

**EFFECTO DEL AMONIO SOBRE EL PROCESO DE DIGESTIÓN ANAEROBIA
DE LA GALLINAZA DE JAULA**

JOHN DIEGO URIBE RINCÓN

MAIRA ALEJANDRA VEGA ORTIZ

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER – UIS

FACULTAD DE INGENIERÍAS FISCOQUÍMICAS

ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA

BUCARAMANGA

2015

**EFFECTO DEL AMONIO SOBRE EL PROCESO DE DIGESTIÓN ANAEROBIA
DE LA GALLINAZA DE JAULA**

JOHN DIEGO URIBE RINCÓN

MAIRA ALEJANDRA VEGA ORTIZ

**Trabajo de Grado presentado para optar al título de
Ingeniero Químico**

DIRECTOR

PhD. HUMBERTO ESCALANTE HERNÁNDEZ

PhD. LILIANA CASTRO MOLANO

MS.c. (c) JOSÉ DANIEL MARÍN BATISTA

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER – UIS

FACULTAD DE INGENIERÍAS FISICOQUÍMICAS

ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA

BUCARAMANGA

2015

AGRADECIMIENTOS

Al Doctor Humberto Escalante y la Doctora Liliana Castro por darnos la confianza y permitimos hacer parte de un gran grupo de trabajo.

A José Daniel Marín por cada una de sus enseñanzas y apoyo constante en la consecución de este logro.

A Luis Lambis por su colaboración y aportes durante la estancia en el laboratorio.

A cada uno de los integrantes del grupo de digestión anaerobia, un grupo muy unido que nos acompañó durante este proceso con sus locuras, amistad y conocimiento.

DEDICATORIA

Al guía de mis días y de mi vida: DIOS por ser mi apoyo y fortaleza en todo momento.

A los motores más importantes de mi vida: mi padre Emiro Uribe y mi madre María Victoria Rincón, dos personas que me han apoyado en cada etapa y he admirado toda mi vida, me han enseñado que con esfuerzo y dedicación todo es posible, a ellos les debo todo lo que soy.

A dos personas que son incondicionales: mis hermanos Jhon Freddy Uribe y Jennyfer Uribe, los quiero mucho

A la dueña de mi corazón: Maira Alejandra Vega, Novia y compañera de trabajo, un ser lleno de luz que me da felicidad y a la cual amo con mi vida; es un sueño estar a tu lado.

A mis abuelos, tíos, primos y amigos: personas importantes en mi vida.

Diego Uribe

DEDICATORIA

Somos los autores de nuestras vidas, cada derrota nos hace más fuertes, cada triunfo más seguros. Hoy que culmino este gran sueño, más orgullosa de mi misma y de lo que puedo lograr. Agradecida infinitamente con DIOS, por estar siempre presente en mis días.

A mi padre Oscar, mi mayor orgullo y patrocinador incansable de mis sueños. A mi madre Zuly Yaneth, el motor de mi vida. Promotores de mis sueños y mi inspiración. Para ellos mi amor invariable y total admiración.

A mis hermanos, Abner, Mauricio, Tatiana y Sergio. Que más que hermanos son mis mejores amigos. Por su cariño, porque juntos todo es posible.

A John Diego, el amor de mi vida, por todo y por tanto. Por su amor incondicional, su apoyo y su confianza.

A todos ellos, a quienes debo todos y cada uno de mis triunfos. A mis abuelos, tíos y a quienes estuvieron a mi lado durante este bonito caminar. Gracias infinitas

Maira Alejandra

TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN-----	17
1. BIOQUÍMICA DE LA DIGESTIÓN ANAEROBIA -----	20
1.1 MECANISMO DE INHIBICIÓN POR AMONIO -----	22
1.2 MODELAMIENTO DE LA DA -----	24
1.3 VARIABLES DE OPERACIÓN EN LA DA -----	26
1.3.1 Temperatura -----	26
1.3.2 pH -----	26
1.3.3 Velocidad de carga orgánica -----	27
1.3.5 Reactores continuos de tanque agitado (CSTR) -----	28
2. METODOLOGÍA -----	29
2.1 CARACTERIZACIÓN DEL INÓCULO Y EL SUSTRATO -----	29
2.1.1 Inóculo -----	29
2.1.2 Sustrato -----	29
2.2 EVALUACIÓN DE DIFERENTES CARGAS ORGÁNICAS MEDIANTE ENSAYOS DE BIOMETANIZACIÓN -----	30
2.3 EVALUACIÓN DE LA CINÉTICA DEL PROCESO DE DIGESTION ANAEROBIA DE GALLINAZA DE JAULA -----	31
2.4 EVALUACIÓN DE LA VELOCIDAD DE CARGA PARA EL CSTR -----	32
3. RESULTADOS Y ANÁLISIS -----	34
3.1 EVALUACIÓN DE DIFERENTES CARGAS ORGÁNICAS MEDIANTE ENSAYOS DE BIOMETANIZACIÓN -----	34
3.3 EVALUACIÓN DE LA VELOCIDAD DE CARGA PARA EL CSTR -----	37
3.3.2 Producción de biogás, NTA Y AGV en la DA de GJ -----	38

3.3.3 Estabilidad del reactor	41
4. CONCLUSIONES	43
BIBLIOGRAFÍA	44

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Etapas de biodegradación de la Digestión Anaerobia.....	21
Figura 2. Mecanismo de inhibición del amoniaco	23
Figura 3. Biodigestor CSTR (operación en continuo)	32
Figura 4. Efecto de la carga orgánica sobre el PBM y concentración final de NTA	35
Figura 5. Áreas de incertidumbre de los parámetros cinéticos y potencial de biometanización a cargas orgánicas	36
Figura 6. Variación del consumo de los ART	38
Figura 7. Monitoreo de las variables de control: a) Ácidos Grasos Volátiles, b) Concentración de NTA y c) Producción de biogás	40
Figura 8. Evaluación de la estabilidad del digestor: a) Capacidad buffer, b) pH .	41

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Caracterización fisicoquímica de la GJ -----	30
Tabla 2. Variables a monitorear, periodicidad de la medición y método analítico -	33

LISTA DE ANEXOS

ANEXO A. Protocolo para la recolección de muestras de gallinaza de jaula. -----	52
ANEXO B. Caracterización fisicoquímica de la gallinaza de jaula -----	53
ANEXO C. Método de desplazamiento alcalino -----	54
ANEXO D. Determinación de la concentración de azúcares reductores totales (ART) -----	56
ANEXO E. Determinación de la concentración de ácidos grasos volátiles (AGV) y alcalinidad total (AT) -----	58
ANEXO F. Determinación de los sólidos totales fijos (ST) y volátiles (SV) en muestras sólidas y semisólidas -----	60
ANEXO G. Determinación del N-Amoniacal -----	62
ANEXO H. Plano del biodigestor (todas las unidades en mm) -----	64
ANEXO I. Registro fotográfico -----	65

