus características morfológicas a simple vista (macroscópica) como: color, forma, elevación, borde, etc., posteriormente se realizó un frotis, se tiñó con Gram y se observó en un microscopio óptico de luz visible (microscopia), para identificar su clasificación Gram, la forma celular y agrupación. La información se concentró en una hoja de cálculo dinámica para determinar los microorganismos predominantes y finalmente se compararon con reportes referenciados que contienen las descripciones de las especies, con el fin de identificar tentativamente cada microorganismo

# 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este apartado se encuentran los resultados obtenidos en el proceso de biodegradación acelerada de RSU con recirculación de lixiviados a una tasa del 40 %V una vez a la semana, por un periodo de 223 días.

## 3.1 MUESTREO Y CARACTERIZACIÓN

Los RSU y lixiviados muestreados se tomaron del RESA ubicado en el kilómetro 11.5 de la carretera Toluca-Zitacuaro, Ejido de San Luís Mextepec, Municipio de Zinacantepec, al sureste del Estado de México (Figura 3.1), cuyas coordenadas son 19°19´43´´ de latitud norte y a los 99°46´20´´ de longitud oeste del meridiano de Wreenwich. Tiene una superficie de 6.7 ha aproximadamente. El clima del sitio es templado subhúmedo con temperaturas que oscilan entre 20°C en verano y 5°C bajo cero en invierno (INEGI, 2010). Actualmente recibe alrededor de 650 t/día, provenientes de los municipios de: Almoloya de Alquisiras, Almoloya de Juárez, Donato Guerra, San José del Rincón, Toluca, Villa de Allende, y Zinacantepec (MASERA, 2007; Mendoza, 2015).




Fuente: Adaptado de INEGI, 2010; MASERA, 2007; Mendoza, 2015

Figura 3.1 Ubicación y municipios que disponen en el RESA de Zinacantepec

### 3.1.1 Residuos sólidos urbanos

Los RSU son depositados en el RESA directamente del camión recolector a la celda en operación, donde los segregadores primarios (pepenadores) seleccionan el material con valor económico para su venta (cartón, latas, vidrio, PET y HDPE). Con una retroexcavadora (Figura 3.2), del frente de trabajo se tomó una muestra de aproximadamente 250 kg de RSU antes de que fueran compactados y se obtuvo 55.11 kg (Figura 3.3) mediante el método de cuarteo (Anexo A.1). El peso volumétrico *in situ* (Figura 3.4) fue de 382.5 kg/m$^3$ (Anexo A.2), valor menor al de 1 191 kg/m$^3$ reportado por Delgado-Hernández (2013) debido a que estos RSU ya habían sido compactados. La muestra de RSU se separaró manualmente (Figura 3.5) y se pesó cada subproducto (Figura 3.6 y Anexo A.3), se fraccionó y se almacenaron en paquetes individuales (Figura 3.7).

Figura 3.2 Toma de muestra

Figura 3.3 Montículo de RSU para cuarteo

Figura 3.4 Peso volumétrico

Figura 3.5 Separación manual

Figura 3.6 Pesado de subproductos

Figura 3.7 Paquetes individuales

Cabe mencionar que algunos tipos de RSU por sus características no se pudieron clasificar dentro de los 27 subproductos que lista la NMX-AA-022-1985, por lo que se adicionaron; éstos fueron: Electrónicos (cables, circuitos electrónicos, focos y lámparas ahorradoras), Medicamentos (sonda de hospital, blisters y frascos con y sin medicamento) y Varios (retenidos en la criba y que por su grado de descomposición no se pudieron identificar). La composición porcentual se presenta en la tabla 3.1, junto con las caracterizaciones obtenidas en el mismo RESA por Delgado-Hernández (2013) y Olay-Romero (2014) en 2012 y 2013, respectivamente.

Tabla 3.8 Composición de RSU en el RESA de 2012-2014

| No. | SUBPRODUCTO | COMPOSICIÓN (%) | | |
|---|---|---|---|---|
| | | 2012[a] | 2013[b] | 2014** |
| 1 | Algodón | 0.00 | 0.00 | 0.004 |
| 2 | Cartón | 3.21 | 2.68 | 11.52 |
| 3 | Cuero | 0.00 | 1.61 | 0.05 |
| 4 | Residuo fino | 21.94 | 12.90 | 13.29 |
| 5 | Envase de cartón encerado | 1.60 | 2.26 | 1.25 |
| 6 | Fibra dura vegetal | 1.77 | 1.05 | 1.01 |
| 7 | Fibras sintéticas | 0.00 | 0.00 | 3.22 |
| 8 | Hueso | 0.34 | 0.71 | 0.55 |
| 9 | Hule | 1.27 | 1.37 | 0.05 |
| 10 | Lata | 0.00 | 0.00 | 0.07 |
| 11 | Loza y cerámica | 0.84 | 0.96 | 0.62 |
| 12 | Madera | 0.68 | 0.66 | 0.22 |
| 13 | Material de construcción | 4.39 | 5.31 | 2.95 |
| 14 | Material ferroso | 1.35 | 0.79 | 1.81 |
| 15 | Material no ferroso | 0.25 | 0.23 | 0.17 |
| 16 | Papel | 4.73 | 4.94 | 4.61 |
| 17 | Pañal desechable | 7.85 | 8.48 | 3.88 |
| 18 | Plástico de película | 8.52 | 14.03 | 14.76 |
| 19 | Plástico rígido | 4.73 | 5.48 | 5.96 |
| 20 | Poliuretano | 0.00 | 0.00 | 0.83 |
| 21 | Poliestireno expandido | 0.51 | 0.44 | 0.06 |
| 22 | Residuos alimenticios | 3.71 | 9.56 | 5.86 |
| 23 | Residuos de jardinería | 1.86 | 0.35 | 4.46 |
| 24 | Trapo | 2.78 | 3.62 | 5.47 |
| 25 | Vidrio de color | 3.88 | 1.28 | 0.33 |
| 26 | Vidrio transparente | 0.00 | 0.00 | 1.05 |
| 27 | Otros | 0.00 | 0.29 | 0.10 |
| *28 | Material de fundición | 1.69 | 1.47 | 0.00 |
| *29 | Electrónicos | 0.08 | 0.18 | 0.10 |
| *30 | Medicamentos | 0.51 | 0.09 | 0.15 |
| *31 | Varios | 21.52 | 19.27 | 15.60 |

*Adicionales a la norma; **Este trabajo
Fuente: [a]Delgado-Hernández, 2013; [b]Olay-Romero, 2014

Su puede observar en la tabla 3.1 que por tercer año consecutivo los: Varios, Residuos finos y Plástico de película representaron el mayor porcentaje. Este último aunque no es representativo en peso, si lo es en volumen, pudiendo causar interferencias en la degradación de los RSU debido a sus características de lenta biodegradabilidad, por lo que se requiere plantear alternativas que disminuyan su volumen en los RESA (Rabell-Contreras *et al.*, 2013). Por otra parte los subproductos como: Latas (0.07%), Vidrio (1.38%), Plástico rígido (5.96%) y Carton (11.51%); se encuentran en menor porcentaje con respecto a la media nacional de 1.7%, 5.9%, 10.9% y 13.8% respectivamente, como resultado de la recuperación por los segregadores primarios en el RESA (SEMARNAT, 2014a). Con respecto a los Residuos alimenticios, éstos se encontraron en un punto intermedio entre los reportados por Delgado-Hernández (2013) y Olay-Romero (2014), debido a que los tres muestreos se realizaron en tiempo de estiaje La FO fue de 30.41%, considerando además de los componentes incluidos en la Ec. 1.13 los de huesos, fibra dura vegetal, algodón y un 50% de los pañales; la cual es menor a la media nacional reportada por SEMARNAT(2014) y a los estudios de Erses *et al.* (2008), Hernández-Berriel *et al.* (2014) y Sponza & Ağdağ (2004), de 52.4%, 45%, 73.15% y 75-95% respectivamente, lo que confirma que los hábitos de consumo, estratos socioeconómicos, cultura social, entre otros, propician diferencias en la composición de los RSU dispuestos en cada RESA.

Para la preparación de la muestra a ser cargada en los BLAB y con la finalidad de dar continuidad y seguimiento a los estudios escala piloto del 2012 (Delgado-Hernández, 2013) y escala laboratorio del 2013 (Olay-Romero, 2014), en este trabajo se replicó la composición del año 2012 (Tabla 3.2), con el incremento en el porcentaje de alimentos de 3.71% a 14.68% y disminución de los residuos finos de 21.94% a 10.97% como se realizó en el 2013; la FO con esta composición fue 31.03%, poco mayor a la obtenida en el muestreo de este estudio. Las cantidades de Vidrio blanco y de color se sumaron, así como el Material no ferroso y Latas, debido

a las pequeñas cantidades por pesar para realizar la mezcla de los componentes. Las diferencias en peso se deben a que Olay-Romero (2014) utilizó una densidad de compactación de 800 kg/m$^3$ y en este trabajo fue de 650 kg/m$^3$.

Tabla 3.9 Subproductos de los RSU cargados en cada BLAB

| No. | RESIDUO | COMPOSICIÓN (%) | PESO (g) 2013[a] 800 | **2014 650 kg/m$^3$ |
|---|---|---|---|---|
| 1 | Cartón | 3.21 | 10.59 | 8.60 |
| *2 | Residuo fino | 10.97 | 36.17 | 29.39 |
| 3 | Envase de cartón encerado | 1.60 | 5.28 | 4.29 |
| 4 | Fibra dura vegetal | 1.77 | 5.84 | 4.74 |
| 5 | Hueso | 0.34 | 1.12 | 0.91 |
| 6 | Hule | 1.27 | 4.19 | 3.40 |
| 7 | Loza y cerámica | 0.84 | 2.77 | 2.25 |
| 8 | Madera | 0.68 | 2.24 | 1.82 |
| 9 | Material de construcción | 4.39 | 14.48 | 11.76 |
| 10 | Material ferroso | 1.35 | 4.45 | 3.62 |
| 11 | Material no ferroso y latas | 0.25 | 0.82 | 0.67 |
| 12 | Papel | 4.73 | 15.60 | 12.67 |
| 13 | Pañal desechable | 4.98 | 16.42 | 13.34 |
| 14 | Plástico de película | 8.52 | 28.10 | 22.83 |
| 15 | Plástico rígido | 4.73 | 15.60 | 12.67 |
| 16 | Poliestireno expandido | 0.51 | 1.68 | 1.37 |
| *17 | Residuos alimenticios | 14.68 | 48.41 | 39.33 |
| 18 | Residuos de jardinería | 1.86 | 6.13 | 4.98 |
| 19 | Trapo | 2.78 | 9.17 | 7.45 |
| 20 | Vidrio (color y transparente) | 3.88 | 12.79 | 10.40 |
| 21 | Higiénicos | 2.87 | 9.46 | 7.69 |
| 22 | Material de fundición | 1.69 | 5.57 | 4.53 |
| 23 | Electrónicos | 0.08 | 0.26 | 0.21 |
| 24 | Medicamentos | 0.50 | 1.68 | 1.37 |
| 25 | Varios | 21.52 | 70.96 | 57.66 |
| | TOTAL | 100.00 | 329.76 | 267.93 |

*Subproductos modificados en %; **Este trabajo
Fuente: [a]Olay-Romero, 2014

Posteriormente se hizó una mezcla compuesta de los subproductos para la caracterización fisicoquímica (Tabla 2.1), cuyos resultados se presentan en la tabla 3.3, así como los resultados de los trabajos del 2012 y 2013 (Delgado-Hernández, 2013; Olay-Romero, 2014). Como puede observarse la caracterización obtenida fue

similar a la reportada en el 2013, con excepción de SVT y C/N, lo cual puede atribuirse a los subproductos muestreados y a que el contenido de humedad en los RSU de este trabajo fue mayor, mientras que la caracterización del 2012 es visiblemente diferente debido a las consideraciones realizadas en cuanto a los residuos alimenticios y finos.

Tabla 3.10 Caracterización fisicoquímica de los RSU iniciales

| | VALORES | | |
|---|---|---|---|
| **PARÁMETROS** | **2012*** | **2013**** | **2014***** |
| Temperatura (°C) | NR | NR | 19.50 ± 0.43 |
| pH | 8.94 ± 0.16 | 7.0 ± NR | 7.25 ± 0.31 |
| Humedad (%Hbh) | 25.29 ± 14.6 | 23.5 ± 0.01 | 26.38 ± 2.11 |
| SVT (%) | 46.18 ± 29.36 | 57.35 ± NR | 64.77 ± 4.25 |
| Lig (%) | NR | NR | 63.50 ± 1.67 |
| Hol (%) | NR | NR | 82.89 ± 0.23 |
| MO (%) | 19.56 ± NR | 24.03 ± NR | 24.89 ± 2.34 |
| N (%) | 0.72 ± NR | 0.6 ± NR | 0.42 ± 0.04 |
| C/N | 14.52 | 23.22 | 31.69 |

NR (No reportado). *Delgado-Hernández, 2013; **Olay-Romero, 2014; ***Este trabajo

### 3.1.2 Lixiviados

La cantidad de muestra de lixiviados de la Fosa 2 fue de 133 L (Figura 3.8). Su caracterización fisicoquímica (Tabla 2.2) y los resultados de los dos años anteriores se presentan en la tabla 3.4. Se puede observar que los valores de los LJ del 2013 y los del 2014 son similares debido que fueron tomados de la misma fosa 2 (Figura 3.9) y el que la DQO sea menor en 2014 se puede atribuir a la biodegradación durante el año transcurrido. Los valores de los lixiviados muestreados en 2012 y los LM del 2013 son parecidos pues fueron de la fosa 1. Conforme a los valores de DQO, ST y SVT, los lixiviados de esta investigación están en el rango de LJ (Tchobanoglous et al., 1994), lo cual puede influir en una pronta aparición de $CH_4$ (Olay-Romero, 2014).

Figura 3.8 Tanque con muestra de lixiviados

Figura 3.9 Fosa dos de lixiviados del RESA

Tabla 3.11 Caracterización fisicoquímica inicial del lixiviado

| PARÁMETROS | RESULTADOS 2012* | 2013** (LM) | 2013** (LJ) | 2014*** |
|---|---|---|---|---|
| pH | 8.37 ± 0.07 | 6.90 ± 0.01 | 6.80 ± NR | 7.72 ± 0.00 |
| Temperatura (°C) | 18.00 ± NR | 18.00 ± NR | 18.00 ± 0.38 | 17.70 ± 0.05 |
| CE (mS/cm) | NR | 17.95 ± 0.11 | 3.58 ± 0.11 | 13.70 ± 0.10 |
| DQO (mg/L) | 5 937 ± 53 | 5 323 ± NR | 44 766 ± NR | 30 333 ± 404 |
| ST (mg/L) | 12 008 ± 130 | NR | NR | 24 337 ± 353 |
| SVT (mg/L) | 3 633 ± 94 | NR | NR | 9 648 ± 70 |

NR (No reportado); LM (Lixiviados Maduros); LJ (Lixiviados Jóvenes)
*Delgado-Hernández, 2013; **Olay-Romero, 2014; ***Este trabajo

## 3.2 SEGUIMIENTO DE LA OPERACIÓN Y DESMONTADO PERIÓDICO

Una vez colocados los BLAB en el área de biorreactores del LIIA (Figura 3.10), se consideró como inició de la operación el día 8 de junio del 2014 según lo indicado en la parte experimental. La operación se realizó durante 223 días, similar a los tiempos reportados por Benbelkacem *et al.* (2010), Hernández-Berriel *et al.* (2014), Olay-Romero (2014) y Sponza & Ağdağ (2004) de 200, 201, 253 y 220 días respectivamente.

Figura 3.10 BLAB para inicio de operación

### 3.2.1 Lixiviados recirculados y drenados

Los BLAB-B asignados como controles no produjeron lixiviados durante la operación (LD-B). A continuación se muestran los resultados del seguimiento de parámetros de los lixiviados (Tabla 2.2) durante la operación de los BLAB:

a) Dinámicas de lixiviados recirculados y drenados. Con base a lo programado en la parte experimental se realizaron 32 recirculaciones, haciendo un total de 28.710 L de LR, de los cuales a cada BLAB-AN y BLAB-A se le recirculó un total de 14.355 L. Respecto a los LD, se obtuvo que los BLAB-AN drenaron 13.422 L (LD-AN), mientras que los BLAB-A drenaron 347 mL menos (13.075 L) (LD-A), esta diferencia se atribuye a que con la aireación se propició un efecto de secado. En la figura de 3.11 puede observarse que los LD-AN y los LD-A igualaron prácticamente a los LR en la segunda semana. Los LD-AN fueron más variables que los LD-A, debido a que la aireación influyó en su lixiviación. De acuerdo al

análisis estadístico ANOVA, no se encontró diferencia significativa entre los LD-A y los LD-AN (Anexo D.1).

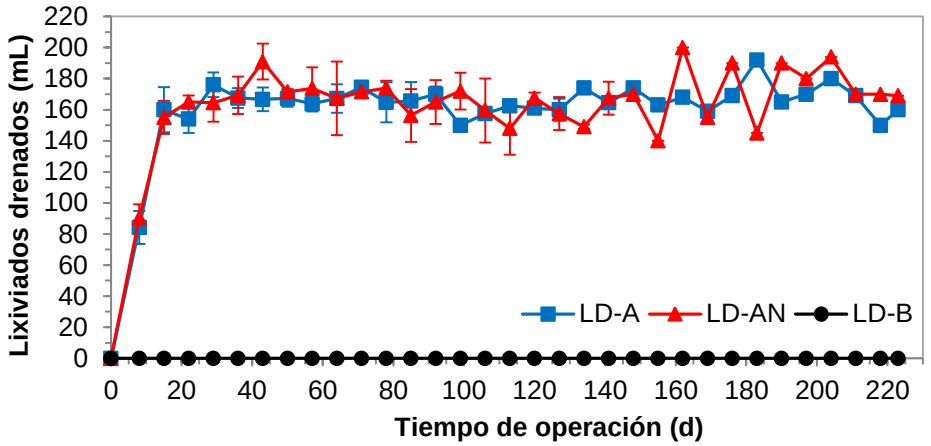
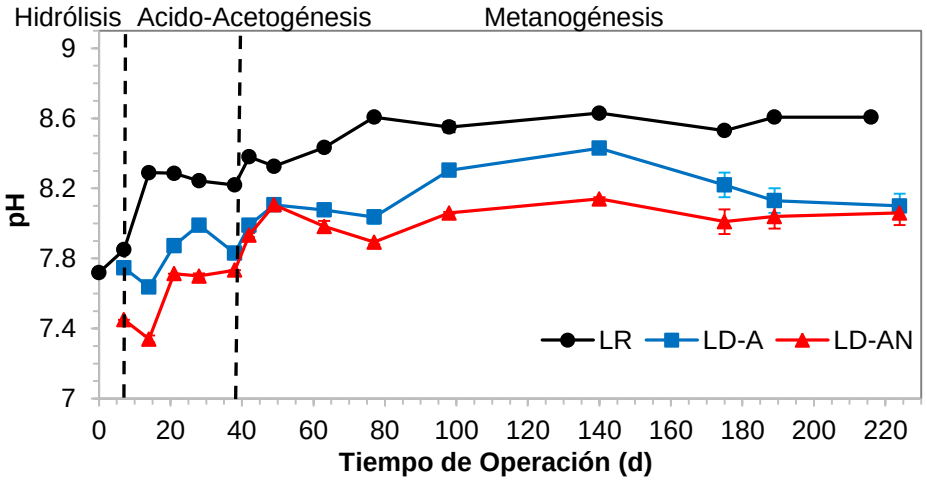



Figura 3.11 Lixiviados drenados

b) Dinámicas de pH. El seguimiento del pH se muestra en la figura 3.12, donde los lixiviados de la Fosa 2 inyectados tuvieron un valor de 7.72 ± 0.05 (Tabla 3.4), el cual fue lijeramente alcalino y similar a los reportados por Aziz *et al.*, (2010), Lee *et al.* (2012) y Sun *et al.* (2011), de 7.76, 7.7-7.3 y 7.5 respectivamente al iniciar sus experimentos. Los primeros LD mostraron un pH cercano a la neutralidad, ésto puede atribuirse a que al pasar por la matriz de RSU algunos AOV se incorporaron a los lixiviados inyectados (Sang *et al.*, 2012; Sponza & Ağdağ, 2004). Con este descenso de pH se infirió el término de la etapa de Hidrólisis e inició de las etapas Acido-Acetogénica. Se decidió denominar así debido a que no fue posible delimitar el término de Acidogénesis e inicio de la Acetogénesis, puesto que los LD no presentaron valores menores de 7.0 y a que no se determinaron AOV y/o ácido acético como parámetro para establecer la fase acetogénica (Madigan *et al.*, 2009; Sang *et al.*, 2012; Tchobanoglous *et al.,* 1994). Posteriormente los valores de pH en los LD se incrementaron, dando inicio la fase metanogénica el día 38, el cual se estableció con respecto a la concentración de

40 %v/v de $CH_4$ en el biogás producido (Hernández-Berriel, 2010). Debido a que los LR se mezclaron en el tanque con los lixiviados traidos del RESA, el pH se mantuvo superior a 8.2. El análisis estadístico determinó que el pH de los LR tuvo diferencias significativas respecto al pH de los LD-A y los LD-AN (Anexo D.1).



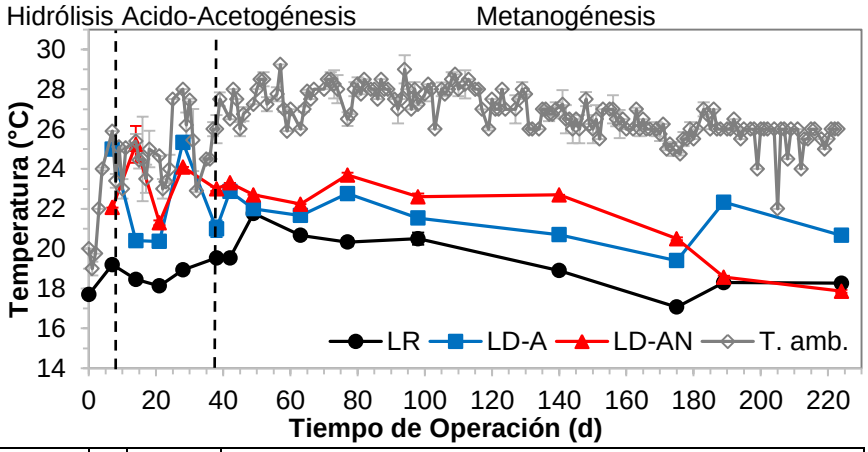

| Prueba Tukey | ND | AN-A ≠ LR | AN = A ≠ LR |
|---|---|---|---|

ND, No determinado por falta de datos
AN-A ≠ LR, Diferencia significativa de los LR con los LD-AN y los LD-A.

Figura 3.12 Dinámicas de pH en lixiviados

c) Dinámicas de temperatura. En la figura 3.13, se puede observar la tendencia de este parámetro en los LR y LD, así como la temperatura controlada en el area de biorreactores del LIIA (T. amb.), la cual aumentó gradualmente hasta mantenerse el día 40 a 26.8 ± 1.13°C. Al respecto, el lixiviado inyectado inicialmente tuvo una temperatura de 17.7°C, la cual aumentó en los primeros LD-A a 25.0°C y en los LD-AN a 22.1°C, lo anterior pudo ser debido a que los lixiviados inyectados proporcionaron humedad en la matriz de RSU, la cual aumentó la actividad de los microorganismos, aunado a que los microorganismos mesófilos se desarrollan a esta temperatura, generando calor (Gerardi, 2003; Madigan *et al.*, 2009; Tchobanoglous *et al.*, 1994). Posteriormente los LD y LR descendieron lentamente hasta mantenerse en temperaturas que oscilaron entre los 19 y 23°C. El análisis

estadístico determinó que respecto a la temperatura, los LR son significativamente diferentes a las temperaturas de los LD-A y los LD-AN.




| Prueba Tukey | ND | AN-A ≠ LR | AN = A ≠ LR |
|---|---|---|---|

ND, No determinado por falta de datos
AN-A ≠ LR, Diferencia significativa de los LR con los LD-AN y los LD-A.

Figura 3.13 Dinámicas de temperatura en lixiviados

d) Dinámicas de la conductividad electrolítica. Esta prueba se realizó en los LD de los BLAB desmontados, así como sus LR correspondientes. El acotamiento de fases de biodegradación corresponde a lo establecido en las dinámicas de pH, ya que con este parámetro no fueron perceptibles. Como puede observarse en la figura 3.14 los lixiviados iniciales presentaron un valor de 13.7 mS/cm de CE, establecido dentro del rango usado por Aziz *et al.* (2010) de 10-14 mS/cm y de Sinan *et al.* (2006) de 10-20 mS/cm en sus lixiviados iniciales. Dicha CE, obtenida de los LD del primer desmontando, decreció menos de un mS/cm en los LD-AN y LD-A, a diferencia de Hernández-Berriel (2010) que aumentó de 13.54 a19.14 mS/cm en los primeros LD, debido al uso agua en la primera inyección. El día 66 se observó un aumento en la CE hasta 15.5 y 14.9 mS/cm en los LD-AN y LD-A respectivamente, lo cual se atribuyó a que los lixiviados de la octava recirculación diluyeron y arrastraron iones de la matriz de RSU. Posteriormente la CE decreció lentamente, de manera similar a las dinámicas de CE de Olay-Romero (2014) y

Sinan *et al.* (2006). La prueba de ANOVA indicó que no se tuvieron diferencias significativas en la CE de los LD-AN, LD-A y LR.

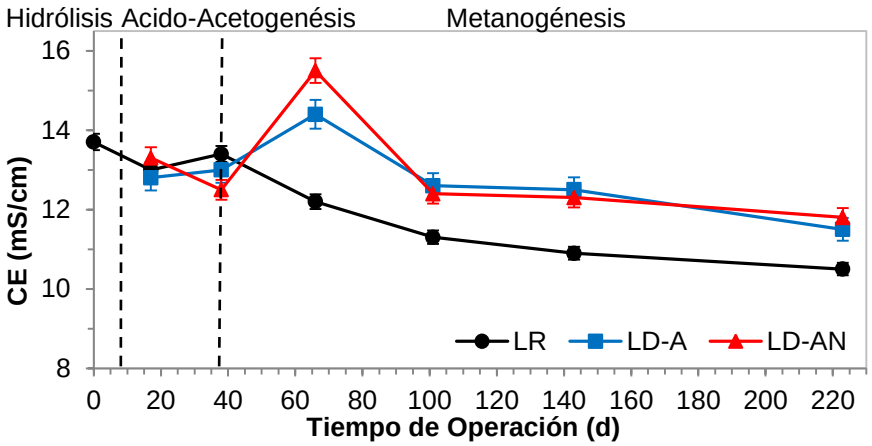



Figura 3.14 Dinámicas de CE en lixiviados

e) Dinámicas de DQO. Este parámetro se determinó en los LD y LR en las semanas indicadas en la metodología, así como en los LD de los BLAB desmontados periodicamente. El lixiviado inicial (Tabla 3.4) presentó una DQO de 30 333 mg/L, cercano a los valores de los lixiviados iniciales de 37 000, 38 000, 40 000 mg/L reportados por Flores-González (2011), Sponza & Ağdağ (2004) y Sinan *et al.* (2006) respectivamente, por lo que se consideró como un LJ (Tchobanoglous *et al.,* 1994). Los valores mayores de DQO se obtuvieron en los primeros LD (40 900 mg/L en los LD-AN y 34 866 mg/L en los LD-A), lo cual puede atribuirse a que el paso de los lixiviados por la matriz de RSU, arrastró MO. Posteriormente se puede observar en la figura 3.15 un descenso rápido en la fase Acido-Acetogénica, como resultado de la biodegradación acelerada (Chugh *et al.*, 1998), seguido de un descenso gradual en la fase Metanogénica. Al término del experimento se alcanzaron concentraciones 7 616, 2 416 y 1 633 mg/L en los LR, LD-AN y LD-A, respectivamente. En general la tendencia de DQO fue descendente como en los trabajos de Márquez-Benavides (2004) y Hernández Berriel, *et al.* (2014), lo cual

corrobora que la recirculación es un tratamiento *in situ* para la degradación de la carga orgánica en los lixiviados. La remoción de DQO en los BLAB-A (95.3%) fue mayor que en los BLAB-AN (94.0%), coincidiendo con lo reportado por Aziz *et al.* (2010), Erses *et al.* (2008), He *et al.* (2012), Lee *et al.* (2012) y Sinan *et al.* (2006); sin embargo en este trabajo estadísticamente no se encontraron diferencias significativas entre los LD-AN, LD-A y LR para este parámetro.

