

Producción de hidrógeno a partir del tratamiento anaerobio de vinazas en un reactor UASB

Hydrogen production from the anaerobic treatment of vinasses in a UASB reactor

César González-Ugalde¹
J. Esteban Durán-Herrera²

Fecha de recepción: 5 de junio del 2013
Fecha de aprobación: 18 de octubre del 2013

González-Ugalde, C; Durán-Herrera, E.
Producción de hidrógeno a partir del tratamiento anaerobio de vinazas en un reactor UASB. *Tecnología en Marcha*. Vol. 27, N° 3, Julio-Setiembre 2014. Pág 3-12.

- 1 Ingeniero Químico. Emerson Electronic Costa Rica. Correo electrónico: cesar_gu24@hotmail.com
- 2 Doctor en Ingeniería Química. Profesor Catedrático. Escuela de Ingeniería Química. Universidad de Costa Rica. Costa Rica. Correo electrónico: esteban.duranherrera@ucr.ac.cr

Palabras clave

Hidrógeno; fermentación anaerobia; vinazas; reactor UASB; tratamiento de aguas residuales.

Resumen

Se evaluó la producción de hidrógeno mediante la fermentación anaerobia de vinazas generadas en la elaboración de etanol a partir de melazas de caña de azúcar. Esta evaluación se realizó a nivel de laboratorio, utilizando un reactor UASB de 3 L. Se emplearon los lodos de un reactor UASB de una planta de tratamiento de agua industrial para inocular el sistema productor de hidrógeno, después de someterlos a un tratamiento térmico para inhibir el crecimiento de bacterias metanogénicas. Los gránulos productores de hidrógeno se formaron primeramente en un reactor CSTR y luego se transfirieron al reactor UASB para iniciar su operación.

Bajo condiciones mesofílicas (37 °C), un pH de operación de aproximadamente 5,50, una concentración del sustrato de 20 000 mg DQO/L y un tiempo de retención hidráulica (TRH) de seis horas, la producción promedio de hidrógeno obtenida en el reactor UASB fue de 1,68 mL H₂/h/L, con una tasa máxima de 13,4 mL H₂/h/L. El porcentaje de remoción de DQO en el proceso de fermentación alcanzó valores máximos del 43%, con un promedio cercano al 20%. Tanto la producción de hidrógeno como la remoción de DQO presentaron una dependencia inversamente proporcional al TRH. Los resultados obtenidos en este estudio demuestran que la fermentación anaerobia en un reactor UASB abre la posibilidad de utilizar las vinazas para producir hidrógeno molecular de forma sostenible.

Key words

Hydrogen; anaerobic fermentation; vinasses; UASB reactor; wastewater treatment.

Abstract

Fermentative hydrogen production from sugar-cane vinasses was evaluated in a 3-L UASB reactor under mesophilic conditions. The seed sludge, taken from an industrial wastewater UASB reactor, was heat treated to inhibit non hydrogen producing bacteria. Hydrogen producing granules were first formed in a CSTR reactor and then transferred to the UASB reactor. Operating under mesophylic (37 °C) conditions, pH close to 5.5, inlet substrate concentration of 20 000 mg COD/L, and hydraulic retention time (HRT) of 6 hours, the average hydrogen production rate obtained in the UASB reactor was 1,68 mL H₂/h/L, showing a maximum value of 13,4 mL H₂/h/L. COD removal in the fermentation process reached maximum values of 43%, with an average value close to 20%. Both, hydrogen production and COD removal showed inverse dependence on HRT. The results obtained in this study show that anaerobic fermentation of vinasses using a UASB reactor is a feasible way to sustainably produce molecular hydrogen.

Introducción

El extenso uso de combustibles fósiles alrededor del mundo ha contribuido de manera importante a la contaminación y calentamiento global del planeta. Asimismo, las reservas limitadas de hidrocarburos con que se cuenta y su distribución desigual entre unos pocos países han causado múltiples problemas económicos y diplomáticos. Es por ello que resulta indispensable encontrar opciones viables, tanto en materia energética como medioambiental, de procesos alternativos para el desarrollo de energía sostenible. En este sentido, el hidrógeno es considerado por muchos el combustible del futuro.

El interés fundamental en el empleo de hidrógeno es que ofrece un enorme potencial como portador de energía sostenible, pues no genera gases de efecto invernadero, produciendo solamente agua como producto de su oxidación; además, presenta un alto poder calorífico (122 kJ/g) y su valor energético es 2,75 veces más alto que el de los hidrocarburos (Jung, Kim y Shin, 2010).

