



Universidad de Valladolid



ESCUELA DE INGENIERÍAS
INDUSTRIALES

MÁSTER EN INGENIERÍA AMBIENTAL

MÁSTER EN INGENIERÍA AMBIENTAL
ESCUELA DE INGENIERÍAS INDUSTRIALES
UNIVERSIDAD DE VALLADOLID

TRABAJO FIN DE MÁSTER

**Digestión Microaerobia.
Review del estado del arte.**

Autor: D. Alberto Torrecilla del Rey
Tutores: D^a. María Fernández Polanco Íñiguez de la Torre
D. Israel Díaz Villalobos

Valladolid, Septiembre, 2022



Summary:

The use of microaeration (or microoxygenation) to prevent hydrogen sulfide pollution in the biogas has seen a noteworthy development in recent years. Mechanisms of sulfide oxidation have been described and the technology is being applied with success in full-scale digesters of agricultural wastes and sewage sludge. Recent research at the lab-scale has shown further potential to be applied in the digestion of organic wastes, at a low rate oxygen can promote consumption of VFA in unstable conditions and, ultimately, an increase in biogas production. This study is aimed at evaluating the state-of-the-art of microaerobic digestion to improve methane yields and organic matter removal, to provide insights on the mechanisms underlying the process and on the optimal conditions to increase methane production.

Resumen:

El uso de la microaireación (o microoxigenación) para evitar la contaminación de biogás por sulfuro de hidrogeno ha experimentado un importante desarrollo en los últimos años. Los mecanismos de oxidación del sulfuro ya han sido investigados y la tecnología se está aplicando con éxito en digestores a gran escala de residuos agrícolas y fango de depuradora. Estudios recientes a escala de laboratorio han mostrado su potencial para ser aplicada en la digestión de residuos orgánicos, a bajas dosificaciones, el oxígeno puede promover el consumo de AGVs en condiciones inestables y, finalmente, un aumento de la producción de biogás. Este estudio tiene como objetivo evaluar el estado del arte de la digestión microaerobia para mejorar la producción de metano y la eliminación de materia orgánica, ayudar a entender los mecanismos subyacentes del proceso y las condiciones óptimas para aumentar la producción de metano.



ÍNDICE

1.	Introducción	1
2.	Efecto del oxígeno en las etapas de digestión anaerobia.....	1
2.1.	Efecto en el metabolismo	1
2.2.	Efecto en la metanogénesis	3
3.	Definición de digestión microaerobia.	5
3.1.	Control de la aireación	5
3.2.	Métodos de microaireación	7
3.2.1.	Microaireación en el pretratamiento	7
3.2.2.	Microaireación directa	7
4.	Eliminación de H ₂ S.....	8
4.1.	Eliminación de H ₂ S mediante microaireación	8
4.2.	Investigación previa de eliminación de H ₂ S con microaireación	10
4.3.	Ventajas e inconvenientes	11
5.	Efecto en la producción de metano y AGVs.....	12
5.1.	Efecto de la microaireación en el pretratamiento.....	12
5.2.	Efecto de la microaireación directa.....	16
6.	Efecto en la microbiología	20
6.1.	Bacterias	20
6.2.	Arqueas	21
7.	Conclusiones	23
8.	Bibliografía	23

1. Introducción

La digestión anaerobia es uno de los procesos biológicos más utilizados en el mundo para valorizar residuos de diverso tipo; fangos generados en el tratamiento de aguas residuales, residuos orgánicos de industrias agroalimentarias y ganaderas e incluso la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos pueden ser sometidos a este proceso [1]. Aparte de ser una tecnología bien conocida e implementada en la mayor parte del mundo ofrece un conjunto de ventajas importantes. Entre ellas se encuentran la disminución en volumen de los residuos alimentados y la producción de biogás, una fuente de energía renovable formada por una mezcla de metano y dióxido de carbono que puede ser aprovechada para producir grandes cantidades de energía y sustituir potencialmente a combustibles de origen fósil [2]. En comparación con una degradación aerobia (compostaje) en la que se pierde aproximadamente el 20% de la energía producida a través del aire en forma de calor, la digestión anaerobia produce compuestos con un alto contenido energético: alcoholes, ácidos orgánicos y metano [3].

Fruto de este potencial, la cantidad de energía generada a partir de biogás en la Unión Europea no ha hecho sino aumentar en la última década, con un total de 611 PJ (Petajulios) generados en el año 2020 en comparación con 362 PJ en el año 2011 según EuroStat. Esta tendencia puede seguir aumentando en los próximos años, sin embargo, la digestión anaerobia trae consigo ciertas limitaciones técnicas que pueden ralentizar esta tendencia. Entre ellas pueden citarse la baja velocidad de hidrólisis de los sustratos, especialmente para aquellos que poseen estructuras lignocelulósicas como pueden ser los residuos agroalimentarios, generación de H_2S , un gas especialmente tóxico que provoca problemas de corrosión e inhibición del proceso de digestión, acumulación de ácidos grasos volátiles (AGVs) a altas cargas orgánicas con el resultado de acidificación del digestor e inhibición final del proceso. Todas estas limitaciones ponen de relieve su sensibilidad debido al complejo equilibrio termodinámico y cinético que debe existir entre los microorganismos que participan en cada una de las cuatro etapas de la digestión: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis. Esto se debe a la dependencia entre las comunidades microbianas de cada etapa, ya que los productos del metabolismo excretados por cada una sirven como fuente de sustrato para la siguiente.

Sin embargo, se pueden superar todas estas limitaciones haciendo uso de microaireación durante el proceso de digestión o como pretratamiento al sustrato, que puede traer consigo un potencial aumento de la cantidad de metano producida y mejorar la estabilidad del proceso.

2. Efecto del oxígeno en las etapas de digestión anaerobia.

La introducción controlada de oxígeno en un digestor crea unas condiciones intermedias entre el ambiente anaerobio y aerobio, posibilitando que microorganismos de metabolismos muy diferentes puedan sobrevivir conjuntamente. Esta característica puede potenciar ciertas propiedades de la digestión anaerobia, al mejorar la velocidad de hidrólisis de sustratos con estructuras complejas, regular la acumulación de ácidos grasos volátiles, mejorar la eliminación de sólidos volátiles y por último incrementar la producción de metano.

2.1. Efecto en el metabolismo

En el metabolismo anaerobio el producto final contiene una gran cantidad de energía (metano, etanol, ácidos etc.) que pueden ser aprovechados como combustibles verdes [4]. Este metabolismo es poco energético para los microorganismos, ya que la mayor parte de la energía se produce por la fosforilación a nivel de sustrato. La cantidad de energía

generada es muy escasa en comparación con el metabolismo aerobio: 4 mol ATP/mol glucosa.

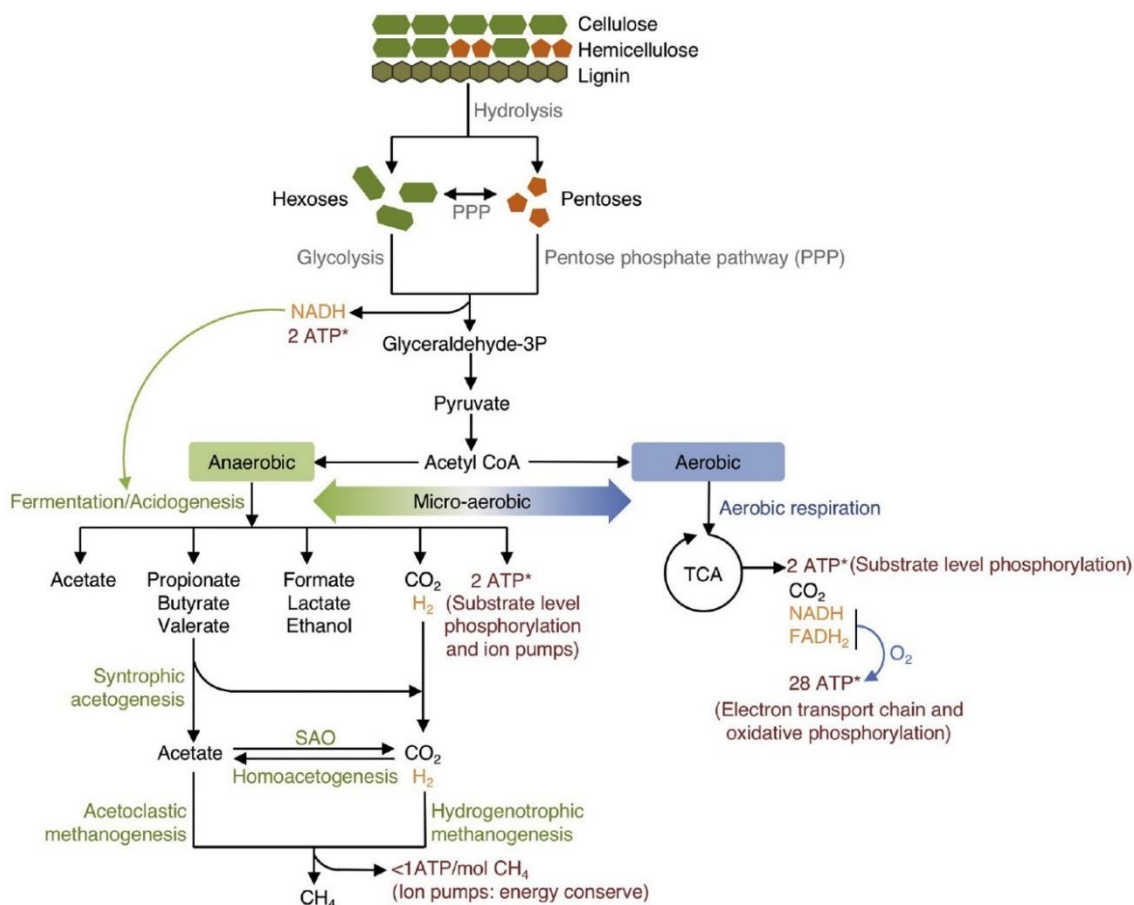


Figura 1. Rutas metabólicas aerobias y anaerobias [5], [6].

En cambio, el metabolismo aerobio produce mayor energía debido a la degradación de la Acetil-CoA a través del ciclo de Krebs. Este ciclo, en el que intervienen diferentes compuestos orgánicos se degrada completamente esta molécula para producir 28 ATPs. En conjunto, el metabolismo aerobio produce 32 mol ATP/mol glucosa por lo que los microorganismos aerobios son capaces de crecer y degradar más rápidamente la materia orgánica. La figura 1 muestra las rutas metabólicas que pueden tener lugar conjuntamente en condiciones de microaireación.

Reacción	$\Delta G^\circ \left(\frac{kJ}{mol} \right)$	Nº de electrones transferidos	$\Delta G^\circ \left(\frac{kJ}{mol e^-} \right)$
$C_3H_5OO^- + H^+ + 7/2 O_2 \rightarrow 3 CO_2 + 3 H_2O$	-1493,8	14	-106,7
$CH_3COO^- + H^+ + 2 O_2 \rightarrow 2 CO_2 + 2 H_2O$	-853,9	8	-106,7
$C_4H_7O_2^{2-} + H^+ + 5 O_2 \rightarrow 4 CO_2 + 4 H_2O$	-2133,8	20	-106,7

Tabla 1. Reacciones de oxidación en condiciones de microaireación[5]

La tabla 1 recoge la energía libre de Gibbs liberada por mol de AGV (propiónico, acético y butírico), siendo todas ellas termodinámicamente muy favorables. Puesto que las reacciones de acetogénesis, en las que se transforma los AGVs en acetato e hidrógeno,

son termodinámicamente desfavorables en condiciones estándar [7], la microaireación puede facilitar el acoplamiento energético de las reacciones bioquímicas en las que participan estos microorganismos. Por otro lado, la oxidación aerobia de AGVs puede evitar su acumulación durante el proceso [8]. Una posible ruta de degradación de estas moléculas se muestra en la figura 2; los microorganismos facultativos degradarían los AGVs hasta obtener CO_2 y H_2O haciendo uso del oxígeno introducido durante la microaireación. Parte del CO_2 generado podría consumirse por arqueas hidrogenotróficas para producir metano, pero cabe señalar que esta ruta metabólica no está probada.

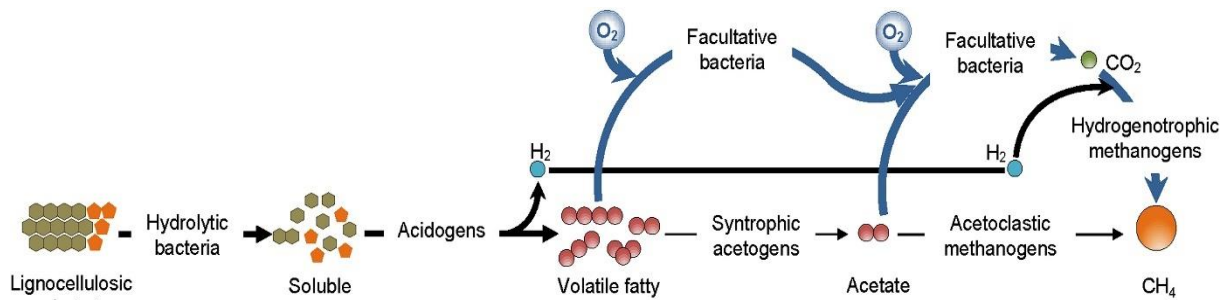


Figura 2. Posible ruta metabólica en condiciones de microaireación [8].

2.2. Efecto en la metanogénesis

La metanogénesis es la última etapa de la digestión anaerobia y en la que se genera el metano que conforma la mayor parte del volumen del biogás. A diferencia de las tres etapas anteriores, en la que los microorganismos que participan son bacterias, el metano es producido por arqueas estrictamente anaerobias. Existen tres rutas conocidas para la obtención de metano: hidrogenotrófica, acetoclástica y metilotrófica [9].