NOMENCLATURA

AGV: ácidos grasos volátiles (mg/L)
ART: azúcares reductores totales (mg/mL)
AT: Alcalinidad Total (mg CaCO₃/L)
CO: Carga Orgánica
DA: Digestión Anaerobia
DNS: Dinitrosalicílico
DQO: Demanda Química de Oxígeno
EB: Estiércol Bovino
GJ: Gallinaza de jaula
K_{dis}: Constante de Desintegración
NTA: Nitrógeno total amoniacal
NH₃: Amoniaco libre
NH₄⁺: Ion de amonio
PBM: Potencial de biometanización
RIS: Relación inóculo-sustrato
ST: Sólidos totales
SV: Sólidos volátiles
TRH: Tiempo de Retención Hidráulica
VCO: Velocidad de Carga Orgánica
VNTP: Volumen a condiciones estándar

RESUMEN

TÍTULO: EFECTO DEL AMONIO SOBRE EL PROCESO DE DIGESTIÓN ANAEROBIA DE LA GALLINAZA DE JAULA *

AUTORES: JOHN DIEGO URIBE RINCÓN, MAIRA ALEJANDRA VEGA ORTIZ**

PALABRAS CLAVE: Gallinaza de jaula, digestión anaerobia, inhibición por amonio, modo batch, modo continuo.

DESCRIPCIÓN: La digestión anaerobia (DA) es una estrategia atractiva para recuperar energía en forma de biogás, producir fertilizantes orgánicos, y controlar las emisiones de gases de efecto invernadero a partir de residuos orgánicos, uno de estos residuos es la gallinaza de jaula (GJ), siendo el más representativo de la avicultura. En este estudio se evaluó el efecto de la concentración de amonio de la DA en la GJ. Inicialmente se operó en modo batch a diferentes cargas orgánicas (CO), realizando ensayos de biometanización hasta encontrar la máxima producción de metano sin que se inhibiera el sistema, además se evaluó la velocidad o constante de desintegración (K_{dis}) por medio de la cinética de monod. Posteriormente se operó en modo continuo para determinar el punto en el que se desestabiliza e inhibe el proceso, a partir de esa CO.

Variables como AGV, AT, pH, ART y NTA, se monitorearon durante el experimento a temperatura ambiente. Los resultados arrojaron que la mejor CO fue la de 17 g SV/L con un rendimiento de 0,31 m³/kg SV, debido a que en este punto se obtuvo la mayor producción de biogás. Con esta CO se procedió a alimentar el digester en modo continuo, determinando que la inhibición por amonio inicia el día 75, cuando el sistema se alimenta con la segunda velocidad de carga orgánica (VCO). Finalmente se pudo comprobar que la DA de la GJ soporta altas CO, pero después del punto máximo la inhibición por altas concentraciones de amonio es inminente.

* Proyecto de Grado presentado para optar al título de Ingeniero Químico.

** Facultad de Ingenierías Físico-Química. Escuela de Ingeniería Química. Directores: Humberto Escalante Ing. Químico PhD. Liliana Castro Molano Ing. Química, PhD. Director José Daniel Marín Batista Ing. Químico, MS.c. (c).

ABSTRACT

TITLE: Effect of ammonia concentration on anaerobic digestion process of chicken manure*

AUTHORS: JOHN DIEGO URIBE RINCÓN, MAIRA ALEJANDRA VEGA ORTIZ**

KEY WORDS: Chicken manure, anaerobic digestion, Inhibition by ammonium, batch mode, continuously.

DESCRIPTION: Anaerobic digestion (AD) is an attractive strategy for energy recovery in the form of biogas, producing organic fertilizers, and control emissions of greenhouse gases from organic waste, one of this waste is chicken manure (CM). It is the most representative of the poultry. In this study the effect of ammonia concentration in the DA process in the GJ was evaluated. Initially it was operated in batch mode at different organic load (OL), by assaying biomethanation to find the maximum methane production without the system is inhibited, also the speed or decay constant (K_{dis}) was evaluated through the kinetics of Monod. Subsequently it operated in continuous mode to determine the point at which it becomes unstable and inhibits the process from the OL.

Variables as VFA, AT, pH, ART and TAN, are monitored during the experiment at ambient temperature. The results showed that the best OL was the 17 g VS / L with a yield of 0.31 m³ CH₄ / kg VS, because at this point the largest methane production was obtained. This OL proceeded to feed the digester in continuous mode, determining that the inhibition by ammonium starts the day 75, when the system is powered by the second organic loading rate (OLR). Finally it was found that the AD supports the high OL in the CM, but after the peak inhibition by high concentrations of ammonium is imminent.

* Thesis presented to obtain the title of Chemical Engineer.

** Faculty of Engineering Physic-chemical. School of Chemical Engineering. Directors: Humberto Escalante Chemical Engineer Ph.D., Liliana Castro Chemical Engineer Ph.D., Jose Daniel Marin Batista Chemical Engineer MS.c. (c).

INTRODUCCIÓN

La digestión anaerobia (DA) se ha convertido en una estrategia atractiva para la producción de energías renovables y disposición de residuos orgánicos (Hagen *et al.*, 2014). Gran cantidad de residuos orgánicos empleados como sustratos en la DA, provienen de la actividad industrial agrícola, pecuaria, alimentaria, aguas residuales industriales y municipales (Pagés-Díaz *et al.*, 2011). La gallinaza de jaula (GJ), es la biomasa residual más representativa de la avicultura colombiana, con una producción anual de 3'436.204 t (Escalante *et al.*, 2010). La GJ posee un potencial teórico de biometanización entre 0,37 – 0,47 m³ CH₄/kg de sólidos volátiles (SV) (Li *et al.*, 2014). Sin embargo, a nivel experimental es limitado alcanzar los valores teóricos debido a la generación de altas concentraciones de amonio que inhiben la actividad microbiana y disminuyen la producción de metano.

La inhibición es consecuencia de la composición fisicoquímica del sustrato la cual depende de la dieta de las aves. La gallinaza está compuesta principalmente por proteínas que al ser biodegradadas anaerobiamente producen amonio. Este compuesto se difunde en las células de las arqueas metanogénicas y altera la homeostasis celular (Niu *et al.*, 2013). Al disminuir la población metanogénica se produce acumulación de ácidos grasos, conduciendo a un equilibrio dinámico entre AGV y amonio, conocido como un estado pseudo-estacionario inhibido, donde el proceso opera en estado estable pero con baja producción de metano (Lu *et al.*, 2013).