Una alternativa que ha suscitado gran interés durante los últimos años es la producción sostenible de hidrógeno mediante procesos biológicos. Uno de estos procesos es la fermentación anaerobia de material orgánico, la cual utiliza microorganismos que metabolizan los diversos sustratos en ausencia de oxígeno. Entre las ventajas de utilizar procesos anaerobios están los bajos costos de operación, el bajo consumo de energía, la capacidad de degradar altas cargas orgánicas, la resistencia por parte de la biomasa a permanecer largos intervalos de tiempo en ausencia de sustrato sin perder su actividad metabólica y los bajos requerimientos nutricionales (Buitrón y Carvajal, 2009). Además, las bacterias encargadas de la producción fermentativa de hidrógeno son bastante tolerantes a los cambios de las condiciones ambientales y presentan tasas de crecimiento más altas que las bacterias productoras de metano, lo que representa también ventajas operacionales.

Dado que estos procesos de fermentación anaerobia están en capacidad de utilizar prácticamente cualquier sustrato rico en carbohidratos, y que las comunidades microbianas están disponibles en aguas residuales, compost anaeróbico o lodos profundos (Manish y Banerjee, 2008), la producción de hidrógeno biológico a partir del tratamiento de

aguas residuales es una alternativa con gran sentido ambiental, energético y económico.

Las vinazas son el principal subproducto en la elaboración de etanol, en la que por cada litro de este alcohol destilado se generan entre 12 y 16 L de vinaza. Estos altos volúmenes producidos en cortos periodos han representado típicamente un desafío en cuanto a su adecuado manejo. Sin embargo, la composición y carga orgánica de las vinazas (~70 000 mg DQO/L y elevados contenidos de Ca^{2+} , Mg^{2+} y Fe^{2+}) la convierten en un sustrato factible para la producción de H_2 (González y Durán, 2013).

La producción fermentativa de hidrógeno se encuentra influenciada por el tipo de reactor empleado durante el proceso (modo de operación). Debido a razones prácticas ingenieriles, las operaciones de manera continua presentan mayor relevancia que las de tipo intermitente, por lo que se han realizado numerosos estudios en este aspecto (Wang y Wan, 2009). Entre los reactores empleados, el reactor anaeróbico de flujo ascendente UASB (del inglés *Up-flow Anaerobic Sludge Blanket*) ha mostrado resultados muy satisfactorios debido a los densos gránulos productores de hidrógeno (GPH) que se forman y su marcada estabilidad a altas tasas de carga orgánica. Algunos de los sustratos investigados en la producción de hidrógeno con reactores UASB son el suero de queso (Castelló et al., 2009), aguas residuales de la producción de vino de arroz (Yu, Zhua, Hub y Zhang, 2002) y ácido cítrico (Yang et al., 2006).

El arranque de un reactor anaerobio es el periodo de tiempo en el que la biomasa anaerobia se adapta en calidad y cantidad a las características del agua residual; la duración de esta etapa depende del tiempo que se necesite para obtener un efluente de calidad constante y una masa suficiente de lodo que no varíe cualitativamente con el tiempo. Los periodos de arranque de los reactores UASB pueden llegar a ser del orden de varios meses debido a la baja velocidad de formación de los GPH; sin embargo, Jung, Kim y Shin (2011) sugirieron un método para reducir el tiempo de arranque del reactor UASB, el cual consiste primeramente en formar los gránulos en un reactor CSTR para luego transferirlos al reactor UASB. Siguiendo esta metodología, González y Durán (2013) lograron formar GPH con un tamaño de partícula promedio de 1,24 mm en siete días de

operación de un CSTR, utilizando vinazas de caña de azúcar como sustrato.

En este artículo se presentan los resultados obtenidos de la puesta en marcha de un reactor UASB productor de hidrógeno, mediante la fermentación anaerobia de vinazas residuales de la producción de etanol a partir de caña de azúcar. Uno de los méritos del presente estudio es ser parte de la primera investigación que se lleva a cabo en Costa Rica (según el conocimiento de los autores) explorando la posibilidad de utilizar vinazas para la producción fermentativa de biohidrógeno.

Materiales y métodos

En esta investigación se utilizaron vinazas procedentes de la planta de destilación de etanol del Ingenio Taboga, ubicado en Cañas, Guanacaste. La vinaza se usó sin la adición de nutrientes externos y se mantuvo refrigerada a 4 °C hasta que fuera a utilizarse; la concentración se ajustó a 20 000 mg DQO/L por medio de dilución con agua de la cañería. La caracterización detallada de la vinaza utilizada aparece reportada en González y Durán (2013).