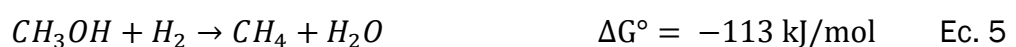
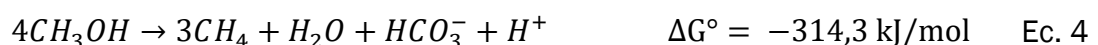
Aproximadamente el 30% del metano generado en la digestión se produce a través de la vía hidrogenotrófica [10]. El hidrógeno gas reduce el CO_2 y el HCO_3^- para formar metano [3]:



La vía acetoclástica produce entre un 60% y 70% [9] del metano a través de la reducción del acetato generado en la etapa de acetogénesis:



En la vía metilotrófica compuestos orgánicos metilados (metanol, etanol, metilaminas, etc.) son transformados en metano [10]:



El oxígeno que se introduce durante la microaireación se transforma en especies reactivas como O_2 , H_2O_2 , $\bullet\text{OH}$ y $\text{RO}_2\bullet$ debido a su participación en la cadena respiratoria del metabolismo aerobio [11]. Estas moléculas en concentraciones altas pueden provocar estrés oxidativo en las arqueas, dañando proteínas, ácidos nucleicos, lípidos y

biomoléculas estructurales de la célula [12], aunque también son necesarias para llevar a cabo procesos fisiológicos de comunicación entre bacterias [11]. Los microorganismos anaerobios estrictos como las arqueas disponen de sistemas de defensa antioxidantes para evitar daños en sus células [13]–[15]. Algunos sistemas enzimáticos que pueden citarse son: superóxido dismutasa (SOD), catalasa, peroxidasa (familia PRX) y glutatión peroxidasa [15], [16]. La superóxido dismutasa convierte el O_2 por desproporción en O_2 y H_2O_2 , y el peróxido es transformado en agua por acción de la catalasa, evitando que esta especie oxidante cause daño en la estructura celular de las arqueas [15].

Methanobacterium bryantii, *Methanobacterium thermoautotrophicum*, *Methanosarcina acetivorans* y *Methanobrevibacter arboriphilus* son algunas especies de arqueas que disponen de sistemas de defensa en forma de catalasa y/o superóxido dismutasa [15]. La microaireación puede provocar un cambio en el tipo de especies de microorganismos que conviven en el digestor, promoviendo la aparición de arqueas aerotolerantes que dispongan de estos mecanismos de defensa antioxidantes y de bacterias facultativas en las etapas de hidrólisis y acidogénesis [17], [18]. Las arqueas que no dispongan de estos mecanismos pueden verse beneficiados por la simbiosis con bacterias facultativas. Los microorganismos tienen la capacidad de formar flóculos en los que las bacterias facultativas hidrolíticas se localizan en la parte más externa de esta estructura, tomando el oxígeno y aquellas especies oxidantes que podrían dañar a los microorganismos anaerobios estrictos. Estos se situarían en la parte más interna del flóculo, donde la concentración de oxígeno es escasa [19]. Debido a la estructura de sus paredes celulares, las arqueas acetoclásticas se unen a las bacterias acetógenas, asegurándose un flujo constante de acetato para producir metano o para acumularlo en el citosol en caso de escasez. Las hidrogenotróficas también se unen a estas bacterias, que se ven beneficiadas por la energía liberada por las arqueas durante su metabolismo [20]. Por lo tanto, los productos de la hidrólisis difunden hacia el interior del flóculo, donde son transformados hasta ser la fuente de sustrato de las arqueas. La figura 3 muestra la disposición de los microorganismos en un flóculo anaerobio y la relación metabólica de las arqueas acetoclásticas e hidrogenotróficas.

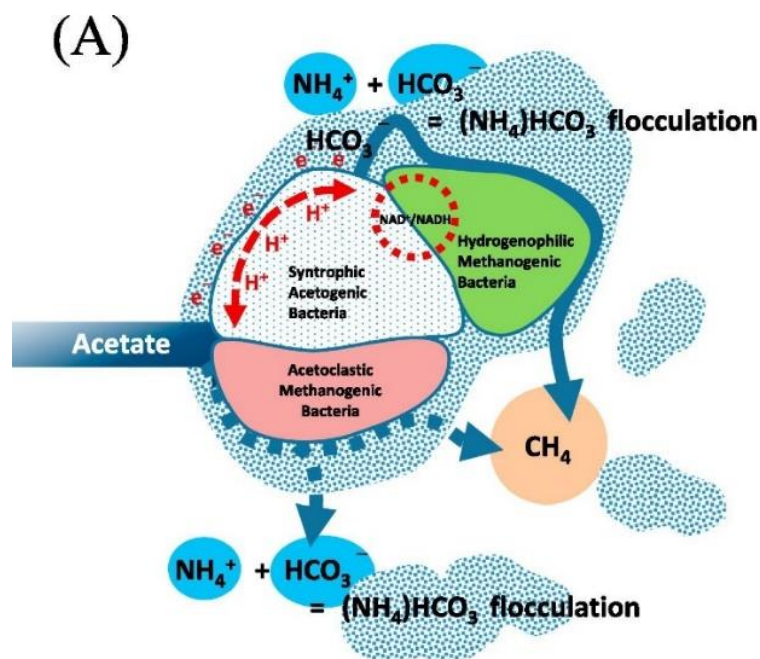


Figura 3. Disposición de los microorganismos en un flóculo anaerobio [20].

3. Definición de digestión microaerobia.

La digestión microaerobia se puede definir como un proceso biológico semejante a la digestión anaerobia, pero en el que se dosifican pequeñas cantidades de aire u oxígeno puro con diferentes objetivos. Otra terminología empleada es “microoxigenación” cuando se hace uso de oxígeno puro, “microaireación” si se hace con aire o incluso “aireación limitada”, aunque no es habitual hacer distinciones en función del modo de aireación empleado. En general la investigación sobre este proceso biológico solamente utiliza el término de microaireación sin tener en cuenta otros aspectos de la misma, por lo que en adelante se empleará solamente este término.

Es ampliamente conocido que el oxígeno tiene un efecto inhibitorio en el proceso de digestión cuando la concentración es superior a 0,1 mg/L de oxígeno disuelto [3] debido al carácter estrictamente anaerobio de las arqueas metanogénicas, por lo que se tiende a evitar la introducción de aire en los digestores. Sin embargo, se ha comprobado que dosificar pequeñas cantidades de oxígeno o aire traen consigo algunas ventajas importantes. Ya se ha demostrado que el H₂S puede oxidarse en presencia de oxígeno para dar lugar a azufre elemental o sulfato. De esta manera se solucionan problemas de corrosión en tuberías y equipos provocados por este compuesto, evitando operaciones posteriores de purificación del biogás en procesos de upgrading.

La baja velocidad de hidrólisis de los sustratos lignocelulósicos puede verse incrementada mediante microaireación. Esto se debe a que los microorganismos que participan en esta primera etapa pueden ser anaerobios estrictos o facultativos. Estos últimos pueden ver mejorada su actividad metabólica con la introducción de oxígeno en el digestor, con lo que la degradación de materia orgánica aumentaría en comparación con condiciones totalmente anaerobias.

3.1. Control de la aireación

Se puede considerar que un sistema anaerobio se encuentra microaireado cuando la concentración de oxígeno disuelto se mantiene entre 0,1 y 1 mg/L. Aunque este parámetro permite conocer en qué situación se encuentra el digestor, no es práctico debido a que las sondas de oxígeno comunes no detectan concentraciones por debajo de 0,1 mg/L [21]. Debido a esta baja sensibilidad, es más conveniente utilizar el potencial de oxidación-reducción (ORP) para determinar la concentración de oxígeno disuelto.

El potencial de oxidación-reducción se define como la tendencia que tiene una disolución acuosa a aceptar o ceder electrones. Una ventaja importante de este parámetro es que guarda una relación lineal con el logaritmo de la concentración de oxígeno disuelto, siendo más sencillo detectar cambios en la disolución y controlar más eficazmente el proceso de digestión. Los valores positivos del potencial indican que las condiciones son oxidantes o aerobias, mientras que valores negativos son característicos de procesos reductores o anaerobios. El ORP para una digestión microaerobia se sitúa en valores comprendidos entre 0 y -300 mV [5], [8], [22], tomando como referencia un electrodo de hidrógeno estándar, aunque este valor puede variar en función del objetivo buscado y de las condiciones de operación. La tabla 2 muestra los valores ORP de algunos procesos biológicos y los utilizados en investigaciones previas.

Tabla 2. Potenciales de oxidación reducción de fermentaciones y pares redox.

ORP (mV)	Par redox/Fermentación	Microorganismo	Referencia
-150	Fermentación alcohólica	<i>S. Cerevisiae</i> .	[23]
-240	CO ₂ /CH ₄ . Metanogénesis	Arqueas metanogénicas.	[23]
-280	CO ₂ /CH ₃ COO ⁻ . Acetogénesis	Bacterias acetógenas.	[5]
-220	SO ₄ ²⁻ /HS ⁻	Bacterias oxidantes de azufre.	[21]
-320	Reducción NAD ⁺ /NADH.	Bacterias y arqueas.	[23]
-350	Fermentación de ácido succínico.	<i>A. succinogenes</i> .	[23]
-420	Reducción H ⁺ /H. Condiciones anaerobias	Bacterias anaerobias y facultativas.	[5]
-470	Disminución de AGVs	Bacterias facultativas.	[8], [21]

Puesto que los microorganismos encargados de las etapas de hidrólisis y acidogénesis son anaerobios y facultativos, pueden sobrevivir en estas condiciones de microaireación al hacer uso de la cadena transportadora de electrones. Sin embargo, las arqueas metanogénicas son estrictamente anaerobias, por lo que pequeñas concentraciones de oxígeno pueden afectarlas negativamente. Existen arqueas aerotolerantes que no se ven especialmente afectadas en presencia de oxígeno, aunque no se las pueden considerar como organismos facultativos. Algunos géneros de este tipo de arqueas son *Methanosarcina* y *Methanobacterium* cuya abundancia es mayor en condiciones de microaireación [2]. El ORP puede ser de gran utilidad por tanto para evitar que concentraciones altas de oxígeno disuelto inhiban el metabolismo de estos microorganismos.

Mediante la aireación puede modificarse el valor del ORP del medio de digestión, lo cual afecta directamente al metabolismo celular de los microorganismos que viven en él. Esto es posible al modificar el flujo de electrones que intervienen en la cadena respiratoria y la concentración de sustancias reductoras. A nivel estrictamente molecular el ORP puede alterarse a través de ingeniería genética al modificar las secuencias de ADN que expresan las enzimas que intervienen en reacciones redox del metabolismo [23]. Este último mecanismo es mucho más complejo y podría presentar dificultades en su implementación en sistemas a gran escala, por lo que se prefiere modificar el proceso en sí para su posterior implementación industrial [23]

Este parámetro presenta a su vez algunas desventajas: depende del pH de la disolución, de la temperatura y de la fuerza iónica. Pequeñas perturbaciones en estos parámetros podrían provocar un mal comportamiento del digestor, acumulación de AGVs y descenso de la producción de metano, lo que a la larga afecta a la estabilidad del proceso y su capacidad de tratar los sustratos alimentados. Precisamente desarrollar un sistema de control robusto y automático es una de las limitaciones de la tecnología de microaireación,

si bien es cierto que a través de un sistema SCADA podrían solucionarse estas complicaciones [5].

3.2. Métodos de microaireación

Los métodos de microaireación son variados y dependen fundamentalmente del objetivo buscado y de la configuración del sistema. Principalmente existen dos métodos de aireación: la microaireación durante el pretratamiento y la microaireación directa durante la digestión anaerobia. Se ha investigado el efecto del pretratamiento en los siguientes sustratos: paja de arroz y maíz, fango de depuradora, hierba de elefante (*Pennisetum giganteum*), paja de trigo y purín de vaca entre otros. La figura 4 muestra las dos opciones posibles de microaireación que existen.

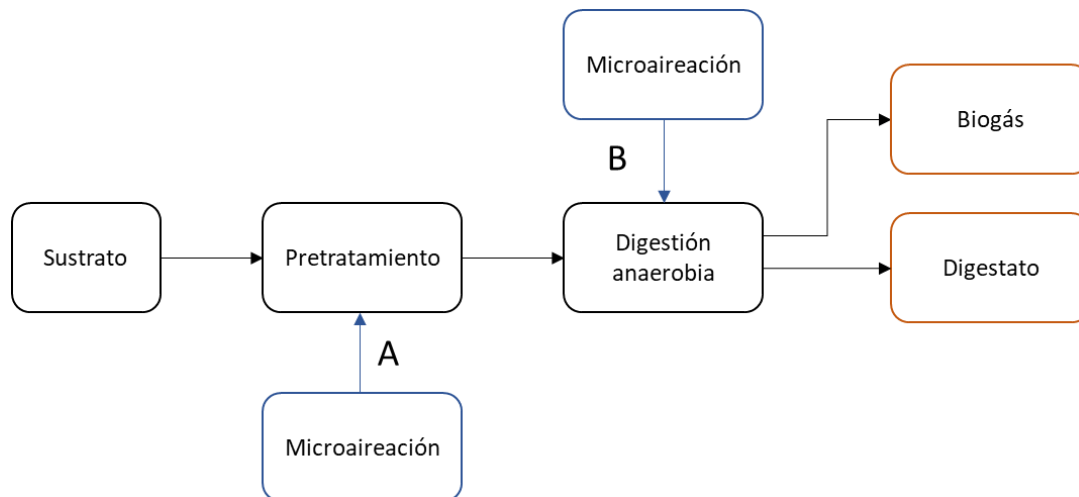


Figura 4. Posibles opciones de microaireación. Opción A- Pretratamiento. Opción B- Microaireación directa.