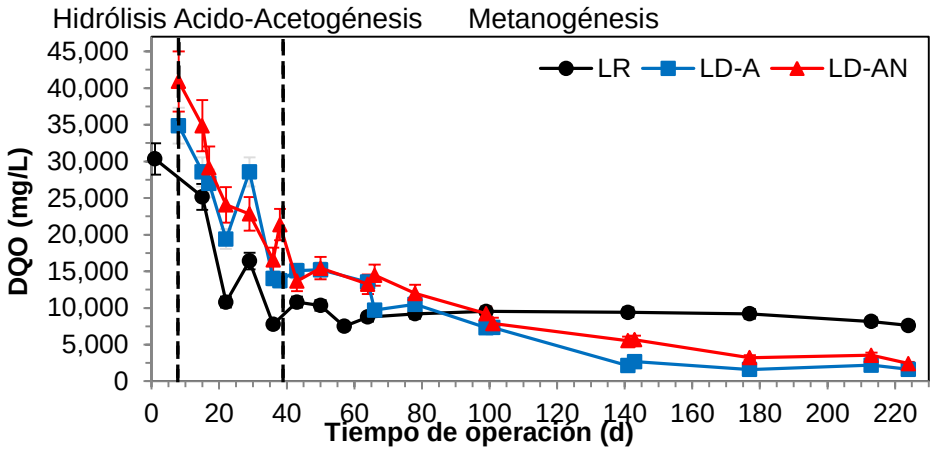
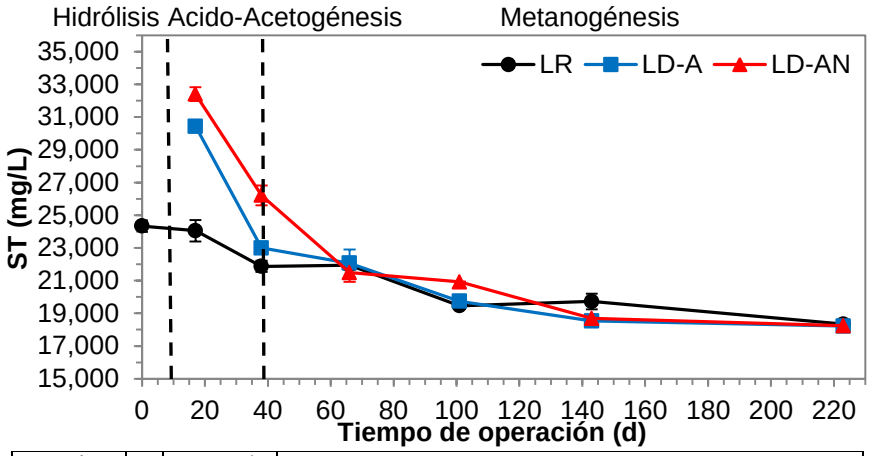



Figura 3.15 Dinámicas de DQO en lixiviados

f) Dinámicas de ST y SVT. En la figura 3.16 se muestra la dinámica de ST en los lixiviados. Los lixiviados iniciales tuvieron una concentración de 24 337 mg/L y como ocurrió en el parámetro de DQO, los LD de la primera recirculación tuvieron un aumento en la concentración (32 400 mg/L en los LD-AN y 30 433 mg/L en los LD-A), debido a la disolución y arrastre de componentes orgánicos e inorgánicos (Hernández-Berriel *et al.,* 2014; Sinan *et al.,* 2006), los ST decrecieron rápidamente en la fase de Acido-Acetogénesis establecida por pH y se mantuvieron en constante descenso hasta 18 238 y 18 222 mg/L en los LD-AN y LD-A respectivamente. El análisis estadístico indicó diferencias significativas de los ST en la fase Acido-Acetogénica entre los LD-AN y los LR, mientras que los LD-A no tuvieron diferencias con los LD-AN ni con los LR.




| Prueba Tukey | ND | AN-A ≠ A-LR | Sin ≠ |
|---|---|---|---|

ND, No determinado por falta de datos
AN-A ≠ A-LR, Diferencia significativa entre los LD-AN y los LR, los LD-A no tienen diferencias con los LD-AN ni con los LR.
Sin ≠, No hay diferencia significativa entre los LD-AN, LD-A y LR.

Figura 3.16 Dinámicas de ST en lixiviados

Respecto a los SVT, los lixiviados iniciales tuvieron un valor de 9 648 mg/L y sus dinámicas (Figura 3.17) fueron similares a los ST. En los LD sus concentraciones más altas fueron de 13 500 y 12 150 mg/L en los LD-AN y LD-A respectivamente, las cuales descendieron hasta lograr remociones de SVT del 50.54% en los LD-AN y de 60.61% en los LD-A al final de la experimentación. Con la disminución en la concentración de ST y SVT se puede asumir que hubo biodegradación de la MO en los lixiviados y que la operación aeróbica fue mejor (Aziz *et al.,* 2010; Erses *et al.,* 2008), sin embargo, los valores obtenidos en este parametro no lo reflejaron. Respecto la prueba estadística de ANOVA no existen diferencias significativas en los LD-AN y LD-A ni en los LR. Lo anterior explica que los diferentes tipos de operación de los BLAB no influyen significativamente en la degradación de SVT de los lixiviados.

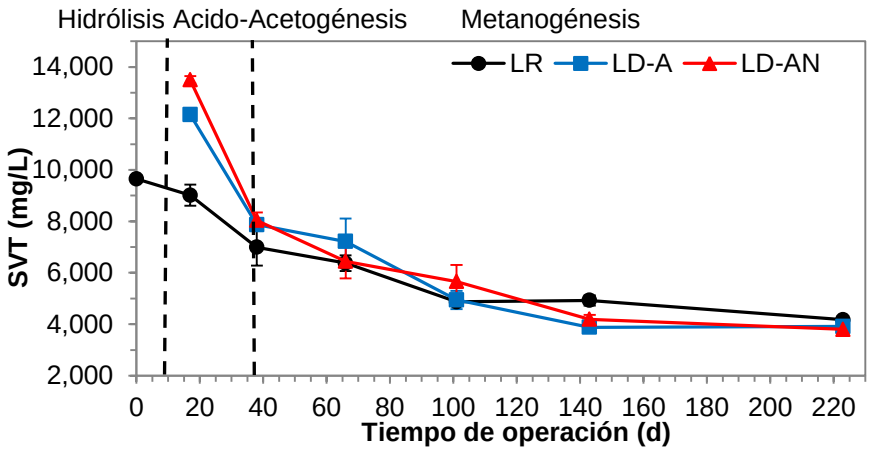


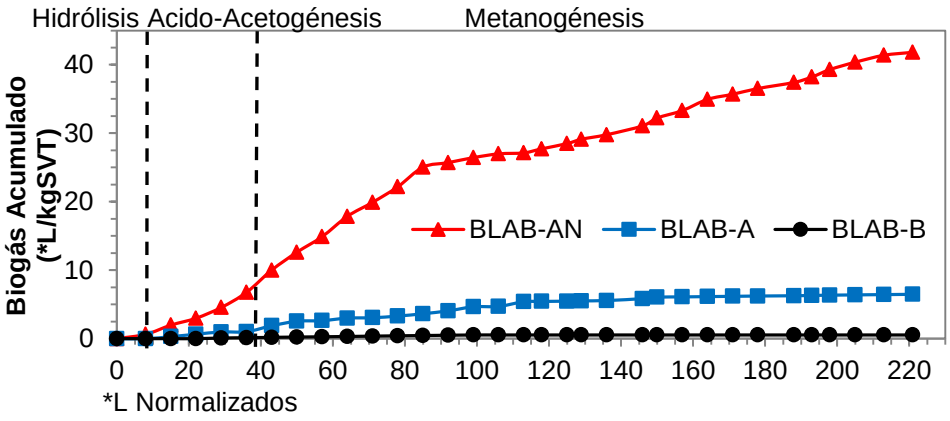

Figura 3.17 Dinámicas de SVT en lixiviados

### 3.2.2 Producción de biogás

Se detectó producción de biogás al día siguiente de la primera inyección de lixiviados en los BLAB-AN al igual que en el experimento de Benbelkacem *et al.* (2010) en biorreactores escala piloto, los BLAB-A registraron biogás hasta los siete días, mientras que los BLAB-B tuvieron su primer desplazamiento el día 23; a diferencia de Hernández-Berriel (2010), donde el biogás se detectó hasta los 24 días en BLAB con recirculación al 40 %V dos veces por semana y de Olay-Romero (2013), que reportó generación hasta el día 26 para BLAB al 40 %V una y dos veces por semana. La pronta aparición de biogás en este estudio se puede atribuir a que se recircularon LJ con 30 333 mg DQO/L en los lixiviados iniciales, valor alto en comparación con el útilizado (5 323 mg DQO/L) por Olay-Romero (2014) y Hernández-Berriel (2010) que inició con agua potable.

La producción acumulada de biogás se muestra en la figura 3.18, donde los BLAB-AN produjeron un total de 41.8 L normalizados/kgSVT de biogás, producción mayor a la reportada por Olay-Romero (2014) de 7.42 y 5.1 L/kgSVT en BLAB de 40%V una y

dos veces por semana respectivamente; la diferencia se debió a que se utilizó LJ desde el principio de la operación. Los BLAB-A produjeron 84.5% menos biogás (6.5 L/kgSVT) que los BLAB-AN, debido a que la aireación redujo la producción de biogás (Ritzkowski & Stegmann, 2007). Por otro lado se pudó corroborar que operar biorreactores con recirculación de lixiviados propicia una mayor producción de biogás que en aquellos que operan como tumba seca, ya que los BLAB-B produjeron solo 0.5 L/kgSVT.




| Prueba Tukey | ND | AN ≠ A-B | AN ≠ A ≠ B |
|---|---|---|---|

ND, No determinado por falta de datos
AN ≠ A-B, Diferencia significativa de los BLAB-AN con los BLAB-A y con los BLAB-B
AN ≠ A≠ B, Diferencia significativa entre los BLAB-AN, BLAB-A y BLAB-B.

Figura 3.18 Producción de acumulada de Biogás.

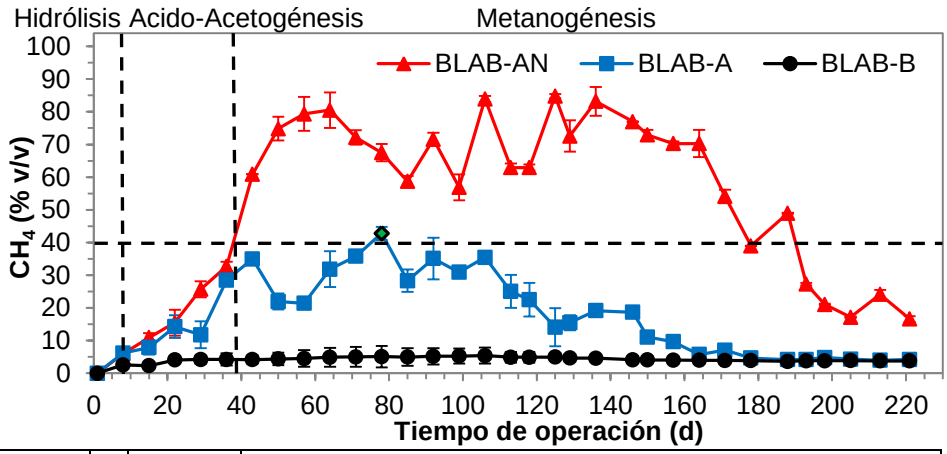
De acuerdo al análisis estadístico de todo el experimento (223 días, todas las fases) y de la fase Acido-Acetogénica, la producción de biogás de los BLAB-AN fue significativamente diferente a los BLAB-A y los BLAB-B, sin embargo en la fase Metanogénica, los tres tipos de operación son significativamente diferentes (Figura 3.18). A continuación se muestran los resultados del seguimiento de la caracterización del biogás durante la operación de los BLAB:

a) Dinámicas de $CH_4$. Los resultados de caracterización para el $CH_4$ producido por los BLAB se muestran en la figura 3.19, donde el inicio de la fase Metanogénica se estableció en el día 38 con el alcance del 40 %v/v de $CH_4$ en el biogás producido por los BLAB-AN (Hernández-Berriel, *et al.,* 2014). Es importante destacar la correspondencia observada del día 38, con el cambio del descenso en la dinámica en la DQO de los LD-AN que ocurrió entre los días 38 y 41 (Figura 3.15), en donde el día 41 se obtuvo el 50% v/v de $CH_4$ en dichos BLAB, que coincide con lo considerado por Benbelkacem *et al*. (2010) para el inicio de esta fase. Lo anterior podría ser considerado para estandarizar el rango de 40-50 %v/v para delimitar el inicio de la Metanogénesis. El mayor porcentaje obtenido de $CH_4$ fue de 80 ± 5 %v/v, lo cual fue similar a las concentraciones reportadas por Olay-Romero (2014).

Respecto a los BLAB-A, la fase de Hidrólisis también se consideró del día 0 al 8 con base a los resultados de pH (Figura 3.12) del LD y el periodo de la fase Acido-Acetogénesis del día 9 hasta el final de la operación, sin embargo esta fase fue interrumpida temporalmente el día 78, debido a que en el biogás se detectó un valor de 42.8% v/v de $CH_4$ (Figura 3.19), por lo que se aumentaron los días de aireación a seis por semana con el mismo flujo, con el objetivo de disminuir las zonas anaeróbicas que pudieran darse en la matriz de RSU, como resultado de una aireación insuficiente, consiguiendo con lo anterior, que el porcentaje de $CH_4$ descendiera gradualmente.

Por otro lado, los BLAB-B que no fueron sometidos a recirculación ni a aireación se mantuvieron con concentraciones < 5% v/v de $CH_4$ (Figura 3.19). El análisis estadístico mostró que en la fase Acido-Acetogénica la concentración de $CH_4$ fue significativamente diferentente entre los BLAB-AN y el BLAB-B, mientras que los

BLAB-A no tuvieron diferencias con los BLAB-AN ni con los BLAB-B. En la fase Metanogénica los tres tipos de operación fueron significativamente diferentes.



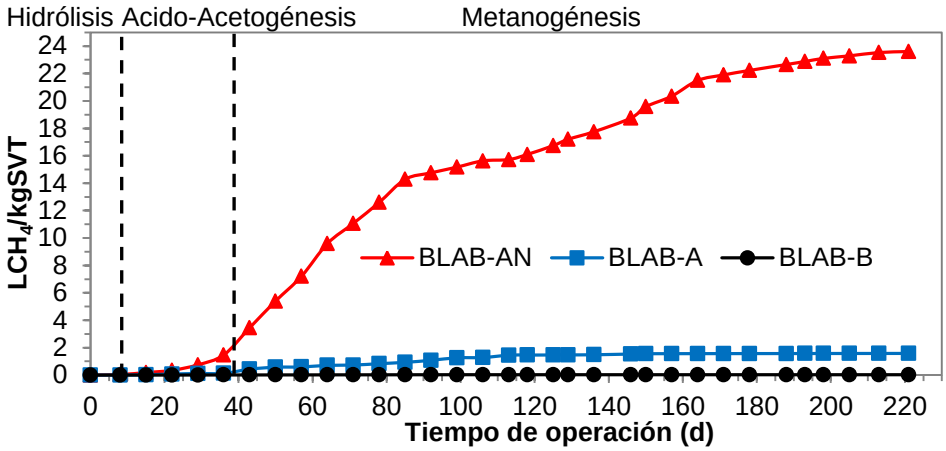

| | | | |
|---|---|---|---|
| Prueba Tukey | ND | AN-A ≠ A-B | AN ≠ A ≠ B |

ND, No determinado por falta de datos.
AN-A ≠ A-B, Diferencia significativa de los BLAB-AN y los BLAB-B, mientras que los BLAB-A no tuvieron diferencias significativas con los BLAB-AN y los BLAB-B.
AN≠A≠B, Diferencia significativa entre los BLAB-AN, BLAB-A y BLAB-B.

Figura 3.19 Concentración de $CH_4$ en biogás

La producción acumulada de $CH_4$ (Figura 3.20) fue de 23.61 L/kgSVT en los BLAB-AN, valor menor al obtenido por Hernández-Berriel (2010) y mayor a los reportados por Flores-González (2012) y Olay-Romero (2014); estas diferencias pueden atribuirse a las condiciones particulares de operación en cada uno de los estudios (Tabla 3.5).

En los BLAB-A, pese a la aireación se obtuvo una producción de 1.58 $LCH_4$/kgSVT y en los BLAB-B se generaron 0.03 $LCH_4$/kgSVT. El análisis estadístico mostró que en todo el experimento (223 días, todas las fases) y en la fase Metanogénica el flujo de $CH_4$ de los BLAB-AN es significativamente diferente que en los BLAB-A y los BLAB-B y en la fase Acido-Acetogénica, la producción de biogás de los BLAB-AN fue significativamente diferente a los BLAB-B, mientras que los BLAB-A no tuvieron diferencias entre los BLAB-AN y los BLAB-B.




| | | | |
|---|---|---|---|
| Prueba Tukey | ND | AN-A ≠ A-B | AN ≠ A - B |

ND, No determinado por falta de datos.
AN-A ≠ A-B, Diferencia significativa de los BLAB-AN y los BLAB-B, mientras que los BLAB-A no tuvieron diferencias significativas con los BLAB-AN y los BLAB-B.
AN ≠ A-B, Diferencia significativa de los BLAB-AN con los BLAB-A y con los BLAB-B

Figura 3.20 Producción acumulada de $CH_4$

Tabla 3.12 Reportes de producción de $CH_4$ en estudios anaerobios

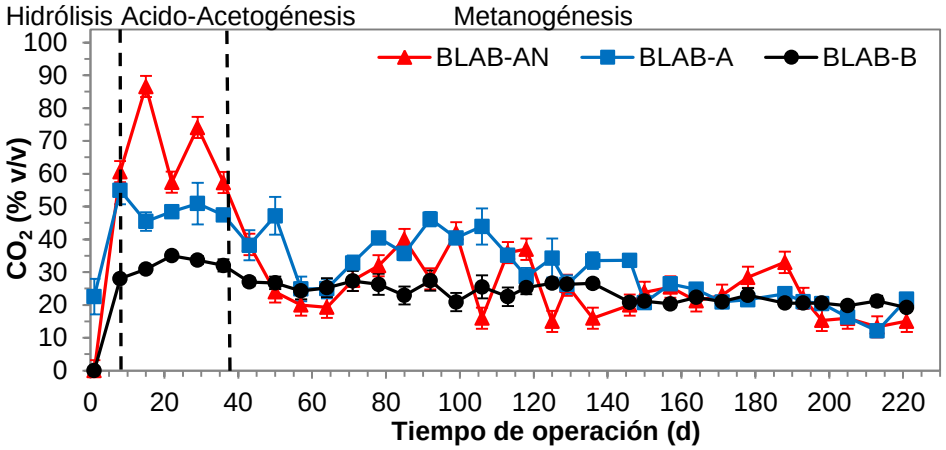
| AUTOR | SUSTRATO | RECIRCULACIÓN | DÍAS | TEMPERATURA °C | PRODUCCIÓN $LCH_4/kgSVT$ |
|---|---|---|---|---|---|
| Este trabajo | RSU 0.2679 kg, FO 31.03% | 40 %V/semanal de LJ | 223 | 21 ± 2 | 23.61 |
| Olay-Romero (2014) | RSU 0.2679 kg, FO 31.03% | LM del día 0 al 96 y LJ de 97 al 260 | 260 | 20 ± 2 | 5.42 |
| Flores-González (2011) | FO de RSU 0.2472 kg | Lixiviados 8.5 veces el volumen del BLAB/tres veces por semana | 140 | 20 y 30 | 3.6 y 16 |
| Hernández-Berriel (2010) | RSU 0.21519 kg, FO 75.3% | Agua potable inical y lixiviados 40%/dos veces por semana | 201 | 23 ± 2 | 31.15 |
| Erses *et al*. (2008) | RSU 0.1950 Kg FO 59.5% | 1 L- lixiviado/semana y 500 mL de Agua/semana | 374 | 32 | 1.58 |

LM (Lixiviados Maduros); LJ (Lixiviados Jóvenes)

b) Dinámicas de $CO_2$. Al inicio de la operación los BLAB-B y BLAB-AN no tuvieron $CO_2$ (Figura 3.21), debido a que después de probarlos herméticamente se les realizó un barrido con $N_2$ para que operaran como anaeóbicos. Mientras que los BLAB-A al inicio tuvieron un 22.6 %v/v de $CO_2$ debido a que la degradación aeróbica tiene velocidades de reacción cortas (Hassen *et al.*, 2002; Stainer *et al.*, 1992). Despúes de la primera recirculación de lixiviados aumentó su concentración y durante la fase Acido-Acetogénica fue donde obtuvieron los porcentajes más altos (86.6 %v/v $CO_2$), debido a que se propiciaron condiciones de humedad y nutrientes que intensificaron la actividad microbiana(Tchobanoglous *et al.*, 1994), corroborando lo establecido por Barlaz *et al.* (1989) ya que consideró un 90 %v/v $CO_2$ como indicativo de actividad fermentativa. Posteriormente en la fase Metanogénica, disminuyeron las concentraciones de $CO_2$, alcanzando valores de 15.1, 21.8 y 19.21 % v/v en los BLAB-AN y BLAB-A y BLAB-B respectivamente. De acuerdo al análisis estadístico de todo el experimento (223 días, todas las fases) y en la fase Metanogénica los BLAB-A tuvieron diferencias significativas con los BLAB-B, mientras que los BLAB-AN no mostraron diferencias significativas con los BLAB-A y los BLAB-B. Y en la fase Acido-Acetogénica los tres tipos de BLAB son significativamente diferentes.

Con respecto a la producción acumulada de $CO_2$, los BLAB-AN (Figura 3.22) fueron los de mayor generación (13.7 L/kgSVT), lo anterior debido a que también fueron los mayores productores de biogás, seguidos de los BLAB-A que tuvieron una producción de 2.46 $LCO_2$/kgSVT y los BLAB-B que generaron solo 0.15 $LCO_2$/kgSVT. Los BLAB-A y BLAB-B tuvieron más producción de $CO_2$ que de $CH_4$, debido a que hubo más actividad de microorganismos aeróbicos en estos tipos de BLAB (Hirata *et al*., 2011). Cabe mencionar que en los trabajos donde se compara la operación de biorreactores aeróbicos con anaeróbicos, no se reportan producciones de $CO_2$ (Aziz *et al.,* 2010; Erses *et al.,* 2008; He *et al.,* 2005; Heyer *et al.,* 2005; Sinan *et al.,* 2006; Sun *et al.*, 2011). La producción acumulada de $CO_2$

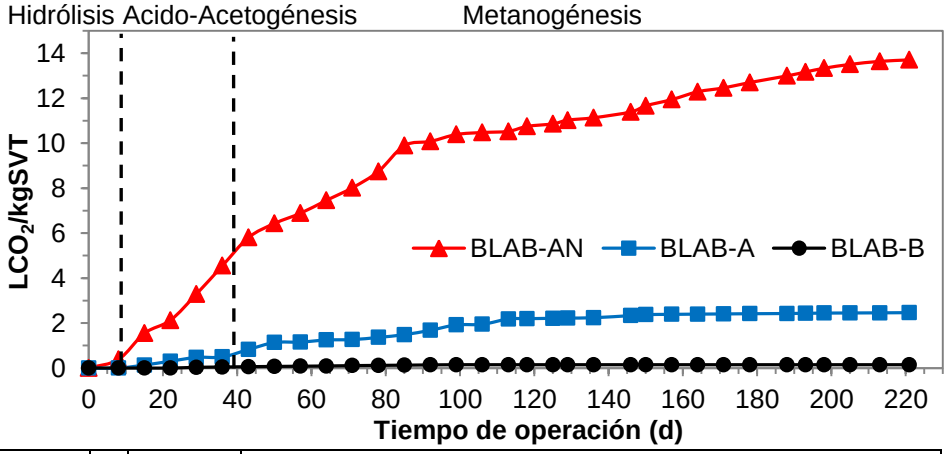
de todo el experimento (223 días, todas las fases) y en la fase Metanogénica mostró que los tres tipos de BLAB son significativamente diferentes, sin embargo en la fase Acido-Acetogénica solo el BLAB-AN tuvo diferencias significativas con los BLAB-A y los BLAB-B.




| Prueba Tukey | ND | AN ≠ A ≠ B | AN-A ≠ AN-B |
|---|---|---|---|

ND, No determinado por falta de datos
AN ≠ A-B, Diferencia significativa de los BLAB-AN con los BLAB-A y BLAB-B.
AN-A ≠ AN-B, Diferencia significativa de los BLAB-AN y los BLAB-B, mientras que los BLAB-A no tuvieron diferencias significativas con los BLAB-AN y los BLAB-B.

Figura 3.21 Concentración de $CO_2$ en biogás




| Prueba Tukey | ND | AN ≠ A-B | AN ≠ A ≠B |
|---|---|---|---|

ND, No determinado por falta de datos
AN ≠ A-B, Diferencia significativa de los BLAB-AN con los BLAB-A y BLAB-B.
AN≠A≠B, Diferencia significativa entre los BLAB-AN, BLAB-A y BLAB-B.

Figura 3.22 Producción acumulada de $CO_2$

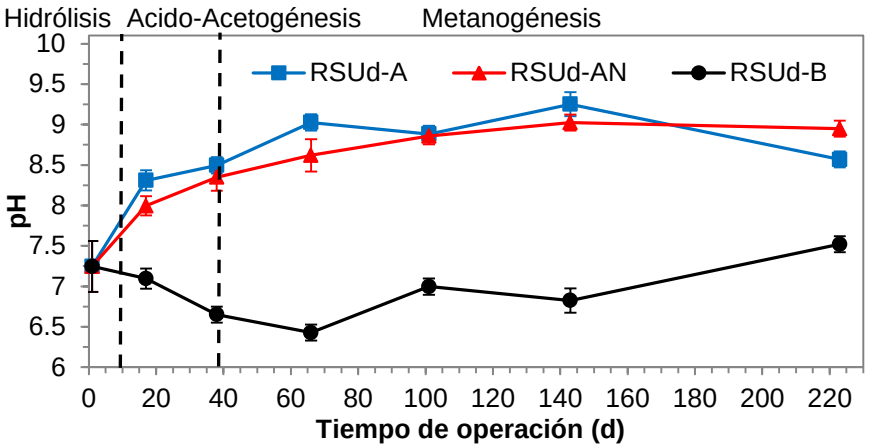
### 3.2.3 Degradación de RSU

A continuación se muestran los resultados de la degradación de los RSU descargados (RSUd), determinados mediante el desmontado periódico establecido en la tabla 2.3:

a) Asentamiento. El % de asentamiento calculado en los tres grupos de BLAB fue menor al 1%, coincidiendo con lo reportado por Olay-Romero (2014) en BLAB con las mismas condiciones de operación. Dicho asentamiento es bajo en comparación con el 10% conseguido en los BLAB al 40 %V reportado por Hernández-Berriel (2010), lo anterior puede atribuirse a que su recirculación fue de dos veces de semana e iniciaron con una compactación menor (600 kg/$m^3$) a la de este experimento (650 kg/$m^3$). El estudio de Erses *et al.* (2008) afirma que los BLAB aeróbicos presentan mayor asentamiento (37%) que los BLAB anaeróbicos (5%), lo cual en este trabajo no fue posible comprobar, debido a que en ambos tipos de operaciones sus asentamientos fueron similares.

b) Dinámicas de pH. La muestra inicial de RSU tuvo un pH cercano a la neutralidad (Tabla 3.3) y los RSUd el día 17 de los BLAB-A (RSUd-A) y los RSUd de los BLAB-AN (RSUd-AN) aumentaron su valor de pH a 8.31 y 8.0 respectivamente (Figura 3.23), debido a que el pH de los lixiviados correspondientes a la segunda recirculación habían incrementado su valor a 8.29 (Figura 3.12). Durante la fase Metanogénica el pH de ambos BLAB fue entre 8.34 y 9.25, lo que se puede atribuir a que los LR se mantuvieron en pH de 8.29 a 8.63, estableciendose un equilibrio con los RSUd, lo cual corrobora lo mencionado por Hernández-Berriel (2010) sobre que “la medición de pH en lixiviados es una referencia efectiva para conocer el pH de la matriz de residuos”. Por otro lado los RSUd de los BLAB-B (RSUd-B) disminuyeron su pH hasta 6.42 el día 66, debido a la probable formación de AOV, posteriormente aumentan hasta alcanzar un valor de 7.52 al final de la

operación. Con respecto al análisis estadístico se obtuvo que tanto en la fase Acido-Acetogénica como en la Metanogénica, no existieron diferencias significativas entre los RSUd-AN y los RSUd-A, pero si con los RSUd-B.




| | | | |
|---|---|---|---|
| Tukey | ND | A-N ≠ B | AN-A ≠ B |

ND, No es posible determinar.
AN-A ≠ B, Indica que hay diferencia significativa entre los BLAB-AN y BLAB-A y que ambos son diferentes significativamente con los BLAB-B.