Los lodos para inocular se tomaron de un reactor UASB a escala industrial de la planta de tratamiento anaerobia de aguas residuales de la empresa Alimentos Prosalud S.A., ubicada en Barranca, Puntarenas. A estos lodos se les realizó un pretratamiento térmico en baño maría a 100 °C durante 30 minutos (Woo y Song, 2010), con el objetivo de inhibir (destruir) las bacterias no productoras de hidrógeno. En González y Durán (2013) se presenta una caracterización física y microbiológica inicial de los lodos utilizados.

Para acelerar el proceso de arranque del reactor UASB, se siguió la metodología recomendada por Jung et al. (2011). Para ello se utilizó un erlenmeyer con un volumen de trabajo de 5,0 L como reactor tipo CSTR, el cual fue inoculado con lodos pretratados equivalentes a un 30% del volumen de trabajo y se completó el volumen de reacción con vinaza diluida. El pH inicial se ajustó en aproximadamente 8,0 por medio de una solución de hidróxido de sodio 3M. Luego de purgar con nitrógeno durante

10 minutos para obtener condiciones anaerobias, la mezcla se mantuvo con agitación y a 37 °C por medio de una plantilla eléctrica (IKA C-MAG HS 7). La operación de este reactor tipo CSRT se inició en modo "batch" (por lotes) durante 70 horas y luego se cambió a modo continuo con un tiempo de retención hidráulica (TRH) de 12 horas. El pH de operación se controló por medio de la adición de 10 g de NaHCO₃ por litro de vinaza cruda empleada y se mantuvo en aproximadamente 5,5. Los resultados de este proceso acelerado de formación de gránulos productores de hidrógeno, previo a la inoculación del reactor UASB, se reportan y discuten ampliamente en González y Durán (2013).

Luego de siete días de operación, se tomaron 1,5 L del volumen de reacción del reactor CSTR para transferirlos como inóculo al reactor UASB. La temperatura dentro del reactor se mantuvo en aproximadamente 37 °C por medio de una cinta térmica colocada a su alrededor. El sistema operó por 30 días con un tiempo de retención hidráulico (TRH) de 12 y luego 15 días con un TRH de 6 h. El potencial de hidrógeno y la demanda química de oxígeno (reactor DQO Hach y reactivos CHEMetrics) fueron monitoreados dos veces por semana, tanto a la corriente de salida como a la entrada. El biogás producido se colectó y cuantificó en una probeta invertida llena de agua, tal y como se aprecia en el esquema del arreglo experimental de la figura 1. El contenido de hidrógeno en el biogás se determinó por medio de un cromatógrafo de gases (Agilent technologies 6890 N) equipado con un detector de conductividad térmica y la columna capilar Carboxen-1010 PLOT. La temperatura del puerto de inyección y del detector fue de 200 y 230 °C respectivamente; la temperatura inicial y máxima de la columna fue de 100 y 250 °C respectivamente, con rampas de temperatura de 15 °C/min. Se utilizó nitrógeno como gas acarreador a un flujo de 4 mL/min y presión de 4,97 psi. Concluidos los 45 días de operación, se hizo un análisis del tamaño de los GPH a nivel microscópico utilizando microscopios biológicos trinoculares Nikon Eclipse E400 y Labophot, además de un vernier digital. El análisis se hizo a la cama de lodos y a muestras tomadas de los tres puntos de muestreo a lo largo del reactor.

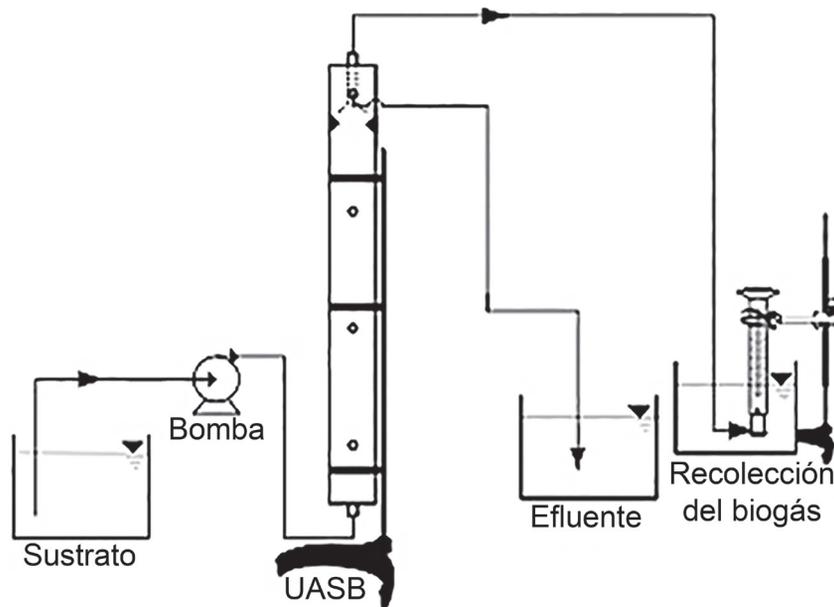


Figura 1. Representación esquemática del equipo empleado para el estudio de operación del reactor UASB productor de hidrógeno.