3.2.1. Microaireación en el pretratamiento

Consiste en microaerear el sustrato durante el pretratamiento con el objetivo de aumentar su biodegradabilidad, lo que a posteriori puede traducirse en un aumento en la solubilidad del sustrato y finalmente una mayor producción de metano. El sustrato se somete a un pretratamiento en un reactor cerrado interviniendo microorganismos que degradan parcialmente moléculas complejas. Además, algunos autores realizan este pretratamiento en condiciones termófilas con la adición de oxígeno o aire [24]–[28]. La introducción de oxígeno mediante jeringa a presión atmosférica [24], [27] o el uso de bombas de vacío son formas comunes de realizar la microaireación en un pretratamiento [28]. Esta opción de microaireación se aplica más habitualmente en sustratos lignocelulósicos cuya estructura impide su degradación completa.

3.2.2. Microaireación directa

Otra metodología aplicada es introducir aire u oxígeno en los reactores en los que se produce la digestión del sustrato sin un pretratamiento previo. Esta forma de microaireación puede producirse al comienzo de la digestión, más común para ensayos en discontinuo, o durante toda su duración, más habitual para experimentos en continuo. En función de la intensidad de la aireación, el efecto puede ir dirigido a mejorar la velocidad de hidrólisis, aumentar la producción de metano o incluso reducir la concentración de AGVs para operaciones en continuo [8]. Existe otro mecanismo que permite microaerear el digestor a través de una reacción electrolítica del agua [19]. El procedimiento consiste en aplicar una descarga eléctrica en electrodos sumergidos en el medio de digestión, lo que provoca la descomposición de la molécula de agua en O_2 e H_2 . El oxígeno dentro del digestor permitiría crear las condiciones de microaireación deseadas mientras que el

hidrógeno puede ser tomado como sustrato por arqueas para generar metano o simplemente ser evacuado junto con el biogás. A pesar de las ventajas que puede conllevar, el uso de electricidad para generar condiciones microaerobias puede dificultar la implementación de este tipo de sistemas por el elevado consumo energético [29].

4. Eliminación de H₂S.

Una de las primeras aplicaciones conocidas de la microaireación tuvo el objetivo de oxidar el H₂S que se genera durante la digestión anaerobia. Este gas se produce por la actividad metabólica de bacterias sulfato reductoras (SRB en inglés), que toman el sulfato como aceptor final de electrones y producen H₂S. Este gas, aparte de ser tóxico para la salud humana, puede provocar la inhibición de la metanogénesis con concentraciones superiores a 50 mg/L [30], [31]. Un problema añadido es la corrosión ácida que puede provocar en tuberías y equipos de combustión (motores, calderas, turbinas) cuando este compuesto se convierte en H₂SO₄ en presencia de agua [32], llegando a atacar al hierro, cobre y cemento [33]. Es habitual que la concentración de H₂S en el biogás generado en EDARs se encuentre en torno a 1000 ppm_v [33], aunque dependiendo de las características del sustrato el rango puede ir desde 0 a 10000 ppm_v al emplear fango de depuradora y residuos agroganaderos [34]. La formación de H₂S depende también de otros factores; la abundancia de proteínas en el medio de digestión, temperaturas altas y pH ácidos favorecen la aparición de H₂S y otros compuestos sulfurados [35], [36]. En los procesos de upgrading para la conversión de biogás a biometano, se busca que la concentración final de H₂S sea menor a 5 mg/m³ para ser inyectado a red o como combustible para vehículos [34].

4.1. Eliminación de H₂S mediante microaireación

Las técnicas para eliminar el H₂S del biogás se dividen en métodos fisicoquímicos y biológicos, siendo estos últimos preferibles por su bajo coste de operación y por su menor impacto medioambiental. Entre los últimos se ha demostrado que la microaireación es eficaz para eliminar hasta un 99% H₂S del biogás sin afectar a otros parámetros como la producción de metano o la eficacia de eliminación de materia orgánica [22]. Una ventaja que ofrece la microaireación es la desulfurización in situ del biogás, sin ser necesario añadir reactivos químicos como FeCl₃ para provocar la precipitación del H₂S disuelto. El uso de sales de hierro está extendido en digestores que tratan fangos de depuradora, sin embargo, el coste de estos reactivos y la producción de fangos metálicos [33] son desventajas que pueden evitarse mediante microaireación. Cabe mencionar que la implementación de microaireación no requiere grandes inversiones ni equipos, por lo que su coste económico es mucho menor al compararlo con otros procesos de desulfurización.

El mecanismo de eliminación de H₂S mediante microaireación está mediado por bacterias oxidantes de azufre (SOB), que son organismos que toman el oxígeno como aceptor final de electrones para oxidar el H₂S a azufre elemental o sulfato. Estos organismos pueden ser quimiolitotrofos o fotoautótrofos, teniendo prevalencia los primeros ya que en los digestores anaerobios no hay ninguna entrada de luz a su interior. La mayor parte de estas bacterias son mesófilas, siendo las del filo *Proteobacteria* las más abundantes en digestores microaireados [31]. La figura 5 muestra el proceso de oxidación de H₂S en el que participan diferentes microorganismos pertenecientes al filo *Proteobacteria*; la formación de H₂S también se realiza por bacterias de este filo, con la excepción de *Lentimicrobium* que pertenece al superfilo FCB [37].

La oxidación de H₂S a otras especies de azufre depende de la concentración de oxígeno introducido en el digestor y de la cantidad de H₂S formado. La oxidación a azufre elemental

se favorece con una concentración de oxígeno en torno a 0,5 mol/mol S^{2-} y una alta disponibilidad de H_2S . A concentraciones superiores de oxígeno y menor cantidad de H_2S se produce una oxidación total a sulfato. La formación de tiosulfato, $S_2O_3^{2-}$, tiene lugar cuando la actividad metabólica de las bacterias oxidantes del azufre es baja, lo cual es habitual en digestores con altas concentraciones de H_2S [31]. Dentro del digestor pueden tener lugar tres reacciones diferentes de oxidación de H_2S :

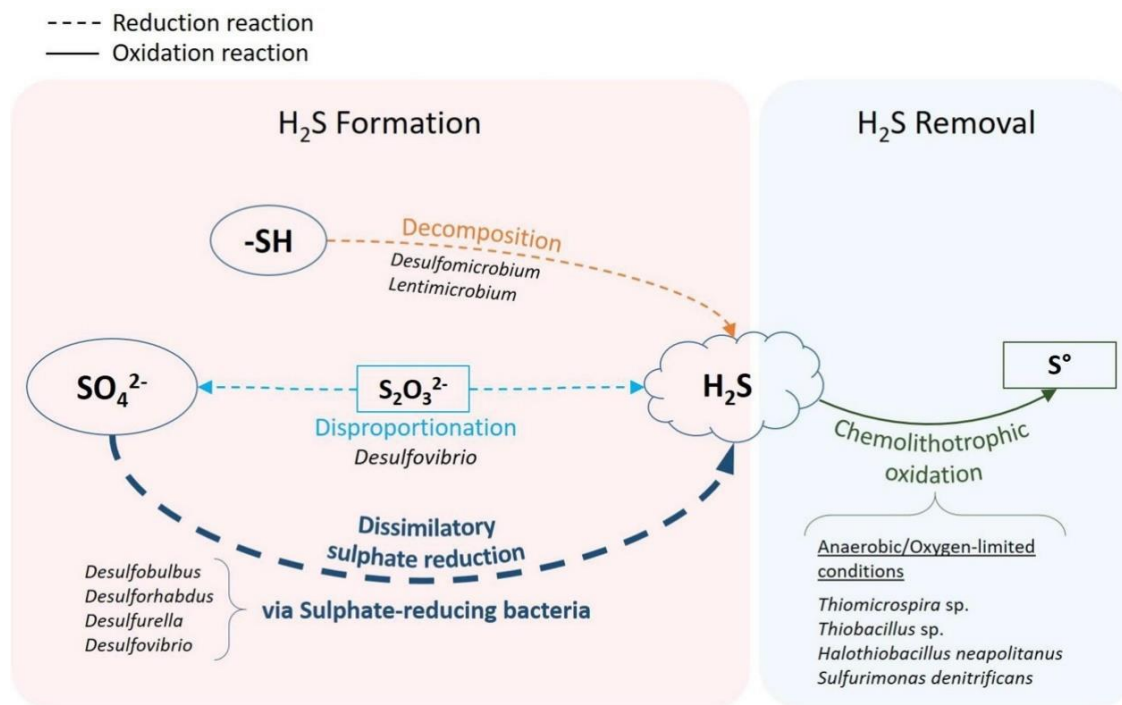


Figura 5. Proceso de formación y eliminación de sulfuro de hidrógeno [38].

Un aspecto crítico en la desulfurización del biogás está relacionado con la introducción de oxígeno o aire en espacio de cabezas o directamente en la fase líquida del digestor. Se ha demostrado que las bacterias oxidantes del azufre crecen en las paredes del espacio de cabezas del digestor o en la interfase gas-líquido [39]; a medida que oxidan el H_2S a azufre elemental este queda adherido a las paredes y techo del digestor, creando capas de azufre que al superponerse sirven como soporte para el crecimiento de estas bacterias. Esto indica que el espacio de cabezas es el lugar en el que ocurre la oxidación del H_2S , por lo que se prefiere introducir el aire en esta parte [34], [39]. Otra metodología consiste en introducir el aire u oxígeno directamente en la fase líquida del digestor, con la ventaja de oxidar el H_2S disuelto que puede ser tóxico para los organismos metanógenos. En este último caso el caudal de aireación introducido debe ser mayor para facilitar el contacto entre el H_2S y el oxígeno y poder oxidarlo eficazmente [31].

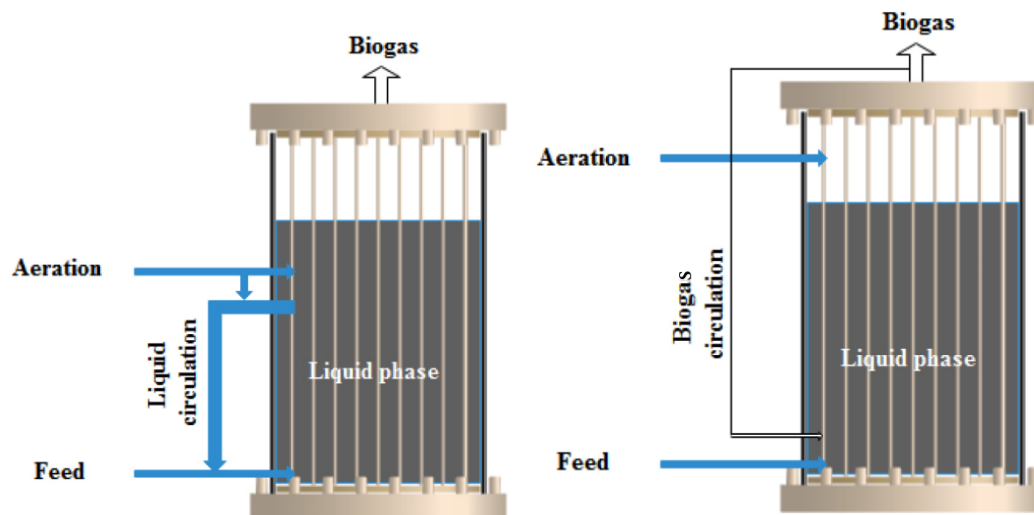


Figura 6. Microaireación de la fase líquida y de la fase gas [40].

Para facilitar la transferencia del oxígeno en todo el digestor puede dividirse el caudal de aireación, introduciendo parte en la recirculación que se mezclaría con la alimentación y la otra parte directamente en la fase líquida del digestor. Si la microaireación se lleva a cabo en el espacio de cabezas, la recirculación de biogás para mantener una mezcla homogénea en el interior del digestor puede ser aprovechada para poner en contacto el licor mezcla con el oxígeno (Figura 6).

4.2. Investigación previa de eliminación de H₂S con microaireación

Como se ha explicado anteriormente el uso de la microaireación para oxidar biológicamente el H₂S fue uno de sus primeros aspectos estudiados. La eficacia de eliminación de este compuesto ha permitido que esta tecnología se haya implementado con éxito en plantas a gran escala [41], [42]. La tabla 3 recoge algunas de estas investigaciones previas en las que se alcanzaron eficacias de eliminación elevadas, de en torno al 99% en los mejores casos. Por otro lado, la microaireación no tuvo efectos negativos en la producción de metano en los experimentos descritos en [33] y [43]. En cambio, en [41] sí se menciona un descenso en la concentración de metano en el biogás del 2%, mientras que en [44] y [45] el nitrógeno del aire inyectado diluyó la mezcla del biogás afectado negativamente a su calidad. Por lo general se ha comprobado que dosificar un volumen de oxígeno de entre el 1 y 3% del volumen de biogás generado no afecta negativamente a la producción de metano [31], [41].

Tabla 3. Experimentos sobre la eficacia de la microaireación en la desulfurización del biogás.