Figura 3.23 Dinámicas de pH en RSU

c) Dinámicas de humedad. Los RSU cargados presentaron una humedad del 26.4 %Hbh, la cual es semejante a las de Olay-Romero (2014) y Delgado-Hernández (2013) de 27.4 y 25.3 %Hbh respectivamente, debido a que los RSU se obtuvieron también en epoca de estiaje y del mismo RESA; sin embargo algunos estudios reportan valores cercanos al 40.0 %Hbh (Hernández-Berriel, 2010; Flores-González, 2011), donde esta diferencia se atribuye a que sus RSU tuvieron un alto contenido en la fracción de alimentos (34.25 y 75.21%, respectivamente). Después de la segunda recirculación de lixiviados (Figura 3.25), la humedad aumentó hasta 52.4%Hbh en los RSUd-AN y 47.9 %Hbh en los RSUd-A, manteniendose posteriormente a 57.0 ± 3.0 y 49.0 ± 3.3 %Hbh en los RSUd-AN y RSUd-A respectivamente; donde el valor de los RSUd-AN es cercano al contenido de humedad óptimo (60 %Hbh) para la DA en los RESA (Robles, 2008).

En la figura 3.24 también se puede observar que los RSUd-A durante todo el proceso presentaron menor contenido de humedad en comparación con los RSUd-AN, lo anterior puede ser un efecto de secado propiciado por la aireación. Los RSUd-B se mantuvieron en 31.0 ± 3 %Hbh, lo cual no es suficiente para la biodegradación de los residuos (Benbelkacem *et al.,* 2010). La prueba de Tukey reveló que los RSUd-B fueron significativamente diferentes con respecto a los RSUd-AN y RSUd-A.

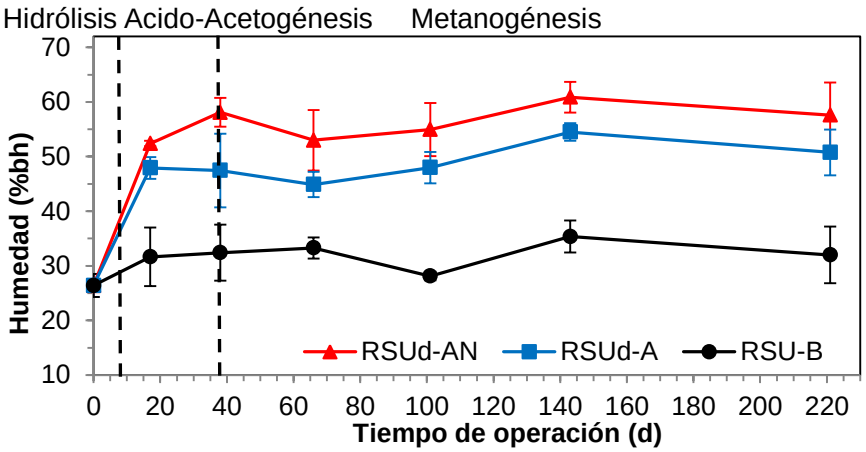



Figura 3.24 Dinámicas de %Humedad de los RSU

d) Dinámicas de SVT y MO. Estos dos parámetros se discuten de manera conjunta debido a que se relacionan (Tchobanoglous *et al.,* 1994; Hernández-Berriel *et al.* 2014). En las figuras 3.25 y 3.26 se muestran las dinámicas de %SVT y %MO removidos en los RSUd, donde puede apreciarse que se obtuvieron mayores remociones en los RSUd-A para ambos parámetros (Tabla 3.6), lo cual pareciera contradecirse con la producción de biogás (Figura 3.18), sin embargo es posible que la medición de éste en los BLAB-A no haya sido completa, debido a que al realizarles la recirculación de lixiviados se desconectó del sistema de desplazamiento. El que la remoción de SVT y MO sea aproximadamente el doble en los RSUd-A que en los RSUd-AN al final de experimento, se debe a que la

degradación aeróbica produce una oxidación más rápida de los compuestos orgánicos, lo cual se aprecia mejor si se compara que la remoción del 27.2 %SVT en los RSUd-AN del día 223, fue alcanzada el día 15 por los RSUd-A. Las degradaciones obtenidas en este trabajo concuerdan con lo reportado por Erses *et al.* (2008) y corroboran los resultados de las dinámicas de DQO en lixiviados (Figura 3.15), donde fue mayor la remoción en los BLAB-A (Sun *et al.*, 2011). En relación a la prueba de Tukey, se determinó que existen diferencias significativas en SVT y MO, entre los tres tipos de operación de los BLAB.

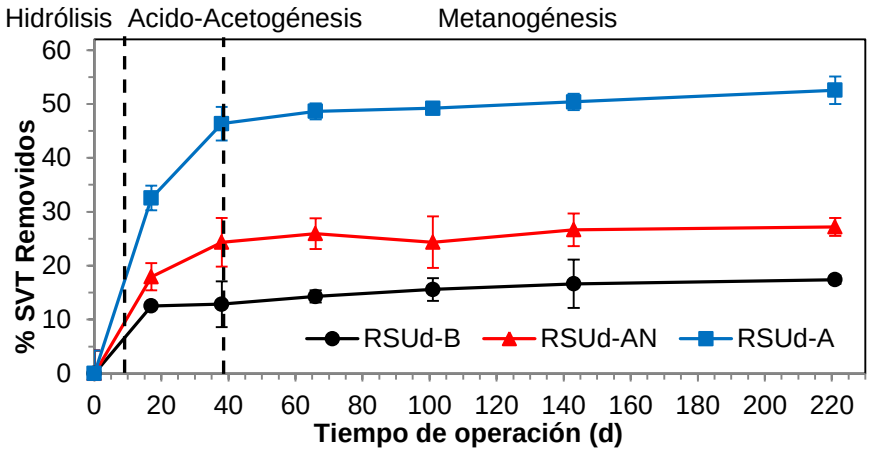



Figura 3.25 Dinámicas de % SVT Removidos

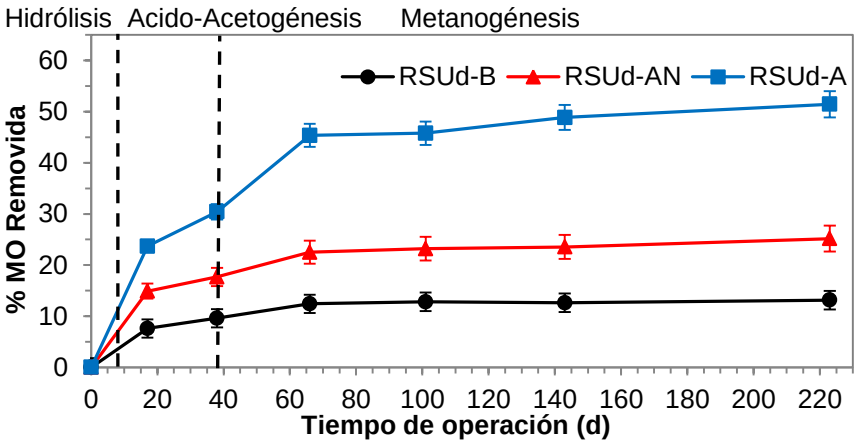



Figura 3.26 Dinámicas de % MO removida

Con los datos de SVT y los drenados de lixiviados se obtuvó la capacidad de campo (Cc) de cada tipo de BLAB confome a la ecuación 1.6, dando como resultado 1.06 (L/kg) en el BLAB-A y 1.35 (L/kg) del BLAB-AN, lo anterior indica que la Cc es diferente cuando alguna de las condiciones de operación varia, entre ellas la escala, la densidad de compactación, la frecuencia de recirculación y/o la composición de RSU (Delgado-Hernández, 2013; Olay-Romero, 2014; Orta-Velazquez *et al.*, 2003).

e) Grado de biodegradación de los RSUd. Se consideran como indicadores de estabilización o grado de biodegradación de los RSU los SVT (Benbelkacem *et al.*, 2010; Erses *et al.,* 2008; Tchobanoglous *et al.,* 1999), la MO (Sponza & Ağdağ, 2004), la composición de Hol, Lig y Hol/Lig (Eleazer *et al.,* 1997; Hernández-Berriel *et al.,* 2014; Nila-Cuevas, 2013), el contenido de C, N y C/N (Hernández-Berriel *et al.,* 2014; Sponza & Ağdağ, 2004). Los resultados de algunos de los trabajos mencionados y los del presente estudio se muestran en la tabla 3.6, donde se puede apreciar que en los parámetros SVT, MO, Hol/Lig, C, N y C/N, las mayores biodegradaciones correspondieron a los RSUd de los BLAB-A, corroborando que la recirculación de lixiviados y la aireación permitió una rápida oxidación de los compuestos orgánicos (Erses *et al.*, 2008). Al término del experimento los BLAB-AN tuvieron valores similares en SVT, MO, C y C/N a los estudios reportados para BLAB anaeróbicos (Delgado-Hernández, 2013; Hernández-Berriel, 2010; Olay-Romero, 2014), aunque menores que Erses *et al.* (2008), lo cual puede explicarse en función a los SVT de los residuos cargados (84%) y a que su experimento tuvo una duración de 630 días. Respecto a los porcentajes obtenidos de Lig y Hol en los RSU cargados, estos son menores en comparación con los reportados por Hernández-Berriel (2010), lo anterior puede atribuirse a que su fracción de compuestos lignocelulósicos (Fibra dura vegetal, Madera, Residuos de Jardineria, Papel y Cartón) fue mayor (40.1%) que los obtenidos en este trabajo (13.9%).

Tabla 3.13 Parámetros de biodegradación de RSU con recirculación de lixiviados

| PARÁMETRO | Este Trabajo | | | | Olay-Romero (2014) | Delgado-Hernández (2013) | Flores-González (2011) | Hernández-Berriel (2010) | Erses *et al.* (2008) | Sponza & Ağdağ (2004) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Condiciones de operación** | RSU* | BLAB-B | BLAB-AN | BLAB-A | BLAB-AN 40%V/semana, 253 días | Biorreactor-piloto-AN 40%V/semana, 205 días | BLAB-AN a 20, 30 y 40°C, 140 días | BLAB-AN 40%V dos veces/semana, 201 días | BLAB-A y BLAB-AN, 374 y 630 días | Biorreactor-piloto-AN 0, 13 y 30%V, 215-225 días |
| **SVT (%)** | 64.8 ± 4.3 | 53.5 ± 0.8 | 47.2 ± 2.5 | 30.7 ± 1.7 | 40.8 ± NR | ND | 69.0, 69.0 y 67.0 | 71.4-55.5 | 82.0 en A y 84.0 en AN | ND |
| **SVT (%) Remoción** | NA | 17.4 | 27.2 | 52.6 | 28.9 | ND | 11.4, 11.8 y 13.6 | 22.2 | 46.0 en A y 35.0 en AN | ND |
| **MO (%)** | 24.9 ± 2.6 | 21.6 ± 3.8 | 18.6 ± 2.7 | 12.8 ± 2 | 18.5 ± NR | 13.9 ± NR | ND | 27.0 | ND | 64.0, 62.0 y 71.0 |
| **MO (%) Remoción** | NA | 13.1 | 25.18 | 51.5 | 23.1 | 28.8 | ND | 51.1 | ND | 15.8, 27.1 y 26.0 |
| **Hol (%)** | 25.1±0.4 | 20.1± 0.1 | 18.4± 0.4 | 17.9± 0.1 | ND | ND | ND | 56.9-30.5 | ND | ND |
| **Lig (%)** | 15.9±0.4 | 15.1± 0.1 | 18.4± 0.9 | 18.9± 0.4 | ND | ND | ND | 16.9-30.3 | ND | ND |
| **Hol / Lig** | 1.6 | 1.3 | 1.0 | 0.9 | ND | ND | ND | 3.4-1.01 | ND | ND |
| **C (%)** | 13.3 ± 2.6 | 11.6 ± 3.8 | 10.0 ± 2.7 | 6.5 ± 2.0 | 9.89 ± NR | 7.5 ± NR | ND | 32.25-14.43 | ND | 35.5, 34.0 y 39.0 |
| **N (%)** | 0.44 ± 0.04 | 0.42 ± 0.04 | 0.38 ± 0.04 | 0.39 ± 0.04 | 0.5 ± NR | ND | ND | 1.15-0.89 | ND | ND |
| **C / N** | 30.3 | 27.5 | 26.2 | 16.6 | 20.72 | ND | ND | 28- 16.21 | ND | ND |

*RSU cargados; NA, No aplica; NR, No reportado; ND, No determinado; Promedio ± Desviación estándar; Valor inicial – Valor final

## 3.3 CUANTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS

En este apartado se muestra los resultados de la cuantificación de los microorganismos; aeróbicos (mesófilos, hongos y levaduras) en Cuenta en Placa y anaeróbicos (celulolíticas, fermentativas, sulfato-reductoras y acetoclásticas metanogénicas) en NMP y FM, la cual se realizó en los LR previos al desmontado periódico de los BLAB (Tabla 2.3) y en los RSUd y LD de éstos.

### 3.3.1 Microorganismos aerobios

El cultivo de los microorganismos aeróbicos se realizó en los LR, RSUd-A y LD-A de los BLAB-A. A continuación se muestran las dinamicas obtenidas:

a) Dinámicas de bacterias mesófilas. En la figura 3.27 se muestra que los LR iniciaron con una densidad de población de 8.4 Log UFC/100mL, que posteriormente en la fase Acido-Acetógenica disminuyó hasta 6.2 Log UFC/100mL el día 66, manteniendo valores menores que los RSUd-A y los LD-A, lo anterior puede ser debido a que una vez que los LR fueron introducidos en la matriz de RSU, estos microorganismos encontraron nutrientes accesibles, por lo que el consorció aumentó en los RSUd-A, y una parte de ellos fue arrastrada en los LD-A. Las dinámicas de las bacterias mesófilas en los RSUd-A y los LD-A descendieron hasta el día 66, debido a que la aireación de la matriz de residuos no estaba siendo suficiente, corroborándose con la cuantificación de $CH_4$ (día 78) en biogás, por lo que se aumentó la frecuencia de aireación, teniendo como resultado el incremento de la población mesófila, primero en los RSUd-A y gradualmente en los LD-A y LR. Para el día 223, en el último desmontado, se detectó que la población mesófila nuevamente disminuyó, lo cual fue atribuido a que los nutrientes tanto en los residuos sólidos como en los lixiviados se estaban agotando.

El rango de densidad de las bacterias mésofilas en los RSUd-A (6.7-9.1 Log UFC/100mL = $8.7x10^5$–$2.4x10^8$ Log UFC/g de RSUs) fueron similares a los reportados para bacterias aeróbicas totales por Hirata *et al.* (2011) en biorreactores aeróbicos ($10^6$-$10^8$ UFC/g de RSUs) y Palmisano *et al.* (1993) en RSU excavados de un RESA ($10^4$-$10^7$ UFC/g de RSUs), pero bajas en comparación con el rango de Hassen *et al.* (2002) ($10^8$-$10^{10}$UFC/g de RSUs) para degradación de residuos por compostaje.

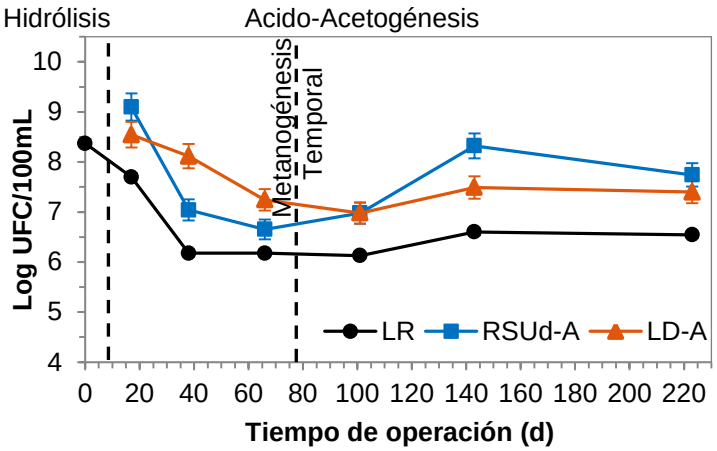



Figura 3.27 Dinámicas de bacterias aeróbicas mesófilas

b) Dinámicas de Hongos y Levaduras. Los LR iniciaron con una densidad de 6.3 Log UFC/100mL (Figura 3.28) y mostraron tendencias similares a las obtenidas en las bacterias mesófilas, donde después de las recirculaciones descendieron hasta 5.0 Log UFC/100mL. Las poblaciones en los RSU-A fueron mayores que en los LD-A, lo que puede atribuirse a la accesibilidad de los nutrientes dentro de los BLAB, sin embargo debido a la interrupción de la fase Acido-Acetogénica por el insuficiente suministro de $O_2$, sus densidades de población descendieron. Posteriormente con la aireación se incrementaron en los RSUd-A y lentamente en los LD-A y LR debido a que el $O_2$ estimuló el metabolismo de los hongos y las levaduras (Sang *et al.,* 2012), hasta el último BLAB-A desmonte se observó un segundo descenso, como efecto de que los nutrientes comenzaban a ser limitados para su desarrollo.

El rango de la densidad de los hongos y levaduras fue de 5.4-7.1 Log UFC/100mL ($4.8x10^4$-$2.4x10^6$ UFC/g de RSUs) en los RSUd-A, el cual es cercano a lo resportado por Hassen *et al.* (2002) en residuos de compostaje ($5.0x10^3$-$5.0x10^6$ UFC/g de RSUs) y bajo según lo indicado por Sang *et al.* (2009) de 9.0 $X10^4$ - $5.0x10^7$ NMP-DNA/g de RSUs y por Sang *et al.* (2012) de $10^5$ y $10^9$ NMP-DNA/g de RSUs, cabe mencionar que estos últimos trabajos se han efectuado con una técnica molecular de ADN (*18S-rRNA gene*) combinada con el principio de NMP, en residuos orgánicos sintéticos operados de un biorreactor aeróbico.

Los Hongos y Levaduras presentaron rangos bajos en comparación con la población bacteriana mesófila, debido probablemente a que las condiciones dentro de los BLAB-A no fueron aptas para estos microorganismos, ya que regularmente se desarrollan en altas concentraciónes de $O_2$ y en condiciones bajas de humedad (Madigan *et al.,* 2009), caso contrario a lo determinado en los BLAB-A (Figura 3.24).

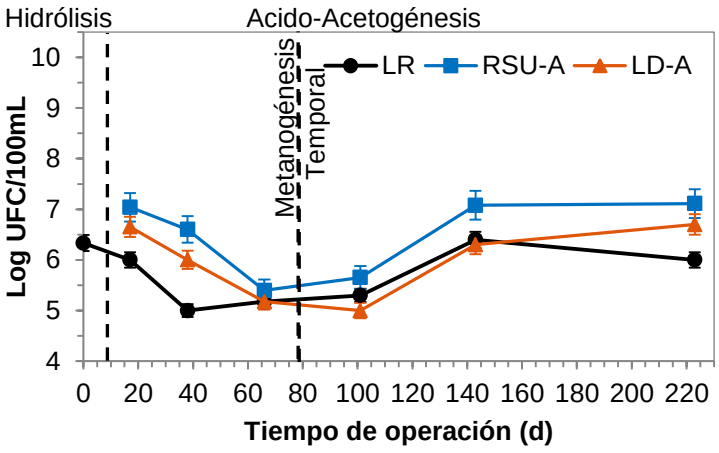



Figura 3.28 Dinámicas de hongos y levaduras

### 3.3.2 Microorganismos anaerobios.

Como resultado de la prueba previa de comparación entre los métodos NMP y FM (Anexo C.3) se obtuvieron tendencias similares en las dinámicas de las densidades de población, detectandose mayores cuantificaciones con FM (hasta con 2 órdenes de magnitud) que con NMP, ésto puede atribuirse a que el NMP es una técnica cualitativa (visual) y determina el número de células probables, mientras que FM es un método cuantitativo. Conforme a lo anterior y con la finalidad de obtener mayores elementos para establecer una correlación entre los métodos, se utilizaron las dos técnicas en la cuantificación de los microorganismos anaeróbicos en los LR, RSUd-AN y LD-AN de los BLAB-AN, así como en los RSUd-B de los BLAB-B. Los resultados de las densidades de población obtenidas con el método NMP se expresan en unidades Log NMP/100mL y las del método FM en Log UFC/100mL, así como en sus equivalencias por gramo de residuo para poder realizar comparaciones con trabajos previos. Los resultados de dichas cuantificaciones se describen a continuación:

a) Dinámicas de bacterias celulolíticas. En la figura 3.29 se muestran las dinámicas de densidad de población de las bacterias celulolíticas. Los LR tuvieron una densidad inicial de 3.5 Log NMP/100mL (5.5 Log UFC/100mL), el cual despúes de las recirculaciones aumentó, debido al incremento de componentes en fase soluble (Figuras 3.15, 3.16 y 3.17), reflejándose en el primer valor de población de los LD-AN (4.7 Log NMP/100mL y 6.7 Log UFC/100mL). Posteriormente en la fase Metanogénica las bacterias celulolítica de los LR y los LD-AN disminuyeron, debido al descenso de componentes de fácil biodegradación para éstas (Gerardi, 2003; Tchobanoglous *et al.*, 1994). Los LD-AN mostraron un descenso en la fase Acido-Acetogénica y en la Metanogénesis se estabilizaron (4.1 – 4.4 Log NMP/100mL), a diferencia de lo resportado por Martínez-Cámara (2011), donde sus poblaciones celulolíticas crecen, aunque en menor proporción conforme trascurrió su experimento; estas diferencias pueden atribuirse a que en este

experimento no se utilizó suelo, que es fuente de bacterias celulolíticas (Carrillo, 2003), además de que los LR no contribuyeron con población de este tipo.

El barrido con $N_2$ de los BLAB-An y los RSUd-AN al inicio de la operación redujo la concentración de $O_2$, con lo que se contribuyó a que la fase de hidrólisis fuera corta, debido a que al ser facultativas el crecimiento de la población celulolítica continuo pero a un ritmo menor que en condiciones óxicas (Gerardi, 2003). Los RSUd-An presentaron el día 17 una poblacion de 6.3 Log NMP/100mL (7.0 Log UFC/100mL), mostrando posteriormente una tendencia decreciente como efecto de la disminución de componentes de fácil degradación (Madigan *et al.*, 2009; Sang *et al.*, 2012). En los RSUd-B se observó un aumento de la población celulolítica el día 38, que decreció rapidamente hasta valores menores que en los RSUd-AN, debido a que su contenido de humedad estuvo en el rango de 28.2 a 35.3 %Hbh (Figura 3.24), lo anterior confirma la baja actividad metabólica detectada en la generación de $CO_2$ para los BLAB-B (Figura 3.21).

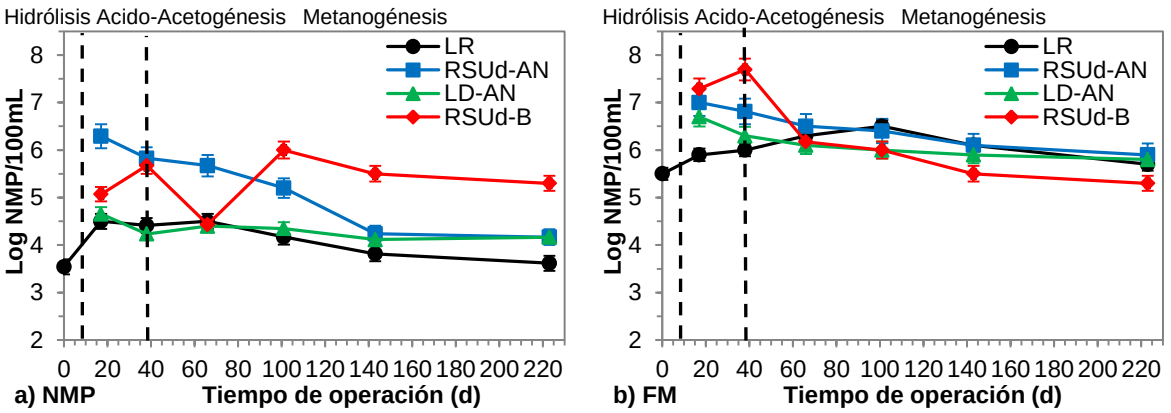



Figura 3.29 Dinámicas de bacterias celulolíticas

Si bien pareciera que las dinámicas de población fueron similares, mediante el coeficiente de Pearson se obtuvieron para RSUd-AN y LD-AN correlaciones altas

(0.96 y 0.78 respectivamente) y moderada para los RSUd-B (p=0.40), sin embargo para los LR no se encontro correlación (Anexo D).

b) Dinámicas de bacterias fermentativas. La densidad de población fermentativa en los LR iniciales fue de 4.4 Log NMP/100mL (7.2 Log UFC/100mL) (Figura 3.30), la cual con las recirculaciones aumentó (4.9 Log NMP/100mL y 7.8 Log UFC/100mL) debido a que durante la fase de hidrólisis se debieron producir sustratos como: glucosa, aminoacidos, ácidos carboxilicos, etc. (Gerardi, 2003; Madigan *et al.*, 2009; Sang *et al.*, 2012). Posteriormente en la fase Metanogénica, estas bacterias por el método NMP decrecieron gradualmente, lo cual se puede atribuir a que durante el mezclado en el tanque de lixiviados estas bacterias estuvieron expuestas a un ambiente aeróbico. La cuantificación por FM tambien mostró una tendencia decreciene pero con un incremento el día 101.

Las bacterias fermentadoras detectadas el día 17 en los LD-AN (3.8 Log NMP/100mL y 7.0 Log UFC/100mL) fueron indicio de que la operación anaeróbica y las condiciones para este consorcio se habían estableció durante la fase de Acido-Acetogénesis. Posteriormente durante la fase Metanogénica con NMP ascendierón a 5.4 Log NMP/100mL el día 143 y con FM a 7.8 Log UFC/100mL día 101 esta ultima con altibajos hasta el termino del experimento, con lo que se debieron producir AOV, acetato e $H_2$, que posiblemente fueron el sustrato de las bacterias metanogenicas y/o sulfato-reductoras y por otra mantuvieron los valores de pH de los LD-AN entre 7.9 y 8.2 (Figura 3.12).

En la fase Acido-Acetogénica las dinámicas de bacterias fermentativas de los RSUd-AN y los RSUd-B fueron menores que en los LR con ambos metodos de cuantificación debido a que éstas requirieron un tiempo de adaptación para

comenzar a desarrollarse (Gerardi, 2003; Madigan *et al.*, 2009). Posteriormente en la fase Metanogénica su población con NMP se incrementó especialmente en los RSUd-B (6.5 Log NMP/100mL) lo cual se reflejó en el pH ácido (Figura 3.23). Con FM para los RSUd-B se obtuvo un descenso el día 66 en la densidad de población (5.9 Log UFC/100mL) que después mostró incrementos hasta alcanzar 8.9 Log UFC/100mL. En los RSUd-AN la población cuantificada con NMP presentó incrementos hasta el día 143 (4.9 Log NMP/100mL) obteniendo el día 223 un descenso, lo cual que fue atribuido a la disminución de los sustratos. El aumento de la población de las bacterias fermentativas en esta fase puede atribuirse a que se siguen teniendo sustratos provenientes de las bacterias celulolíticas, las cuales continuan oxidando azúcares, debido a que el barrido inicial de $N_2$ ocasionó lo que Barlaz *et al.* (1989) denominan una hidrolísis lenta. Contrario a lo obtenido con NMP, la técnica FM mostró que las dinámicas de las fermentadoras fue decreciente despues del día 66, con valores incluso inferiores que en LR.

Para estas bacterias, las dinámicas obtenidas por los metodos NMP (Figura 3.30a) y FM (Figura 3.30b) fueron diferentes, obteniendose con el análisis estadístico valores de p de -0.81, 0.57 y 0.62 para los RSUd-AN, RSUd-B y LD-AN respectivamente, que corroboran la baja correlación entre los metodos. Por el contrario para los LR se tuvo una Correlación de Pearson de 0.81, la cual es considerada como alta (Anexo D). Conforme a lo anterior se requiere realizar un mayor número de pruebas con ambos métodos para el consorcion de bacterias fermentadoras, con el fin de poder determinar estadísticamente la equivalencia o no equivalencia entre ellos.