El reactor UASB empleado contaba con un volumen de trabajo de 2,93 L (70,0 cm de altura efectiva, 7,3 cm de diámetro interno, 3,18 mm de espesor), con tres puntos de muestreo a lo largo (a los 10 cm, 30 cm y 50 cm a partir de su base), confeccionados con mangueras que se hicieron llegar hasta el centro del reactor para así tomar muestras del seno del líquido. En la parte superior se instaló la salida para el biogás, donde por medio de un embudo invertido se logró captar el biogás generado y al mismo tiempo se evitó el arrastre de los lodos anaerobios con el efluente. Detalles del diseño del reactor pueden ser consultados en González (2012).

Resultados experimentales y discusión

Durante la puesta en marcha del reactor UASB para la producción de hidrógeno se trató de mantener el pH de salida en valores cercanos a 5,5, ya que dentro de este ámbito las reacciones enzimáticas que ocurren dentro de las células son óptimas, propiciando el crecimiento de las bacterias productoras de hidrógeno; además, a valores de pH inferiores a 6,0 se dificulta en gran medida el crecimiento de las bacterias metanogénicas. Asimismo, el proceso de fermentación se procuró realizar a temperaturas cercanas a 37 °C, ya que este valor se encuentra dentro del ámbito óptimo de actividad biológica,

afectando de manera directa las tasas de las reacciones bioquímicas. La figura 2 muestra un gráfico con los valores de pH registrados durante los 45 días de operación, así como una termografía del reactor en operación. El pH en el sistema va decreciendo conforme se lleva a cabo la fermentación. Este fenómeno se asocia a la generación de ácidos grasos volátiles por parte de las bacterias acidogénicas, que se acumulan en el volumen de reacción por la falta de bacterias metanogénicas que son las encargadas de metabolizarlos; debido a esto el pH de salida es menor que el de entrada. Por su parte, en la imagen térmica se aprecia como el volumen de reacción se logró mantener entre 32 °C y 42 °C gracias al uso de la cinta térmica (color rojo con blanco alrededor del reactor), favoreciendo de este modo el proceso de fermentación anaerobia de las vinazas.

En la figura 3 se muestran las variaciones diarias en la generación de biogás y de hidrógeno producidas durante la operación del reactor UASB en función del tiempo de retención hidráulica (TRH) empleado. Se puede apreciar que a un TRH de 12 horas la producción de biogás se mantuvo entre 10,0 y 40,0 mL/h, mientras que la cantidad de hidrógeno molecular disminuyó drásticamente luego del día 10 de operación, obteniéndose valores de hasta 0,5

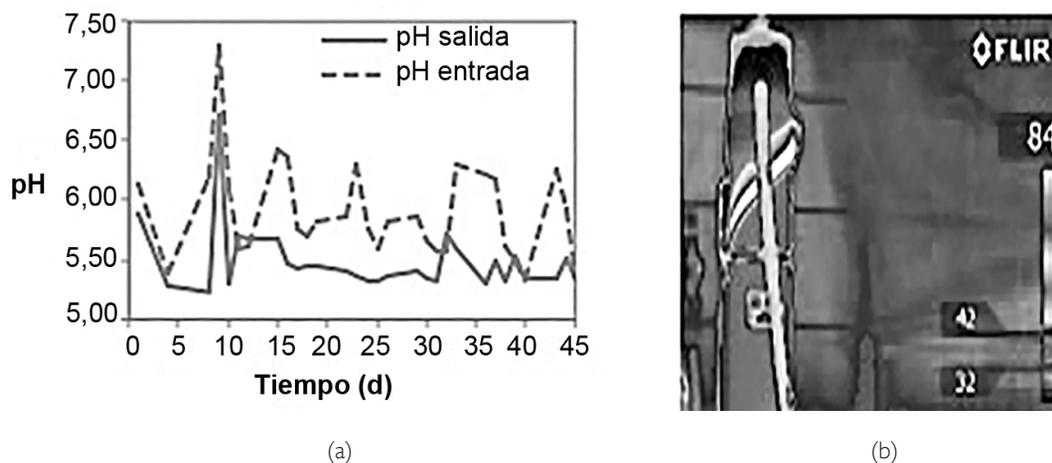


Figura 2. Comportamiento del pH (a) y de la temperatura en °C (b) durante la fermentación anaerobia en el reactor UASB.