Tipo de reactor	Sustrato	Carga volumétrica	Flujo de oxígeno o aire	Eficacia de eliminación (%)	Referencia
CSTR (7000L)	Fango mixto	1,5-2,2 kg SV/m ³ /d	5-34 L/d (O ₂ concentrado)	99	[33]
Digestor de mezcla completa (2100-30000 m ³)	Fango mixto	No especificado	6,7-144 m ³ /d (Aire)	73,8 - 99,5	[41]

Digestor de mezcla completa (4500 m ³)	Fango mixto	1,5-2,3 kg SV/m ³ /d	0,09-0,77 kNm ³ /d (Aire)	94,5	[43]
Digestor de mezcla completa (20 L)	Suero de queso	No especificado	0,48 L/d (Aire)	90	[44]
Digestor modelo taiwanés (8500L)	Purín de cerdo	1,13 kg SV/m ³ /d	2,08 L/d (Aire)	~100	[45]
UASB	Agua residual	7,1 kg DQO/m ³ /d	0,001 m ³ /d	56 - 99	[46]

4.3. Ventajas e inconvenientes

Una de las ventajas más importantes de la desulfurización a través de microaireación es su bajo coste económico en comparación con otros métodos fisicoquímicos y biológicos como puede verse en la tabla 4. El coste de operación estimado es de 0,0018 €/m³_{biogás} al emplear oxígeno concentrado (92- 98% de O₂), 0,0026 €/m³_{biogás} para aire y 0,0037 €/m³_{biogás} para oxígeno puro [34]. Por otro lado, los costes de instalación de nuevos equipos pueden ser de 10000€, 19000€ y 30000€ para oxígeno puro, aire y oxígeno concentrado respectivamente [47]. Otra ventaja adicional es que la microaireación permite obtener un fango de mayor calidad al evitar problemas de aparición de espumas y mejorar su deshidratabilidad. El azufre elemental que queda adherido a las paredes del digestor podría ser valorizado en el tratamiento de aguas residuales para la precipitación de metales pesados y la desnitrificación autotrófica [48], aunque hasta ahora no se ha desarrollado un método para recuperar eficazmente el azufre elemental generado en el digestor [31]. También se han observado mejoras en la estabilidad del digestor microaireado, al ser capaz de amortiguar cargas orgánicas altas que provocarían la acumulación de AGVs y posterior acidificación [49]. Un aspecto relacionado es la mejora en la hidrólisis del sustrato, que suele ser junto con la metanogénesis la etapa limitante de la digestión anaerobia [31], este hecho se discutirá en el siguiente apartado en base a los experimentos en los que se estudia el efecto de la microaireación.

Tabla 4. Costes de operación de distintos métodos de desulfurización.

Método de eliminación	Costes de operación (€/m ³ _{biogás})	
Microaireación	Con aire	0,0026
	Con O ₂ concentrado	0,0018
	Con O ₂ puro	0,0037
Precipitación con FeCl ₃	0,024	
Adsorción con carbón activado	0,0005 - 0,037	
Absorción con NaOH y H ₂ O ₂	0,03	
Biofiltración	0,013 - 0,016	

Sin embargo, existen algunas desventajas asociadas a la introducción de oxígeno en el digestor como su toxicidad para las arqueas metanógenas y la oxidación parcial del sustrato si se dosifican cantidades muy elevadas. Además, la acumulación de azufre elemental en la cabeza del digestor podría provocar una reducción de su volumen y obstruir tuberías de evacuación de biogás, aumentando la presión en el digestor y ocasionando fugas de biogás al exterior [31]. Las fugas de biogás tienen un mayor riesgo de explosividad que la propia introducción de oxígeno en el digestor ya que los límites de inflamabilidad del metano en aire son de entre un 5% y 15% en volumen [41], por ese motivo es importante controlar estas fugas. Finalmente, al microairear con aire es posible que se produzca la dilución de biogás debido al nitrógeno introducido, por lo que su uso como combustible en sistemas de cogeneración puede no resultar adecuado [50].

5. Efecto en la producción de metano y AGVs.

5.1. Efecto de la microaireación en el pretratamiento

En el pretratamiento de paja de maíz se ha comprobado que una única dosificación de 5 mL_{O₂}/gSV en presencia de *Bacillus subtilis* da lugar a una mejora de hidrólisis, lo que conlleva una producción de metano superior a una muestra no aireada cuando se realizan ensayos BMP (Biochemical methane potential) [26]. El tiempo de duración del pretratamiento fue de 24 horas a 37°C, a partir del cual se ensayó con el sustrato un test BMP. En base a estos resultados, se ha propuesto un tratamiento secundario termófilo en el momento en el que la producción de metano decrece [24]. En primer lugar, se realizó un pretratamiento termófilo a 55°C de la paja de maíz con fango anaerobio e inyectando de nuevo 5 mL_{O₂}/g SV, tras lo que se realizó un BMP durante 22 días en los que se alcanzó mayor cantidad de metano en las muestras pretratadas en comparación con las no pretratadas. A continuación, tres muestras fueron sometidas a un tratamiento secundario termófilo en el que se dosificaron 5 (RS1), 10 (RS2) y 20 (RS3) mL_{O₂}/gSV respectivamente, (ver Gráfico 1). Al finalizar el ensayo, estas tres muestras produjeron más metano en comparación con el grupo de control [24].

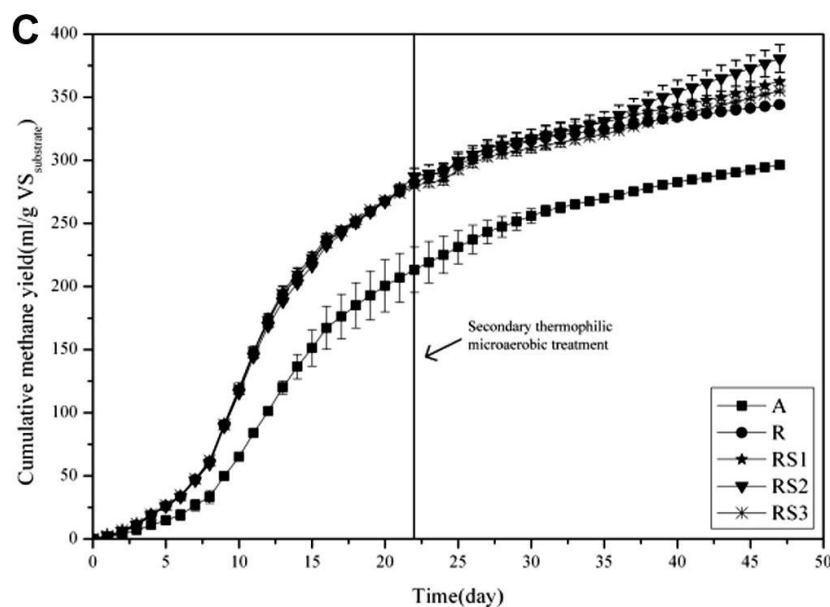


Gráfico 1. Producción acumulada de metano durante el ensayo [24]. A (No pretratado), R (pretratado solo una vez).

En el pretratamiento de la hierba de elefante [51], se emplearon fango anaerobio, inóculo de compost de paja, excrementos de vaca y oveja e inóculo junto con dosis de oxígeno crecientes: 0, 5, 10, 20 y 40 mL_{O₂}/g SV. La forma de aireación fue una inyección única de

oxígeno al comienzo del experimento, tras lo que se incubaron las muestras 5 días a 37°C. A continuación, se llevó un ensayo BMP mesófilo durante 44 días para comparar los valores obtenidos al aplicar microaireación. Por un lado, las concentraciones de AGVs aumentaron en la mayor parte las muestras aireadas en comparación con las no aireadas, evidenciando una mejora clara del proceso de hidrólisis inicial, especialmente en el caso de los excrementos de vaca.

Sin embargo, las producciones de metano acumuladas durante la digestión posterior de algunas muestras aireadas fueron menores que las no aireadas e incluso inferiores a las no pretratadas. En el gráfico 2 puede verse que las muestras pretratadas, pero no aireadas, produjeron más metano en todos los casos salvo para los excrementos de vaca. Aun así, el pretratamiento con microaireación resulta de utilidad para mejorar la producción de metano con respecto a las muestras no pretratadas. Solamente las muestras de excrementos de vaca con una aireación de 10 mL O₂/g SV obtuvieron mayor producción de metano. La diferencia en la carga orgánica introducida con cada grupo de pretratamiento puede ser otra causa de la disparidad en la producción de AGVs y en la producción específica de metano.

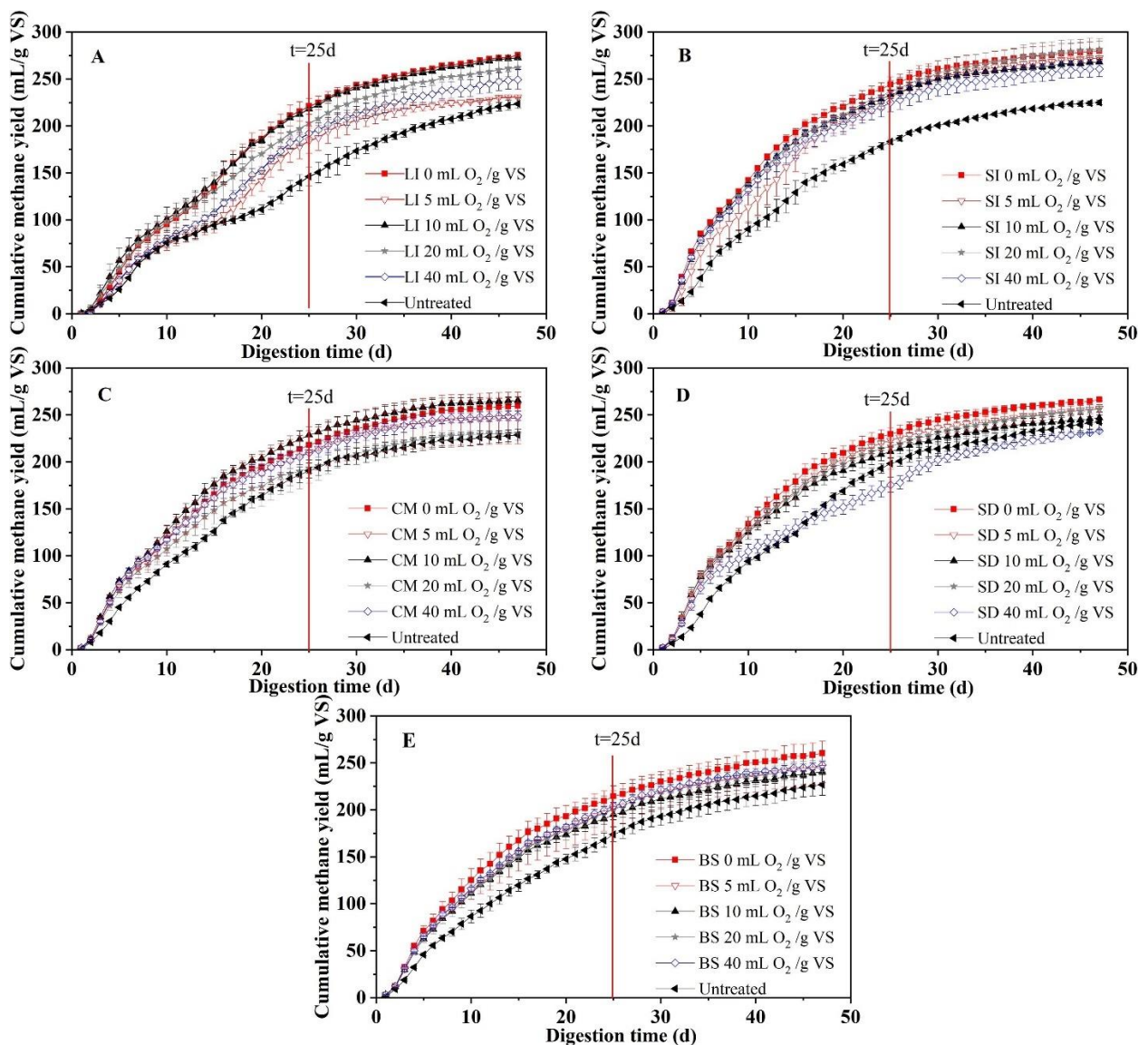


Gráfico 2. Producciones específicas de metano durante el ensayo BMP [51]. LI (inóculo), SI (inóculo de compost de paja), CM (excrementos de vaca), SD (excrementos de oveja), BS (fango anaerobio).

En [27] se estudió el efecto de un pretratamiento termófilo microaireado en la biodegradabilidad de paja de maíz. El proceso consistió en pretratar el sustrato con fango anaerobio a 55°C y dosificar mediante inyección concentraciones variables de oxígeno puro: 0, 5, 10, 20, 30, 40 mL O₂/g SV. El ensayo BMP posterior a 37°C dio como resultado la mejora en la producción de metano para todas las muestras en comparación con el grupo no pretratado. Mediante el gráfico 3 puede concluirse que la concentración óptima de oxígeno para obtener más metano es de 5 mL O₂/gSV. Por otro parte, la mejora en el proceso de hidrólisis pudo observarse a través de las concentraciones de AGVs, que fueron mayores que en el grupo no pretratado. El gráfico 4 muestra que al dosificar pequeñas cantidades de oxígeno la concentración de AGVs incrementa respecto al grupo no microaireado, pero a partir de la concentración óptima de 5 mL O₂/gSV disminuye progresivamente debido a su oxidación aerobia.