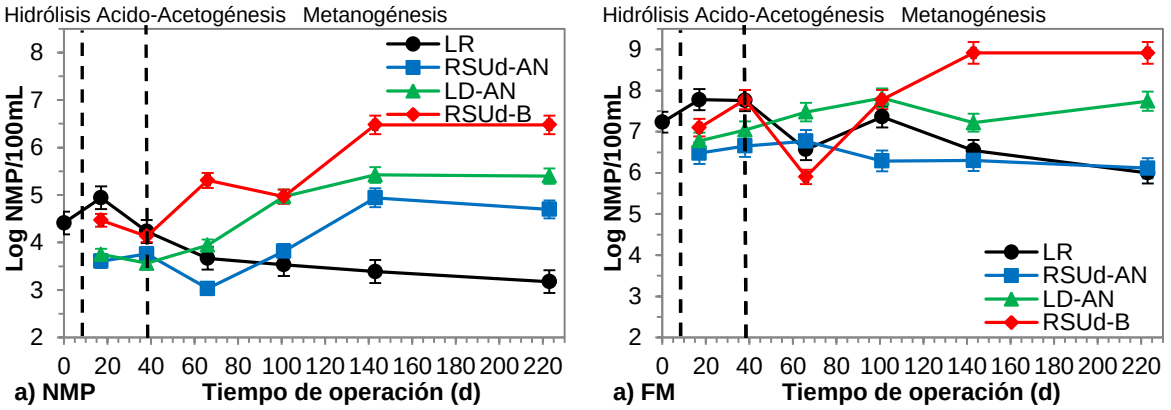



Figura 3.30 Dinámicas de bacterias fermentativas

c) Dinámicas de bacterias acetoclásticas metanogénicas. En la figura 3.31 se presentan las densidades de población de las bacterias acetoclásticas metanogénicas. Los primeros lixiviados inyectados presentaron una densidad de población de 3.7 Log NMP/100mL (6.2 Log UFC/100mL), debido a que fueron los lixiviados originales colectados en la fosa del RESA, la cual en la parte inferior de tiene zonas anaeróbicas que pueden generar $CH_4$ (Gerardí, 2003). Posteriormente con las recirculaciones ésta aumentó en los LR durante la fase Acido-Acetógenicas (4.0 Log NMP/100mL y 6.5 Log UFC/100mL), lo que puede atribuirse a la presencia de sustratos como acetato, $H_2$ y $CO_2$ (Gerardi, 2003; Madigan *et al.*, 2009). El día 38, establecido como el incio de la fase metanógenica (Figura 3.19), se observó para los LR la mayor población de bacterias metanógenas (5.1 Log NMP/100mL (6.7 Log UFC/100mL), las cuales por ser anaerobias estrictas disminuyeron gradualmente hasta 3.5 Log NMP/100mL y 6.0 Log UFC/100mL en esta fase, debido a la incorporación de aire durante la preparación de los LR.

Los primeros LD-AN tuvieron densidades de bacterias acetoclásticas metanogénicas de 4.4 Log NMP/100mL (6.0 Log UFC/100mL), dichas densidades

alcanzaron sus valores máximos durante la fase Metanogénica el día 66 (4.5 Log NMP/100mL (6.7 Log UFC/100mL) y decrecieron gradualmente hasta el final del proceso. Por otro lado, los RSUd-AN el día 17 tuvieron una densidad de 5.3 Log NMP/100mL (6.5 Log UFC/100mL), alcanzando el día 38 (inicio de la fase metanogénica) su densidad máxima de bacterias acetoclásticas metanogénicas con la técnica NMP (5.3 Log NMP/100mL) y el día 66 con FM (7.5 Log UFC/100mL), coincidiendo estos días con producción acelerada de $CH_4$ (Figura 3.19). Posteriormente la densidad de estas bacterias disminuyó al igual que en los LD y los LR. Para los RSUd-B se tuvieron densidades de metanógenas menores en comparación con los LR, LD-AN y los RSUd-A, lo que corrobora que operaron más lentamente como lo muestra la producción de $CH_4$ (Figura 3.19).

Comparando las dinámicas entre los metodos NMP (Figura 3.31a) y FM (Figura 3.31b) se obtuvieron valores de p relativamente altos para RSUd-AN (0.77), RSUd-B (0.77) y LR (0.82), sin embargo para los LD-AN no hubo correlación estadística (Anexo D).

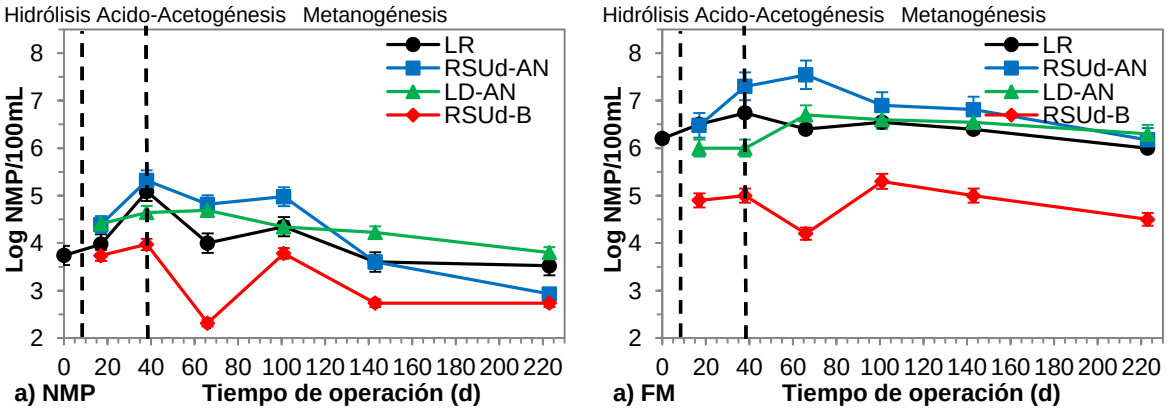



Figura 3.31 Dinámicas de bacterias acetoclásticas metanogénicas

Cabe mencionar que parte de los resultados obtenidos de la cuantificación de bacterias fermentativas y metanogénicas se presentaron en "*The Thirtieth*

*International Conference on Solid Waste Technology and Management"* en la Univesidad de Widener Filadelfia, USA, mediante el trabajo denominado *"Dynamics of Fermentative and Methanogenic Bacteria in the Accelereted Degradation of Municipal Solid Waste"* (Anexo D), el cual obtuvo el "*Student Paper Award"*.

d) Dinámicas de bacterias sultafo-reductoras. En la figura 3.32 se observa que los primeros lixiviados inyectados tuvieron una densidad de bacterias sultafo-reductoras de 4.6 Log NMP/100mL (5.0 Log UFC/100mL), los cuales aumentaron a 5.6 Log NMP/100mL (6.4 Log UFC/100mL) en la fase Ácido-Acetogénica debido al contenido de $H_2$ (Figura 3.12). En la fase Metanogénica la densidad de estas bacterias disminuye debido a la incorporación de aire durante la preparación de los LR. En los LD-AN del día 17 (face Acido-Acetogénica) se obtuvo una densidad de población de 6.2 Log NMP/100mL (6.8 Log UFC/100mL), mayor a la de los LR debido al arrastre de los sulfatos contenidos en la matriz de RSU (Hernandez-Berriel *et al.,* 2015). Posteriormente en la fase Metanogénica su densidad decrecen gradualmente hasta el final del experimento.

En los RSUd-AN se tuvo una densidad de 5.3 Log NMP/100mL (6.0 Log UFC/100mL) el día 17 (Figura 3.32), menor con respecto a los LD-AN, lo cual puede ser atribuido a que éstos arrastraron las bacterias de la matriz de RSU. En la fase Metanogénica la población de las bacterias sulfato-reductoras disminuyó gradualmente, debido posiblemente a la competencia por el $H_2$ con las metanogénicas (Barlaz et al., 1989; Gerardi, 2003; Márquez Benavidez, 2004; Warounsak, 2007), donde estas últimas fueron favorecidas pues se cuantificó $CH_4$ en el biogás generado (Figura 3.19). Es importante mencionar que la densidad determinada por NMP fue mayor para las bacterias sulfato-reductoras que para las Metenogénicas, mientras que con el método de FM fue inverso. El que fuera

mayor la población de metanógenas que sulfato-reductoras parece coincir con lo mencionado por Gerardi (2003), sobre que cuando la relación sustrato-sulfato es >3, se favorece el crecimiento de las bacterias metanogénicas y, se encuentra además apoyado por los valores de pH de la matriz de RSUd-An, que fueron superiores a 8.3 (Figura 3.23).

Para los RSUd-B, en la densidad de bacterias sulfato-reductoras se observó una tendencia ascendente, ya que en su primer desmontado tuvieron una densidad de 4.3 Log NMP/100mL (6.0 Log UFC/100mL), la cual se incrementó del día 38 hasta el final del experimento (6.5 Log NMP/100mL y 6.9 Log UFC/100mL). Lo anterior concuerda con los valores de pH de 6.4-7.5 (Figura 3.23), la pobre generación de $CH_4$ y el que su población fue mayor que la de las metanogénicas por ambos técnicas de cuantificación (Figura 3.32).

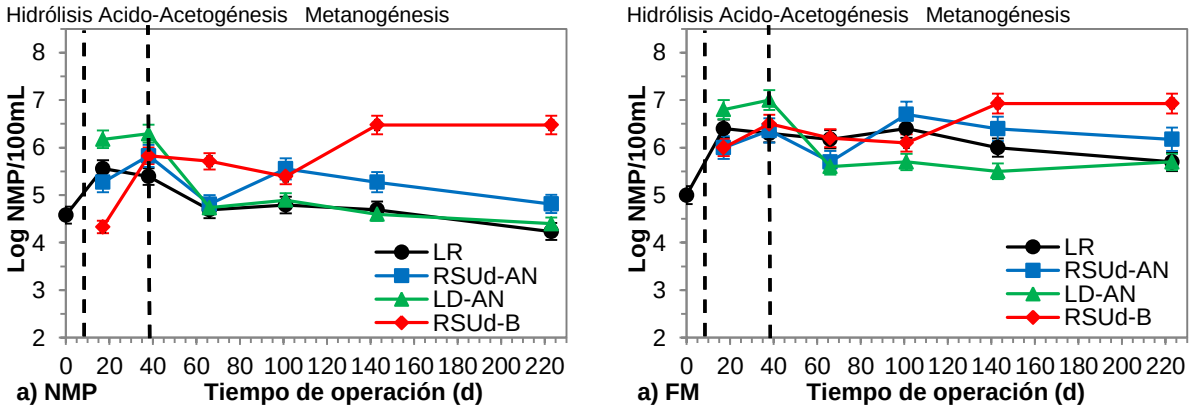



Figura 3.32 Dinámica de bacterias sulfato-reductoras

Con el análisis de correlación se obtuvieron para los RSUd-B, los LD-AN y los LR valores de 0.89, 0.97 y 0.80 respectivamente, los cuales fueron relativamente altos; mientras que los RSUd-AN se correlacionan moderadamente con una p= 0.68.

## 3.4 CARACTERIZACIÓN DE MICROORGANISMOS

En este apartado se muestran los resultados de la identificación morfológica (macroscópica y microscópica) de las poblaciones microbianas predominantes en los RSUd y lixiviados, durante el proceso de degradación acelerada de los RSU con recirculación de lixiviados en los BLAB aeróbicos y anaeróbicos.

### 3.4.1 Caracterización Macroscópica.

Se seleccionaron 246 UFC (Figuras 3.33) para la identificación de los microorgánismos, 88 en la fase Acido-Acetogénica, 154 en la fase Metanogénica y 4 en los lixiviados iniales, de cada una de ellas se registró su morfología como la forma, la altura, el borde y el color, anotandolas en una base de datos como la mostrada en la tabla 3.7.

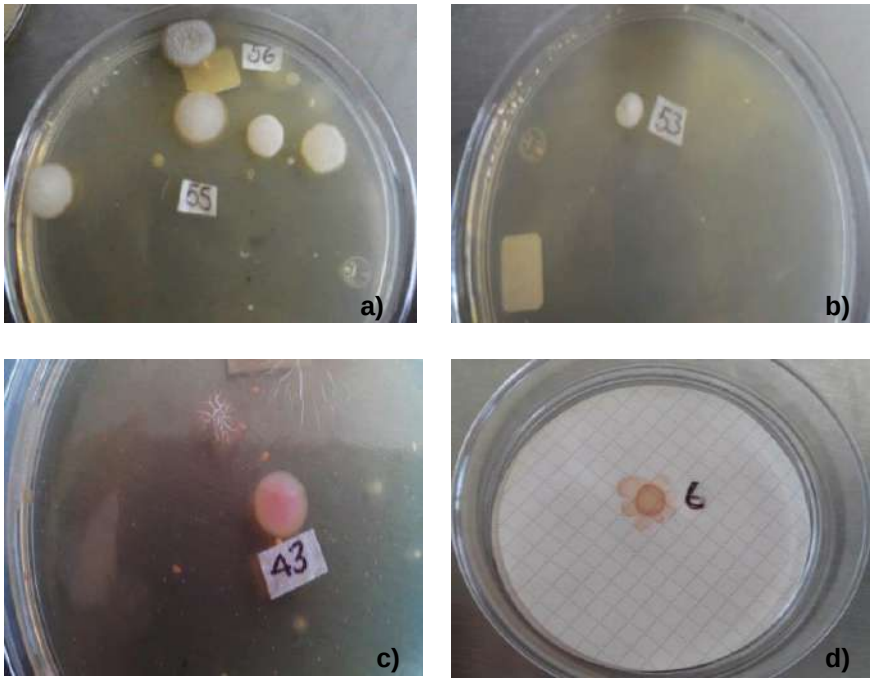



Figura 3.33 Identificación macroscópica de UFC. a) Hongo (56); b) Levadura (53); c) Mesófila y d) Anaeróbica.

Tabla 3.14 Caracterización macroscópica

| NO. | DÍAS | BLAB | MUESTRA | MEDIO | FORMA | ALTURA | BORDE | COLOR |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | **0** | Rec-0 | LIX | F | circular | puntiforme | convexa | entero |
| 53 | **17** | A-1 | RSU | H | circular | umbonada | ondulado | blanco |
| 55 | **17** | A-1 | LIX | H | circular | elevada | entero | amarillo claro |
| 56 | **17** | A-1 | LIX | H | circular | elevada | entero | blanco-gris |
| 43 | **17** | A-1 | LIX | Me | circular | convexa | entero | blanco |
| 44 | **17** | AN-6 | LIX | M | amiboide | plana | ondulado | beige-claro |
| 10 | **38** | B-3 | RSU | C | amiboide | convexa | ondulado | beige-blanco |
| 6 | **223** | AN-6 | RSU | R | circular | elevada | entero | roja-café |

Rec (Lixiviado recirculado); A (Aeróbico); AN (Anaeróbico); B (Blanco); LIX (Lixiviado); Me (Mesófilo); H (Hongo y Levadura); C (Celulolítico); F (Fermentativo); M (Metanogénico); R (Sulfato-reductor).

### 3.4.2 Caracterización Microscópica.

La morfología celular proporciona una identificación del microorganismos en estudio, sin embargo en el microscopio puede observarse un bacilo de *bacteria* y ser un bacilo de *arquea* pese a que pertenecen a dominios filogénicos distintos, en consecuencia la caracterización de un microorganismo a través de su morfología es predictoria (Madigan *et al*. 2009). En este trabajo se observó por medio del microscopio óptico de luz visible la morfología celular de los microorganismos en los RSU y lixiviados. Donde el 88% de las UFC seleccionadas, proporcionó una imagen con la que se pudo estimar las caracteristicas microscópicas como Gram, forma celular y agrupación. En seguida se muestran los resultados de los microorganismos predominantes obtenidos en cada fase:

a) Fase de hidrólisis. Debido a que el término de la fase de hidrólisis se estableció el día 7 y a que el primer cultivo de microorganismos se efectuó el día 17, no se obtuvó muestra representativa para esta fase, sin embargo en la figura 3.34 se

presenta la forma celular de los microorganismos cultivados del lixiviado inicial, donde el 50% de los microorganismos aeróbicos fueron hongos, como los *Phicomycetos*. El 46% de las bacterias anaeróbicas correspondieron a bacilos cortos Gram (+), cultivados en un medio rico en carbohidratos (medio Fermentativo), por lo que se infiere que fueron microorganismos del generó *Bacillus* (Madigan *et al.,* 2009).

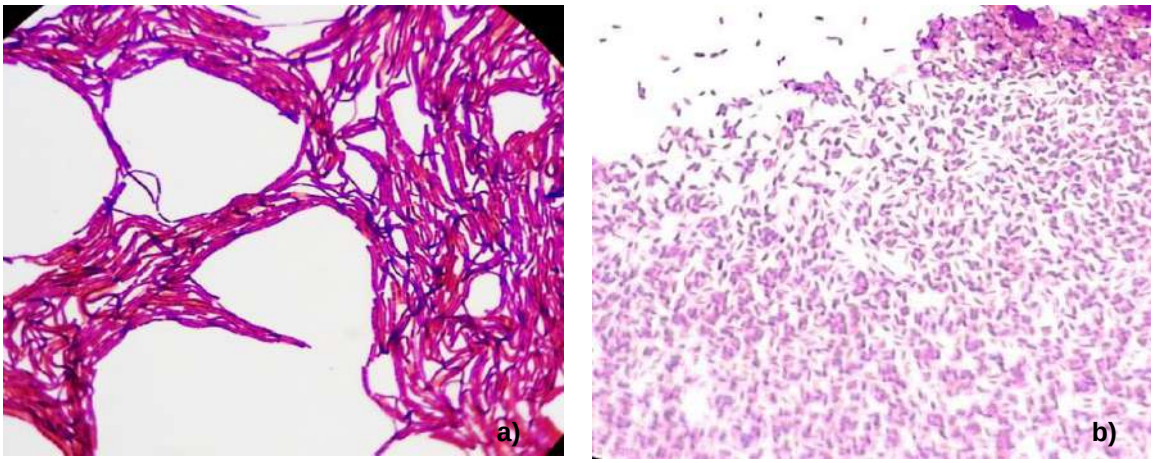



Figura 3.34 Microorganismos del Lixiviados inicial. a) Tallos de un *Phicomyceto*; b) *Bacillus* Gram (-)

b) Fase Acido-Acetogénica. Los microorganismos aerobios indentificados en los lixiviados en esta fase de degradación se muestran en la figura 3.35, donde en un medio mesófilo se obtuvo un 25% de bacterias del tipo *Staphylococcus G*ram (+), microorganismos identificados en residuos de *compost* por Hassen *et al.* (2002); Mientras que con el medio especifico para hongos y levaduras se tuvo un 29% de levaduras *G*ram (+). Ambos microorganismos pueden ser aerobios y anaerobios facultativos y son considerados como fermentativos ya que se desarrollan en presencia de aminoácidos y vitaminas (Liébana, 1997).

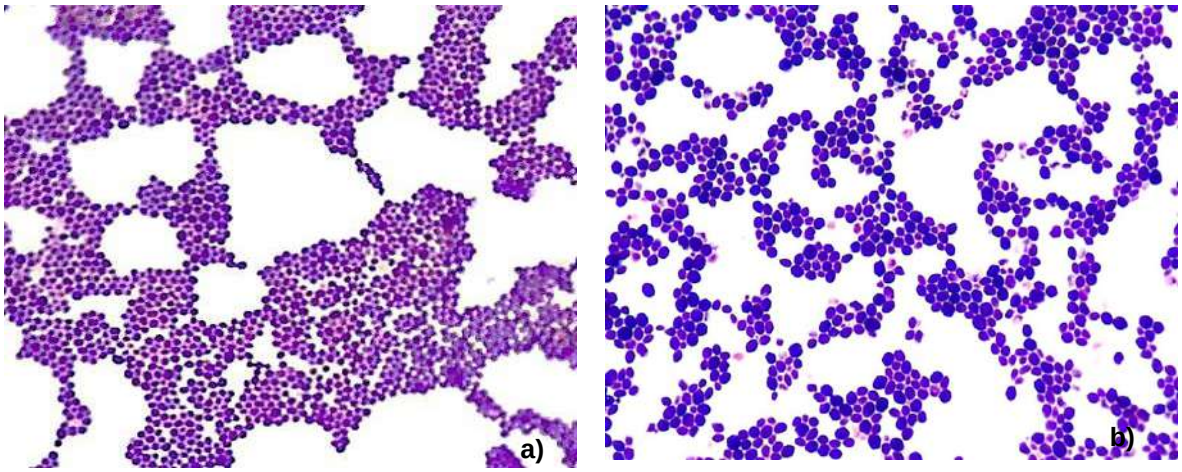



Figura 3.35 Microorganismos aeróbicos en los lixiviados. a) *Staphylococcus* Gram (+); b) Levadura Gram (+)

Por otro lado los microorganismos predominantes en los RSUd durante la fase Acido-Acetogénica fueron en un 36% los del tipo bacilos Gram (+) que por su forma y tinción podría tratarse de una bacteria del genero *Lactobacillus* y con un 26 % se tuvo a los Hongos donde en sus hifas se pueden observar las ascas caracteristicas de éstos, los cuales se desarrollan en materia muerta y cumplen con una importante función en la mineralización del carbono orgánico (Madigan *et al.,* 2009).

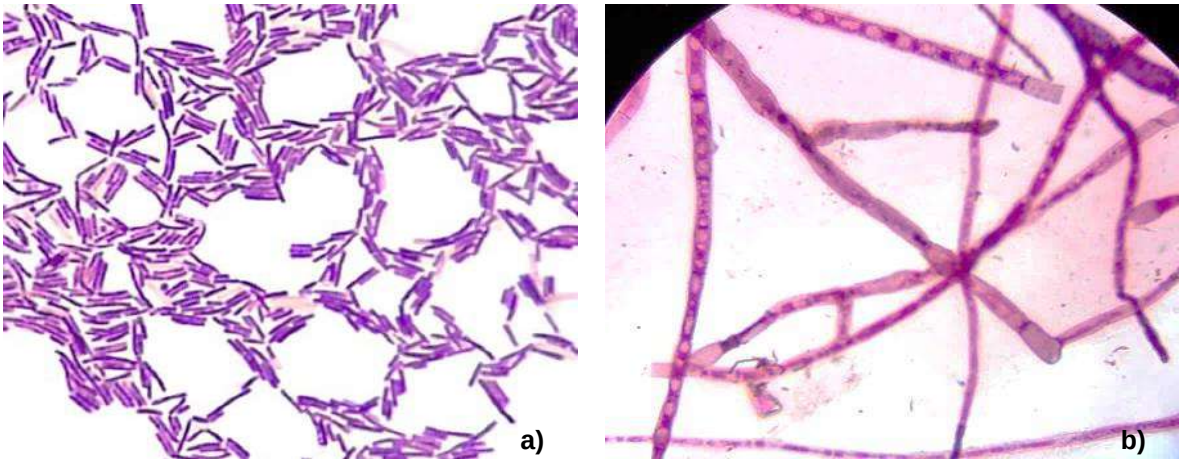



Figura 3.36 Microorganismos aeróbicos en los RSUd-A. a) *Lactobacillus* Gram (+); b) Hifa de un Hongo (con ascas)

Los microorganismos anaeróbicos predominantes identificados en los Lixiviados con medios de cultivo celulolítico, fermentantivo, metanogénico y sulfato-reductor se muestran en la figura 3.37 incisos a), b), c) y d) respectivamente. Donde en la figura 3.37a) se obtuvó un 40% de bacilos cortos Gram (-), que pueden pertencer al genero de las *Microbacterium* (Liébana, 1997); en la figura 3.37b) el 30% fueron bacilos cortos Gram (+), que por su morfología podría tratarse de *Clostridium* (Madigan *et al.*, 2009); en la figura 3.37c) se obtuvo un 69% de bacilos esporulados Gram (+), donde de acuerdo a su morfología se puede inferir que se trata de *Plectridium* (Madigan *et al.,* 2009); por último en la figura 3.37d) se encontró en un 50% *Micrococus* Gram (+), los cuales son anaerobio facultativo (Liébana, 1997).

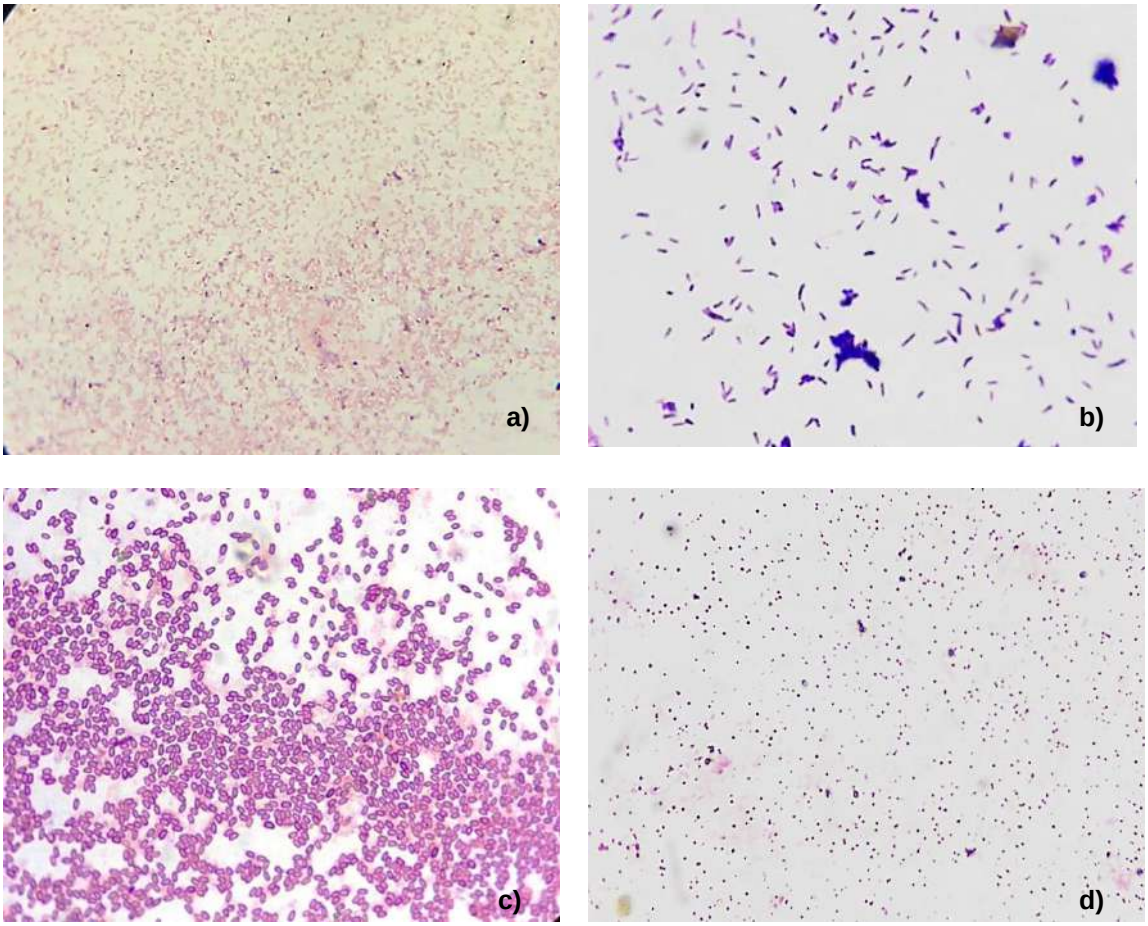



Figura 3.37 Microorganismos anaeróbicos en los Lixiviados. a) *Microbacterium* Gram (-); b) *Clostridium* Gram (+); c) *Plectridium* Gram (+)*;* d) *Micrococcus* Gram (+)

En los RSUd predominaron los microorganismos anaeróbios mostrados en la figura 3.38, donde en la figura 3.38a) se obtuvo un 40% de bacilos largos filamentosos Gram (-); en la figura 3.38b) se desarrollaron un 40% Levaduras Gram (+); en la figura 3.38c) se presentan bacilos esporulados Gram (+) en 63%, que por su forma pueden ser *Clostridium y Plectridium* (Liébana, 1997); y en la figura 3.38d) se encontraron en un 33% bacilos curvos Gram (+).