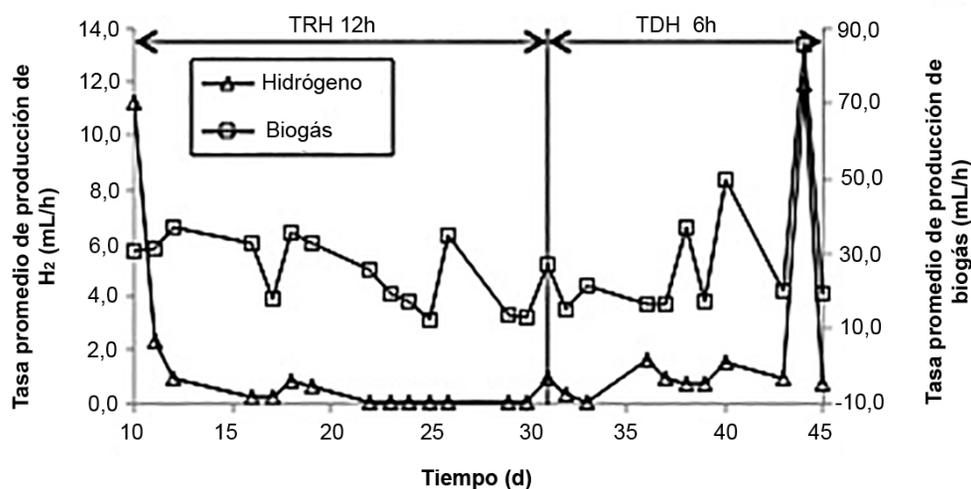


Figura 3. Tasa promedio de producción de biogás y de hidrógeno molecular respecto al tiempo durante la operación del reactor UASB. Los volúmenes de los gases están reportados a TPN.

mL/h. En este periodo se obtuvo un máximo de producción de 11,3 mL/h de H₂. Al disminuir el TRH a 6 h, se observa un aumento tanto en la cantidad de biogás como en la de hidrógeno producido (principalmente en la de H₂), lo cual hace creer que este tiempo de retención menor brinda mejores condiciones para la producción de hidrógeno por fermentación anaerobia, ya que a TRH mayores se puede presentar un lavado ineficiente de biomasa no activa, afectando negativamente la producción de hidrógeno. De igual forma, los flujos bajos no brindan al sistema agitación suficiente para asegurar un contacto adecuado entre los lodos y el sustrato

en todo el volumen de reacción. En el cuadro I se muestra una comparación de los valores máximo y promedio entre algunas variables implicadas en la producción de hidrógeno, así como la carga orgánica aproximada tratada en cada TRH (sin considerar el valor pico correspondiente al día 10 de operación). La disminución súbita en la producción de hidrógeno que se aprecia en la figura 3 luego del día 10 de operación se puede atribuir a un cambio en la ruta metabólica de las bacterias involucradas en la fermentación. Buitrón y Carvajal (2010) observaron el mismo comportamiento al producir hidrógeno

Cuadro 1. Producción de hidrógeno máxima y promedio a diferentes tiempos de retención hidráulica.

TRH (h)	Carga orgánica (gDQO/d/ $L_{reacción}$)	H_2 , mL/h (mmol/h)		mL H_2 /h/ $L_{reacción}$ (mmol H_2 /h/ $L_{reacción}$)		mL H_2 /g DQO (mmol H_2 /g DQO)	
		Máximo	Promedio	Máximo	Promedio	Máximo	Promedio
12	40,0	2,31 (0,103)	0,439 (0,0196)	0,789 (0,0352)	0,164 (0,00669)	1,12 (0,0502)	0,418 (0,0186)
6	80,0	12,0 (0,534)	1,88 (0,0841)	13,4 (0,182)	1,68 (0,0287)	8,38 (0,374)	1,78 (0,0798)

en un reactor anaerobio SBR (*Sequencing Batch Reactor*), por medio de la fermentación de vinazas provenientes de la manufactura de tequila. En ese caso, operando a 35 °C y un TRH de 12 h (condiciones bajo las que obtuvieron los mejores resultados), el porcentaje de H_2 bajó de 60% a 20% y el de CO_2 aumentó de 40% a 80% en un período de 50 horas. Asimismo, a esta temperatura (35 °C), los ácidos grasos volátiles fueron el producto principal. En este sentido, en futuras investigaciones sería conveniente realizar un análisis al caldo de fermentación para así conocer con certeza los metabolitos generados por los microorganismos.