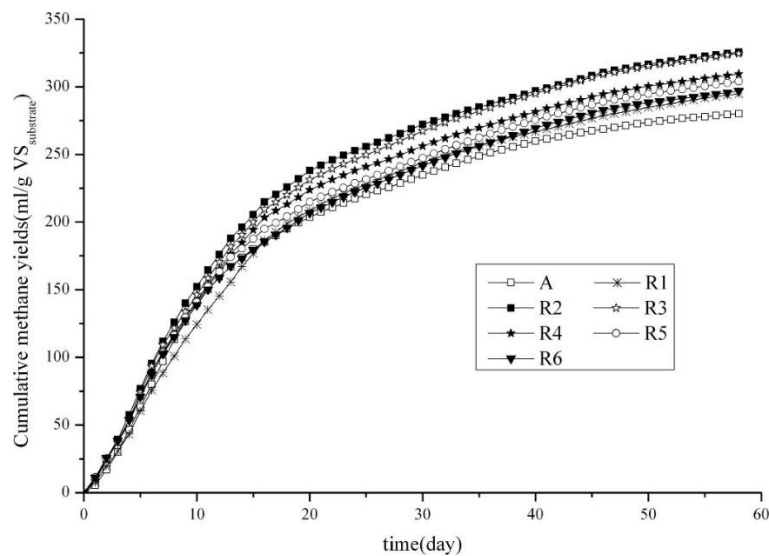
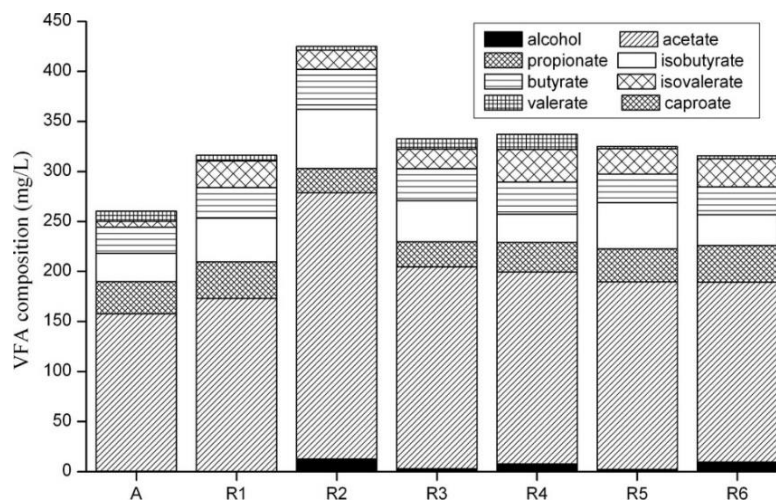


Gráfico 3. Producción acumulada de metano [27].


 Gráfico 4. Concentraciones de AGVs en el primer día de digestión [27]. A (no pretratado), R1, R2, R3, R4, R5 y R6 (pretratados con 0, 5, 10, 20, 30 y 40 mL O₂/gSV respectivamente).

Los resultados obtenidos con paja de maíz como sustrato indican que el pretratamiento aireado es eficaz para aumentar su biodegradabilidad, lo que da lugar a un aumento en la producción de metano y concentración de AGVs, especialmente en forma de ácido acético. La dosis óptima de oxígeno para conseguir estos resultados se encuentra en torno a 5 mL O₂/gSV cuando se inyecta en reactores BMP. Por otra parte, los resultados indican que no

es necesario una colonia bacteriana pura como se describe en [26], sino que puede hacerse uso de fango anaerobio o residuos orgánicos [24], [27], [51].

La paja de arroz es otro sustrato lignocelulósico cuya degradación suele ser complicada, por lo que los pretratamientos químicos o biológicos [52] suelen ser necesarios para facilitar la hidrólisis de este sustrato. En [53] se aplicaron cinco residuos orgánicos que contienen los microorganismos responsables del pretratamiento de la paja de arroz. En reactores BMP desgasificados se inyectaron 0, 6, 12, y 24 mL O₂/gSV de oxígeno puro mediante jeringa y se incubaron a 37°C. Pudo observarse que el oxígeno se consumió completamente en 24 horas en todas las muestras, tras lo cual se realizó el ensayo BMP a 37°C durante 50 días. Los resultados obtenidos concluyeron que la microaireación aplicada durante el pretratamiento aumentó la concentración de metano al compararlo con las muestras no aireadas. La concentración óptima de oxígeno al emplear estos sustratos orgánicos estuvo en torno 6 y 12 mL O₂/g SV, ver gráfico 5. Por otra parte, la concentración de AGVs alcanzó su pico máximo para las concentraciones óptimas de oxígeno referidas anteriormente. Congruentemente con los resultados de otros artículos, la concentración de AGVs aumentó progresivamente al dosificar mayor cantidad de oxígeno hasta llegar a una dosis a partir de la cual disminuye.

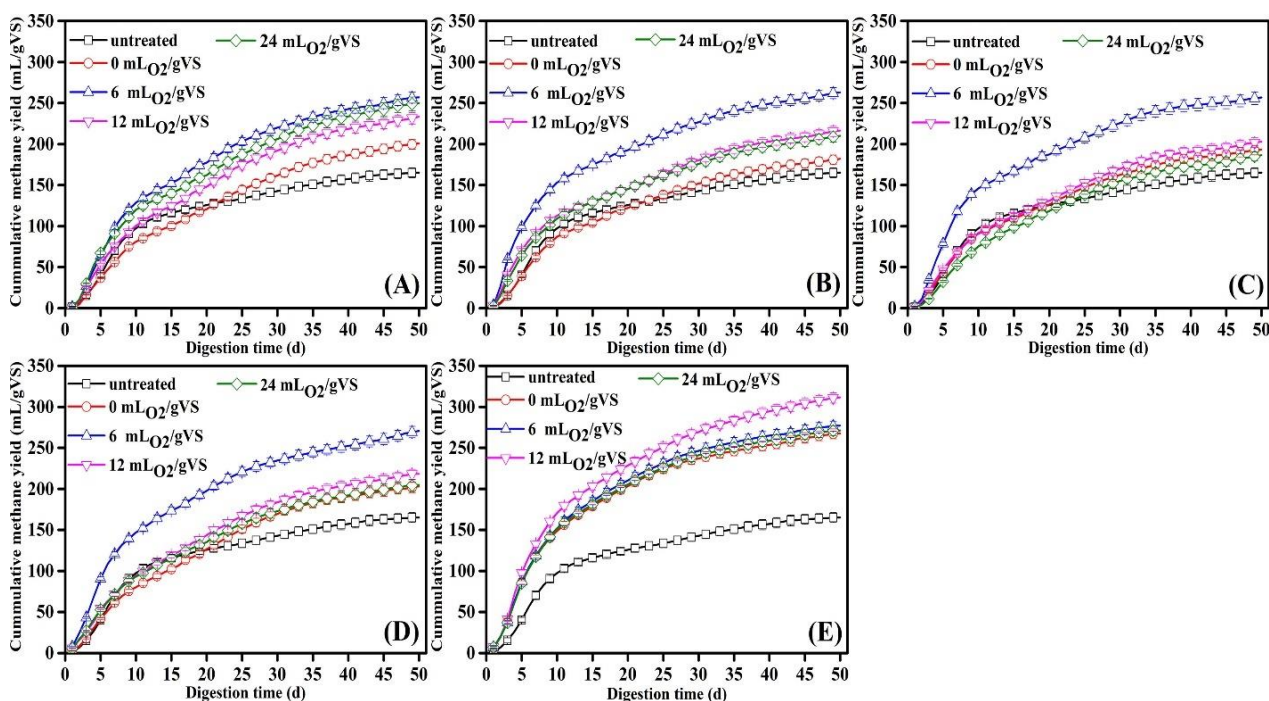


Gráfico 5. Producciones acumuladas de metano [53]. A (Inóculo), B (Estiércol de vaca), C (Excrementos de oveja), D (Fango anaerobio), E (Inóculo de compost de paja).

Aparte de estos sustratos de difícil degradación, es de interés conocer que efecto tiene la microaireación en el fango de depuradora ya que es un residuo que se produce en grandes cantidades en núcleos urbanos. En [54], el pretratamiento llevado a cabo se basó en airear fango mixto, modificando las variables de caudal de aireación, tiempo de pretratamiento y temperatura. Mediante compresores de pequeño tamaño se varió el caudal de aire entre 0 y 1 vvm (caudal de aire por minuto entre volumen de reactor) con tiempos de tratamiento entre 24 y 60 horas y temperaturas entre 20°C y 35°C. Con un caudal de 0,3 vvm, 48 horas de pretratamiento a 35°C se alcanzaron concentraciones superiores de DQO soluble y mayor eliminación de SV en contraste con condiciones anaerobias puras, lo cual indica una mejora clara del proceso de hidrólisis. Con estos parámetros óptimos el ensayo BMP realizado posteriormente confirmó un aumento en la producción de metano debido a la mayor concentración de DQO soluble inicial. Un estudio similar, [55] encontró que un

caudal de aireación de 0,2 vvm durante 40 horas a 38°C aumentó la concentración de DQO soluble y la eliminación de SSV, lo que contribuyó a mejorar la producción de metano un 121%.

La operación en semi continuo como la descrita en [17], consiste en pretratar en un reactor microaireado fango mixto introduciendo continuamente aire mediante un compresor. El caudal de aire de 4 vvm (referido como caudal de aire por minuto por gramo de sólido total) y un tiempo de 4 horas a 35°C fueron las condiciones óptimas de operación. El digester anaerobio continuo al que se alimentó el fango aumentó su producción de metano debido a la mejora en su hidrólisis y la disponibilidad de mayor DQO soluble. El gráfico 6 muestra el porcentaje de eliminación de sólidos volátiles a lo largo del tiempo para el reactor microaireado y el anaerobio siendo de media del 24,5% y 18,3% respectivamente. La producción de biogás media fue de $109,3 \pm 16,1$ mL/gSV, un 16,4% mayor que el reactor anaerobio y con una concentración de metano superior al anaerobio.

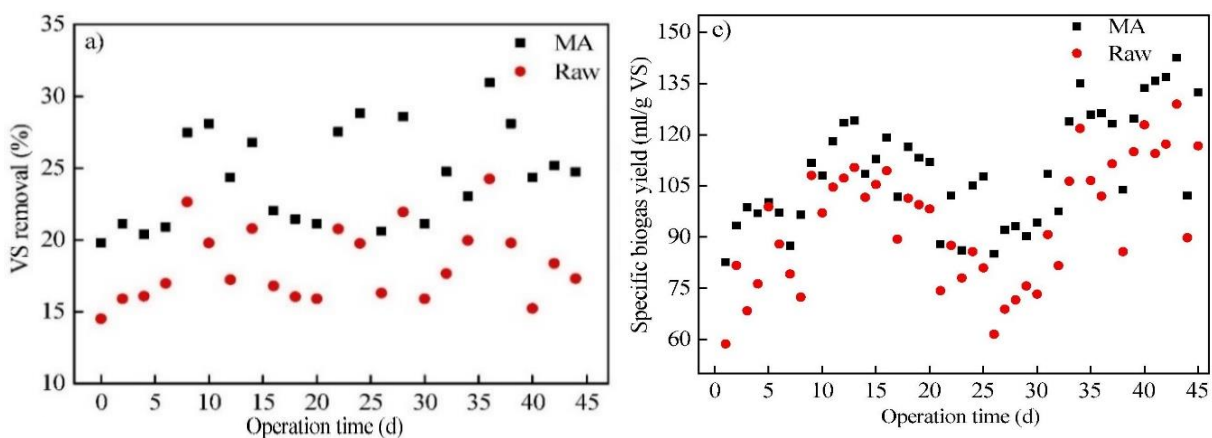


Gráfico 6. Eliminación de sólidos volátiles y evolución de la producción de biogás. (MA; fango microaireado, Raw; fango no microaireado) [17].

5.2. Efecto de la microaireación directa

En relación con los sustratos lignocelulósicos estudiados en el apartado anterior, varios autores han basado sus experimentos sobre la biodegradabilidad de la paja de trigo [56], [57]. En ellos la forma de aireación consistió en introducir oxígeno al comienzo del ensayo en discontinuo. En [56] se especifica que el volumen de oxígeno inyectado se hizo directamente sobre la fase líquida del reactor BMP, hasta alcanzar las concentraciones deseadas de 5, 10 y 15 mL O_2 /g SV. En ensayo duró 35 días a una temperatura de 55°C. La diferencia en este experimento es que el volumen de oxígeno se repartió en número de pulsos al día (1-3) durante un tiempo de 1 y 3 días. Los resultados observados fueron que el grado de solubilización de la paja de trigo fue mayor para las muestras aireadas. Esto se debe a que la concentración de DQO soluble fue mucho menor al finalizar el proceso de digestión en comparación con la muestra sin microaerear, por lo que se podría concluir que esta DQO soluble se transformó más fácilmente en metano. Por otro lado, la dosis óptima de oxígeno para incrementar la producción de metano fue de un pulso de 5 mL O_2 /gSV durante 3 días consecutivos, si bien es cierto que la diferencia con la muestra no aireada no fue estadísticamente significativa. Las conclusiones a las que se llegaron fueron semejantes a las descritas en [57], el ensayo BMP termófilo a 55°C mostró que una única inyección de 5 mL O_2 /g SV incrementaba la producción de metano y mejoraba la hidrólisis de carbohidratos. En este mismo artículo el experimento sobre la codigestión de paja de trigo y purín de vaca en continuo tuvo un impacto positivo en la generación de metano. En este caso la aireación se llevó a cabo de manera continua con un caudal de 7,3 mL O_2 /g SV/d y un tiempo de retención hidráulico de 15 días.

La microaireación directa puede ayudar a controlar la acumulación de AGVs en sistemas continuos. A altas cargas orgánicas, implementar un sistema de control a través del ORP es una forma efectiva de reducir la concentración de AGVs y devolver la estabilidad al digestor. En [8], el punto de consigna de -470 mV permitió disminuir la concentración de ácido acético (HAc) de $9,2$ g HAc/L a 3 g HAc/L mediante la microaireación de la fase líquida del digestor. En este caso una aireación entre $0,1$ y $0,35$ L $O_2/L_{\text{reactor}}/d$ fue eficaz para este propósito.

La microaireación directa en experimentos BMP, siendo el sustrato fango mixto [58], tiene impactos positivos al inyectar aire en la fase líquida del reactor. Concentraciones de aire de $0,68$ y $1,37$ L /kg SV/d inyectadas con una frecuencia de entre 3 y 5 días a la semana redujeron la concentración de ácidos volátiles a lo largo del proceso de digestión, de forma parecida a lo descrito en [56], concentraciones superiores de oxígeno provocaron una acumulación de AGVs dentro de los reactores, dando como resultado una menor producción de metano. En este experimento la producción de metano aumentó en comparación con la muestra no aireada para las concentraciones de aire de $0,68$ y $1,37$ L /kg SV. Para flujos de aire superiores pudo observarse un efecto negativo en la producción de metano según muestra el gráfico 7.