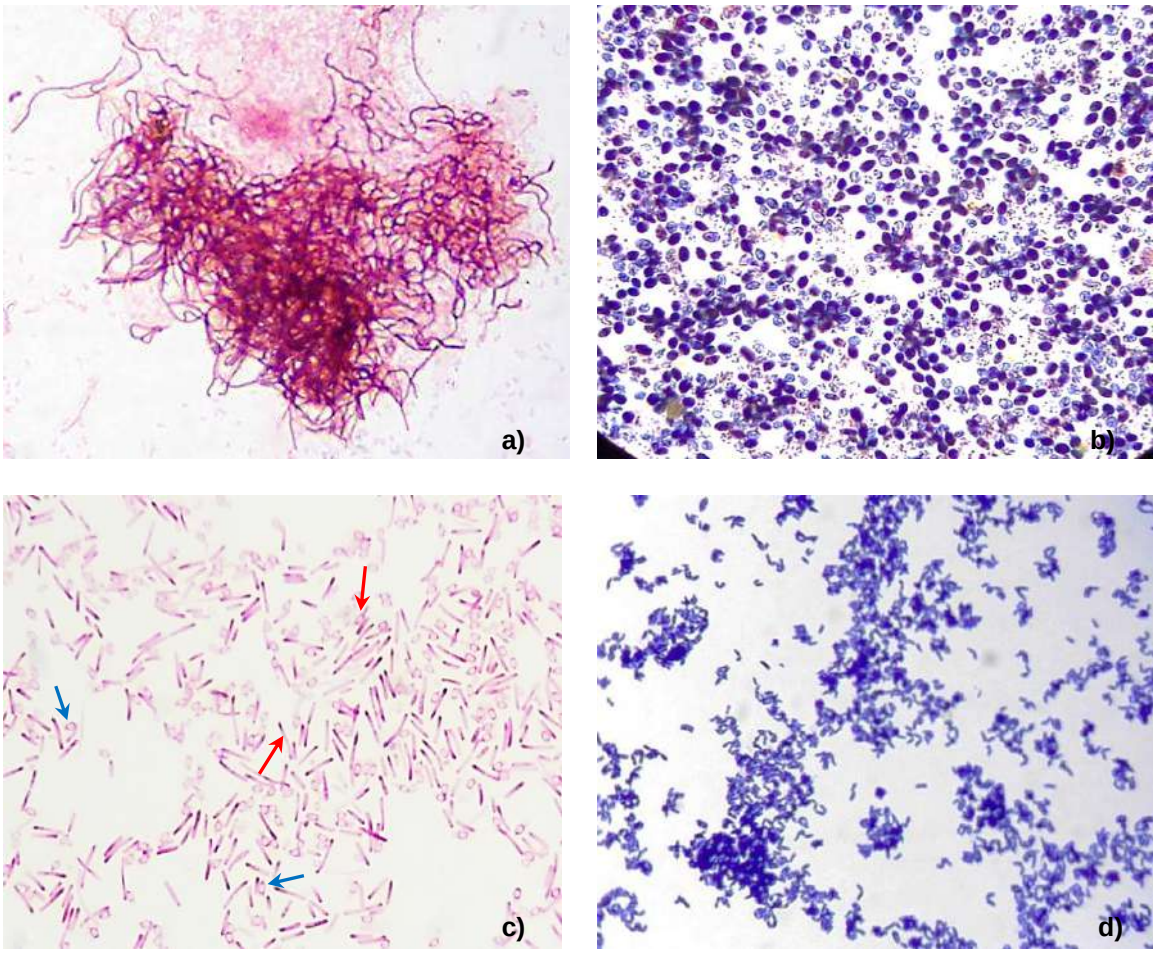



Figura 3.38 Microorganismos anaeróbicos en los RSUd. a) Bacterias filamentosas Gram (-); b) Levadura Gram (+); c) *Clostridium* (→) *y Plectridium* ( →) Gram (+); d) *Clostridium* y Bacilos curvos Gram (+).

**a)** Fase Metanogénica. En esta ultima fase de degradación, caracterizada por ser anóxica, se obtuvieron en los lixiviados los microorganismos predominantes que se presentan en la figura 3.39. En la figura 3.39a) se muestran Bacilos Gram (+) en un 60% que por su morfología se infiere que pertenece al generó *Bacillus*; en la figura 3.39b) se obtuvo un 70% de bacilos esporulados Gram (+), que por su forma y Gram pueden ser del tipo *Clostridium y Plectridium* (Liébana, 1997); la figura 3.39c) muestra 67% de bacilos largos Gram (+), que de acuerdo a su morfología se puede inferir que se trata de una *Methanobacterium* (Madigan *et al.,* 2009); y en la figura 3.39d) se obtuvo un 33% de bacilos cortos esporulados Gram (+), los cuales pueden ser *Plectridium* (Liébana, 1997).

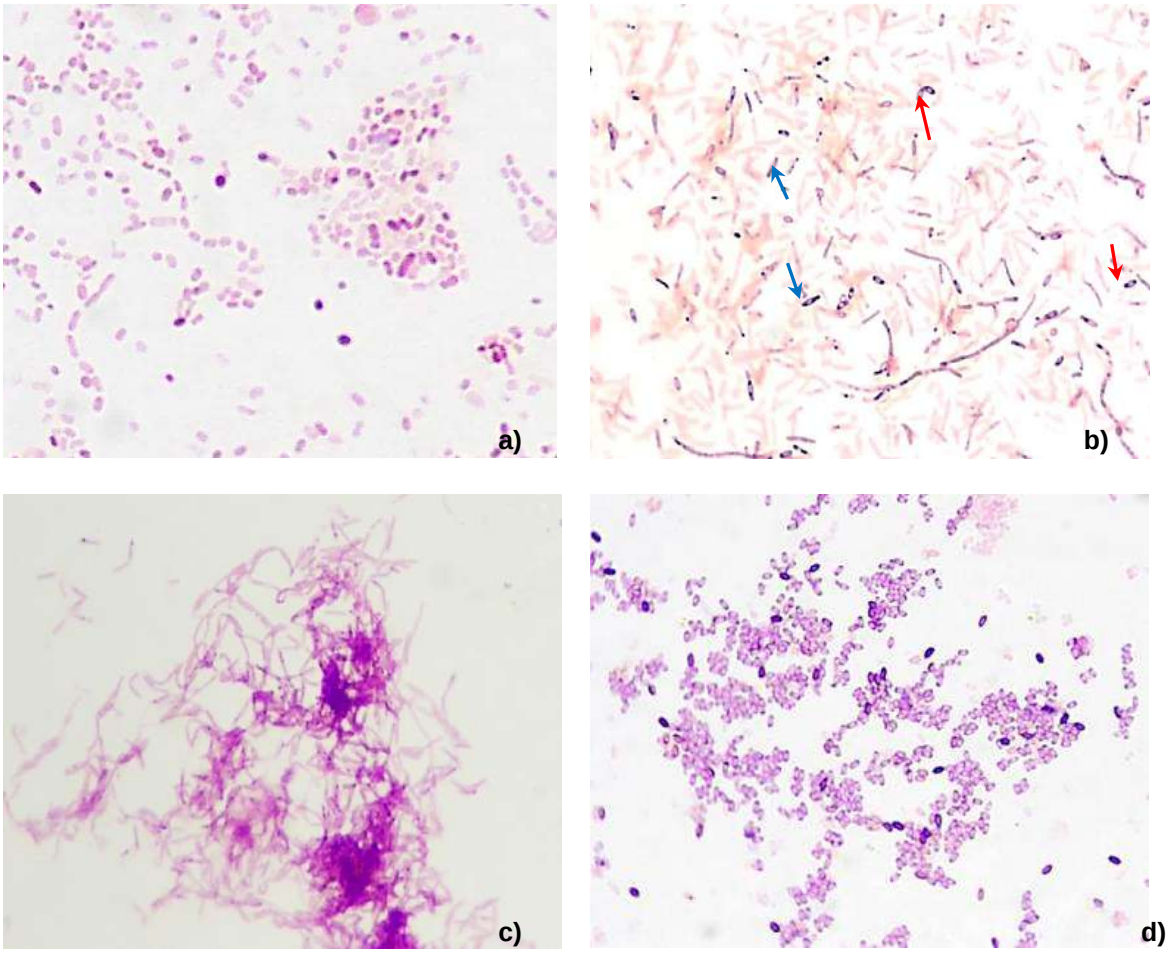



Figura 3.39 Microorganismos anaeróbicos en Lixiviados. a) *Bacillum* Gram (+); b) *Clostridium* (→) *y Plectridium* (→) Gram (+); c) *Methanobacterium*; d) *Plectridium*.

Los microorganismos obtenidos en los RSUd se presentan en la figura 3.40, donde se observó un 64% de Bacilos largos y esporas tipo *Plectridium* Gram (+) (Figura 3.40a); en la figura 3.40b) se obtuvo un 40% de bacilos y espirilos Gram (+); en la figura 3.40c) determinó un 60% de Bacilos alargados Gram (+), que según se morfología pueden ser *Methanosaeta* (Madigan *et al.,* 2009); y en la figura 3.40d) se encontró un 16% de Vibriones y *Streptobacillium* Gram (-), que con base a su morfológia se infiere son *Desulfovibrios* (Madigan *et al.,* 2009).

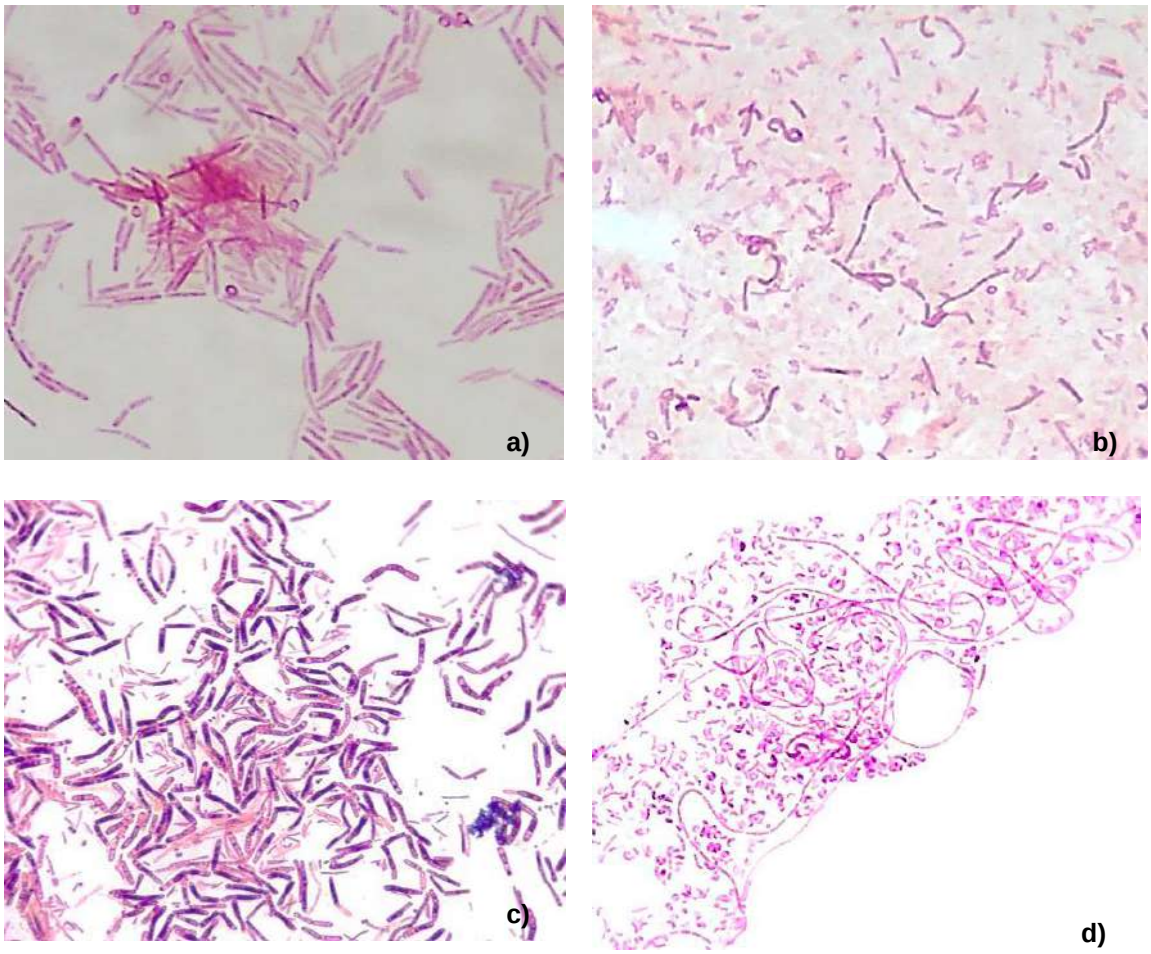



Figura 3.40 Microorganismos anaeróbicos en los RSUd. a) Bacilos largos y *Plectridium* Gram (+); b) Bacilos y espirilos Gram (+); c) *Methanosaeta*; d) *Desulfovibrios* y *streptobacillium* Gram (-)

# CONCLUSIONES

- La caracterización de RSU y lixiviados del RESA de Zinacantepec mostró por tercer año consecutivo que los subproductos de mayor porcentaje son: Varios, Residuos finos y Plástico de película y que la FO de éste sitio es menor a la media nacional. Mientras que en los lixiviados se presentó una menor DQO que se atribuyó a la biodegradación en el año transcurrido.

- La recirculación de lixiviados jóvenes favoreció la biodegradación acelerada y propició la pronta generación de biogás y de $CH_4$, las cuales fueron en menor tiempo en comparación con los estudios realizados en 2012 y 2013 con RSU del mismo sitio de disposición.

- Los valores obtenidos de pH y DQO en lixiviados, así como los análisis cromatográficos del biogás, permitieron establecer las fases de biodegradación, donde para los BLAB-AN se determinó del día 0 al 8 la fase de Hidrólisis, del día 9 al 38 la fase Acido-Acetogénica y del día 39 en adelante la fase Metanogénica; mientras que para los BLAB-A y los BLAB-B del día 0 al 8 fue la fase de Hidrólisis y permanecieron en la fase de Acido-Acetogénesis después del día 9.

- Los BLAB-AN tuvieron mayor producción de biogás (41.8 L/kgSVT) y mayor contenido de $CH_4$ acumulado (26.1 L/kg SVT) que los BLAB-A (1.58 $LCH_4$/kgSVT) y los BLAB-B (0.03 $LCH_4$/kg SVT), corroborando que la recirculación de lixiviados propicia una mayor generación de $CH_4$ para su aprovechamiento.

- Los BLAB-A tuvieron mayores remociones de sólidos volátiles totales, materia orgánica y compuestos lignocelulósicos en los RSU tratados (52.6, 51.5 y 43.8% respectivamente) que los BLAB-AN (27.2, 25.2 y 37.5% respectivamente) y los BLAB-B (17.4, 13.2 y 18.75% respectivamente).

- Los BLAB-A operaron de forma semiaeróbica, presentando concentraciones de $CH_4$ cercanas al 40 %v/v y, el decremento de sus poblaciones de microorganismos mesófilos y de hongos y levaduras, evidenció que el flujo de aire inyectado fue insuficiente.

- Las dinámicas de concentración de $CH_4$ y de densidad de bacterias metanogénicas permitieron corroborar el establecimiento de la fase metanogénica a partir del día 38 en los BLAB-AN.

- Se caracterizaron microorganismos aerobios, facultativos y anaerobios en las diferentes fases de la biodegradación de los RSU, encontrando como predominantes bacilos Gram (-), levaduras Gram (+), *Clostridium, Plectridium*, *Methanosaetas* y *Methanobacterium*

- Considerando las dinámicas de LR, LD, RSUd-AN y RSUD-B para las cuatro bacterias cuantificadas, el método FM proporcionó un total de 65.6% de correlación respecto al método NMP, donde los resultados de los lixiviados se correlacionaron un 68.8% y los de residuos sólidos un 62.5%, por lo que es necesario realizar un número mayor de análisis para su implementación como método de cuantificación de microorganismos anaeróbicos.

# RECOMENDACIONES

- En las próximas investigaciones con estos BLAB para la biodegradación acelerada con recirculación de lixiviados y la combinación de la aireación, se recomienda realizar una modificación al diseño del BLAB para la inyección de lixiviados con el fin de no tener perdida de información al desconectar el sistema de medición del biogás.

- En la elaboración del medio celulolítico sería interesante modificar lo establecido por Barlaz *et al.* (1998), eliminando la solución de AOV, ya que para esta población de microorganismos no es un sustrato necesario.

- Para la implementación de la técnica FM es importante realizar un mayor número de pruebas con ambos métodos, especialmente para el consorcio de bacterias fermentadoras, con el fin de determinar estadísticamente su equivalencia o correlación.

# FUENTES CONSULTADAS

APHA. 2005. Standard Methods for Water and Wastewater Examinationm 21st ed. American Public Health Association-American Water Works Association, Water Environment Federation Publication, Washington, DC. USA.

Aziz, S.Q., Aziz, H.A., Yussof, M.S, Bashir, M.J. y Umar, M. 2010. Leacheate characterization in semi-arobic and anaerobic sanitary landfills: A comparative study. Journal of environmental Management. 2608-2614.

Barlaz, M.A., Schaefer, D.M. y Ham, R.K., 1989. Bacterial Population Development and Chemical Characteristics of Refuse Descomposition in a simulated Sanitary Landfill. Applied and Environmental Microbiology. Vol. 55 No. 1., pp. 55-65, USA.

Barlaz, M.A., Schaefer, D.M. y Ham, R.K., 1990. Methane production from municipal refuse: review of enhancement techniques and microbial dynamics. Critical reviews in environmental control Vol. 9 No. 6 pp 557-584. USA

Baltierra, Trejo E., 2007. El efecto de los residuos de la industria de la construcción y demolición en la degradación de los residuos sólidos municipales. Tesis Licenciatura, UMSNH, México.

Benbelkacem H., Bayard R., Abdelhay A., Zhang Y., Gourdon R., 2010. Effect of leachate injection modes on municipal solid waste degradation in anaerobic bioreactor. Bioresource Technology 101 pp. 5206–5212.

Calli, B., Durmaz, S. Mertoglu, B. 2006. Identification of prevalent microbial communities in a municipal solid waste landfill. Water Science & Technology. Turkey, Vol 53, No 8 pp 139–147

Carrillo, L. 2003. Microbiología Agrícola, Cap. 3 Actividad microbiana. Universidad Nacional de Salta. Argentina. pp. 1-28.

Chugh S., Clarke W., Pullammanappallil P., Rudolph V., 1999. Effect of recirculated leachate volume on MSW degradation. Waste Management & Research, 16(6). 564-573.

Colín-Urieta S,. García-Calderón Ma. A., López-Albarrán P., Rutiaga-Quiñonez J.G. 2011. Análisis preliminar de la composición química de la madera de cordiaeleanoides DC. 4to. Congreso Forestal, IV Simposio Internacional sobre técnicas agroforestales, III Congreso International de Jóvenes Investigadores DEFORS 2007 y I Taller sobre Silvicultura Urbana Periurbana. 7 al 11 abril. La Habana, Cuba. pp. 223.

CONAGUA, 2014a. Comisión Nacional de agua. Determinación de número más probable. Publicada en el Diario Oficial de la Federación el 3 de Junio de 1987. En consulta pública de fecha 13 de agosto de 2013.

CONAGUA, 2014b. Comisión Nacional de agua. Método de filtración de membrana. Publicada en el Diario Oficial de la Federación el 21 de agosto del 2006.

Cuartas-Hernández, M. 2012. Optimización del diseño de vertederos de residuos sólidos basada en modelización. Tesis Doctoral. Universidad de Cantabria, Santander, España.

Davis, L.M., y Masten, S.J., 2005. Ingeniería y Ciencias Ambientales. En: Ingeniería de Residuos Sólidos. Ed. Mc. Graw Hill. México.

Delgado-Hernández, M. C. 2013. Estudio de parámetros fisicoquímicos en lixiviados recirculados en residuos sólidos urbanos. Tesis de Maestría, ITTol. México.

Eleazer, W.E., Barlaz, M.A., Odle, W.S., Qian, X., Wang, Y.S. 1997. Biodegradative analysis of municipal solid waste in laboratory-scale landfills. Project Summary. Research and Development EPA/600/SR-97/071 September 1997. Environmental Protection Agency, National Risk Management, Research Laboratory Agency, Research Triangle Park NC 27711, U.S.A. 237 pp.

EPA, 2011. Environmental Protection Agency. Guía para el aprovechamiento o quema del biogás en rellenos sanitarios. Búsqueda en línea realizada el 2015/08/09 https://www.globalmethane.org/activities/search.aspx

EPA, 2014 (Environmental Protection Agency). Wastes - Non-Hazardous Waste - Municipal Solid Waste. Biorrectors. versión electrónica. Búsqueda en línea realizada el 2014/01/20. http://www.epa.gov/epawaste/nonhaz/municipal/landfill/bioreactors.htm

Erses, A., Onay, T., Yeniyun, O., 2008. Comparison of aerobic and anaerobic degradation of municipal solid waste in bioreactor landfills. Elsevier, Bioresourse technology (99) pp. 5418–5426.

Fei, X., Zekkos, D. y Raskin, L., 2014. Archaeal community structure in leachate and solid waste is correlated to methane generation and volume reduction during biodegradation of municipal solid waste. Waste Management (33)

Flores-González, D. 2011. Recirculación de lixiviados de alta carga orgánica bajo régimen mesofílico. Tesis de maestría en ciencias en ingeniería ambiental. UMSNH. México.

Gerardi, M.H. 2003. The Microbiology of Anaerobic Digester. Wiley-Interscience. ISBN: 0-471-20693-8. USA.

GEM-SCC, 2013. Gobierno del Estado de México-Secretaria de Seguridad Ciudadana. Programa de Protección civil para basureros, 2013. Informe publicado en versión electrónica. Búsqueda en línea realizada el 2015/05/27

http://portal2.edomex.gob.mx/idcprod/groups/public/documents/edomex_archivo/dgproteccion_civil_pdf_ppcb13.pdf

HACH. 1997. Sistema DQO de Hach para análisis de agua residual. Lit. No. 4257, H74 ©Hach Company. Estados Unidos de America. http://www.hach.com/fmmimghach?/ CODE%3AL42575109%

Haydar, M., 1. Khire, M., 2007. Leachate Recirculation Using Permeable Blanketsin Engineered Landfills. Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering, Michigan, USA. Vol. 133, No. 4, pp. 360-371.

Hassen, A., Belguith, K., Jedidi, N., Cherif, M. y Boudabous, A. 2002. Microbial characterization during composting of municipal solid waste. Proceedings of International Symposium on Environmental Pollution Control and Waste Management. Tunis. pp. 357-368.

He, R., Shen, D., Wang, J., He, Y. y Zhu, Y. 2005. Biological degradation of MSW in a methanogenic reactor using treated leachate recirculation. Elsevier. Process Biochemistry 40 pp. 3660–3666

He, Y., Guo, L. y Gao, J. 2012. The Advantages and Mechanism of Semi-aerobic Landfill. International Conference on Future Electrical Power and Energy Systems. Elsevier, Energy procedia. Vol. 17, pp. 391 – 396.

Hernandez-Berriel, M. C., 2010. Estabilización acelerada de residuos sólidos urbanos mediante la recirculación de lixiviados. Tesis Doctoral en Ciencias Biológicas, UMSNH, México.

Hernández-Berriel, M.C., Mañon-Salas, M.C., Buenrostro-Delgado, O., Sánchez-Yañez, J.M y Márquez-Benavides, L. 2014. “Landfill leachate recirculation. Part I: Solid waste degradation and biogas production”. Environmental Engineering and Management Journal. Vol. 13, No. 10, pp. 2687-2695. D.F., México.

Hernández-Berriel, M.C., Mercado-Majarrez, R.M., Hernández-Contreras, G.I., Carreño-de León, M.C., Márquez-Benavides, L y Mañón-Salas. M.C. 2015. Tratabilidad de lixiviados en biorreactores anaerobios y aerobios a escala laboratorio. VI Simposio Iberoamericano de Residuos Sólidos: Hacia la carbono neutralidad 2021. Costa-Rica.

Hernández-Contreras, G.I., 2013. Estudio comparativo entre los métodos: Numero más probable y Filtración por membrana para la cuantificación de microorganismos anaerobios en lixiviados. Tesis Licenciatura. ITTol. México.

Hernández-Contreras, G.I., Olay-Romero, E., Hernández-Berriel, M.C., De la Rosa-Gómez I. y Márquez-Benavides. L. 2014. “Determinación del tiempo para la cuantificación de bacterias anaerobias presentes en residuos sólidos urbanos y

lixiviados". Memorias del 7o. Encuentro de Expertos en Residuos Sólidos. Vol. 1. pp. 105-110. Metepec, México. ISSN: 2395-8170.

Hirata, O., Yanase, R., Matsufuji, Y. y Tachifuji, A. 2011. Waste stabilization mechanism by a recirculatory semi-aerobic landfill with the aeration system. Springer. Japon. (14) pp. 47-51.

INE, 2012. Instituto Nacional de Ecología. Inventario nacional de emisiones de gases de efecto Invernadero. Informe publicado en versión electrónica. Búsqueda en línea realizada el 2014/06/09 http://www2.ine.gob.mx/publicaciones/libros/685/inventario.pdf

INEGI, 2010. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e informática. Mapas para imprimir. Búsqueda en línea realizada el 2015/09/01. http://www.cuentame.inegi.org.mx/mapas/mex.aspx?tema=M

Jones-Lee, A. y Lee, F., 2000. Appropriate Use of MSW Leachate Recycling in Municipal Solid Waste Landfilling and Proceedings Air and Waste Management Association 93rd national annual meeting. Pittsburgh, PA.

Lee, T., Matsufuji, Y., Hassan, M., 2005. Implementation of the semi-aerobic landfill system (Fukuoka method) in developing countries: A Malaysia cost analysis. Waste Management (25) pp. 702-711.

LGEEPA. 2015. Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente. Publicada en el Diario Oficial de la Federación el 28 de Enero de 1988. Última reforma aplicada el 9 de enero de 2015, México, D.F.

LGPGIR. 2015. Ley General para la Prevención y Gestión Integral de los Residuos. Publicada en el Diario Oficial de la Federación el 8 de octubre de 2003. Última reforma publicada el 22 de mayo de 2015. México, D.F.

Liébana Ureña, J. 1997. Microbiologia Oral. Mc Graw Hill Interamericana editores, S.A. de C.V. Impreso en México. ISBN: 970-10-1323-9.

Manahan, S.E., 2007. Introducción a la química ambiental. En. Interfase hidrosfera/biosfera y En: Química verde y ecología industrial para la prevención y el tratamiento de los residuos. Reverte, UAEM, México. ISBN: 968-36-6707-4.

Madigan. M., Martinko, J., Parker, J. y Clark, D., 2009. Brock, Biología de los Microorganismos. Duodécima edición. Pearson Addison Wesley. Madrid, España. ISBN: 978-84-7829-097-0

Márquez-Benavides, L. 2004. Study of the Effect of Soil Inclusion on the Anaerobic Degradation of Municipal Solid Waste. Doctoral Thesis. Department of Bioscience. University of Strathclyde in Glasgow, United Kingdom.

Martínez-Cámara, C. 2011. Análisis de poblaciones bacterianas degradadoras de fracción orgánica en residuos sólidos urbanos a diferentes regímenes de recirculación de lixiviados. Tesis de Maestría en Ingeniería Ambiental. UMSNH, México.

MASERA, 2007. Mantenimientos y Servicios Ambientales S.A. de C.V. Proyecto ejecutivo para el saneamiento y construcción de dos celdas de disposición final de residuos sólidos urbanos, en el municipio de Zinacantepec, Edo. Mex. 2007. Zinacantepec, México.

Mendoza Marisol. 2015. Comunicación personal. Mantenimiento y Servicios Ambientales, S.A. de C.V.

Montgomery, D., 2004. Diseño y Análisis de Experimentos. 2da edición. Ed. Lumusa Wiley, México, D.F.

Munizaga J. y Lobo A. Garbometer: una Metodología para la Evaluación Integral de los Sistemas de Gestión de Residuos Domésticos. V Simposium Iberoamericano en Ingeniería de Residuos Sólidos, Argentina. 2013

Muñiz-De la Mora. 2002. Sistema de Datos Cromatográficos para Windows 2000/NT Versión 4.0 Guía del Usuario. 2006 IATSA, Instrumentos de Alta Tecnología S.A. de C.V., Cd. de México, D.F.