Un punto adicional importante de mencionar es que en ninguno de los análisis realizados a las muestras de biogás producido se detectó la presencia de metano. Este resultado demuestra la efectividad del pretratamiento térmico empleado para inhibir las bacterias metanogénicas en los lodos de inoculación.

En la figura 4 se muestran los porcentajes de remoción de la Demanda Química de Oxígeno (DQO) durante la operación del reactor UASB a tiempos de retención hidráulica de 12 y 6 h. Tal como se aprecia, la máxima remoción que se alcanzó a un TRH de 12 h fue de 31%, mientras que a un TRH de 6 h se logró un máximo de 42%; sin embargo, el comportamiento general de los datos en ambos casos es similar; con un promedio cercano al 20% de remoción. Como en este sistema se inhibió la etapa metanogénica de la fermentación, es de esperar que una parte de la carga orgánica (carbohidratos) de la vinaza solo sufra una transformación a compuestos de estructura molecular menos compleja (ácidos orgánicos), mientras que la otra parte sí se remueve del caldo de fermentación por la pérdida de carbono e hidrógeno en forma de dióxido de carbono, sulfuro de hidrógeno e hidrógeno molecular.

En la figura 5 se muestra el lecho de lodos formado en el fondo del reactor UASB a diferentes tiempos

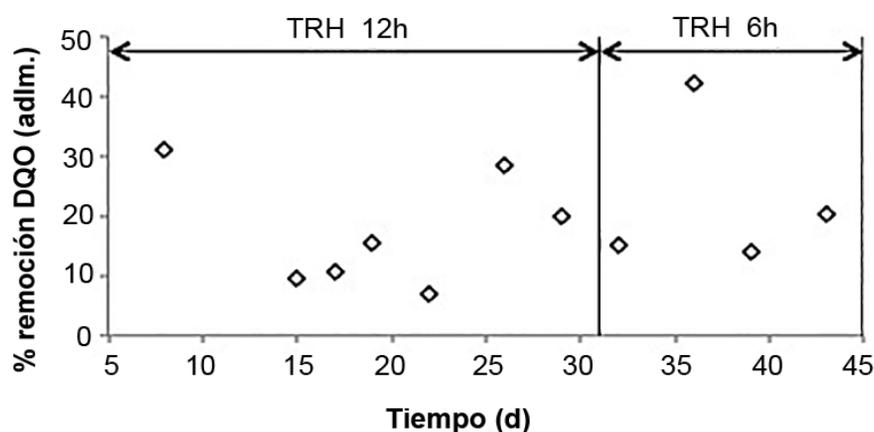


Figura 4. Porcentaje de remoción de la carga orgánica del sustrato respecto al tiempo en el reactor UASB a diferentes TRH.

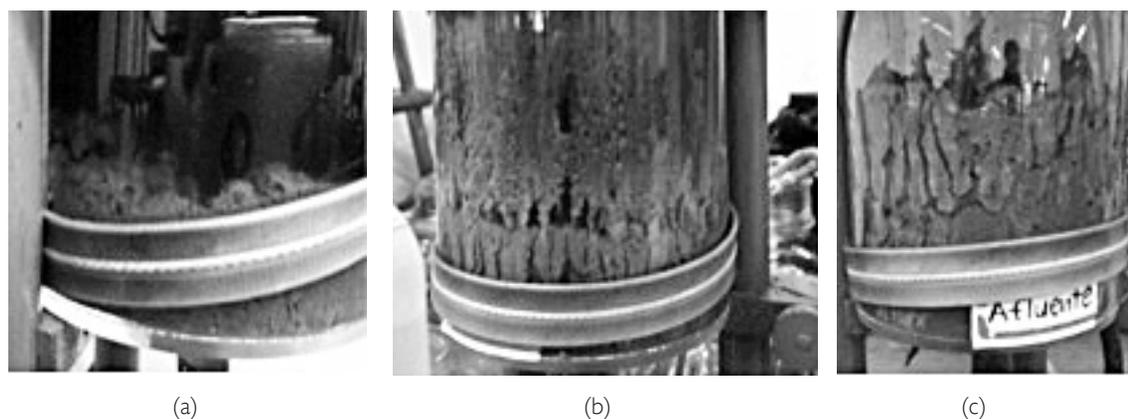


Figura 5. Cantidad de lodos en el fondo del reactor UASB en el (a) día dos, (b) día dieciocho, (c) día cuarenta y cuatro de operación.

de operación. Como se puede ver, la cantidad de biomasa fue aumentando lentamente, obteniéndose una altura de cama de lodos de aproximadamente 6 cm luego de 45 días de operación. El lento crecimiento de la biomasa pudo deberse al lavado inapropiado de biomasa no activa al utilizarse un TRH de 12 h, puesto que flujos tan bajos (del orden de 4,07 mL/min) no brindan una agitación apropiada al sistema. Por lo tanto, a pesar de que con el procedimiento de formación acelerada de gránulos productores de hidrógeno en el reactor CSTR se lograron obtener gránulos de buen tamaño (González y Durán, 2013), su crecimiento en el reactor UASB fue muy lento.