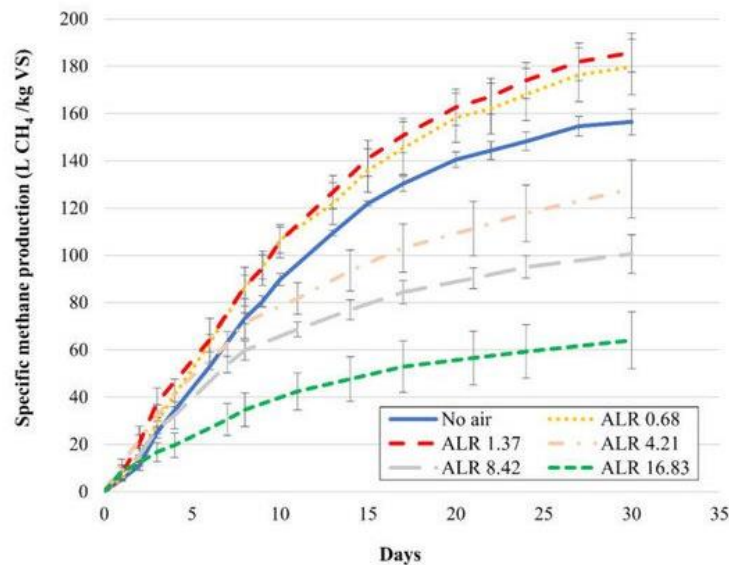


Gráfico 7. Producción de metano con diferentes flujos de aire introducidos [58].

También se han llevado a cabo experimentos en continuo con reactores UASB alimentando purín de cerdo [59]. Al contrario de los resultados de otros autores, no pudo detectarse metano en el reactor microaireado, probablemente debido al efecto de dilución del aire sintético ya que no hubo acumulación de AGVs en el efluente del reactor.

Además, una microaireación excesiva puede tener efectos negativos sobre los microorganismos estrictamente anaerobios o promover el metabolismo aerobio, lo que disminuye la concentración final de metano al oxidar la materia orgánica de manera aerobia [60]. Los autores que han estudiado la biodegradabilidad de sustratos lignocelulósicos mediante pretratamientos, termófilos y mesófilos, llegaron a resultados similares en cuanto al aumento en la concentración de AGVs y las concentraciones de oxígeno necesarias para facilitar la etapa de hidrólisis [28]. La microaireación directa en sistemas continuos presenta la ventaja de que puede evitar la acumulación de AGVs y recuperar la estabilidad del digestor, aunque el control de esta manera de aireación debe ser más preciso ya que al no desacoplarla de la digestión del sustrato podría provocar la inhibición de las arqueas metanógenas.

Tabla 5. Resumen de los parámetros y resultados de los experimentos anteriores.

Tipo de reactor y volumen	Sustrato	Carga orgánica pretratamiento	Aporte de oxígeno óptimo	Sistema de microaireación	Producción de metano con microaireación (mL CH ₄ /gSV)	Incremento de la producción de metano	Comentarios	Referencia
1. Microaireación en el pretratamiento								
Batch BMP 0,22L	Paja de maiz	50 gSV _{sustrato} /L 4,4 gSV _{inóculo} /L	10 mL O ₂ /gSV* 5 mL O ₂ /gSV**	Inyección de oxígeno puro con jeringa.	381-283	32,7% - 28,6%	*Pretratamiento secundario. **Pretratamiento primario.	[24]
Batch BMP 0,2 L	Paja de maíz	20,3 gSV _{sustrato} /L	5 mL O ₂ /gSV	Inyección de oxígeno puro con jeringa.	232-263	2,9% -16,5%	Se empleó un cultivo puro de <i>Bacillus Subtilis</i> . BMP realizado en rango mesófilo (35°C).	[26]
Batch BMP 0,2 L	Paja de maiz	50 gSV _{sustrato} /L	5 mL O ₂ /gSV	Inyección de oxígeno puro con jeringa.	295-325	6% - 16,2%	BMP realizado en rango mesófilo (35°C).	[27]
Batch BMP 0,2L	Hierba de elefante	1,1 gSV _{sustrato} /L	10 mL O ₂ /g SV	Inyección de oxígeno puro con jeringa.	246-265	16% - 24,4%	Uso de cinco agentes orgánicos diferentes en el pretratamiento.	[51]
Batch BMP 0,25 L	Paja de arroz	20 gSV _{sustrato} /L	12 mL O ₂ /gSV* 6 mL O ₂ /gSV**	Inyección de oxígeno puro con jeringa.	257-312	55,4% - 88,7%	*Concentración óptima para el consorcio bacteriano comercial **Concentración óptima para el resto de agentes de pretratamiento	[53]
Batch 0,9L y 4L *	Fango mixto	3,1-3,8 gSV/L	0,3 vvm	Introducción de aire mediante compresor.	≈400	111%	* Reactores BMP con volúmenes de 280 mL para obtener la producción de metano.	[54]
Batch 1L	Fango mixto	No especificado	0,2 vvm	Introducción de aire mediante compresor.	≈250	121%		[55]

Tabla 6. Resumen de los parámetros y resultados de los experimentos anteriores.

Tipo de reactor y volumen	Sustrato	Carga orgánica	Aporte de oxígeno óptimo	Sistema de microaireación	Producción de metano con microaireación (mL CH ₄ /gSV)	Incremento de la producción de metano	Comentarios	Referencia
Microaireación directa								
Batch BMP 0,2L	Paja de trigo	4,33 gSV/L	5 mL O ₂ /gSV	Inyección de oxígeno puro con jeringa en la fase líquida.	264	7,2%	BMP realizado en rango termófilo (55°C).	[56]
Batch BMP (0,2L) CSTR (3L)	Paja de trigo y purín de vaca	4,33 gSV/L (BMP) 1,7 gSV/L/d (CSTR)	5 mL O ₂ /gSV 7,3 mL O ₂ /gVS/d	Inyección de oxígeno puro con jeringa en la fase líquida.	≈300 (BMP) 276 (CSTR)	10% (BMP) 7% (CSTR)	Se validaron los resultados obtenidos con un modelo matemático específico en BioModel.	[57]
Batch BMP 0,25 L	Fango mixto	No especificado	1,37 L aire/kg SV/d	Inyección de aire en la fase líquida de 3 a 5 veces por semana.	186	19%	BMP realizado en rango mesófilo (35°C).	[58]
UASB 1,6 L	Purín de cerdo	10,4 gCOD/L/d	0,5 LO ₂ /L _{alimentación} /d	Introducción de aire sintético por el fondo del reactor.	No se detectó metano		Metano no detectado debido probablemente al efecto de dilución del aire sintético introducido.	[59]
Batch BMP 0,2 L	Paja de maíz	4,77 gSV _{sustrato} /L	12,5 mL O ₂ /L _{reactor} /d	Inyección de aire con jeringa a presión atmosférica.	216,8	16,5%	BMP realizado en rango termófilo (55°C).	[60]

6. Efecto en la microbiología

El efecto de la microaireación tiene como consecuencia un cambio importante en los microorganismos que participan en cada etapa de la digestión anaerobia. La presencia de oxígeno puede fomentar la prevalencia de ciertos microorganismos facultativos aerobios o de arqueas aerotolerantes en función de la naturaleza del sustrato y de si ha sido pretratado.

6.1. Bacterias

Los filos bacterianos presentes habitualmente en un digestor anaerobio son: *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* y *Sinergistetes* [61]. Las bacterias del filo *Firmicutes* se encargan de la etapa de hidrólisis al excretar enzimas extracelulares y transformar moléculas complejas en otras más simples [62]; al filo *Bacteroidetes* se le asocian funciones de degradación de AGVs y de polisacáridos [63]. Las *Proteobacterias* juegan un papel importante en los procesos de acidogénesis y acetogénesis, en esta última etapa las *Actinobacterias* también desempeñan funciones relevantes [64]. Por último, las bacterias del filo *Sinergistetes* transforman AGVs en acetato. [65]

En el pretratamiento de paja de arroz [53] se pudo observar que los géneros de *Syntrophomonas* y *Candidatus Cloacamonas*, *Firmicutes* y *Bacteroidetes*, respectivamente, aumentaban su abundancia relativa en las muestras microaireadas en comparación con el sustrato no microaireado (Gráfico 8), por el contrario, otros géneros como *Clostridium sensu stricto* y *Sphaerochaeta* disminuían su abundancia.

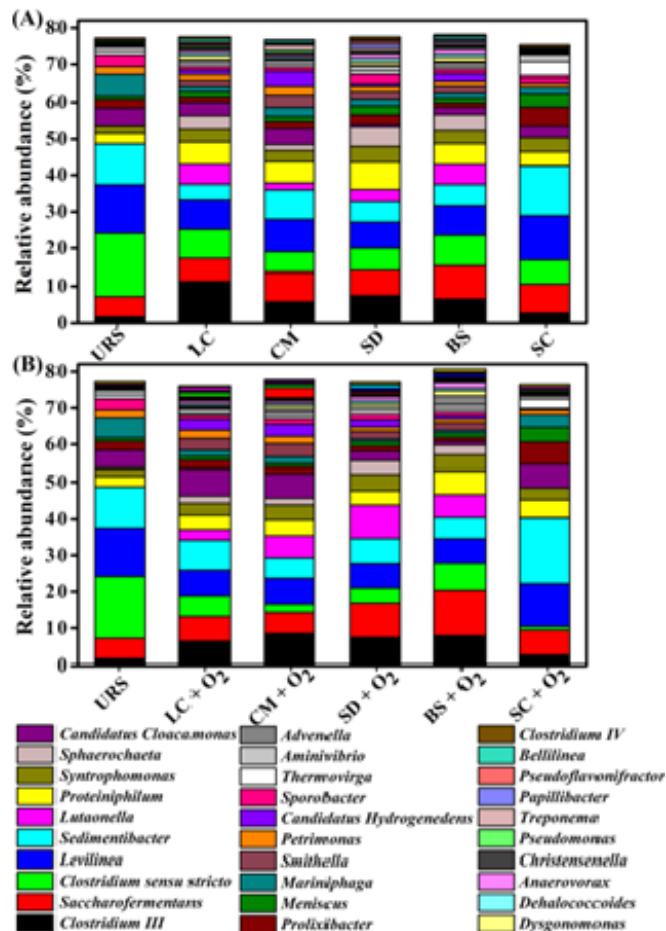


Gráfico 8. Abundancia relativa de generos microbianos [53]. URS (paja de maiz no tratada), ver Gráfico 2 para el resto de notación.

Según este estudio los géneros como *Clostridium* III, *Syntrophomonas*, *Candidatus Cloacamonas* contribuyeron al incremento en la cantidad de metano debido a la mayor velocidad de hidrólisis de los carbohidratos. De manera similar, en el pretratamiento microaireado de la hierba de elefante con excrementos de vaca [51] se observó una mayor abundancia relativa de *Acinetobacter*, del filo *Proteobacteria*, durante el pretratamiento microaireado lo que fomentó la generación de AGVs a partir de la degradación de la lignina.

Por último, al evaluar el efecto de la microaireación en la codigestión de purín de vaca y paja se llegó a la conclusión de que no produjo cambios significativos en el consorcio bacteriano de manera general debido a que el reactor operaba con bacterias facultativas aerobias que se adaptaron sin problemas a la presencia de oxígeno. A pesar de ello, se detectó una abundancia 12,5 superior de *Clostridia*. la cual se asocia a la hidrólisis de carbohidratos en sustratos lignocelulósicos [57].

En reactores UASB alimentados con purín de cerdo [59] se observó un cambio en la abundancia relativa entre el reactor microaireado y el no microaireado. Para este último, la abundancia relativa de *Firmicutes*, *Bacteroidetes* y *Proteobacteria* fue de 39%, 30% y 17% respectivamente, en contraste con el reactor microaireado en el que hay un aumento ligero de *Bacteroidetes* y *Proteobacteria*, 34% y 20%, y una disminución de *Firmicutes* hasta el 31%, (ver gráfico 9).

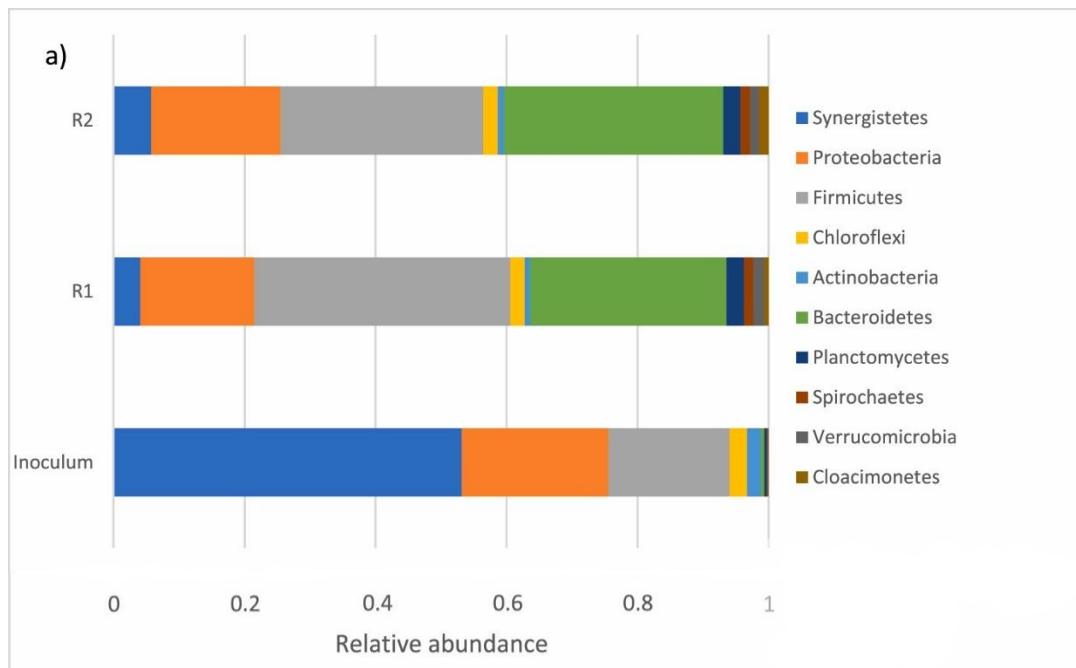


Gráfico 9. Abundancia relativa de filos del inóculo, reactor microaireado (R2), reactor anaerobio (R1) [59]

6.2. Arqueas

En las arqueas los principales géneros más abundantes son *Methanosarcina*, *Methanosaeta*, *Methanoculleus*, *Methanobacteriales* y *Methanospirillum*, con mayor prevalencia de arqueas acetoclásticas en condiciones anaerobias puras [66].