Dado que la GJ es un sustrato heterogéneo, amplios rangos de concentración de nitrógeno total amoniacal (NTA) han sido reportados como concentraciones inhibitorias. Generalmente, la inhibición ocurre en un rango de concentración entre 2.000 y 4.000 mg/L. Wang *et al.* (2014) obtuvo valores de concentración de NTA entre 565–4.200 mg/L, notando que cuando las concentraciones eran superiores a

2.700 mg/L, la producción de metano disminuyó notablemente desde 0,35 m³ CH₄/kg SV hasta 0,05 m³ CH₄ /kg SV. Por otra parte, Niu *et al.* (2014) operaron un biodigestor CSTR en condiciones termófilas (55°C) y reportaron un rango de NTA entre 2.000–7.000 mg/L. En este estudio, se observó que a partir de 4.000 mg/L de NTA, la producción de metano disminuyó desde su máximo valor de 0,35 m³ CH₄/kg SV hasta 0,29 m³ CH₄/kg SV, con un rango de pH estable entre 8,1-8,3. Incluso a una baja concentración de amonio de 1.700 mg/L, se ha presentado inhibición (Niu *et al.*, 2014). Liu *et al.* (2012), obtuvieron rangos de concentración de NTA entre 200-1.300 mg/L, reportando inhibición del sistema al alcanzar concentraciones mayores a 1.000 mg/L. Se notó que la producción de metano descendió, mientras que el pH aumentaba de 7,5 a 8,2 dando lugar a un aumento de la toxicidad.

Por lo anterior, se requiere evaluar las variaciones de la concentración de amonio durante el proceso anaerobio de la GJ. Al controlar la concentración de amonio se garantiza el buen desempeño del biodigestor, permitiendo alcanzar altas producciones de metano. Una alternativa para controlar la inhibición del proceso es a través de la carga orgánica (CO) o concentración de sustrato en el biodigestor. La CO se considera un parámetro importante en la digestión anaerobia dado que condiciona la producción de biogás y el desempeño del proceso (Wang *et al.*, 2015). Si la CO es muy baja, existe el riesgo de baja actividad metabólica microbiana que ocasiona bajas producciones de biogás (Tanimu *et al.*, 2014). La CO y el volumen de biogás generado mantienen una relación directa de proporcionalidad (Raposo *et al.*, 2006). Altas CO generan altas producciones de biogás pero pueden conducir a una sobresaturación en la cual los compuestos intermedios ocasionan la inhibición del proceso (Zhang *et al.*, 2014).

No obstante, para alcanzar altas producciones de biogás, el proceso debe operar a concentraciones de sustrato que garanticen la máxima producción de biogás sin alcanzar concentraciones de saturación donde se inhiba el proceso. Alcanzar dichas condiciones de operación, permite la factibilidad de operar plantas de

biogás a partir de GJ. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la concentración de amonio sobre el proceso de digestión anaerobia de gallinaza de jaula a escala laboratorio. El trabajo comprende un estudio operacional de un CSTR en el cual se pudo evaluar el efecto del amonio sobre la producción de biogás a partir de diferentes concentraciones de sustrato.