Al finalizar los 45 días de operación, se midió el tamaño de los gránulos productores de hidrógeno en las diferentes zonas de muestreo del reactor. Los resultados se muestran en el cuadro 2. Al analizar estos datos se aprecia que el tamaño de los gránulos productores de hidrógeno disminuye conforme aumenta la altura del reactor (desde el fondo hasta la toma 3), lo cual es de esperar ya que los gránulos más grandes se sedimentan debido a su peso, mientras que los más pequeños se mantienen en suspensión debido al flujo ascendente del sustrato, distribuyéndose a lo alto del reactor con base en su tamaño (masa). En el cuadro 3 se presenta una comparación entre el diámetro promedio de los gránulos obtenidos en el presente estudio con los reportados en estudios similares de producción de hidrógeno por fermentación anaerobia. Se puede ver que los gránulos logrados son comparables con los de las otras investigaciones, superando

Cuadro 2. Tamaño de los gránulos productores de hidrógeno en diferentes zonas del reactor UASB.

Dimensiones	Mínimo	Máximo	Promedio
Fondo			
Largo (µm)	63,4	2435,0	497,6
Ancho (µm)	46,2	2486,3	488,2
Toma 1			
Largo (µm)	91,5	415,6	225,3
Ancho (µm)	136,9	465,2	248,3
Toma 2			
Largo (µm)	81,0	233,6	125,2
Ancho (µm)	86,5	185,7	121,4
Toma 3			
Largo (µm)	53,0	142,6	89,3
Ancho (µm)	43,7	119,8	80,0

Cuadro 3. Comparación del tamaño promedio de gránulos formadores de hidrógeno obtenidos en varios estudios empleando un reactor UASB.

Diámetro promedio (mm)	Sustrato	Referencia
0,49	Vinazas de melazas de caña de azúcar	Este estudio
2,1	Aguas residuales de la manufactura del café	(Jung et al., 2010)
1,0 - 3,5	Sacarosa (agua residual sintética)	(Mu y Yu, 2006)
0,43	Sacarosa (agua residual sintética)	(Chang y Lin, 2004)
1,6	Sacarosa (agua residual sintética)	(Fang, Liu y Zang, 2002)

incluso el tamaño de los gránulos obtenidos en el experimento de Chang y Lin (2004), en el cual se utilizó agua sintética como sustrato.

Conclusiones

Los resultados obtenidos en este estudio demuestran que la fermentación anaerobia en un reactor UASB abre la posibilidad de utilizar las vinazas para producir hidrógeno molecular.

Bajo las condiciones utilizadas en este estudio, se observó que las cantidades producidas de biogás y de hidrógeno, además de la capacidad de reducción de DQO del reactor UASB, dependieron del tiempo de retención hidráulica (TRH) del fluido en tratamiento; a menor TRH, la producción de hidrógeno y la remoción de DQO aumentaron.

A pesar de que se logró obtener gránulos productores de hidrógeno de buen tamaño en el proceso de formación del reactor CSTR, su crecimiento una vez transferidos al reactor UASB fue lento. Se cree que el fenómeno pudo deberse a los bajos flujos (altos TRH) utilizados.

El pH de operación se logró controlar efectivamente por medio de la adición de 10 g de NaHCO_3 por litro de vinaza cruda empleada, manteniéndose en valores cercanos a 5,5. Por otro lado, el tratamiento térmico que se realizó a los lodos anaerobios fue efectivo en lo que respecta a la inhibición del crecimiento de las bacterias metanogénicas, por lo que se recomienda utilizar este procedimiento en futuras investigaciones y aplicaciones.

Recomendaciones

El presente estudio es parte de una primera investigación que se realiza en Costa Rica sobre la utilización de vinazas nacionales para la producción de biohidrógeno mediante fermentación anaeróbica, utilizando lodos con cepas mixtas como inóculo. Con base en los resultados favorables obtenidos en este estudio, se recomienda continuar investigando sobre el aprovechamiento de las vinazas como fuente para producir hidrógeno, el cual posteriormente puede ser utilizado en la generación de energía eléctrica, por ejemplo. Además, con este proceso se le daría un tratamiento adecuado a estas aguas residuales.