Los pretratamientos de sustratos lignocelulósicos mediante el uso de agentes orgánicos [51], [53] encontraron que el efecto del oxígeno cambia ligeramente la abundancia relativa de las arqueas. Particularmente la hierba de elefante pretratada con inóculo y microaireación presentó una mayor abundancia relativa de *Methanosarcina* (77,6%) y *Methanosaeta* (20,5%) y una disminución *Methanoculleus* (0,9%) y *Methanomassiliicoccus* (0,6%) en comparación con el grupo pretratado con inóculo sin microaireación, siendo las abundancias respectivamente de 73,5%, 19,8%, 3,1% y 2,8%.

Los dos primeros géneros de arqueas pueden generar metano mediante la vía hidrogenotrófica, acetoclástica y metilotrónica mientras que los dos últimos solo pueden hacerlo a través de la hidrogenotrófica y la metilotrónica [67], con lo que podría concluirse que los organismos acetógenos se vieron favorecidos debido a la mayor disponibilidad de AGVs después del pretratamiento.

El caso de la codigestión en continuo de purín de vaca con paja y microaireación directa [57], se observó una abundancia 6,3 veces mayor de *Methanosarcina thermophila* y un descenso de 7,8 y 37 veces la abundancia de *Methanoculleus palmolei* 4 y *Methanothermobacter thermoautotrophicus* debido a la inhibición causada por el oxígeno. Estos resultados también concuerdan con lo descrito en [60], en el que las condiciones de microaireación duplicaron la abundancia relativa de *Methanosarcina* y de *Methanobacterium*, descritas en el apartado 2.2 como arqueas aerotolerantes, y disminuyeron un 43,5% la abundancia de *Methanoculleus* tal como puede verse en el gráfico 10. Esto se debe principalmente a que el género *Methanosarcina* y *Methanobacterium* tienen mayor tolerancia por el oxígeno que *Methanoculleus* [19].

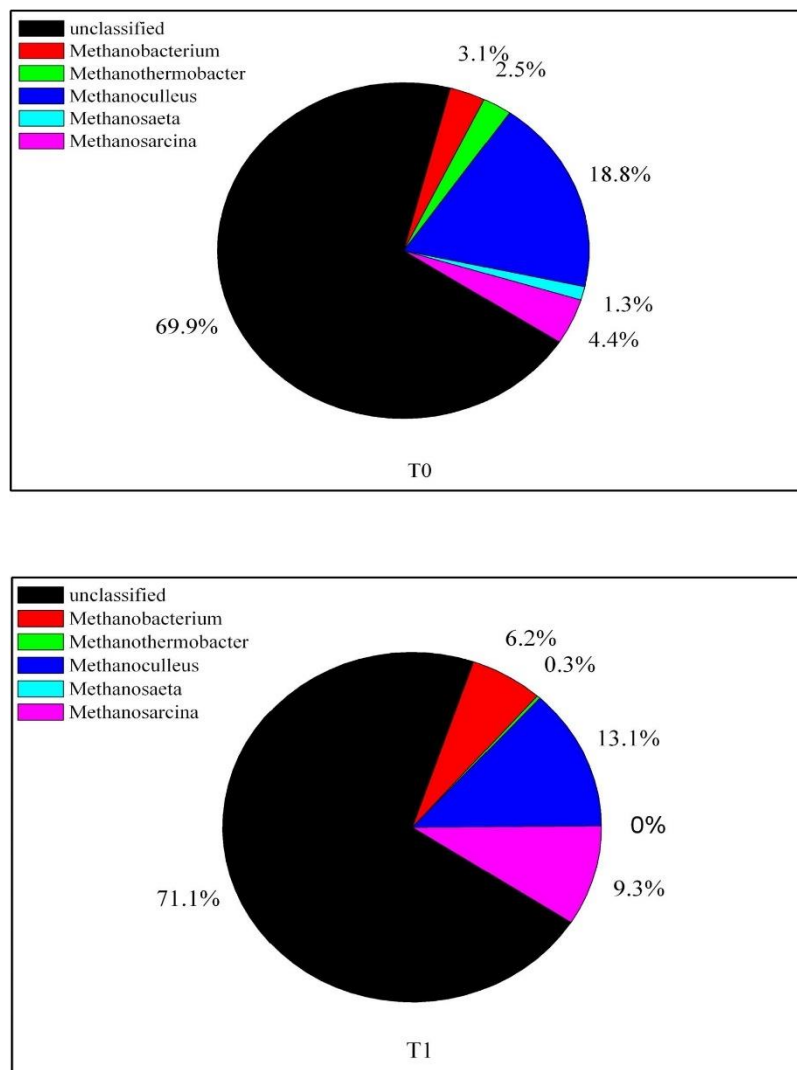


Gráfico 10. Abundancia relativa de las arqueas [60]. T0 (no microaireado), T1 (microaireado).

En general, en estos estudios pudo observarse un cambio en la abundancia de determinadas especies y géneros de arqueas, pero no un cambio en la ruta metabólica

predominante para formar metano como se refiere en [5], donde algunos autores detectaron un cambio de la vía acetoclástica a la hidrogenotrófica.

7. Conclusiones

Los artículos de diferentes autores sobre la digestión microaerobia que han sido recogidos en este trabajo han permitido extraer una serie de conclusiones acerca del efecto de la introducción de oxígeno en un sistema anaerobio.

El uso de microaireación para mejorar la producción de metano de un sustrato parece tener un impacto positivo cuando se emplean concentraciones de oxígeno bajas. En función de la naturaleza del sustrato, la microaireación durante el pretratamiento o la microaireación directa durante la digestión son dos formas habituales de operar. En particular en algunos sustratos lignocelulósicos (paja de maíz, paja de arroz, paja de trigo) produjeron mayor cantidad de metano al inyectarles una concentración de oxígeno de 5 mL O₂/gSV durante el pretratamiento, mientras que el fango mixto dio resultados que duplicaban la producción de metano con valores de entrono a 0,2 vvm. La microaireación directa también mejora la producción de metano, pero en general estos incrementos son ligeramente menores en comparación con el pretratamiento microaireado y tiene como desventaja la posible inhibición de la metanogénesis si se introduce demasiado oxígeno en el digestor. Estos cambios en la producción de metano están relacionados con variaciones de la abundancia relativa de bacterias y arqueas. Dependiendo del tipo sustrato y de si ha recibido pretratamiento o no, el oxígeno puede promover la aparición de microorganismos que hidrolicen más eficientemente la materia orgánica y de arqueas aerotolerantes.

Ya se ha demostrado que la microaireación en digestores anaerobios es eficaz para eliminar el H₂S contenido en el biogás y a día de hoy su implementación a gran escala ha dado buenos resultados por su eficacia y bajo coste en comparación con otras alternativas biológicas y fisicoquímicas. Como se ha visto, la microaireación presenta resultados prometedores al mejorar la producción de metano, la velocidad de hidrólisis e incluso controlar la acumulación de AGVs. Sin embargo, existen limitaciones a nivel de control que dificultan utilizar esta tecnología en digestores a gran escala puesto que no se ha desarrollado aún un sistema automático de control que dosifique el oxígeno necesario en cada momento. Además, se precisa de un conocimiento más profundo de rutas metabólicas que tienen lugar en condiciones de microaireación y de los cambios en la comunidad microbiana. En el futuro la investigación debería estar enfocada en resolver estos aspectos para sacar el máximo potencial a esta tecnología y que su implementación sea viable.

8. Bibliografía

- [1] F. M. Pellerá and E. Gidakos, "Anaerobic digestion of solid agroindustrial waste in semi-continuous mode: Evaluation of mono-digestion and co-digestion systems," *Waste Management*, vol. 68, pp. 103–119, Oct. 2017, doi: 10.1016/j.wasman.2017.06.026.
- [2] Q. Chen, W. Wu, D. Qi, Y. Ding, and Z. Zhao, "Review on microaeration-based anaerobic digestion: State of the art, challenges, and prospectives," *Science of the Total Environment*, vol. 710. 2020. doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.136388.
- [3] D. Deublein and A. Steinhauser, *Biogas from Waste and Renewable Resources: An Introduction, Second Edition*. 2010. doi: 10.1002/9783527632794.

- [4] C. Sawatdeenarunat *et al.*, “Anaerobic biorefinery: Current status, challenges, and opportunities,” *Bioresource Technology*, vol. 215. 2016. doi: 10.1016/j.biortech.2016.03.074.
- [5] D. Nguyen and S. K. Khanal, “A little breath of fresh air into an anaerobic system: How microaeration facilitates anaerobic digestion process,” *Biotechnology Advances*, vol. 36, no. 7. 2018. doi: 10.1016/j.biotechadv.2018.08.007.
- [6] “Book Review: Brock Biology of Microorganisms – 14th edition,” *Sci Prog*, vol. 99, no. 3, 2016, doi: 10.3184/003685016x14721564318450c.
- [7] L. Leng *et al.*, “A review on the bioenergetics of anaerobic microbial metabolism close to the thermodynamic limits and its implications for digestion applications,” *Bioresource Technology*, vol. 247. 2018. doi: 10.1016/j.biortech.2017.09.103.
- [8] D. Nguyen, Z. Wu, S. Shrestha, P. H. Lee, L. Raskin, and S. K. Khanal, “Intermittent micro-aeration: New strategy to control volatile fatty acid accumulation in high organic loading anaerobic digestion,” *Water Res*, vol. 166, 2019, doi: 10.1016/j.watres.2019.115080.
- [9] T. H. Christensen, “Introduction to Waste Management,” *Solid Waste Technology & Management*. 2010. doi: 10.1002/9780470666883.ch1.
- [10] I. Angelidaki, D. Karakashev, D. J. Batstone, C. M. Plugge, and Alfons J.M. Stams, “Methods in Enzymology,” *Methods Enzymol*, 2011, doi: 10.1016/B978-0-12-385950-1.00020-1.
- [11] C. Staerck *et al.*, “Microbial antioxidant defense enzymes,” *Microbial Pathogenesis*, vol. 110. 2017. doi: 10.1016/j.micpath.2017.06.015.
- [12] Z. Wu *et al.*, “Synergistic association between cytochrome bd-encoded Proteiniphilum and reactive oxygen species (ROS)-scavenging methanogens in microaerobic-anaerobic digestion of lignocellulosic biomass,” *Water Res*, vol. 190, 2021, doi: 10.1016/j.watres.2020.116721.
- [13] A. J. Horne and D. J. Lessner, “Assessment of the oxidant tolerance of *Methanosarcina acetivorans*,” *FEMS Microbiology Letters*, vol. 343, no. 1. 2013. doi: 10.1111/1574-6968.12115.
- [14] M. Takao, A. Yasui, and A. Oikawa, “Unique characteristics of superoxide dismutase of a strictly anaerobic archaeobacterium *Methanobacterium thermoautotrophicum*,” *Journal of Biological Chemistry*, vol. 266, no. 22, pp. 14151–14154, Aug. 1991, doi: 10.1016/S0021-9258(18)98656-4.
- [15] J. Li, X. Ran, M. Zhou, K. Wang, H. Wang, and Y. Wang, “Oxidative stress and antioxidant mechanisms of obligate anaerobes involved in biological waste treatment processes: A review,” *Science of The Total Environment*, vol. 838, p. 156454, Sep. 2022, doi: 10.1016/J.SCITOTENV.2022.156454.
- [16] P. García-Caparrós *et al.*, “Oxidative Stress and Antioxidant Metabolism under Adverse Environmental Conditions: a Review,” *Botanical Review*, vol. 87, no. 4, 2021, doi: 10.1007/s12229-020-09231-1.
- [17] D. Ruan, Z. Zhou, H. Pang, J. Yao, G. Chen, and Z. Qiu, “Enhancing methane production of anaerobic sludge digestion by microaeration: Enzyme activity stimulation, semi-continuous reactor validation and microbial community analysis,” *Bioresour Technol*, vol. 289, 2019, doi: 10.1016/j.biortech.2019.121643.