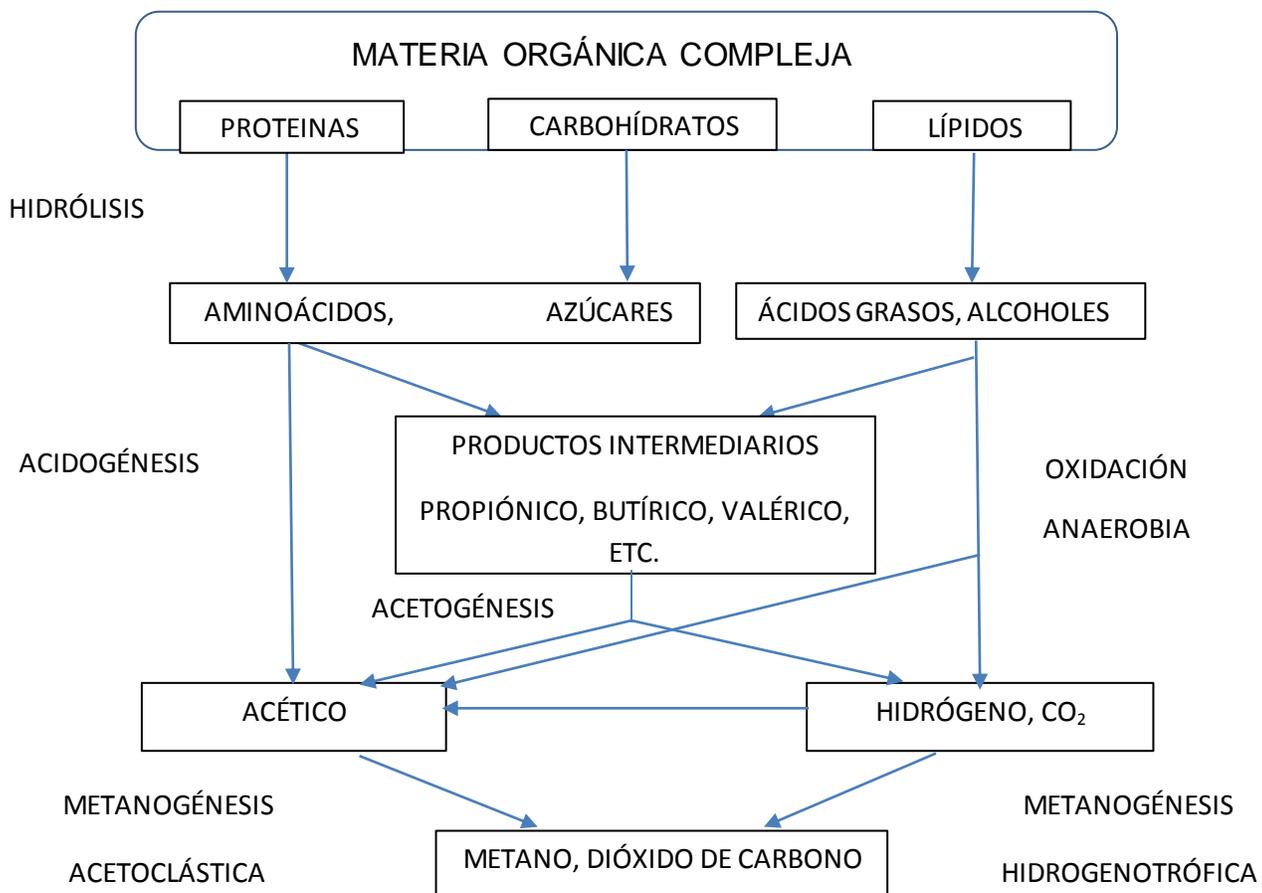
1. BIOQUÍMICA DE LA DIGESTIÓN ANAEROBIA

La DA es un proceso sinérgico, en el cual consorcios microbianos degradan la materia orgánica en ausencia de oxígeno y la convierten en una mezcla de gases rico en metano (Rajagopal *et al.*, 2013). La DA permite valorizar energéticamente los residuos y disminuir su impacto ambiental al obtener energía en forma de biogás y permitir la recirculación de nutrientes mediante el uso del efluente, a un bajo costo operacional y con balance de energía positivo (Ward *et al.*, 2008). El proceso de biodegradación incluye principalmente cuatro etapas: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y la metanogénesis (Jain *et al.*, 2015).

La bioquímica de la DA se encuentra esquematizada en la figura 1. La hidrólisis es la etapa inicial para la degradación de sustratos orgánicos complejos a compuestos solubles o monómeros, es llevada a cabo por la acción de enzimas extracelulares producidas por los microorganismos hidrolíticos. La siguiente etapa es la acidogénesis, en la cual las moléculas orgánicas solubles son fermentadas en compuestos que pueden ser utilizados directamente por las bacterias metanogénicas y compuestos orgánicos que son oxidados por bacterias acetogénicas (Martí, 2006).

En la tercera etapa, las bacterias acetogénicas convierten los ácidos orgánicos a acetato, dióxido de carbono y/o hidrógeno, que corresponden a los metabolitos directos para la producción de metano. Finalmente, los microorganismos metanogénicos completan el proceso de DA mediante la formación de metano, a partir de sustratos monocarbonados como acetato, hidrógeno y dióxido de carbono (Martí, 2006; Jain *et al.*, 2015).

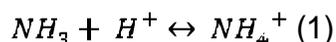
Figura 1. Etapas de biodegradación de la Digestión Anaerobia



Fuente: Martí., 2006.

1.1 MECANISMO DE INHIBICIÓN POR AMONIO

Las proteínas constituyen una parte importante del sustrato al representar una fuente directa de nitrógeno (Martí, 2006). En la primera etapa de la DA, las proteínas son hidrolizadas a aminoácidos por la acción de enzimas proteolíticas llamadas proteasas. La formación de los aminoácidos implica principalmente la desaminación oxidativa en cetoácidos, seguido por una descarboxilación de los cetoácidos (Demeyer *et al.*, 1979). Consecuentemente, los aminoácidos se convierten en ácidos grasos tales como acetato, propionato, butirato, amonio y amoniaco (Niu *et al.*, 2014).

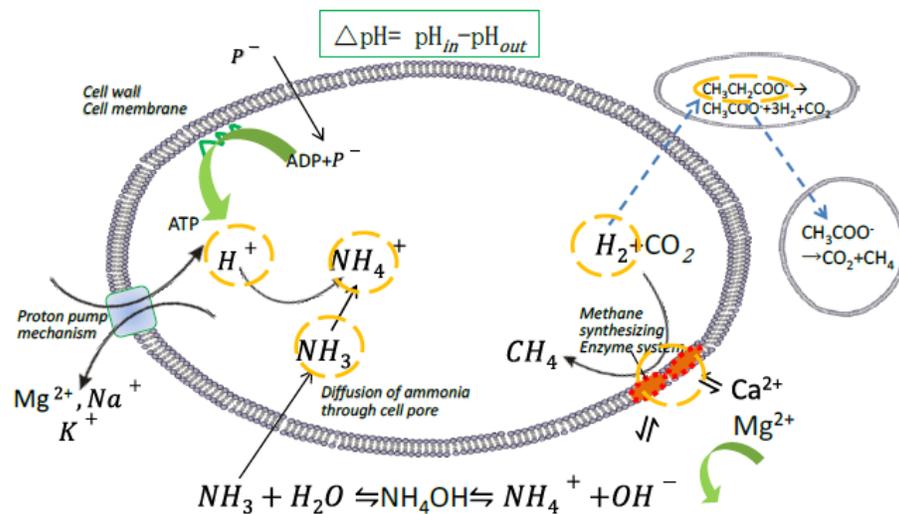


Tanto el amonio como amoniaco se encuentran en equilibrio químico, y la concentración relativa de cada uno depende del pH, tal y como indica la ecuación 1. El efecto inhibitorio del NH_4^+ aumenta a pH alcalinos. Las concentraciones de NH_4^+ no solo dependen del pH, también son dependientes de la concentración de sustrato, la relación C/N y la temperatura de digestión (Martí, 2006).

Concentraciones de NTA entre 50-200 mg/L resultan benéficas para los consorcios microbianos (Niu *et al.*, 2014). El NH_4^+ representa un aporte de nutrientes esenciales para el crecimiento microbiano y formación de capacidad de *buffer* (Li *et al.*, 2013). Bajas concentraciones de amoniaco facilitan el crecimiento microbiano dado que representan una fuente de nitrógeno, mientras que altas concentraciones perturban el desempeño del proceso anaeróbico al disminuir la actividad microbiana (Rajagopal *et al.*, 2013). La inhibición por amoniaco se puede presentar en las distintas fases de la DA. El mecanismo de inhibición se muestra en la figura 2. El NH_3 se difunde a través de la membrana celular, donde es ionizado hasta NH_4^+ como parte del ciclo de generación de ATP en microorganismos estrictamente anaerobios. A diferencia del amoniaco, el NH_4^+ no puede difundirse fácilmente a través de las membranas lipídicas. Las

concentraciones de NH_4^+ intracelular y extracelular dependen de la concentración de NH_3 y el pH local. Por lo tanto, las células cuyo pH intracelular es más bajo que el pH extracelular, tienen una concentración de NH_4^+ intracelular mayor que la de su ambiente. Este desequilibrio de pH inactiva la acción de las enzimas citosólicas que son las encargadas de transformar los azúcares a piruvato, el cual es un sustrato clave para la producción de energía, convirtiendo al NH_4^+ acumulado dentro de las células en una sustancia tóxica (Niu, 2014).

Figura 2. Mecanismo de inhibición del amoniaco



Fuente: Niu, 2014.