Nacional Geographic, 2015. La peste negra, la epidemia más mortífera. Revista electrónica. Historia No. 103. Búsqueda en línea realizada el 2015/07/25 http://www.nationalgeographic.com.es/articulo/historia/grandes_reportajes/7280/peste_negra_epidemia_mas_mortifera.html

Nila-Cuevas, J. A. 2013. Influencia de los compuestos lignocelulósicos en el estado de degradación de los residuos sólidos confinados en el relleno clausurado de morelia, michoacán. Tesis de maestría en ciencias e ingeniería. UMSNH, México.

OCDE. 2014. Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico, “Municipal Waste”, in OECD Factbook 2014. Economic, Environmental and Social Statistics, Informe publicado en versión electrónica. Búsqueda en línea realizada el 2014/05/20 http://www.oecd-ilibrary.org/economics/oecd-factbook_18147364

Olay-Romero, E., 2014. Biodegradación de residuos sólidos urbanos con recirculación de lixiviados a dos tasas y dos frecuencias. Tesis maestría en ciencias de la ingeniería ambiental. ITTol. México.

Orta de Velázquez, M., Cruz-Rivera, N., Rojas-Valencia, I., Monje-Ramirez y Sánchez-Gómez, J., 2003. Determination of field capacity of municipal solid waste with surcharge simulation. Waste Management & Research. (2), pp.137-144.

Palmisano, A., Maruscik, A. y Schwab, B. 1993. Enumeration of fermentative and hydrolytic micro-organisms from three sanitary landfills. Journal of General Microbiology, UK. (139) pp. 387-391

Pelczar, M.J., Reid, R., Chan, E., 1985. Microbiología. Cuarta edición. Mc-Graw Hill. México. ISBN: 0ñ07-049229-8.

Pourcher, A., Sutra, L., Hébé, I., Moguedet, G., Bollet, C., Simoneau, P y Gardan, L., 2001. Enumeration and characterization of cellulolytic bacteria from refuse of a landfill. FEMS Microbiology Ecology (34) pp. 229- 241

Rabell-Contreras, M., Vázquez-Morillas, A., Espinosa-Valdemar, R., Beltrán-Villavicencio, M., Osada-Velázquez, M. y González-Filio, J. 2013. Propuesta metodológica para la evaluación de la degradabilidad de plásticos mediante composteo. Revista Internacional de Contaminación Ambiental Vol. 29 (sup. 3) pp. 127-133.

Reinhart, R., McCreanor, P., Townsed, T., 2002. The bioreactor landfill: its and future. Waste Managemente And Research, USA. Vol. 20 No. 2 pp. 172-186, ISSN: 0734-242X.

Robles-Martínez, F. (2008). Generación de Biogás y Lixiviados en los Rellenos Sanitarios. Publicaciones Instituto Politécnico Nacional, México D.F. ISBN: 978-970-36-0486-9.

Sang, N.N., Soda, S., Ishigaki, T: Sei, K. y Ike, M. 2008. Effect of Aeration on Stabilization of Organic Solid Waste and Microbial Population Dynamics in Lab-Scale Landfill. Journal of bioscience and bioengineering. V. 106, No. 5 pp. 425-432.

Sang, N.N., Soda, S., Inoue, D., Sei, K. y Ike, M. 2009. Effects of intermittent and continuous aeration on accelerative stabilization and microbial population dynamics in landfill bioreactors. Elsevier.Journal of biociense and bioengenering. V. 108 No. 4 pp. 336-250.

Sang, N.N., Soda, S., Ishigaki, T. y Ike, M., 2012. Review-Microorganism in landfill bioreactors for accelerated stabilization of solid waste. Elsevier. Journal of biociense and bioengenering. V. 114, No. 3, pp.243-250.

SEGEM-GTZ, 2002. Secretaría de Ecología del Gobierno del Estado de México y Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit (Agencia de Cooperación Técnica Alemana) Alternativas de rellenos sanitarios (Guía de toma de decisiones).Noviembre 2002. México.

SEMARNAT, 2014a. Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales. El Medio Ambiente en México 2013-2014. Informe publicado en versión electrónica.

Búsqueda en línea realizada el 2015/08/05 http://app1.semarnat.gob.mx/dgeia/informe_resumen14/

SEMARNAT, 2014b. Marco jurídico del sector medio ambiente. Normas mexicanas del sector ambiental. Versión electrónica. Búsqueda en línea, realizada el 2014/12/06. http://www.semarnat.gob.mx/leyes-y-normas/normas-mexicanas

SEMARNAT, 2014c. Marco jurídico del sector medio ambiente. Normas oficiales mexicanas. Versión electrónica. Búsqueda en línea, realizada el 2014/12/06 http://www.semarnat.gob.mx/leyes-y-normas/normas-oficiales-mexicanas

SEMARNAT-INE, 2006. Instituto Nacional de Ecología. Diagnostico básico para la gestión integral de residuos, México, DF. ISBN: 968-817-803-9. Informe publicado en versión electrónica. Búsqueda en línea realizada el 2015/08/05. http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones/new.portada.html?id_tema=&idb=495&img=495.jpg

SEMARNAT-INECC, 2012. Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático. Diagnostico básico para la gestión integral de residuos. México. Informe publicado en versión electrónica. Búsqueda en línea realizada el 2014/05/05. http://biblioteca.semarnat.gob.mx/Documentos/Ciga/libros2009/CD001408.pdf

Shimaoka, T., Matsufuji ,Y. and Hanashima ,M., 2000. Characteristic and Mechanism of Semi-Aerobic Landfill on Stabilization of Solid Waste. Proceeding Sardina 93, fourth International Symposium. I, pp. 979-993.

Sinan B. M., A. Demir and B. Ozkaya. (2006). Influence of leachate recirculation on aerobic and anaerobic decomposition of solid wastes. Journal of hazardous materials. 143 (2), pp.177-183.

Sponza, D.T. & Ağdağ, O.N. 2004. Impact of leachate recirculation and recirculation volume on stabilization of municipal solid wastes in simulated anaerobic bioreactors. Process Biochemistry. 39, pp. 2157–2165.

SSA. (Secretaria de Salud), 2014. (Documento web) Consultada el 15 de Julio de 2014. http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nomssa.html

Staley, B., De los Reyes, F y Barlaz, A. 2011. Comparison of Bacteria and Archaea communities in municipal solid waste, individual refuse components, and leachate. FEMS-Microbiology Ecology. (79) pp. 465–473.

Stanier, Y., Roger, Ingraham, L., Jhon, Wheelis, L., Mark y Painter, R., Page., 1992 The Microbial Word. ed 2 En: Métodos de la Microbiología,. Editorial Reverté, Barcelona, España. pp. 17-24.

Sun, Y., Sun, X., Zhao, Y., 2011. Comparison of semi-aerobic and anaerobic degradation of refuse with recirculation after leachate treatment by aged refuse bioreactor, Waste Management. Shanghai, China (31) pp. 1202‑1209.

Ritzkowski, M. y Stegmann, R., 2007. Controlling greenhouse gas emissions through landfill in situ aeration. Elsevier. Hamburgo, Alemania Vol. I, pp. 282-287.

Tchobanoglous, G., H. Theisenand S. V., 1994. Gestión Integral de Residuos Sólidos. En: Evacuación de residuos sólidos rechazados. McGraw-Hill-Interamericana de España, S.A. México, D.F. Vol. I y Vol. II. ISBN: 84-481-1766-6.

Warounsak, L, y Ajit P., 2007. Electron donors for biological sulfate reduction. Elsevier. Biotechnology Advances. V 25, pp. 452–463. Tailandia.

Wise, L.E., M. Murphy and A. D'Adieco. 1946. Chlorite holocellulose, its fractionation and beating on summative wood analysis and on studies on the hemicelluloses. Paper Trade Journal 122: 35-45.

# ANEXO A. CARACTERIZACIÓN DE RSU

## A.1 MÉTODO DE CUARTEO

CEDULA DE INFORME DE CAMPO PARA EL CUARTEO DE LOS RESIDUOS SOLIDOS.

No de Folio. 1

Localidad San Luis Mextepec Municipio Zinacantepec Estado México

Fecha y hora del cuarteo 02 de febrero de 2014

Procedencia de la Muestra Celda 3 en operación del relleno sanitario

Condiciones Climatológicas Imperantes Durante el Cuarteo (describa):
Soleado con temperatura ambiente de T= 22 °C
Ventoso

Cantidad de Residuos Sólidos para el Cuarteo Aprox. 200 kg

Cantidad de Residuos Sólidos para la Selección de Subproductos
Aprox. 60 kg
kg

Cantidad de Residuos Sólidos para los Análisis Físicos, Químicos y Biológicos Después de fraccionado se tomaran 500 g.

Responsable del Cuarteo:

Nombre: Grupo de trabajo de residuos Cargo No aplica

Dependencia o Institución Instituto Tecnológico de Toluca

Observaciones Ninguna

## A.2 PESO VOLUMETRICO

CEDULA DE INFORME DE CAMPO PARA LA DETERMINACION DEL PESO VOLUMETRICO-"IN SITU" DE LOS RESIDUOS SOLIDOS MUNICIPALES

Localidad San Luis Mextepec Municipio Zinacantepec Estado México

Fecha y hora de la determinación: 05 de febrero de 2014

Estrato socio-económico muestreado: Urbano y semi-urbano

Condiciones climatológicas imperantes durante la dterminación Temperatura ambiente de 22 °C

Capacidad del recipiente 0.2 m³

Tara del recipiente 12 kg

Capacidad del recipiente, tomada para la determinación _____ m³

Peso bruto (peso del recipiente con residuos sólidos) 85 y 92 kg

Peso neto de los residuos sólidos (peso bruto tara) 73 y 80 kg

Peso volumétrico ¨in situ¨, de los residuos sólidos: 365 y 400 kg/m³

Responsable de la determinación:

Nombre: Grupo de trabajo de residuos Cargo No aplica

Dependencia o Institución ITT

Observaciones: Se realizaron dos muestras para la determinación del peso

## A.3 SELECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE SUBPRODUCTO

### HOJA DE REGISTRO DE CAMPO

### SELECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE SUBPRODUCTOS

Localidad San Luis Mextepec Municipio Zinacantepec Estado México

Fechas y hora de análisis 07 de febrero 2014 10:30h Peso de la Muestra 52.107 Kg

Estrato socioeconómico Urbano y Semi-urbano Tara de las bolsas G:0.025 M:0.015 S:0.005 Kg

Responsable del análisis Grupo de trabajo de residuos Dependencia o Institución ITT

| No. | SUBPRODUCTOS | PESO EN Kg | % EN PESO | OBSERVACIONES |
|---|---|---|---|---|
| 1 | Algodón | 0.002 | 0.004 | En todos en peso neto, ya sin |
| 2 | Cartón | 6 000 | 11.51 | bolsas |
| 3 | Cuero | 0.025 | 0.05 | |
| 4 | Residuo fino que pase la criba M 200 | 6 950 | 13.29 | |
| 5 | Envase en cartón encerado | 0.650 | 1.25 | |
| 6 | Fibra dura vegetal (esclerénquima) | 0.525 | 1.01 | |
| 7 | Fibras sintéticas | 1 675 | 3.21 | |
| 8 | Hueso | 0.285 | 0.55 | |
| 9 | Hule | 0.025 | 0.05 | |
| 10 | Lata | 0.035 | 0.07 | |
| 11 | Loza y cerámica | 0.325 | 0.62 | |
| 12 | Madera | 0.115 | 0.22 | |
| 13 | Material de construcción | 1 535 | 2.95 | |
| 14 | Material ferroso | 0.945 | 1.81 | |
| 15 | Material no-ferroso | 0.090 | 0.17 | |
| 16 | Papel | 2 400 | 4.61 | |
| 17 | Pañal desechable | 2 020 | 3.88 | |
| 18 | Plástico de película | 7 690 | 14.76 | |
| 19 | Plástico rígido | 3 105 | 5.96 | |
| 20 | Poliuretano | 0.435 | 0.06 | |
| 21 | Poliestireno expandido | 0.030 | 0.83 | |
| 22 | Residuos Alimenticios | 0.055 | 5.86 | |
| 23 | Residuos de jardinería | 2 325 | 4.46 | |
| 24 | Trapo | 2 855 | 5.48 | |
| 25 | Vidrio de color | 0.170 | 0.33 | En otros se contempla: cabello, |
| 26 | Vidrio trasparente | 0.545 | 1.05 | medicamentos, electrónicos, material |
| 27 | Otros | 8 13 | 15.97 | de fundición, cera, semi-finos y varios |

# ANEXO B. PUESTA A PUNTO DE EQUIPOS

## B.1 PUESTA A PUNTO DE LOS BLAB

Tabla B.1 Procedimiento de ensamblado de los BLAB-AN

| PASOS | ACTIVIDAD | OBSERVACIONES |
|---|---|---|
| INICIO | Colocar silicón al fondo del BLAB. | Tomar el fondo como lo muestra la figura 2.2 |
| 1 | | El silicón va en la parte superior donde está el soporte de PVC 4, que hace tope con la brida 4 |
| 2 | Colocar empaque | Es el empaque 4 y el silicón va en la parte superior del empaque |
| 3 | Colocar el distribuidor | Es el de perforaciones de 1/16” y el silicón va a la orilla de la parte superior del distribuidor 2 |
| 4 | Colocar empaque | Es el empaque 3 y el silicón va en la parte superior del empaque |
| 5 | Colocar el cuerpo | Hacer coincidir las perforaciones de las bridas 4 y 3 de fondo y cuerpo (Figura B.1) |
| 6 | Colocar los tornillos en las bridas del fondo y cuerpo | Colocar cada tornillo en las perforaciones con su arandela y tuerca de manera encontrada, apretar con llaves cuidando no descentrar los empaques |
| 7 | Dejar secar por 24 hr | Se debe dejar de manera vertical apoyándose en el cuerpo |
| 8 | Colocar empaque | Es el empaque 2 a la orilla del BLAB donde está el soporte de PVC 2 y en adelante el armado va sin silicón, para el posterior cargado de RSU. |
| 9 | Colocar el distribuidor | Es el de perforaciones de 1/8” y el silicón va a la orilla de la parte superior del distribuidor 1 |
| 10 | Colocar empaque | Es el empaque 1 |
| 11 | Colocar el domo | Colocar el domo, sobre el empaque 2 y hacer coincidir las perforaciones de las bridas 2 y 1 del cuerpo y domo |
| 12 | Colocar los tornillos en las bridas de cuerpo y domo | Colocar en las perforaciones los 6 tornillos con su arandela y tuerca de manera encontrada, apretar con llaves cuidando no descentrar los empaques (Figura B.5). |
| FIN | | |

Tabla B. 2 Procedimiento de ensamblado de BLAB-A

| PASOS | ACTIVIDAD | OBSERVACIONES |
|---|---|---|
| INICIO<br>1 | Tomar el domo e instalar el sistema de aireación | El tubo del sistema de aireación va incrustado en el inyector 1 (Figura B.3) |
| 2 | Colocarle silicón al domo del BLAB. | Tomar el domo invertido a la figura 2.3.<br>El silicón va en la parte superior donde está el soporte de PVC 1 que hace tope con la brida 1 |
| 3 | Colocar empaque | Es el empaque 1 y el silicón va en la parte superior del empaque |
| 4 | Colocar el distribuidor y atravesarlo con el sistema de aireación | Es el de perforaciones de 1/8” y el silicón va a la orilla de la parte superior del distribuidor 1 |
| 5 | Colocar empaque | Es el empaque 2 y el silicón va en la parte superior del empaque |
| 6 | Colocar el cuerpo | Hacer coincidir las perforaciones de las bridas 1 y 2 de domo y cuerpo (Figura B.3) |
| 7 | Colocar los tornillos en las bridas del fondo y cuerpo | Colocar cada tornillo en las perforaciones con su arandela y tuerca de manera encontrada, apretar con llaves cuidando no descentrar los empaques |
| 8 | Dejar secar por 24 h | Se debe dejar de manera vertical apoyándose en el cuerpo (Figura B.4) |
| 9 | Colocar empaque | Es el empaque 3, a la orilla del BLAB donde está el soporte de PVC 3 y en adelante el armado va sin silicón, para el posterior cargado de RSU. |
| 10 | Colocar el distribuidor y atravesarlo con el sistema de aireación | Es el de perforaciones de 1/16” y el silicón va a la orilla de la parte superior del distribuidor 2 |
| 11 | Sellar el sistema aireación | Hacer el selle con flama y unas pinzas.<br>NOTA Solo realizar este paso cuando el BLAB este cargado con los RSU |
| 12 | Colocar empaque | Es el empaque 4 |
| 13 | Colocar el fondo | Colocar el fondo invertido, sobre el empaque 4 y hacer coincidir las perforaciones de las bridas 3 y 4 del cuerpo y fondo |

Tabla B.2 Procedimiento de ensamblado de BLAB-A (Continuación)

| PASOS | ACTIVIDAD | OBSERVACIONES |
|---|---|---|
| 14<br>FIN | Colocar los tornillos en las bridas del cuerpo y fondo | Colocar en cada perforación un tornillo con su arandela y tuerca de manera encontrada, apretar con llaves cuidando no descentrar los empaques (Figura B.5). |

Tabla B.3 Procedimiento de pruebas de hermeticidad de los BLAB

| PASOS | ACTIVIDAD | OBSERVACIONES |
|---|---|---|
| | **HIDROSTÁTICA** | |
| INICIO<br>1 | Llenar con agua el cuerpo del BLAB | Se realiza después del paso 7 de la tabla B.1 y 8 de la tabla B. |
| 2 | Dejar en reposo de 4 a 5 h | Se debe dejar de manera vertical apoyándose en el cuerpo (Figura B.6) |
| 3 | Observar si el BLAB tiene fugas de agua | Si no tiene, quitar el agua y continuar con el paso 5 |
| 4 | Realizar la acción necesaria para corregir la fuga | Regresar al paso 1 |
| | **NEUMÁTICA** | |
| 5 | Conectar una manguera de látex en el inyector 1 del domo y un compresor | Se requiere del uso de un compresor |
| 6 | Tapar Inyector 2 del domo | Puede ser con un subaseal o con una manguera de latex, apretada con una pinza |
| 7 | Cubrir con jabonadura todo el BLAB | Desde los inyectores del domo hasta el drenado del fondo |
| 8 | Hacer pasar el aire a presión del compresor | Tapar con los dedos el drenado a fin de presurizar el BLAB. |
| 9 | Cuando el BLAB está presurizado, revisar detalladamente la formación de burbujas | Liberar en ocasionalmente el aire del drenado. Observar todas las conexiones (Figura B.7) |
| 10 | ¿Hay fugas? | Si no hay fuga ir al paso 12 |
| 11 | En caso de detectar fuga efectuar las acciones necesarias para subsanarlas | Regresar al paso 5 |
| 12<br>FIN | Desarmar para cargar con los RSU | El BLAB esta puesto a punto para ser utilizado (Figura B.8) |

Figura B.1 Ensamblado de un BLAB-AN

Figura B.2 Tubo de aireación en inyector 1

Figura B.3 Tubo de aireación en el cuerpo del BLAB

Figura B.4 Ensamblado de un BLAB-A

Figura B.5 Ensamble de BLAB completo

Figura B.6 Prueba de hermeticidad hidrostática

Figura B.7 Prueba de hermeticidad neumática

Figura B.8 BLAB-AN listos para cargado de RSU

El cargado de los BLAB con los RSU se muestra en las figuras B.9 a B.11, posteriormente en las figuras B.12 y B.13 se observa el sellado con silicón de los BLAB y en las figuras B.14 y B.15 los sistemas de monitoreo de biogás y lixiviados, para finalmente tener un ensamble completo de los BLAB como se puede observar en la figura B.16.

Figura B.9 subproductos empaquetados

Figura B.10 Mezcla de Subproductos

Figura B.11 Cargado de mezcla en el BLAB

Figura B.12 Sellado de tubo de aireación del BLAB-A

Figura B.13 Cierre del BLAB-AN

Figura B.14 Sistema de medición de biogás

Figura B.15 Sistema de captación de lixiviados

Figura B.16 Ensamble completo de BLAB

## B.2 Calibración de Cromatógrafo de Gases

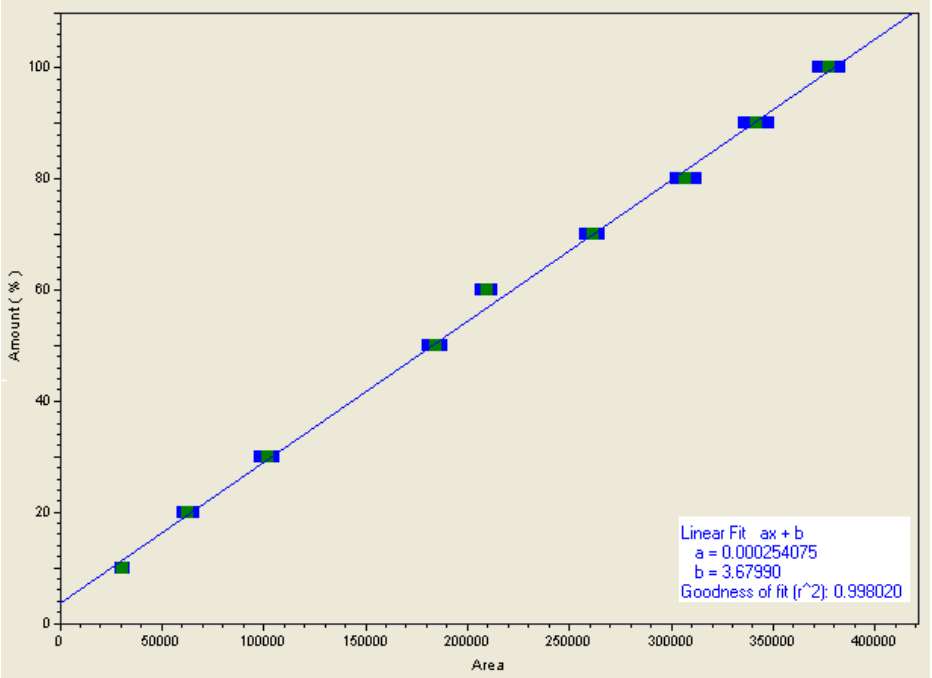



Figura B.17 Curva de calibración del $CH_4$

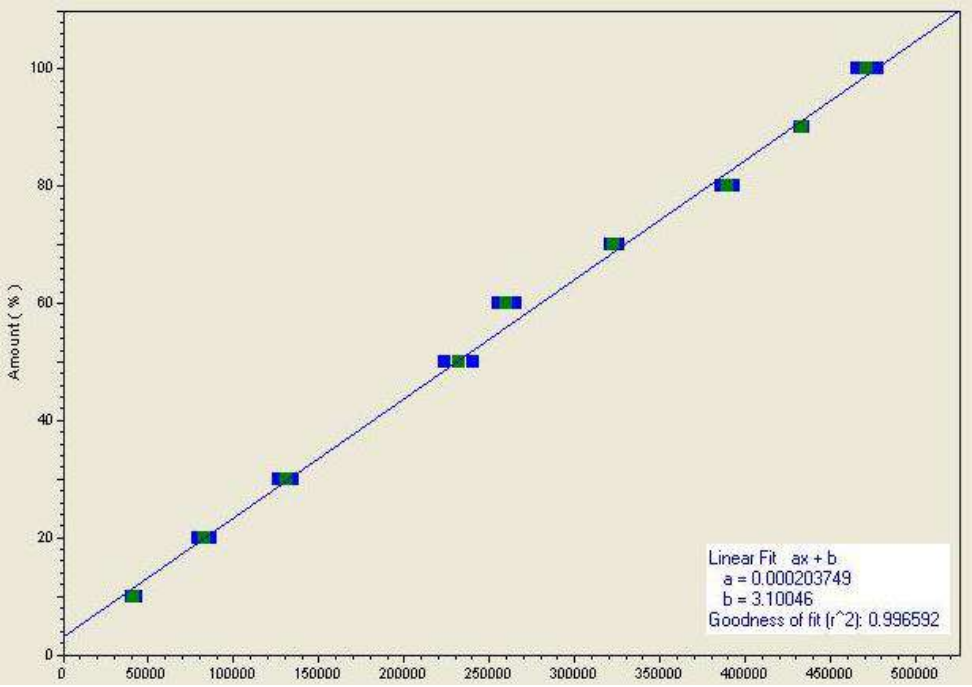



Figura B.18 Curva de calibración de $CO_2$

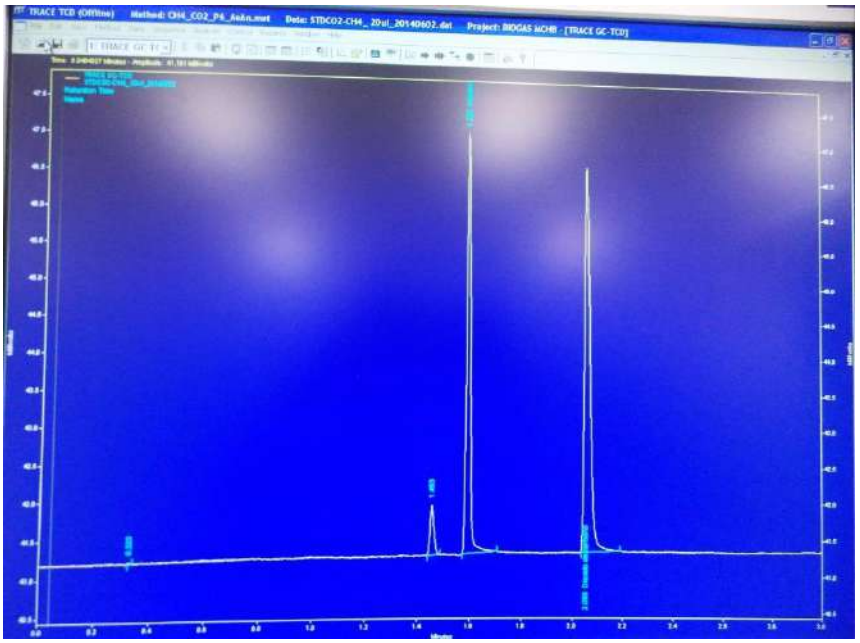
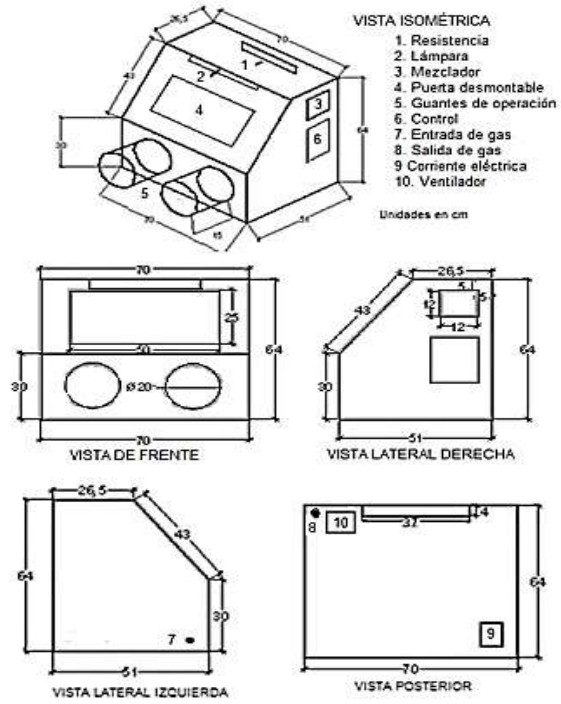


Figura B.19 Cromatógrama de calibración

## B.3 Pruebas de hermeticidad de cámara anaeróbica




Fuente: Baltierra-Trejo, 2007

Figura B.20 Dimensiones y partes de la cámara anaeróbica

Tabla B.4 Prueba de hermeticidad de la cámara anaeróbica

| PASOS | ACTIVIDAD | OBSERVACIONES |
|---|---|---|
| INICIO<br>1 | Colocar la puerta (4) en la cámara anaeróbica y cerrar | Cerrar válvulas (7 y 8) así como verificar que (10) está cerrado. |
| 2 | Introducir el aire comprimido por la válvula (7) | Abrir la válvula (7) |
| 3 | Hacer pasar una esponja con espuma de jabón por TODA la cámara anaeróbica | Esquinas, válvulas, tornillería, etc. |
| 4 | ¿La cámara tiene fugas de aire? | Si se observan burbujas de jabón pasar al punto 5<br>Si no hay fuga ir al punto 6 |
| 5 | Realizar lo necesario para eliminar la fuga | Regresar al paso 1 (Figuras B.21 a B.24) |
| 6<br>FIN | La cámara anaeróbica está en condiciones de operación. | |

Fuente: Hernández-Contreras, 2013

Figura B.21 Espuma de vinilo autoadhesiva en el marco de la puerta

Figura B.22 Abrazaderas metálicas en guantes

Figura B.23 Empaques en los tornillos

Figura B.24 Cinta teflón en llave de gas $N_2$

# ANEXO C. CARACTERIZACIÓN DE MICROORGANISMOS

## C.1 PROCEDIMIENTOS PARA LA ELABORACIÓN DE MEDIOS

Como se indica en la metodología en la preparación de los medios de cultivo se debe usar el equipo y el materia indicado en la tabla C.1

Tabla C.1 Equipos y materiales para elaboración de medios de cultivo

| EQUIPOS | MATERIALES: |
|---|---|
| ▪ Balanza analítica<br>▪ Agitador magnético<br>▪ Potenciómetro<br>▪ Parrilla de calentamiento<br>▪ Campana de extracción<br>▪ Autoclave<br>▪ Termómetro<br>▪ Refrigerador | ▪ Espátula<br>▪ Pizeta<br>▪ Matraces aforados<br>▪ Vaso de precipitados<br>▪ Matraces Erlenmeyer<br>▪ Pipetas graduadas<br>▪ Micropipetas y puntas<br>▪ Perilla<br>▪ Gradilla<br>▪ Mecheros bunsen<br>▪ Tubos de ensayo (tapón de baquelita)<br>▪ Campanas Durham<br>▪ Algodón<br>▪ Agua Desionizada (DI) |

Tabla C.2 Elaboración de medio celulolítico

| PASOS | ACTIVIDAD | OBSERVACIONES |
|---|---|---|
| INICIO<br>1 | Esterilizar el área de trabajo del laboratorio con cloro o alcohol y algodón | Usar equipo de seguridad durante la preparación del medio |
| 2 | Encender los mecheros bunsen para mantener el ambiente aséptico | - |
| 3 | Utilizar matraz de 1L, colocarlo en agitación constante con 708 mL de DI | Colocar el agitador dentro del matraz |
| 4 | Adicionar las soluciones y reactivos que se indican en la 2.6 | En las cantidades que indica la tabla 2.6 |
| 5 | Ajustar el pH a 7.2 con HCl o NaOH | Calibrar el potenciómetro, con solución buffer de pH 7 |
| 6 | Hervir el medio por 20 min | Hasta que la resarzurina cambie de color azul a rosa brillante |
| 7 | Enfriar el medio | Hasta temperatura ambiente |
| 8 | Adicionar $Na_2CO_3$ y HCl Cisteina | En las cantidades que indica la tabla 2.5 |
| 9 | Ajustar el pH a 6.6 con HCl o NaOH | Tapar el medio para evitar contaminación |
| 10<br>FIN | Esterilizar en autoclave a 121ºC por 15 min | Para NMP, colocar 6 mL en tubos de ensayo con tapón de baquelita y continuar con el paso 1 de la tabla C.5.<br>Para FM colocar en un frasco esterilizador, y continuar con el paso 1 de la tabla C.6. |

Fuente: Barlaz *et al.*, 1989; Márquez-Benavides. 2004.