- [18] J. W. Lim, J. A. Chiam, and J. Y. Wang, "Microbial community structure reveals how microaeration improves fermentation during anaerobic co-digestion of brown water and food waste," *Bioresour Technol*, vol. 171, 2014, doi: 10.1016/j.biortech.2014.08.050.
- [19] D. Botheju, "Oxygen Effects in Anaerobic Digestion – A Review," *The Open Waste Management Journal*, 2011, doi: 10.2174/1876400201104010001.
- [20] S. T. Oh, S. J. Kang, and A. Azizi, "Electrochemical communication in anaerobic digestion," *Chemical Engineering Journal*, vol. 353. 2018. doi: 10.1016/j.cej.2018.07.154.
- [21] A. J. H. Janssen, R. Sleyster, C. van der Kaa, A. Jochemsen, J. Bontsema, and G. Lettinga, "Biological sulphide oxidation in a fed-batch reactor," *Biotechnol Bioeng*, vol. 47, no. 3, 1995, doi: 10.1002/bit.260470307.
- [22] I. Díaz, A. C. Lopes, S. I. Pérez, and M. Fdz-Polanco, "Performance evaluation of oxygen, air and nitrate for the microaerobic removal of hydrogen sulphide in biogas from sludge digestion," *Bioresour Technol*, vol. 101, no. 20, 2010, doi: 10.1016/j.biortech.2010.04.062.
- [23] C. G. Liu, C. Xue, Y. H. Lin, and F. W. Bai, "Redox potential control and applications in microaerobic and anaerobic fermentations," *Biotechnology Advances*, vol. 31, no. 2. 2013. doi: 10.1016/j.biotechadv.2012.11.005.
- [24] S. F. Fu *et al.*, "Secondary thermophilic microaerobic treatment in the anaerobic digestion of corn straw," *Bioresour Technol*, vol. 186, 2015, doi: 10.1016/j.biortech.2015.03.053.
- [25] F. R. Amin *et al.*, "Pretreatment methods of lignocellulosic biomass for anaerobic digestion," *AMB Express*, vol. 7, no. 1. 2017. doi: 10.1186/s13568-017-0375-4.
- [26] W. Xu, S. Fu, Z. Yang, J. Lu, and R. Guo, "Improved methane production from corn straw by microaerobic pretreatment with a pure bacteria system," *Bioresour Technol*, vol. 259, 2018, doi: 10.1016/j.biortech.2018.02.046.
- [27] S. F. Fu *et al.*, "The thermophilic (55 °C) microaerobic pretreatment of corn straw for anaerobic digestion," *Bioresour Technol*, vol. 175, pp. 203–208, Jan. 2015, doi: 10.1016/J.BIORTECH.2014.10.072.
- [28] F. Zhen, X. Luo, T. Xing, Y. Sun, X. Kong, and W. Li, "Performance evaluation and microbial community analysis of microaerobic pretreatment on thermophilic dry anaerobic digestion," *Biochem Eng J*, vol. 167, 2021, doi: 10.1016/j.bej.2020.107873.
- [29] B. Tartakovsky, P. Mehta, J. S. Bourque, and S. R. Guiot, "Electrolysis-enhanced anaerobic digestion of wastewater," *Bioresour Technol*, vol. 102, no. 10, 2011, doi: 10.1016/j.biortech.2011.02.097.
- [30] W. Zhou, T. Imai, M. Ukita, F. Li, and A. Yuasa, "Effect of limited aeration on the anaerobic treatment of evaporator condensate from a sulfite pulp mill," *Chemosphere*, vol. 66, no. 5, 2007, doi: 10.1016/j.chemosphere.2006.06.004.
- [31] L. Krayzelova, J. Bartacek, I. Díaz, D. Jeison, E. I. P. Volcke, and P. Jenicek, "Microaeration for hydrogen sulfide removal during anaerobic treatment: a review," *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, vol. 14, no. 4. 2015. doi: 10.1007/s11157-015-9386-2.

- [32] *A Practical Guide to Piping and Valves for the Oil and Gas Industry*. 2021. doi: 10.1016/c2020-0-00637-7.
- [33] I. Ramos, R. Pérez, M. Reinoso, R. Torio, and M. Fdz-Polanco, "Microaerobic digestion of sewage sludge on an industrial-pilot scale: The efficiency of biogas desulphurisation under different configurations and the impact of O₂ on the microbial communities," *Bioresour Technol*, vol. 164, 2014, doi: 10.1016/j.biortech.2014.04.109.
- [34] R. Muñoz, L. Meier, I. Diaz, and D. Jeison, "A review on the state-of-the-art of physical/chemical and biological technologies for biogas upgrading," *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, vol. 14, no. 4. 2015. doi: 10.1007/s11157-015-9379-1.
- [35] L. Yan *et al.*, "Hydrogen sulfide formation control and microbial competition in batch anaerobic digestion of slaughterhouse wastewater sludge: Effect of initial sludge pH," *Bioresour Technol*, vol. 259, 2018, doi: 10.1016/j.biortech.2018.03.011.
- [36] R. Iranpour, H. H. J. Cox, S. Fan, V. Abkian, R. J. Kearney, and R. T. Haug, "Short-term and long-term effects of increasing temperatures on the stability and the production of volatile sulfur compounds in full-scale thermophilic anaerobic digesters," *Biotechnol Bioeng*, vol. 91, no. 2, 2005, doi: 10.1002/bit.20518.
- [37] "National Library of medicine." <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> (accessed Jul. 01, 2022).
- [38] H. P. Vu *et al.*, "Hydrogen sulphide management in anaerobic digestion: A critical review on input control, process regulation, and post-treatment," *Bioresource Technology*, vol. 346. 2022. doi: 10.1016/j.biortech.2021.126634.
- [39] I. Ramos, R. Pérez, and M. Fdz-Polanco, "The headspace of microaerobic reactors: Sulphide-oxidising population and the impact of cleaning on the efficiency of biogas desulphurisation," *Bioresour Technol*, vol. 158, 2014, doi: 10.1016/j.biortech.2014.02.001.
- [40] B. Khoshnevisan *et al.*, "A review on prospects and challenges of biological H₂S removal from biogas with focus on biotrickling filtration and microaerobic desulfurization," *Biofuel Research Journal*, vol. 4, no. 4. 2017. doi: 10.18331/BRJ2017.4.4.6.
- [41] P. Jeníček, J. Horejš, L. Pokorná-Krayzelová, J. Bindzar, and J. Bartáček, "Simple biogas desulfurization by microaeration – Full scale experience," *Anaerobe*, vol. 46, 2017, doi: 10.1016/j.anaerobe.2017.01.002.
- [42] P. Jenicek, F. Keclik, J. Maca, and J. Bindzar, "Use of microaerobic conditions for the improvement of anaerobic digestion of solid wastes," *Water Science and Technology*, vol. 58, no. 7, 2008, doi: 10.2166/wst.2008.493.
- [43] A. Giordano, F. di Capua, G. Esposito, and F. Pirozzi, "Long-term biogas desulfurization under different microaerobic conditions in full-scale thermophilic digesters co-digesting high-solid sewage sludge," *Int Biodeterior Biodegradation*, vol. 142, 2019, doi: 10.1016/j.ibiod.2019.05.017.
- [44] M. Andreides, L. Pokorná-Krayzelová, J. Říhová Ambrožová, E. I. P. Volcke, and J. Bartáček, "Key parameters influencing hydrogen sulfide removal in microaerobic sequencing batch reactor," *Biochem Eng J*, vol. 168, 2021, doi: 10.1016/j.bej.2021.107951.

- [45] J. K. Huertas, L. Quipuzco, A. Hassanein, and S. Lansing, "Comparing hydrogen sulfide removal efficiency in a field-scale digester using microaeration and iron filters," *Energies (Basel)*, vol. 13, no. 18, 2020, doi: 10.3390/en13184793.
- [46] L. Pokorna-Krayzelova, K. E. Mampaey, T. P. W. Vannecke, J. Bartacek, P. Jenicek, and E. I. P. Volcke, "Model-based optimization of microaeration for biogas desulfurization in UASB reactors," *Biochem Eng J*, vol. 125, 2017, doi: 10.1016/j.bej.2017.06.009.
- [47] I. Díaz, C. Pérez, N. Alfaro, and F. Fdz-Polanco, "A feasibility study on the bioconversion of CO₂ and H₂ to biomethane by gas sparging through polymeric membranes," *Bioresour Technol*, vol. 185, 2015, doi: 10.1016/j.biortech.2015.02.114.
- [48] L. Zhang, Y. Y. Qiu, Y. Zhou, G. H. Chen, M. C. M. van Loosdrecht, and F. Jiang, "Elemental sulfur as electron donor and/or acceptor: Mechanisms, applications and perspectives for biological water and wastewater treatment," *Water Research*, vol. 202, 2021. doi: 10.1016/j.watres.2021.117373.
- [49] I. Ramos and M. Fdz-Polanco, "The potential of oxygen to improve the stability of anaerobic reactors during unbalanced conditions: Results from a pilot-scale digester treating sewage sludge," *Bioresour Technol*, vol. 140, 2013, doi: 10.1016/j.biortech.2013.04.066.
- [50] R. Chandra, H. Takeuchi, and T. Hasegawa, "Methane production from lignocellulosic agricultural crop wastes: A review in context to second generation of biofuel production," *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 16, no. 3, 2012. doi: 10.1016/j.rser.2011.11.035.
- [51] L. Wang *et al.*, "Effects of different microbial pretreatments on the anaerobic digestion of giant grass under anaerobic and microaerobic conditions," *Bioresour Technol*, vol. 337, 2021, doi: 10.1016/j.biortech.2021.125456.
- [52] R. Guan *et al.*, "Enhancing anaerobic digestion performance and degradation of lignocellulosic components of rice straw by combined biological and chemical pretreatment," *Science of the Total Environment*, vol. 637–638, 2018, doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.04.366.
- [53] F. R. Amin, H. Khalid, W. Li, C. Chen, and G. Liu, "Enhanced methane production and energy potential from rice straw by employing microaerobic pretreatment via anaerobic digestion," *J Clean Prod*, vol. 296, 2021, doi: 10.1016/j.jclepro.2021.126434.
- [54] S. Montalvo, C. Huiliñir, F. Ojeda, A. Castillo, L. Lillo, and L. Guerrero, "Microaerobic pretreatment of sewage sludge: Effect of air flow rate, pretreatment time and temperature on the aerobic process and methane generation," *Int Biodeterior Biodegradation*, vol. 110, 2016, doi: 10.1016/j.ibiod.2016.01.010.
- [55] R. Barati Rashvanlou, A. Rezaee, M. Farzadkia, M. Gholami, and M. Kermani, "Effect of micro-aerobic process on improvement of anaerobic digestion sewage sludge treatment: Flow cytometry and ATP assessment," *RSC Adv*, 2020, doi: 10.1039/d0ra05540a.
- [56] P. Tsapekos, P. G. Kougias, S. A. Vasileiou, G. Lyberatos, and I. Angelidaki, "Effect of micro-aeration and inoculum type on the biodegradation of lignocellulosic substrate," *Bioresour Technol*, vol. 225, 2017, doi: 10.1016/j.biortech.2016.11.081.

- [57] P. Tsapekos, M. Alvarado-Morales, P. G. Kougias, L. Treu, and I. Angelidaki, "Enhancing anaerobic digestion of agricultural residues by microaerobic conditions," *Biomass Convers Biorefin*, vol. 11, no. 6, 2021, doi: 10.1007/s13399-019-00430-4.
- [58] R. Morello *et al.*, "Microaerobic digestion of low-biodegradable sewage sludge: Effect of air dosing in batch reactors," *Sustainability (Switzerland)*, 2021, doi: 10.3390/su13179869.
- [59] M. Guimarães de Oliveira, J. M. Marques Mourão, F. S. Souza Silva, A. Bezerra dos Santos, and E. Lopes Pereira, "Effect of microaerophilic treatment on swine wastewater (SWW) treatment: Engineering and microbiological aspects," *J Environ Manage*, vol. 299, 2021, doi: 10.1016/j.jenvman.2021.113598.
- [60] S. F. Fu, F. Wang, X. S. Shi, and R. B. Guo, "Impacts of microaeration on the anaerobic digestion of corn straw and the microbial community structure," *Chemical Engineering Journal*, vol. 287, 2016, doi: 10.1016/j.cej.2015.11.070.
- [61] C. Sundberg *et al.*, "454 pyrosequencing analyses of bacterial and archaeal richness in 21 full-scale biogas digesters," *FEMS Microbiol Ecol*, vol. 85, no. 3, 2013, doi: 10.1111/1574-6941.12148.
- [62] M. Wang *et al.*, "The dynamic changes and interactional networks of prokaryotic community between co-digestion and mono-digestions of corn stalk and pig manure," *Bioresour Technol*, vol. 225, 2017, doi: 10.1016/j.biortech.2016.11.008.
- [63] A. Hanreich *et al.*, "Metagenome and metaproteome analyses of microbial communities in mesophilic biogas-producing anaerobic batch fermentations indicate concerted plant carbohydrate degradation," *Syst Appl Microbiol*, vol. 36, no. 5, 2013, doi: 10.1016/j.syapm.2013.03.006.
- [64] C. Cheng, Z. Zhou, Z. Qiu, J. Yang, W. Wu, and H. Pang, "Enhancement of sludge reduction by ultrasonic pretreatment and packing carriers in the anaerobic side-stream reactor: Performance, sludge characteristics and microbial community structure," *Bioresour Technol*, vol. 249, 2018, doi: 10.1016/j.biortech.2017.10.043.
- [65] H. Zou *et al.*, "Mesophilic anaerobic co-digestion of residual sludge with different lignocellulosic wastes in the batch digester," *Bioresour Technol*, vol. 268, 2018, doi: 10.1016/j.biortech.2018.07.129.
- [66] J. W. Lim and J. Y. Wang, "Enhanced hydrolysis and methane yield by applying microaeration pretreatment to the anaerobic co-digestion of brown water and food waste," *Waste Management*, vol. 33, no. 4, 2013, doi: 10.1016/j.wasman.2012.11.013.
- [67] F. R. Amin, H. Khalid, H. M. El-Mashad, C. Chen, G. Liu, and R. Zhang, "Functions of bacteria and archaea participating in the bioconversion of organic waste for methane production," *Science of the Total Environment*, vol. 763, 2021, doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.143007.