Los metanógenos hidrogenotróficos son más tolerantes y favorables para el crecimiento que los metanógenos acetoclásticos. Por otra parte, la GJ tiene una alta concentración de calcio (Ca^{2+}) y magnesio (Mg^{2+}), que puede contrarrestar la inhibición por NTA. Gracias a una concentración de Ca^{2+} y Mg^{2+} , las células activas aseguran suficiente ATP producido y potasio (K^+) transportado, el K^+ es acumulado en el citoplasma de los organismos metanógenos manteniendo el pH intracelular, esto incrementa el requerimiento de energía de mantenimiento causando la inhibición de reacciones enzimáticas. (Niu, 2014; Rajagopal *et al.*, 2013).

1.2 MODELAMIENTO DE LA DA

La cinética del proceso de DA es influenciada por la concentración inicial de sustrato. No obstante, las velocidades de crecimiento microbiano y generación de metabolito último se pueden describir mediante la cinética de *Monod* (Wang *et al.*, 2015).

$$\mu = \mu_{m\acute{a}x} * \frac{S}{K_S + S} \quad (2)$$

La ecuación de *Monod* (2) permite relacionar, la μ : velocidad de aumento de la concentración celular por unidad de tiempo (h^{-1}); $\mu_{m\acute{a}x}$: velocidad máxima de multiplicación que puede alcanzar el microorganismo, en las condiciones en las que está creciendo; S: concentración de sustrato y K_S : constante de utilización del sustrato limitante, la cual representa la afinidad de los organismos hacia el sustrato o la máxima concentración de sustrato tolerable por los microorganismos (Hernández-Peñaranda *et al.*, 2003). Desde el punto de vista de proceso, el significado de la ecuación de *Monod* tiene sentido cuando se hace una relación directa del crecimiento microbiano con el producto metabólico final (ecuación 3), es decir la producción de metano (Wang *et al.*, 2015).

$$PBM_{(S)} = PBM_{m\acute{a}x} * \frac{S}{(S+K_S)} \quad (3)$$

Debido a que la transformación de la materia orgánica particulada sigue una cinética de primer orden, la velocidad de desintegración del sustrato se puede representar por medio de la constante de desintegración (K_{dis}), la cual se calcula a partir de la curva de producción de metano usando la ecuación (4).

$$\beta_t = \beta_{\infty}(1 - e^{-K_{dis}*t}) \quad (4)$$

Dónde: β_t es el rendimiento de la producción de metano ($m^3 CH_4/kg SV$), β_{∞} es el rendimiento máximo de la producción de metano ($m^3 CH_4/kg SV$) durante el

tiempo de la DA, K_{dis} es la constante de desintegración de primer orden ($días^{-1}$), y t es el tiempo de digestión (días).

La K_{dis} permite definir la cinética del proceso. K_{dis} con valores superiores a 0,15 se pueden considerar como concentraciones de sustrato de rápida velocidad de desintegración. Estudios realizados por Li *et al.*, (2013) reportan que la K_{dis} para la GJ es $0,08 \text{ día}^{-1}$, este es un valor bajo comparado con la K_{dis} de estiércol de cerdo de $0,24 \text{ día}^{-1}$. Diferencias en las velocidades de desintegración se deben a diferencias en la composición del sustrato. La velocidad de desintegración también es afectada por la temperatura. A una misma concentración de sustrato el potencial de biometanización del residuo será el mismo sin importar la temperatura de operación. Sin embargo, el valor del potencial de biometanización se alcanzará con mayor rapidez en cuanto sea mayor la temperatura. Lo anterior juega un papel importante a la hora de tomar decisiones durante los estudios operacionales con cargas. Sin embargo, al estandarizar el test de biodegradabilidad anaerobia a temperatura mesofílica, Angelidaki *et al.*, (2009) prescinden de la cinética del proceso como una variable a tener en cuenta en los estudios del potencial de biometanización.

Por otra parte, los compuestos intermedios o tóxicos también afectan la cinética de la DA. Para el caso de la GJ, la cinética depende tanto de la velocidad de deformación del sustrato como de la velocidad de generación del compuesto inhibitorio (Amonio). El modelo de *Haldane* (ecuación 5) permite hacer representaciones del bioproceso, basadas en la ecuación de *Monod* y considerando una cinética de segundo orden (Mrwebi, 2004).

$$\mu = \mu_{m\acute{a}x} * \frac{S}{K_S + S + \frac{S^2}{K_I}} \quad (5)$$

Dónde: K_i : constante de inhibición (mol/L), también llamada constante de disociación y refleja el grado de afinidad del inhibidor con las enzimas; I : concentración del inhibidor (mol/L) (Mrwebi, 2004).

1.3 VARIABLES DE OPERACIÓN EN LA DA

1.3.1 Temperatura La DA se ve afectada por la temperatura, ya que actúa de forma directa en la actividad de las enzimas y co-enzimas, el rendimiento del proceso y la velocidad de desintegración. En la DA la actividad microbiana se desarrolla en tres diferentes condiciones de temperatura: psicrófila (10-30 °C), mesófila (30-40 °C) y termófila (50-60 °C). La temperatura óptima mesófila se encuentra alrededor de 39°C, mientras que la termófila está cerca de 55°C. A temperaturas termófilas, las velocidades de reacción son más rápidas, sin embargo puede ocurrir acidificación e inhibición del sistema, mientras que en el rango mesófilo hay una mayor estabilidad del proceso (Zhang *et al.*, 2014; Mao *et al.*, 2015; Appels *et al.*, 2008; Jain *et al.*, 2015).

1.3.2 pH Los consorcios microbianos en DA son susceptibles a cambios de pH, ya que si el sistema no se encuentra en un rango óptimo de pH, puede haber inhibición del mismo. Para cada etapa de la biodigestión hay valores óptimos de pH, que permiten una mejor adaptación de los microorganismos y una mayor producción. Estudios han comprobado que el intervalo óptimo para que haya una buena DA se encuentra entre 6,5-8,5, dado que en este rango los microorganismos son muy activos y la digestión es muy eficiente. Un control del

nivel de pH oportuno logra reducir la toxicidad del amoníaco (Jain *et al.*, 2015; Poh y Chong., 2009; Mao *et al.*, 2015; Kothari *et al.*, 2014).