Tabla C.3 Elaboración de medio fermentativo

| PASOS | ACTIVIDAD | OBSERVACIONES |
|---|---|---|
| INICIO<br>1 | Esterilizar el área de trabajo del laboratorio con cloro o alcohol y algodón | Usar equipo de seguridad durante la preparación del medio |
| 2 | Encender los mecheros bunsen para mantener el ambiente aséptico | - |
| 3 | Utilizar matraz de 1L colocarlo en agitación constante con 600mL de DI | Colocar el agitador dentro del matraz |
| 4 | Adicionar las soluciones y reactivos indicados en la tabla 2.6 | En las cantidades que indica la tabla 2.5 |
| 5 | Ajustar el pH a 7.2 con HCl o NaOH | Calibrar el potenciómetro, con solución buffer de pH 7 |
| 6 | Hervir el medio por 20 min | Hasta que la resarzurina cambie de color azul a rosa brillante |
| 7 | Enfriar el medio | Hasta temperatura ambiente |
| 8 | Adicionar $Na_2CO_3$ y HCl Cisteina | En las cantidades que indica la tabla 2.5 |
| 9 | Ajustar el pH a 6.6con HCl o NaOH | |
| 10<br>FIN | Esterilizar en autoclave a 121ºC por 15 min | Para NMP, colocar 6 mL en tubos de ensayo con tapón de baquelita y continuar con el paso 1 de la tabla C.5.<br>Para FM colocar en un frasco esterilizador, y continuar con el paso 1 de la tabla C.6. |

Fuente: Barlaz *et al.*, 1989; Márquez-Benavides. 2004.

Tabla C.4 Elaboración de medio acetoclástico metanogénico.

| PASOS | ACTIVIDAD | OBSERVACIONES |
|---|---|---|
| INICIO | | |
| 1 | Esterilizar el área de trabajo del laboratorio con cloro o alcohol y algodón | Usar equipo de seguridad durante la preparación del medio |
| 2 | Encender los mecheros bunsen para mantener el ambiente aséptico | - |
| 3 | Utilizar matraz de 1L colocarlo en agitación constante con 868mL de DI | Colocar el agitador dentro del matraz |
| 4 | Adicionar las soluciones y reactivos indicados en la tabla 2.6 | En las cantidades que indica la tabla 2.6 |
| 5 | Ajustar el pH a 7.2 con HCl o NaOH | Calibrar el potenciómetro, con solución buffer de pH 7 |
| 6 | Hervir el medio por 20 min | Hasta que la resarzurina cambie de color azul a rosa |
| 7 | Enfriar el medio | Hasta temperatura ambiente |
| 8 | Adicionar HCl Cisteina | En las cantidades que indica la tabla 2.5 |
| 9 | Ajustar el pH a 7.2 con HCl o NaOH | |
| 10 | Esterilizar en autoclave a 121ºC por 15 min | Para NMP, colocar 6 mL en tubos de ensayo con tapón de baquelita y continuar con el paso 1 de la tabla C.5. |
| FIN | | Para FM colocar en un frasco esterilizador, y continuar con el paso 1 de la tabla C.6. |

Fuente: Barlaz *et al.*, 1989; Márquez-Benavides. 2004.

Tabla C.5 Elaboración de medio sulfato-reductor.

| PASOS | ACTIVIDAD | OBSERVACIONES |
|---|---|---|
| INICIO<br>1 | Esterilizar el área de trabajo del laboratorio con cloro o alcohol y algodón | Usar equipo de seguridad durante la preparación del medio |
| 2 | Encender los mecheros bunsen para mantener el ambiente aséptico | - |
| 3 | Utilizar matraz de 1L colocarlo en agitación constante con 1000 mL de DI | Colocar el agitador dentro del matraz |
| 4 | Hacer dilución de los reactivos (g/L) | Conforme a la tabla 2.5 |
| 5 | Ajustar el pH a 7.5 con NaOH o HCl | Calibrar el potenciómetro, con solución buffer de pH 7 |
| 6<br>FIN | Esterilizar en autoclave a 121ºC por 15 min | Para NMP, colocar 6 mL en tubos de ensayo con tapón de baquelita y continuar con el paso 1 de la tabla C.5.<br>Para FM colocar en un frasco esterilizador, y continuar con el paso 1 de la tabla C.6. |

Fuente: Márquez-Benavides, 2004.

## C.2 PROCEDIMIENTOS DE CUANTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS

Tabla C.6 Procedimiento de cultivo con el método de NMP

| PASOS | ACTIVIDAD | OBSERVACIONES |
|---|---|---|
| INICIO<br>1 | Sanitizar la cámara anaeróbica con cloro o alcohol y algodón | Introducir el material y el equipo según corresponda la muestra |
| 2 | Cerrar la cámara anaeróbica | Introducir una vela encendida para consumir el $O_2$ |
| 3 | Inyectar $N_2$<br>¿Existe flama? | NOTA: No presurizar la cámara con el $N_2$<br><br>SI existe flama, pasar a punto 2<br>NO hay flama, pasar al punto 4 |
| 4 | Cerrar las válvulas y el gas $N_2$ | - |
| 5 | Agitar la muestra de lixiviados vigorosamente. Homogenizar la muestra de RSU | Destapar el BLAB tomar 1mL de la muestra correspondiente |
| 6 | En los tubos de dilución colocar el mL en el tubo de la etiqueta $1x10^{-1}$ y agitar | Inocular es decir tomar 1mL de la muestra de la dilución $1x10^{-1}$ y colocarlo en el tubo con el medio de cultivo y sus réplicas), cerrar perfectamente |
| 7 | Tomar 1 mL del tubo de dilución $1x10^{-1}$ y colocarlo en un tubo de dilución con la etiqueta $1x10^{-2}$ y agitar. | Inocular los tubos con medio de cultivo $1x10^{-2}$<br><br>Repetir hasta agotar los tubos de dilución y los tubos con medio de cultivo<br><br>NOTA: Utilizar solo una pipeta o punta en cada dilución y etiquetar los tubos para no confundirlos |
| 8 | Abrir la cámara e incubar los tubos inoculados y los blancos | Dejar en la incubadora por 28 días a 35 ± 2ºC |
| 9 | Transcurrido el período hacer la revisión y detectar los tubos positivos y negativos | Llevar registro |
| 10<br>FIN | Realizar el cálculo del NMP/100 $cm^3$ con la fórmula 1.17 | Es importante reservar tubos con medio de cultivo sin inocular, para considerarlos como controles o blancos y corroborar que el cultivo fue aséptico. |

Fuente: Adaptado de CONAGUA, 2014a

Tabla C.7 Procedimiento de cultivo con el método de FM

| PASOS | ACTIVIDAD | OBSERVACIONES |
|---|---|---|
| INICIO | Sanitizar el área de trabajo del laboratorio con cloro o alcohol y algodón | Usar equipo de seguridad |
| 1 | | |
| 2 | Encender los mecheros bunsen para mantener el ambiente estéril | Evitar hacer corrientes de aire. |
| 3 | Colocar un PAD en cada una de la cajas Petri | No se deben tocar los PAD |
| 4 | Colocar 2 mL del medio de cultivo en las cajas Petri y cerrar | Almacenar las cajas Petri en una caja hermética para transportarlas a la cámara anaeróbica |
| 5 | Sanitizar la cámara anaeróbica con cloro o alcohol y algodón | Introducir el material y el equipo según corresponda |
| 6 | Cerrar la cámara anaeróbica | Introducir una vela encendida para consumir el $O_2$ |
| 7 | Inyectar el $N_2$<br>¿Existe flama? | NOTA: No presurizar la cámara con el $N_2$<br>SI existe flama, pasar a punto 6<br>NO hay flama, pasar al punto 8 |
| 8 | Cerrar las válvulas y el gas $N_2$ | - |
| 9 | Dentro de la cámara preparar el sistema de filtración con la bomba de vacio | - |
| 10 | Agitar la muestra de lixiviados vigorosamente. Homogenizar la muestra de RSU | Tomar 1 mL de muestra correspondiente con una pipeta o micropipeta |
| 11 | En los tubos de dilución colocar el mL en el tubo de la etiqueta $1x10^{-1}$ y agitar | Tomar 1 mL de la muestra de la dilución $1x10^{-1}$ con otra pipeta o punta de micropipeta |
| 12 | Quitar el soporte magnético y con las pinzas de punta colocar la membrana, el soporte magnético y 30 mL de solución dispersante | No tocar la membrana, si se cae desechar y usar otra. |

Fuente: Adaptado de CONAGUA, 2014b

Tabla C.7 Procedimiento de cultivo con el método de FM (continuación)

| PASOS | ACTIVIDAD | OBSERVACIONES |
|---|---|---|
| 13 | Colocar 1 mL de la dilución $1x10^{-1}$ y succionar con la bomba de vacío. Retirar la membrana y sembrarla en la caja Petri | Cuidar que no queden burbujas en la membrana |
| 14 | Tomar 1 mL del tubo de dilución $1x10^{-1}$ y colocarlo en un tubo de dilución con la etiqueta $1x10^{-2}$ y agitar. | Repetir del paso 12 al 14 hasta agotar los tubos de dilución y los tubos con medio de cultivo<br><br>NOTA: Utilizar solo una pipeta o punta en cada dilución y etiquetar los tubos de dilución y las cajas Petri para no confundirlos |
| 15 | Abrir la cámara y colocar las cajas Petri en una caja con cierre hermético | Para seguir manteniendo las condiciones de anaerobiosis antes de cerrar la caja se coloca una vela encendida y cuando se apague, es un indicador que se agotó el $O_2$ |
| 16 | Incubar | Sin abrir la caja hermética por 48 h a 35 ± 2ºC |
| 17 | Transcurrido el tiempo de incubación hacer el conteo de las UFC | Se puede usar un aparato óptico con lámpara fluorescente de luz blanca<br><br>Llevar registro |
| | Realizar el cálculo UFC/100 $cm^3$ con fórmula 1.18 | Es importante incubar cajas Petri sin muestra como control o blanco y corroborar que el cultivo fue aséptico. |

Fuente: Adaptado de CONAGUA, 2014b

## C.3. PRUEBA COMPARATIVA DE METODOS DE CUANTIFICACIÓN NMP Y FM

Se llevaron a cabo pruebas de cultivos anaeróbicos en medio líquido con los métodos NMP (Figura C.1) y FM (Figura C.2), de muestras de los RSUd y LD de cuatro BLAB, que operaron en condiciones anaeróbicas a la taza de recirculación 40% volumen de RSU (%V) dos veces por semana. A continuación se muestran los resultados:

Figura C.1 Tubos para cultivo en NMP

Figura C.2 Inoculación por FM

Después de aplicados los métodos a las muestra de RSU y lixiviados se obtuvieron las densidades de las poblaciones con las ecuaciones correspondientes. En las figuras de la C. 3 y C.6 se muestran las dinámicas del crecimiento de las bacterias por ambos métodos en RSU y en las figuras de la C.7 y C.10 las cuantificadas en lixiviados drenados.

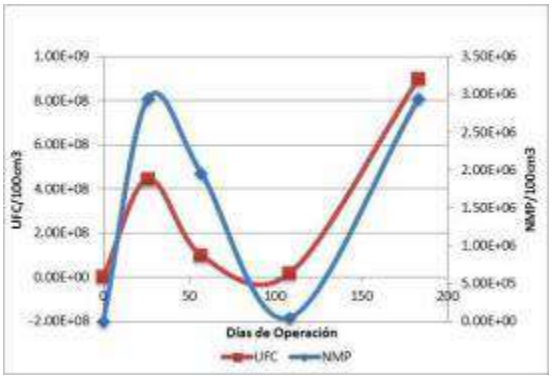



Figura C.3 Crecimiento de bacterias celulíticas de RSU.

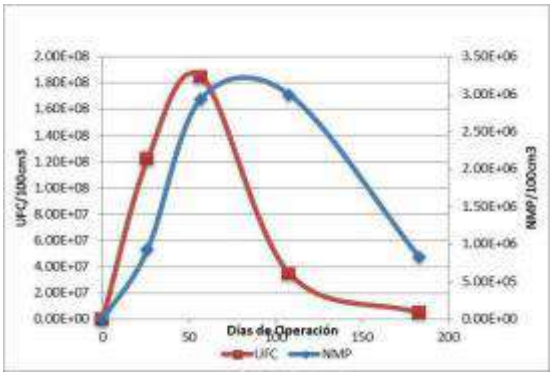



Figura C.4 Crecimiento de bacterias fermentativas de RSU.

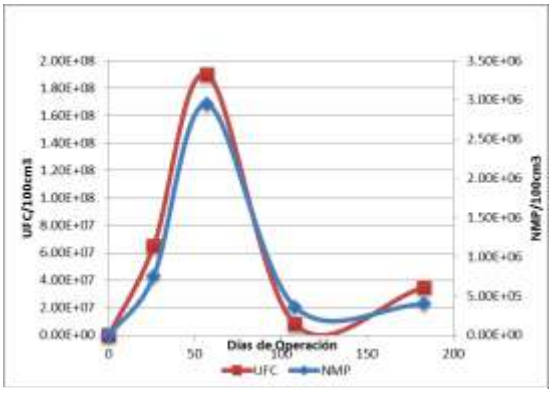



Figura C.5 Crecimiento de bacterias sulfato-reductoras de RSU.

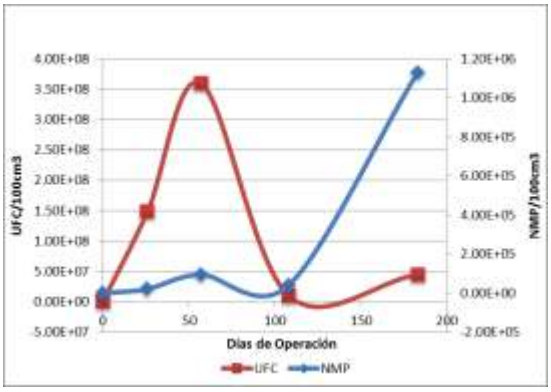



Figura C.6 Crecimiento de bacterias acetoclásticas metanogénicas de RSU

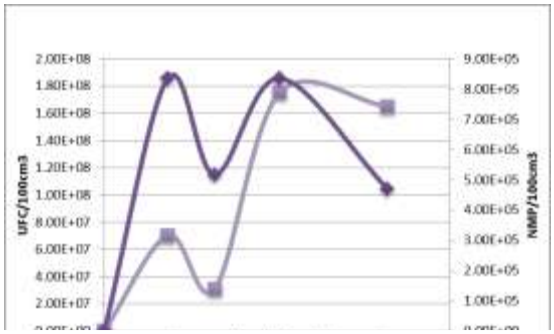



Figura C.7 Crecimiento de bacterias celulíticas de lixiviados.

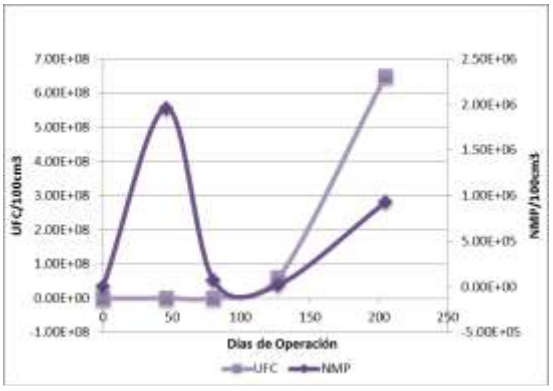



Figura C.8 Crecimiento de bacterias fermentativas de lixiviados.

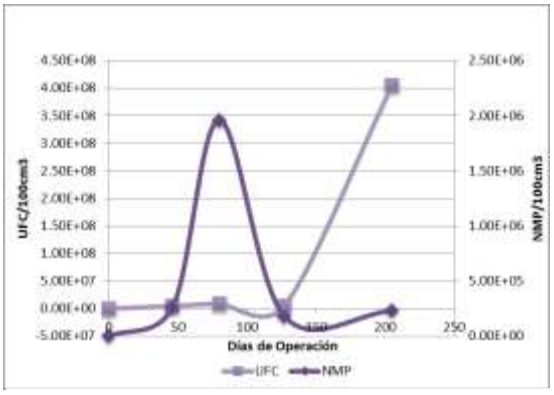



Figura C.9 Crecimiento de bacterias sulfato-reductoras de lixiviados.

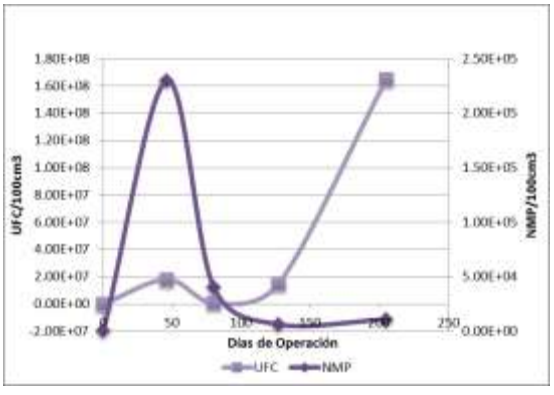



Figura C.10 Crecimiento de bacterias acetoclásticas metanogénicas de lixiviados.

# ANEXO D. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

En el presente anexo se muestra el análisis estadístico respecto al seguimiento de la operación de la investigación considerando un Análisis de la Varianza (ANOVA) del 95% de confianza, estableciendo como Hipótesis Nula (***Ho***) que no existen diferencias entre las medias (μ) de los valores generados por los sistemas de BLAB aeróbicos ($\mu_A$), anaeróbicos ($\mu_{AN}$) y los control ($\mu_B$) durante todo el experimento

$$\boldsymbol{Ho}: \mu_{\boldsymbol{A}} = \mu_{\boldsymbol{AN}} = \mu_{\boldsymbol{B}}$$

Y como Hipótesis Alternativa (***Ha***) que las $\mu$ son diferentes significativamente entre las $\mu$ de los valores generados por los sistemas de BLAB $\mu_A$, $\mu_{AN}$ y $\mu_B$ durante todo el experimento

$$\boldsymbol{Ha}: \mu_{\boldsymbol{A}} \neq \mu_{\boldsymbol{AN}} \neq \mu_{\boldsymbol{B}}$$

Lo anterior con el uso del software Minitab V.16 considerando: Que si el valor de p>0.05 se acepta **Ho** ó si el valor de p<0.05 se rechaza Ho. Posteriormente si la ANOVA rechazó la **Ho** y aceptó la **Ha** entonces se efectuó la prueba estadística de Tukey (95% de confianza) para probar la igualdad por pares de $\mu$, es decir agrupar. Tukey agrupa con letras donde las $\mu$ que no comparten una letra son significativamente diferentes (Montgomery, 2004). Este análisis se realizó para cada etapa de la biodegradación establecida como: Hidrólisis (Fase 1), Acido-Acetogénica (Fase 2) y Metanogénica (Fase 3).

## D.1 LIXIVIADOS DRENADOS Y RECIRCULADOS

Tabla D.1 Análisis Estadístico para lixiviados drenados y recirculados

| ANOVA | TUKEY |
|---|---|
| Lixiviado Drenado P = 0.775<br>**p>0.05 se acepta Ho** | NA |
| pH de la fase 2 P = **0.000**<br>**p<0.05 se rechaza *Ho*** | Agrupación<br>LR A<br>AN B<br>A B |
| pH de la fase 3 P = **0.000**<br>**p<0.05 se rechaza *Ho*** | Agrupación<br>LR A<br>AN B<br>A B |
| Temperatura de la fase 2 P = **0.005**<br>**p<0.05 se rechaza *Ho*** | Agrupación<br>LR B<br>AN A<br>A A |
| Temperatura de la fase 3 P = **0.016**<br>**p<0.05 se rechaza *Ho*** | Agrupación<br>LR B<br>AN A<br>A A |
| Conductividad Electrónica de la fase 2 P = **0.333**<br>**p>0.05 se acepta *Ho*** | NA |
| Conductividad Electrónica de la fase 3 P = **0.108**<br>**p>0.05 se acepta *Ho*** | NA |
| DQO de la fase 2 P = **0.108**<br>**p>0.05 se acepta *Ho*** | NA |
| DQO de la fase 3 P = **0.563**<br>**p>0.05 se acepta *Ho*** | NA |
| Sólidos Totales de la fase 2 P = **0.018**<br>**p<0.05 se rechaza *Ho*** | Agrupación<br>LR B<br>AN A<br>A A B |
| Sólidos Totales de la fase 3 P = **0.977**<br>**p>0.05 se acepta *Ho*** | NA |
| Sólidos Volátiles Totales de la fase 2 P = **0.135**<br>**p>0.05 se acepta *Ho*** | NA |
| Sólidos Volátiles Totales de la fase 3 P = **0.994**<br>**p>0.05 se acepta *Ho*** | NA |

## D.2 PRODUCCIÓN DE BIOGÁS

Tabla D.2 Análisis Estadístico para biogás

| ANOVA | TUKEY |
|---|---|
| Producción de Biogás (Todo el experimento) P = 0.0000<br>**p<0.05 se rechaza *Ho*** | Agrupación<br>B A<br>AN B<br>A B |
| Producción de Biogás en la Fase 2 P = **0.003**<br>**p<0.05 se rechaza *Ho*** | Agrupación<br>B B<br>AN A<br>A B |

Tabla D.2 Análisis Estadístico para biogás (continuación)

| ANOVA | TUKEY |
|---|---|
| Producción de Biogás en la Fase 3 P = **0.000**<br>**p<0.05 se rechaza *Ho*** | Agrupación<br>B C<br>AN A<br>A B |
| Concentración de $CH_4$ (todo el experimento) P = **0.000**<br>**p<0.05 se rechaza *Ho*** | Agrupación<br>B C<br>AN A<br>A B |
| Concentración de $CH_4$ en la fase 2 P = **0.029**<br>**p<0.05 se rechaza *Ho*** | Agrupación<br>B B<br>AN A<br>A A B |
| Concentración de $CH_4$ en la fase 3 P = **0.000**<br>**p<0.05 se rechaza *Ho*** | Agrupación<br>B C<br>AN A<br>A B |
| Flujo acumulado de $CH_4$ (todo el experimento) P = **0.000**<br>**p<0.05 se rechaza *Ho*** | Agrupación<br>B B<br>AN A<br>A B |
| Flujo acumulado de $CH_4$ en la fase 2 P = **0.034**<br>**p<0.05 se rechaza *Ho*** | Agrupación<br>B B<br>AN A<br>A A B |
| Flujo acumulado de $CH_4$ en la fase 3 P = **0.000**<br>**p<0.05 se rechaza *Ho*** | Agrupación<br>B B<br>AN A<br>A B |
| Concentración de $CO_2$ (todo el experimento) P = **0.027**<br>**p<0.05 se rechaza *Ho*** | Agrupación<br>B B<br>AN A B<br>A A |
| Concentración de $CO_2$ en la fase 2 P = **0.000**<br>**p<0.05 se rechaza *Ho*** | Agrupación<br>B C<br>AN A<br>A B |
| Concentración de $CO_2$ en la fase 3 P = **0.011**<br>**p<0.05 se rechaza *Ho*** | Agrupación<br>B B<br>AN A B<br>A A |
| Flujo acumulado de $CO_2$ (todo el experimento P = **0.000**<br>**p<0.05 se rechaza *Ho*** | Agrupación<br>B C<br>AN A<br>A B |
| Flujo acumulado de $CO_2$ en la fase 2 P = **0.003**<br>**p<0.05 se rechaza *Ho*** | Agrupación<br>B B<br>AN A<br>A B |
| Flujo acumulado de $CO_2$ en la fase 3 P = **0.000**<br>**p<0.05 se rechaza *Ho*** | Agrupación<br>B C<br>AN A<br>A B |

## D.4 CUANTIFICACION MICROBIOLÓGICA

a) Análisis de correlación de métodos para las bacterias celulolíticas

| | | | FM | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Correlación | | RSUd-AN | RSUd-B | LD-AN | LR |
| NMP | RSUd-AN | Correlación de Pearson. | 0.96 | 0.87 | 0.89 | 0.18 |
| | | Sig. (2-tailed). | 0.00 | 0.02 | 0.02 | 0.73 |
| | | N. | 6 | 6 | 6 | 6 |
| | RSUd-B | Correlación de Pearson. | -0.10 | 0.03 | -0.17 | 0.11 |
| | | Sig. (2-tailed). | 0.85 | 0.96 | 0.74 | 0.84 |
| | | N. | 6 | 6 | 6 | 6 |
| | LD-AN | Correlación de Pearson. | 0.77 | 0.54 | 0.78 | 0.11 |
| | | Sig. (2-tailed). | 0.08 | 0.26 | 0.07 | 0.84 |
| | | N. | 6 | 6 | 6 | 6 |
| | LR | Correlación de Pearson. | 0.91 | 0.80 | 1.00 | 0.40 |
| | | Sig. (2-tailed). | 0.01 | 0.06 | 0.00 | 0.44 |
| | | N. | 6 | 6 | 6 | 6 |

b) Análisis de correlación de métodos para las bacterias fermentativas

| | | | FM | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Correlación | | RSUd-AN | RSUd-B | LD-AN | LR |
| NMP | RSUd-AN | Correlación de Pearson. | -0.81 | 0.96 | 0.12 | -.051 |
| | | Sig. (2-tailed). | 0.05 | 0.00 | 0.82 | 0.31 |
| | | N. | 6 | 6 | 6 | 6 |
| | RSUd-B | Correlación de Pearson. | -0.64 | 0.57 | 0.48 | -0.93 |
| | | Sig. (2-tailed). | 0.17 | 0.24 | 0.33 | 0.01 |
| | | N. | 6 | 6 | 6 | 6 |
| | LD-AN | Correlación de Pearson. | -0.86 | 0.74 | 0.62 | -0.72 |
| | | Sig. (2-tailed). | 0.03 | 0.09 | 0.19 | 0.11 |
| | | N. | 6 | 6 | 6 | 6 |
| | LR | Correlación de Pearson. | 0.50 | -0.47 | -0.83 | 0.81 |
| | | Sig. (2-tailed). | 0.31 | 0.35 | 0.04 | 0.05 |
| | | N. | 6 | 6 | 6 | 6 |

c) Análisis de correlación de métodos para las bacterias Metanogénicas

| | | | FM | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Correlación | | RSUd-AN | RSUd-B | LD-AN | LR |
| NMP | RSUd-AN | Correlación de Pearson. | 0.77 | 0.28 | -.0,05 | 0.88 |
| | | Sig. (2-tailed). | 0.08 | 0.59 | 0.92 | 0.02 |
| | | N. | 6 | 6 | 6 | 6 |
| | RSUd-B | Correlación de Pearson. | -0.04 | 0.77 | -0.62 | 0.66 |
| | | Sig. (2-tailed). | 0.95 | 0.07 | 0.19 | 0.15 |
| | | N. | 6 | 6 | 6 | 6 |
| | LD-AN | Correlación de Pearson. | 0.88 | -0.01 | 0.01 | 0.83 |
| | | Sig. (2-tailed). | 0.02 | 0.99 | 0.99 | 0.04 |
| | | N. | 6 | 6 | 6 | 6 |
| | LR | Correlación de Pearson. | 0.58 | 0.38 | -0.04 | 0.82 |
| | | Sig. (2-tailed). | 0.22 | 0.46 | 0.44 | 0.04 |
| | | N. | 6 | 6 | 6 | 6 |

d) Análisis de correlación de métodos para las bacterias Sulfato-reductoras.

| | | | FM | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Correlación | | **RSUd-AN** | **RSUd-B** | **LD-AN** | **LR** |
| **NMP** | **RSUd-AN** | Correlación de Pearson. | 0.68 | -0.21 | 0.59 | 0.62 |
| | | Sig. (2-tailed). | 0.14 | 0.69 | 0.21 | 0.19 |
| | | N. | 6 | 6 | 6 | 6 |
| | **RSUd-B** | Correlación de Pearson. | 0.20 | 0.89 | -0.58 | -0.80 |
| | | Sig. (2-tailed). | 0.70 | 0.02 | 0.23 | 0.06 |
| | | N. | 6 | 6 | 6 | 6 |
| | **LD-AN** | Correlación de Pearson. | -0.03 | -0.49 | 0.97 | 0.67 |
| | | Sig. (2-tailed). | 0.96 | 0.33 | 0.00 | 0.15 |
| | | N. | 6 | 6 | 6 | 6 |
| | **LR** | Correlación de Pearson. | -0.04 | -0.60 | 0.87 | 0.80 |
| | | Sig. (2-tailed). | 0.95 | 0.21 | 0.03 | .06 |
| | | N. | 6 | 6 | 6 | 6 |

# ANEXO E. PLUBLICACIONES

- Hernández-Contreras, G.I., *et al.,* 2014. *"Determinación del tiempo para la cuantificación de bacterias anaerobias presentes en residuos sólidos urbanos y lixiviados".* Memorias del 7o. Encuentro de Expertos en Residuos Sólidos. Vol. 1. pp. 105-110. ISSN: 2395-8170.