Agradecimiento

Los autores desean agradecer la colaboración brindada para realizar este proyecto al Ingenio Taboga, al Centro de Electroquímica y Energía Química y al Laboratorio de Productos Forestales de la Universidad de Costa Rica. Además, al Ing. Rodolfo Wattson Gómez, por sus valiosos comentarios.

Bibliografía

- Buitrón, G. & Carvajal, C. (2009). Producción de hidrógeno a partir de aguas residuales. *Revista Digital Universitaria* 10, 2-9. Recuperado de <http://www.revista.unam.mx/vol.10/num8/art50/int50.htm>
- Buitrón, G. & Carvajal, C. (2010). Biohydrogen production from Tequila vinasses in an anaerobic sequencing batch reactor: Effect of initial substrate concentration, temperature and hydraulic retention time. *Bioresource Technology*, 101, 9071-9077. doi: 10.1016/j.biortech.2010.06.127
- Castelló, E., García y Santosa, C., Iglesias, T., Paolino, G., Wenzel, J., Borzacconi, L. & Etchebeher, C. (2009). Feasibility of biohydrogen production from cheese whey using a UASB reactor: Links between microbial community and reactor performance. *International Journal of Hydrogen Energy* 34, 5674-5682. doi: 10.1016/j.ijhydene.2009.05.060
- Chang, F. & Lin, C. (2004). Biohydrogen production using an up-flow anaerobic sludge blanket reactor. *International Journal of Hydrogen Energy*, 29, 33-39. doi: 10.1016/S0360-3199(03)00082-X
- Fang, H., Liu, H. & Zhang, T. (2002). Characterization of a hydrogen-producing granular sludge. *Biotechnology and Bioengineering*, 78(1), 44-52. doi: 10.1002/bit.10174
- González, C. (2012). *Producción de hidrógeno a partir del tratamiento anaerobio de vinazas utilizando un reactor UASB*. (Tesis de licenciatura en Ingeniería Química, inédita). San José, Universidad de Costa Rica.
- González, C. & Durán, J. E. (2013). Formación acelerada de gránulos productores de hidrógeno para el arranque de reactores UASB utilizando vinazas. *Tecnología en Marcha*, 27(1), 38-47. Recuperado de http://www.tec-digital.itcr.ac.cr/servicios/ojs/index.php/tec_marcha/article/view/1694
- Jung, K.W., Kim, D. H. & Shin, H. S. (2010). Continuous fermentative hydrogen production from coffee drink manufacturing wastewater by applying UASB reactor. *International Journal of Hydrogen Energy*, 35(24), 13370-13378. doi: 10.1016/j.ijhydene.2009.11.120
- Jung, K., Kim, D. & Shin, H. (2011). A simple method to reduce the start-up period in a H_2 -producing UASB reactor. *International Journal of Hydrogen Energy*, 36(2), 1466-1473. doi: 10.1016/j.ijhydene.2010.09.095

- Manish, S. & Banerjee, R. (2008). Comparison of biohydrogen production processes. *International Journal of Hydrogen Energy*, 33(1), 279-286. doi: 10.1016/j.ijhydene.2007.07.026
- Mu, Y. & Yu, H. (agosto, 2006). Biological hydrogen production in a UASB reactor with granules. I: Physicochemical characteristics of hydrogen-producing granules. *Biotechnology and Bioengineering*, 94(5), 980-987. Recuperado de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16615143>
- Wang, J. & Wan, W. (2009). Factors influencing fermentative hydrogen production: A review. *International Journal of Hydrogen Energy*, 34(2), 799-811. doi: 10.1016/j.ijhydene.2008.11.015
- Woo, J. H. & Song, Y. C. (marzo, 2010). Influence of temperature and duration of heat treatment used for anaerobic seed sludge on biohydrogen fermentation. *Journal of Civil Engineering*, 14(2), 141-147. doi: 10.1007/s12205-010-0141-5
- Yang, H., Shao, P., Lu, T., Shen, J., Wang, D., Xu, Z. & Yuan, Z. (2006). Continuous bio-hydrogen production from citric acid wastewater via facultative anaerobic bacteria. *International Journal of Hydrogen Energy*, 31(10), 1306-1313. doi: 10.1016/j.ijhydene.2005.11.018
- Yu, H., Zhua, Z., Hub, W. & Zhang, H. (2002). Hydrogen production from rice winery wastewater in an upflow anaerobic reactor by using mixed anaerobic cultures. *International Journal of Hydrogen Energy*, 27(11-12), 1359-1365. doi: 10.1016/S0360-3199(02)00073-3