1.3.3 Velocidad de carga orgánica La capacidad del sistema de DA para la conversión biológica o la cantidad de alimentación de material orgánico es definida como VCO ecuación 6, esta representa la cantidad de sustrato alimentado diariamente por el volumen del digestor (Jain *et al.*, 2015; Kothari *et al.*, 2014).

$$VCO = \frac{\text{Flujo diario} * \text{concentración de SV}}{\text{Volumen}} \quad (6)$$

La VCO es un parámetro de control muy importante en sistemas continuos, si se agrega una gran cantidad de sustrato, puede haber cambios en el entorno del biodigestor, inhibiendo la actividad microbiana durante la fermentación (Kothari *et al.*, 2014; Mao *et al.*, 2015).

1.3.4 Tiempo de retención hidráulica El tiempo de retención hidráulica (TRH), es una de las variables más importantes que afectan significativamente la ecología de los consorcios microbianos en biodigestores que operan en modo continuo (Dareioti y Kornaros., 2015). El TRH se refiere a la cantidad de tiempo que un líquido con compuestos solubles permanece en un digestor, y es muy variable dependiendo de la temperatura y la composición de las aguas residuales (Hamawand., 2015). Se necesita un tiempo medio de 15 a 30 días para el tratamiento de residuos en condiciones mesófilas. Cuando el efluente es retirado, se elimina una parte de la población microbiana, esto implica que el crecimiento de las células debe compensar la eliminación de estas para asegurar el estado de equilibrio y evitar el fracaso del proceso, es por esto que para alcanzar un TRH seguro se debe tener en cuenta la composición del sustrato y la VCO (Appels *et al.*, 2008; Mao *et al.*, 2015). El TRH se puede hallar mediante la ecuación 7:

$$THR = \frac{V}{Q} \quad (7)$$

Donde, V es el volumen del biodigestor y Q es el flujo diario de la mezcla de sustrato alimentado (Mao *et al.*, 2015).

1.3.5 Reactores continuos de tanque agitado (CSTR) El proceso de la DA también ha sido evaluado en operación continua, el material fresco entra continuamente al tanque y se extrae una cantidad igual de material digerido. Con la entrada de materia prima continuamente, todas las reacciones se producen a un ritmo bastante constante, lo que genera una producción de biogás aproximadamente constante (Kothari *et al.*, 2014). Un reactor continuo de tanque agitado (CSTR), es equivalente a un digestor cerrado con mezclador (Poh y Chong., 2009). Su diseño de reactor simple, garantiza costos de operación bajos y fácil manejo, ya que no necesita un controlador avanzado para su funcionamiento. Mientras que presenta tiempos de residencia altos, que son necesarios para un funcionamiento eficaz (Bensmann *et al.*, 2013). Se usa ampliamente para el tratamiento de aguas residuales que contienen altos niveles de sólidos en suspensión durante un proceso de DA, sobre todo para el tratamiento de estiércol líquido y residuos orgánicos industriales. En un CSTR, los microorganismos se suspenden a través de una mezcla intermitente o continua (Mao *et al.*, 2015). El agitador mecánico proporciona más área de contacto con la biomasa, mejorando así la producción de biogás y asegura una eficiente transferencia de la materia orgánica con la biomasa microbiana (Poh y Chong., 2009).

2. METODOLOGÍA

La estrategia metodológica desarrollada se llevó a cabo de la siguiente manera:

2.1 CARACTERIZACIÓN DEL INÓCULO Y EL SUSTRATO

2.1.1 Inóculo El inóculo utilizado en el proceso corresponde a lodo de estiércol bovino (EB). La fuente primaria se obtuvo de los establos del frigorífico Vijagual en el municipio de Rionegro – Santander, Colombia. Posteriormente, fue almacenado en un biorreactor de 23 L, con agitación intermitente cada 30 minutos a temperatura ambiente, con el objetivo de homogeneizar y potencializar su actividad metanogénica. El inóculo empleado presentó una concentración de sólidos totales (ST) de 30,1 g/L, una concentración de SV de 20,8 g/L y una actividad metanogénica de 2 DQO CH₄/g SV *día.

2.1.2 Sustrato La GJ que se utilizó como sustrato en la experimentación para el proceso de DA, se recolectó de una granja avícola de la empresa Incubadora Santander S.A, localizada en el municipio de Lebrija-Santander. Este muestreo se realizó teniendo en cuenta el protocolo de toma de muestra de GJ que se presenta en el ANEXO A. Una vez terminada la recolecta se conservaron las muestras en cierres herméticos, posteriormente fueron refrigeradas a 4°C en las instalaciones del laboratorio de biotecnología de la Escuela de Ingeniería Química en la Universidad Industrial de Santander. La caracterización fisicoquímica, se llevó a cabo de acuerdo con los protocolos del *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA., 2005) ANEXO B.

En la tabla 1 se presentan las características fisicoquímicas del sustrato en la DA.

Tabla 1. Caracterización fisicoquímica de la GJ

Parámetro	Unidades	GJ	Métodos
Sólidos totales (ST)	g/kg	226	Titrimétrico
Sólidos Volátiles (SV)	g/kg	106,7	Kjeldahl
DQO	g O ₂ /kg	731,7	Titrimétrico
Proteínas	g/kg	25,1	Kjeldahl
Lípidos	g/kg	1,9	Soxhlet
Carbohidratos	g/kg	18,2	Cálculo
C/N	-	14,5	Espectrofotométrico/Kjeldahl

2.2 EVALUACIÓN DE DIFERENTES CARGAS ORGÁNICAS MEDIANTE ENSAYOS DE BIOMETANIZACIÓN

La experimentación consistió en la determinación del potencial de biometanización a diferentes cargas orgánicas (CO). Dado que a muy bajas concentraciones se genera baja actividad metabólica y a elevadas concentraciones de sustrato se produce sobresaturación en el sistema (Muhammad *et al.*, 2015; Parra-Orobio *et al.*, 2015). Cargas de 17, 14, 12, 8 y 5 g SV/L fueron evaluadas mediante ensayos de biometanización anaerobia en biodigestores anaerobios de 60 mL, cargados con 12 mL de inóculo y una cantidad respectiva de sustrato, a una RIS (relación inóculo/sustrato) de 1 g SV/g SV. Finalmente, el volumen de operación se aforó hasta 35 mL con agua destilada. Para garantizar condiciones de anaerobiosis en el sistema, los digestores fueron purgados con nitrógeno durante 1 minuto, sellados con tapones de butilo y agrafes de aluminio. Los ensayos de biodegradación se llevaron a cabo por triplicado, durante 30 días en operación discontinua a condiciones mesofílicas de temperatura (39 °C± 2) en una incubadora (BD-53+ RS422 WTB BINDER).