- Hernández-Contreras, G.I., *et al.,* 2015. *"Dynamics of Fermentative and Methanogenic Bacteria in the Accelerated Degradation of Municipal Solid Waste".* Memorias del 30º International conference on solid waste Technology and Management. Marzo, 2015. ISSN: 1091-8043

- Hernández-Contreras, G.I., *et al.,* 2015. *"Biogás generado en biorreactores por la degradación acelerada de residuos sólidos urbanos".* 16º Congreso International y 20° Congreso Nacional de Ciencias Ambientales. Junio, 2015. ISSN: 2007-512X.

- Colaboración. Carreño D. M. C. *et al.,* 2015. *"Remoción de $Pb^{+2}$ con Raquis de Zea mays modificado"* 16º Congreso International y 20° Congreso Nacional de Ciencias Ambientales. Junio, 2015. ISSN: 2007-512X.

Widener University

The Journal of Solid Waste Technology and Management

*The Thirtieth International Conference on Solid Waste Technology and Management*

*Philadelphia, PA, USA*

*March 15 -18, 2015*

*The Journal of Solid Waste Technology and Management*

***Student Paper Award***

*presented to*

**Gisela Inés Hernández-Contreras**

*for the paper*

**"Dynamics of Fermentative and Methanogenic Bacteria in the Accelerated Degradation of Municipal Solid Waste"**

*Ronald L. Mersky, Editor*

The Journal of Solid Waste Technology and Management

# The 30th International Conference on Solid Waste Technology and Management

## March 15-18, 2015
## Philadelphia, PA U.S.A.

The Journal of Solid Waste Technology and Management
Department of Civil Engineering | Widener University
1 University Place Chester, PA 19013-5792 USA
Phone: 610-499-4018 | Fax: 610-499-4461 | Email:
solid.waste@widener.edu • http://www.solid-waste.org

ISSN 1091-8043

© 2015 Journal of Solid Waste Technology and Management
The responsibility for contents rests upon the authors and not upon JSWTM or Widener University

# Dynamics of Fermentative and Methanogenic Bacteria in the Accelerated Degradation of Municipal Solid Waste

**Gisela Inés Hernández-Contreras, Engr.**
***María del Consuelo Hernández-Berriel, Ph.D.**
**Isaías de la Rosa-Gómez, Ph.D.**
**María del Carmen Carreño-de León, Ph.D.**
**División de Estudios de Posgrado e Investigación,**
**Instituto Tecnológico de Toluca**.
Av. Instituto Tecnológico s/n. Fraccionamiento La Virgen C.P.52149,
Metepec, Edo. de México, México.
*hberriel_1999@yahoo.com.mx

**Liliana Márquez-Benavides, Ph.D.**
**Laboratorio de Residuos Sólidos y Medio Ambiente.**
**Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales,**
**Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.**
Av. San Juanito Itzícuaro S/N, Col. San Juanito Itzícuaro. C.P.58302.
Morelia, Michoacán, México.

**Abstrac**: In Mexico, the most used form of disposal for the municipal solid waste (MSW) is the landfill. The degradation of MSW produces biogas and leachate which affect the environment, such degradation results from the activities of microbial consortia. There are few studies on the microbial density of this process, therefore the aim of this work was to determine by the "Most Probable Number" method the growth dynamics of fermentative bacteria (FB) and methanogenic bacteria (MB) involved in the accelerated degradation of MSW. In order to determine the above, ten laboratory-scale bioreactors (LSB) were operated at 26°C±2, with and without the recirculation of leachate at 40% volume rate once per week over five months. The LSB were operated and dismantled monthly in order to quantify the bacteria in samples of MSW and leachate. The results showed that in the recirculated leachate (RL) FB were predominant and both bacteria decreased with the recirculation. While in drained leachate (DL) the MB were initially higher and decreased when the FB started increasing until becoming predominant. The hydrolytic-acidogenic phase was identified from days zero to 38 and methanogenic phase started on day 39 according with the dynamics of bacterial populations in the MSW and DL samples of the LSB with leachate recirculation. The LSB without recirculation leachate remained in the hydrolytic-acidogenic phase.

**Keywords:** Microbial growth, Most probable number, Microbial consortia and Waste degradation.

## Introduction

The anthropogenic activities produce different types of waste, mainly Municipal Solid Wastes (MSW), which if improperly disposed, may affect the soil, aquifer and atmosphere (Tchobanoglous, *et al*., 1994). This pollution has caused an increased importance in its treatment throughout the world. In Mexico, landfill is the most common method for the final disposal of MSW, it consists of an engineered infrastructure where wastes are buried and covered with intermediate and final layers of soil, it has a leachate collection systems and venting wells for conducting biogas. The Landfill is regulated by the NOM-083-SEMARNAT-2003 to prevent and control the pollution (LGEEPA, 2014; SEMARNAT, 2013).

Inside the landfill, due to their metabolic activity, a mixed population of microorganisms degrade the organic fraction (OF) of the MSW. They are also responsible of the biodegradation phases: hydrolysis, acidogenesis, acetogenesis and methanogenesis, resulting in the generation of leachate and biogas, the latter composed mainly of $CH_4$ y $CO_2$ (Gerardi, 2003, Sang, *et. al*., 2012). Nevertheless, the stabilization of MSW until its mineralization requires more than 20 years, as a result, there have been different studies, such as the leachate recirculation, in order to accelerate the degradation and reduce the time required to stabilize it. Among the investigations on this topic, we can find: The effect of different regimes of humidification (Hernández-Berriel, *et. al.*, 2014) and The operation of LSB at two rates and two frequencies of leachate recirculation (Olay-Romero, *et. al*., 2014). There are other studies on the microbial consortia involved in biodegradation as: evaluating the development of major groups of microorganisms (Barlaz, *et. al.*, 1989), The effect of the inclusion of soils as intermediate and final layers (Marquez-Benavides, 2004) and Determination of bacteria in landfills operated aerobically and anaerobically (Sang, *et. al.*, 2012).

In Mexico there are few studies on microbial density in the process of accelerated biodegradation of MSW, therefore the aim of this study was to determine the dynamic growth of fermentative bacteria (FB) and methanogenic bacteria (MB) by Most Probable Number (MPN) method in LSB without and with leachate recirculation at 40% volume (40% V) once per week (CONAGUA, 2014).

## Materials and methods

### Sampling and physical characterization of MSW

The MSW samples were taken in early of 2014 from the Zinacantepec landfill, located at the southeast region of the State of México. The landfill has an area of 6.7 hectares; it has two

closed cells, a third unclosed cell in operation and a fourth cell in construction. The sample of fresh MSW was taken from an operating cell of approximately 55kg, according to Mexican standard NMX-AA-015-1985, using the quartered method. Then, the sample was carried to the Environmental Engineering Research Laboratory in the *Instituto Tecnológico de Toluca*, in this site the selection and quantification of the sub products was made according to NMX-AA-022-1985, the sub products were reduced to a size of one centimeter approximately (SEMARNAT, 2013). The characterization is shown in the Table 1.

**Table 1.** Characterization of MSW

| No. | SUBPRODUCT | % weight | No. | SUBPRODUCT | % weight |
|---|---|---|---|---|---|
| **1** | Cardboard | 3.21 | **14** | Diaper (sanitary) | 4.98 |
| **2** | Fine residue | 10.97 | **15** | Plastic film | 8.52 |
| **3** | Tetra Pack | 1.60 | **16** | Rigid plastic | 4.73 |
| **4** | Hard vegetable fiber | 1.77 | **17** | Expanded polystyrene | 0.51 |
| **5** | Bone | 0.34 | **18** | Food waste | 14.68 |
| **6** | Oilcloth | 1.27 | **19** | Yard waste | 1.86 |
| **7** | Tin cans | 0.00 | **20** | Cloth | 2.78 |
| **8** | Pottery | 0.84 | **21** | Glass | 3.88 |
| **9** | Wood | 0.68 | **22** | Hygienic products | 2.87 |
| **10** | Building Supplies | 4.39 | **23** | Casting material | 1.69 |
| **11** | Ferrous material | 1.35 | **24** | Electronics | 0.08 |
| **12** | Nonferrous material | 0.25 | **25** | Expired drugs | 0.51 |
| **13** | Paper | 4.73 | **26** | Various | 21.52 |
| | | | | **TOTAL** | **100** |

**Set up and operation of laboratory scale bioreactors (LSB)**

Ten LSB were constructed with PVC schedule 40 pipes of 412.24 $cm^3$ (5.4 cm intern diameter and 18 cm high) (Hernández-Berriel, *et. al.*, 2014). Every LSB was filled with a mixture of MSW (Table 1) and compacted to 650 $kg/cm^3$. Each LSB had hermeticity tests in order to operate in anaerobiosis and then connected to the biogas and leachate systems (Figure 1), all LSB were installed in a controlled temperature area at 26°C±2.

The LSB were operated under anaerobic conditions in two groups, five as control without leachate recirculation (LSB-B) and five with leachate recirculation at 40%V rate once per week (LSB-AN) with 2 ml/min flow (Olay-Romero, *et. al*., 2014). The operation started with the injection of fresh leachate collected in Zinacantepec's landfill (40%V), with a Ph of 7.32 and 30 333 mg/L of DQO. The drained leachate (DL) of each LSB were mixed in a 200L tank (simulating the leachate lagoon of the landfill), where the leachate for subsequent recirculation were taken from. The LSB-B and LSB-AN remained in operation for five months, each month one of the LSB in each group was dismantled in an anaerobic chamber, in order to make the microbiological quantifications in the leachate and biodegraded MSW.

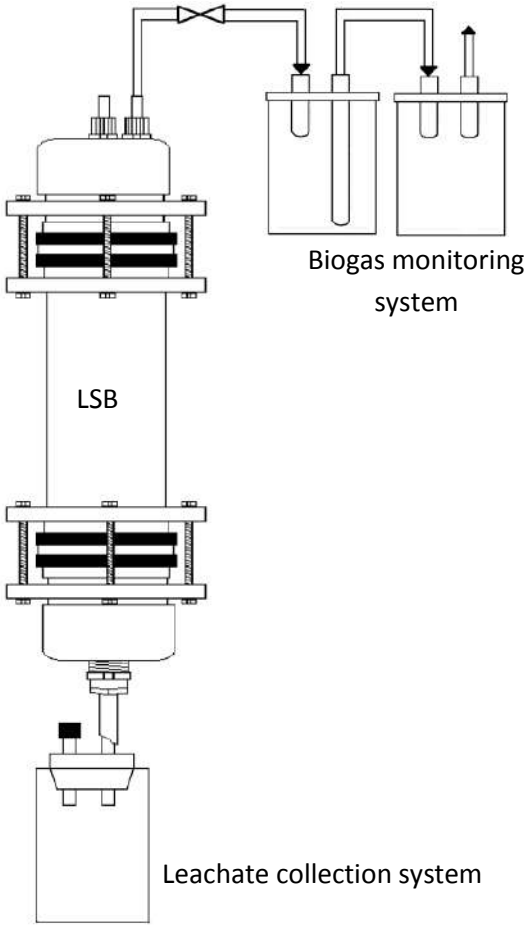



**Figure 1**. Leachate collection and Biogas monitoring system

**Preparation of anaerobic growth media**

The fermentative and methanogenic bacteria require special nutrients, that provide energy for metabolic activity and cell growth (Gerardi, 2003), for this reason, specific anaerobic growth media were made for each consortia of bacteria selected, according on the growth media described by Barlaz (1989) and Márquez-Benavides (2004).

**Quantification of bacteria**

The sampling of MSW and leachate from the LSB, were taken inside an anaerobic chamber (previously sanitized). For the leachates, one milliliter samples were taken and diluted six times. For the MSW samples, 30g were taken from each LSB, these were liquefied with 300 ml of a sterile phosphate buffer solution with a pH=7 for one minute. (Márquez-Benavides, 2004) Later, it is filtered in a funnel and one milliliter was taken and diluted six times too.
With the diluted samples, the seeding of bacteria was done (anaerobic chamber) according to NMX-AA-42-1987 for the method of MPN (CONAGUA, 2014). The incubation time was 28

days, due to the slow metabolic activity of anaerobic bacteria (Hernández-Contreras, *et. al.*, 2014). The criteria used for the identification of positive or negative tubes is described in Table 2.

**Table 2** Criteria for positive tubes MPN

| Bacteria | CRITERIA 1 SUBSTRATE | CRITERIA 2 TURBIDITY AND GAS | CRITERIA 3 RESARZURIN |
|---|---|---|---|
| Fermentative | Not Applicable | If an optical density higher to 0.1 at 640 nm [a; d.] is observed. | The rezazurin color indicator changes its color intensity by the metabolic activity of the bacteria present in a sample at a speed that is directly related to the number of bacteria, so that the degradation of pink to yellow is considered positive[c] |
| Methanogenic | If gas inside the tube Durham derived from the conversion of sodium acetate in $CH_4$ y $CO_2$[a; d.] is observed. | If turbidity due to bacterial growth and gas formation in tubes Durham[b] is present. | |

Fuente: [a]Barlaz, *et. al*., 1989, [b]CONAGUA, 2014; [c]Madigan, 2009; [d]Márquez-Benavides, 2004.

## Results and discussion

### Dynamics of bacteria

In figure 2, the dynamic of the bacteria in RL (LSB-AN) is shown, where the FB decrease constantly, this can be attributed to the consumption of the substrates formed in the hydrolytic phase. On the other hand, the MB increase their density to 11.7 Ln(MPN/100mL) at the 38th day, indicating that enough substrates were formed in the acidogenesis phase, and were later consumed, therefore decreasing. (Marquez-Beavides, 2004; Sang, 2012).

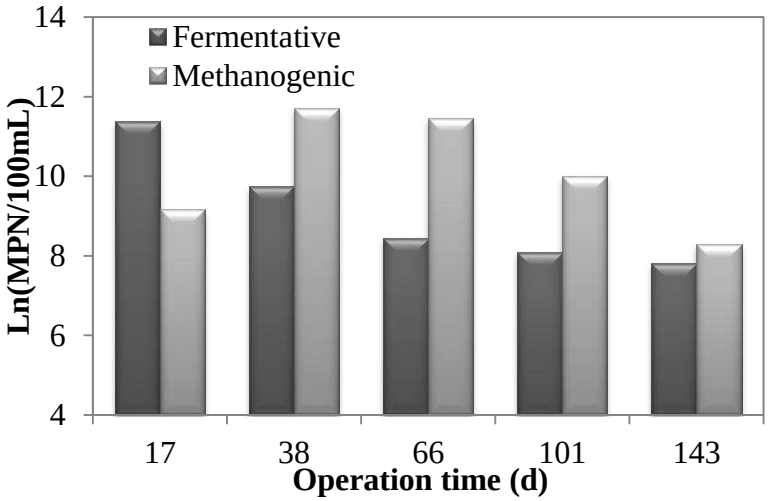



**Figure 2**. Dynamics of bacteria in RL

The dynamics of bacteria in the DL (LSB-AN) are shown in figure 3. The 17$^{th}$ day both consortia are detected, this can be attributed to the anaerobic conditions established in the LSB since the beginning of the operation, as well as to the characteristics of the leachate collected in the landfill (pH of 7.32 and DQO of 30 333 mg/L), corresponding to young leachate (Tchobanoglous, *et al.,* 1994). The population of MB are greater than FB, because the methanogenic phase was established from day 38 of the experiment (Figure 2).

Starting from day 101, the FB increased, this has two possible explanations. It can be attributed to the presence of volatile organic acids (VOA), which can not be degraded by MB; or to the presence of sulfate-reducing bacteria, that compete with MB for the present $H_2$ (Barlaz *et al.,* 1989; Gerardi, 2003; Márquez-Benavidez, 2004; Robles-Martínez, 2008; Sang, *et. al.,* 2012).

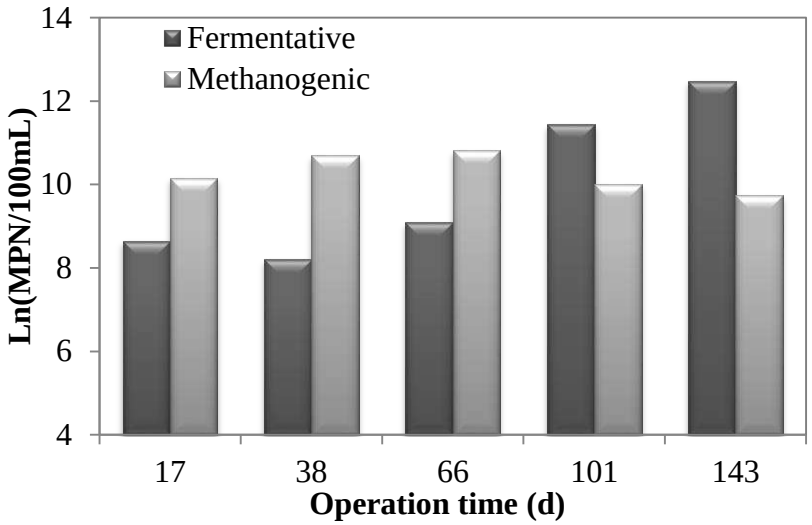



**Figure 3**. Dynamics of bacteria in DL of LSB-AN

The figure 4 shows the dynamics of bacteria in the SMW of the LSB-AN. In the 38th day the MB increased to its maximum amount, 12.2 Ln(MPN/100mL) ) and then decreased, showing the same trend as DL and RL (Figure 2 & 3). The MB predominate with up to two orders of magnitude over the FB, this may be a result of favored conditions of nutrients and moisture in the MSW provided by the recirculation of leachate, therefore accelerating the MSW biodegradation. (Barlaz *et. al.,* 1989).

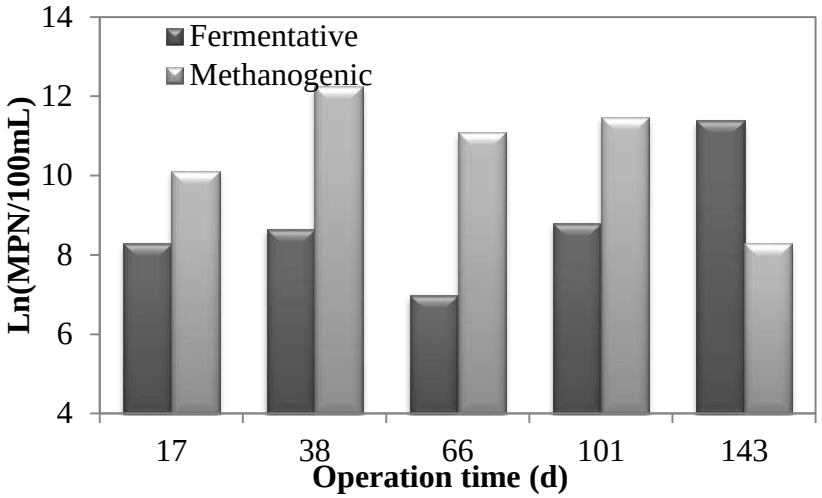



**Figure 4**. Dynamics of bacteria in MSW of LSB-AN

According to figures 2, 3 and 4, the highest average density of MB was presented on day 38, therefore the hydrolytic-acidogenic phase was identified from days zero to 38, and the methanogenic phase starting from day 39.

The figure 5 shows the dynamic of the bacteria in the MSW (LSB-B), the FB predominate with up to three orders of magnitude over the MB, this confirms that the biodegradation process was slower and the hydrolytic-acidogenic phases are maintained throughout the experiment. It is important to note that the LSB-B did not have leachate.

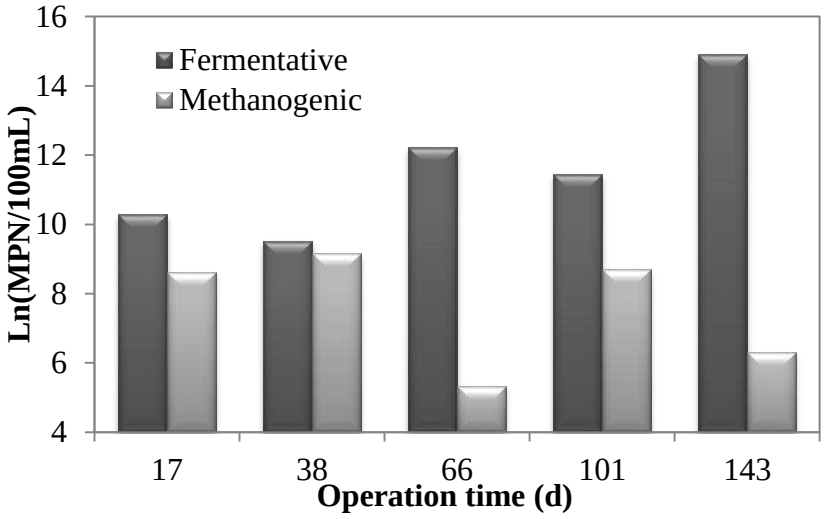



**Figure 5**. Dynamics of bacteria in MSW of LSB-B

In all cases the range of FB is from 7 to 15 Ln(MPN/100mL) and MB is from 5 to 12 Ln (MPN/100mL), which are higher than those reported by Barlaz et. al. (1989); of 7 to 9

Ln(MPN/100mL) and 2 to 9 Ln(UFC / 100mL) respectively; this can be explained by the initial operating conditions, since these authors start with deionized water, whereas in this study a young leachate with high organic load (30,333 mg COD / L) was used.

## Conclusions

According to the dynamics of bacterial populations in the DL, RL and MSW of the LSB-AN, the hydrolytic-acidogenic phase was identified from days zero to 38 and the methanogenic phase starting from day 39.

The LSB-B were in the hidrolisis-aceidogenesis phase during the five months of the experimentation, confirming that leachate recirculation accelerated the biodegradation.

The microbiological study in the biodegradation of the MSW, provides complementary information on the physicochemical determinations and will vary according to the different microbial populations of each MSW and the leachate used, consequently it is necessary their study in each case.

## References

Barlaz, M.A., Schaefer, D.M. and Ham, R.K. 1989. *"Bacterial Population Development and Chemical Characteristics of Refuse Decomposition in a simulated Sanitary Landfill"*. Applied and Environmental Microbiology. Vol. 55 No. 1. pp. 55-65. Madison, Wisconsin.

CONAGUA, 2014. National Water Commission (Comisión Nacional de Agua). Determinación de número más probable. Published in "Diario Oficial de la Federación" on June 3rd 1987, Consulted on August 13th 2013.

Gerardi, M.H. 2003. "*The Microbiology of Anaerobic Digester"*. Wiley-Interscience. USA. ISBN: 0-471-20693-8.

Hernández-Berriel, M.C., Mañon-Salas, M.C., Buenrostro-Delgado, O., Sánchez-Yañez, J.M and Márquez-Benavides, L. 2014. *"Landfill leachate recirculation. Part I: Solid waste degradation and biogas production"*. Environmental Engineering and Management Journal. Vol. 13 No. 10. Pp. 2687-2695. México City, México.

Hernández-Contreras, G.I., Olay-Romero, E., Hernández-Berriel, M.C., De la Rosa-Gómez I. and Márquez-Benavides. L. 2014. *"Determinación del tiempo para la cuantificación de bacterias anaerobias presentes en residuos sólidos urbanos y lixiviados".* Memorias del 7o. Encuentro de Expertos en Residuos Sólidos. Vol. 1. pp. 105-110. Metepec, México. ISSN: 2395-8170.

LGEEPA. 2014. General Law of Ecological Equilibrium and Environmental Protection (Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente). Published in "Diario Oficial

de la Federación" on January 28rd 1988, last reform applied on January 16th 2014, México City, México.

Madigan. M., Martinko, J. and Parker, J. 2009. "*Brock, Biología de los Microorganismos"*. 12th edition. Pearson Prentice Hall. Madrid, España.

Márquez-Benavides, L. 2004. *"Study of the Effect of Soil Inclusion on the Anaerobic Degradation of Municipal Solid Waste".* Doctoral Thesis. Department of Bioscience. University of Strathclyde in Glasgow, United Kingdom.

Olay-Romero, E., Hernández-Berriel, M.C., Díaz-Archundia, L.V., De la Rosa-Gomez, I., Buenrostro-Delagado, O. and Márquez-Benavides, L. 2014. *"Biogas production with two frequencies and rates of leachate recirculation in municipal solid waste".* The Journal and solid waste technology and Management. 29 International conference. pp. 1145-1155. ISSN 1041-8043.

Robles-Martínez, F. 2008. "*Generación de Biogás y Lixiviados en los Rellenos Sanitarios"*. Publicaciones Instituto Politécnico Nacional, pp.26. México City, México.

Sang, N.N., Soda, S., Ishigaki, T. y Ike, M. 2012. "*Microorganism in landfill bioreactors for accelerated stabilization of solid waste"*. Journal of bioscience and bioengineering. V. 114: pp. 243-250. Japan.

SEMARNAT. 2013. Environmental and Natural Resources Secretariat (Secretaria de Medioambiente y Recursos Naturales). NMX-Normas Mexicanas ordenadas por Materia http://www.semarnat.gob.mx/leyesynormas/Pages/NMX pormateria.aspx. (Access: December 15, 2013).

Tchobanoglous, G., H. Theisenand S. Vigil. 1994. "*Gestión Integral de Residuos Sólidos"*. In: Evacuación de residuos sólidos rechazados. McGraw-Hill-Interamericana de España, S.A. Vol. I y Vol. II. México City, México. ISBN: 84-481-1766-6.