El test de biodegradabilidad se realizó de acuerdo al protocolo estandarizado por Angelidaki *et al.*, (2009). El nitrógeno total amoniacal y la producción específica de metano se midieron como variables de respuesta de la experimentación. El nitrógeno total amoniacal fue cuantificado usando un electrodo de membrana selectiva tal como lo establece el protocolo del *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2005), como se presenta en el ANEXO G. El biogás producido diariamente, se burbujeó en una solución alcalina (NaOH) con fenolftaleína como indicador y pH 12, en la cual el CO₂ es absorbido. El volumen de solución alcalina desplazada es equivalente al volumen de metano generado por el sistema anaerobio (Angelidaki *et al.*, 2009). El metano se cuantificó en condiciones normales de temperatura y presión mediante la ecuación (8).

$$V_{NTP} = \frac{(P_0 - P) * T_0}{P_{atm} * T} \quad (8)$$

Donde, VNTP es el volumen de metano a condiciones normales generado durante los ensayos de biometanización (mL), P₀ es la Presión de metano a condiciones normales (1013,25 mbar), T es la temperatura de ambiente a la cual se realizó la medición, P es la Presión de vapor (mbar) a temperatura T, y P_{atm} es la presión atmosférica del lugar en el cual se llevó a cabo el ensayo. Los resultados se expresaron en términos de la producción específica de metano, correspondiente al volumen normalizado de metano acumulado sobre los sólidos volátiles adicionados del sustrato.

2.3 EVALUACIÓN DE LA CINÉTICA DEL PROCESO DE DIGESTION ANAEROBIA DE GALLINAZA DE JAULA

La ecuación 4, permitió determinar la velocidad de desintegración a las diferentes cargas evaluadas de 17, 14, 12, 8 y 5 g SV/L. La herramienta *tool curve fitting* del

software MATLAB (R2014a), se empleó para la determinación de los parámetros cinéticos del modelo, calculados con un 95% de incertidumbre respecto a los valores teóricos de PBM. La validación del modelo se realizó mediante las áreas de incertidumbres del modelo, donde el tamaño del área corresponde a la desviación estándar de los valores experimentales respecto al valor predicho por el modelo.

2.4 EVALUACIÓN DE LA VELOCIDAD DE CARGA PARA EL CSTR

Figura 3. Biodigestor CSTR (operación en continuo)



Se construyó un biodigestor continuo de tanque agitado, con un volumen total de 5 L y un volumen de operación de 3 L. La operación del digestor se realizó a temperatura ambiente ($25 \pm 3^\circ\text{C}$), con el fin de simular las condiciones ambientales locales. El biodigestor consta de una válvula de carga para la alimentación del residuo y una válvula de descarga de efluentes. La agitación fue intermitente, a 80 rpm mediante un agitador de barra magnética (Figura 3). Inicialmente el reactor fue cargado con 17 g SV/L teniendo en cuenta los resultados del apartado anterior, y se operó de forma discontinua durante 30 días (tiempo en el que el sistema alcanza la estabilidad medida en términos de AGV/AT, con un valor entre $0,2-0,4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} / \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$). Posteriormente, el biodigestor se operó con una velocidad

de carga de 1 g SV/L*día hasta alcanzar las condiciones de estabilidad. Posteriormente, la velocidad de carga orgánica se aumentó a 2 g SV/L*día con el fin de conocer la dinámica del proceso bajo condiciones de saturación. El tiempo total de operación del digester fue de 105 días, de los cuales 30 días corresponden al arranque y 75 días a la operación en continuo.

Durante el tiempo de operación en continuo, se monitorearon las variables de respuesta características de este tipo de biodegradación. La tabla 2, presenta un resumen de las variables de respuesta definidas para evaluar el desempeño del biodigester, periodicidad de medición y método analítico empleado en su cuantificación. Las variables medidas fueron: ART, ST, SV, AT, AGV, capacidad *buffer*, pH, NTA, y volumen de biogás.

Tabla 2. Variables a monitorear, periodicidad de la medición y método analítico

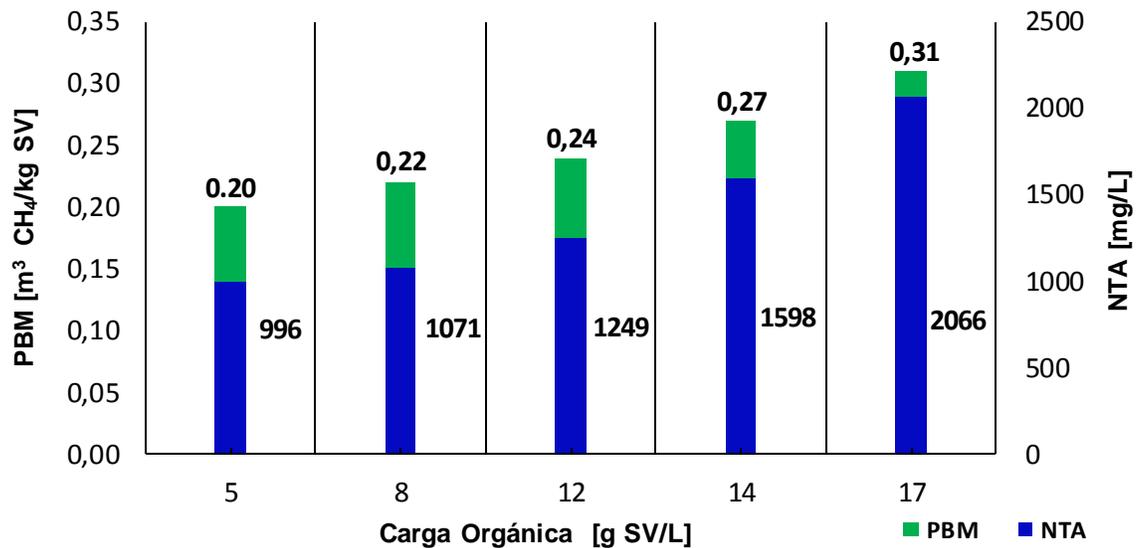
Variable	Unidad	Periodicidad	Método analítico
ART	g/L	3 días	Colorimétrico; ácido 3-5 dinitrosalicílico (DNS) (ANEXO D)
AGV	mg/L	3 días	Titulación (ANEXO E)
AT	mgCaCO ₃ /L	3 días	Titulación (ANEXO E)
pH	-	3 días	Potenciométrico
Volumen de biogás	mL	Diario	Desplazamiento alcalino (ANEXO C)
Nitrógeno Total Amoniacal (NTA)	mg/L	3 días	Potenciométrico (ANEXO G)

3. RESULTADOS Y ANÁLISIS

3.1 EVALUACIÓN DE DIFERENTES CARGAS ORGÁNICAS MEDIANTE ENSAYOS DE BIOMETANIZACIÓN

El potencial de biometanización (PBM) y la concentración final de Nitrógeno total amoniacal (NTA) a distintas CO fueron analizados en la figura 4. Las CO estudiadas de 17, 14, 12, 8 y 5 g SV/L, obtuvieron valores en PBM de $0,31 \pm 1$, $0,27 \pm 1$, $0,24 \pm 1$, $0,22 \pm 1$ y $0,20 \pm 1$ m³/kg SV y concentraciones finales de NTA de 2.066 ± 26 ; 1.598 ± 26 ; 1.249 ± 26 ; 1.071 ± 26 y 996 ± 26 mg/L, respectivamente. De acuerdo con la figura 4, el PBM incrementa significativamente conforme lo hace la carga orgánica ($p < 0,005$), lo cual es coherente con otros estudios (Raposo *et al.*, 2006). El PBM más alto de $0,31 \pm 1$ m³/kg SV, se obtuvo con la mayor CO de 17 g SV/L, valor cercano pero inferior al reportado por Li *et al.* (2015), quienes obtuvieron rendimientos entre $0,37 \pm 1$ - $0,43 \pm 1$ m³ CH₄/kg SV. La concentración final de NTA también presentó un incremento significativo ($p < 0,001$) al incrementar la concentración de CO. La mayor concentración de NTA de 2.066 ± 26 mg/L, se alcanzó con la CO de 17 g SV/L. Este valor de concentración de NTA es muy cercano al valor de 2.500 mg/L, reportado en la literatura como concentración de NTA inhibitorio. No obstante, concentraciones iniciales de gallinaza de jaula superiores a 17 g SV/L, generarían un riesgo potencial de operar el biodigestor bajo inhibición durante el arranque del proceso.

Figura 4. Efecto de la carga orgánica sobre el PBM y concentración final de NTA

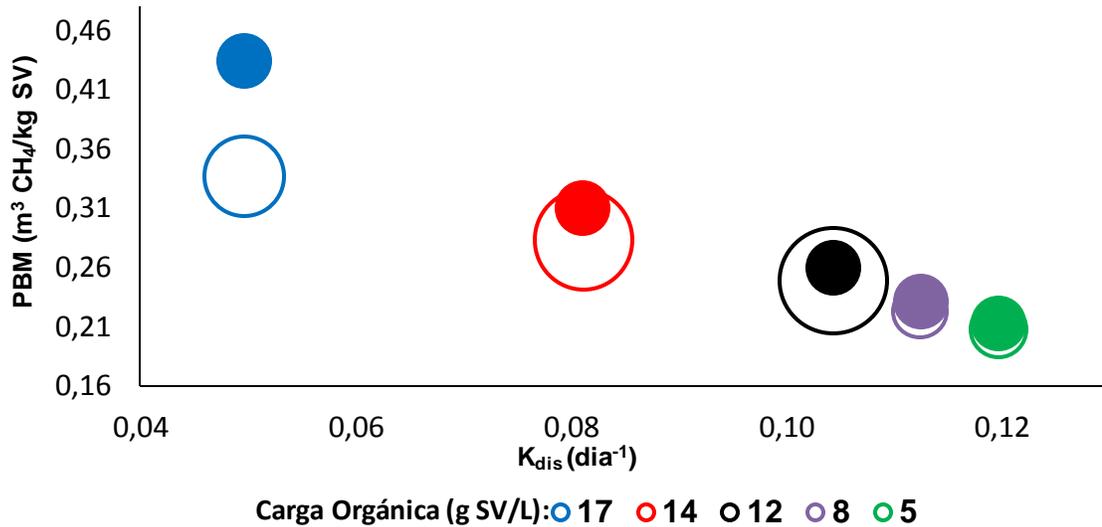


3.2 EVALUACIÓN DE LA CINÉTICA DEL PROCESO DE DIGESTIÓN ANAEROBIA DE GALLINAZA DE JAULA

La determinación del PBM proporciona información útil con respecto a la cinética de degradación de un material. La degradación de un sustrato está representada por la K_{dis} , la cual representa la velocidad a la cual el consorcio microbiano degrada el sustrato (Wang *et al.*, 2015). La figura 5, compara la constante de desintegración (K_{dis}) y el potencial de biometanización alcanzado durante los 30 días de digestión, para cada una de las CO estudiadas. Cada CO presentó su propia K_{dis} o velocidad inherente de desintegración, la cual fue determinada con base a la ecuación de *Gompertz* (4). El valor más alto de K_{dis} fue $0,12 \text{ día}^{-1}$, obtenido cuando el PBM fue de $0,22 \text{ m}^3 \text{ CH}_4/\text{kg SV}$ para una CO de 5 g SV/L . El menor valor de K_{dis} $0,05 \text{ día}^{-1}$, se presentó cuando el PBM fue de $0,36 \text{ m}^3 \text{ CH}_4/\text{kg SV}$ para una CO de 17 g SV/L . No obstante, CO bajas experimentaron una rápida velocidad de desintegración del sustrato, mientras que altas concentraciones de sustrato presentaron una degradación más lenta. Este fenómeno se explica de acuerdo a la cinética de *Monod*. Altas concentraciones de sustrato retardan el

metabolismo microbiano, dado que se está próximo a la saturación del sistema (Okpokwasili *et al.*, 2005).

Figura 5. Áreas de incertidumbre de los parámetros cinéticos y potencial de biometanización a cargas orgánicas de 17 (○), 14 (◐), 12 (●), 8 (◑) y 5 (◒) g SV/L.



Lo anterior se corrobora, al comparar el PBM experimental representado por los círculos rellenos con el PBM máximo ($\mu_{m\acute{a}x}$) representado por los círculos huecos. En la figura 5, también se observa que al incrementar la CO, la distancia entre el PBM experimental y $\mu_{m\acute{a}x}$ se hace más notoria. Para la CO de 17 g SV/L, se presentó una diferencia significativa ($p < 0,000$) entre PBM experimental y $\mu_{m\acute{a}x}$ de $0,12 \text{ m}^3 \text{ CH}_4/\text{kg SV}$, lo cual indica que a los 30 días de biodegradación se alcanzó un 75% del máximo PBM posible para esta concentración de sustrato. Para la CO de 5 g SV/L, se presentó una diferencia no significativa ($p > 0,05$) entre el PBM experimental y $\mu_{m\acute{a}x}$ de $0,01 \text{ m}^3 \text{ CH}_4/\text{kg SV}$, indicando que a los 30 días de biodegradación se alcanzó el máximo potencial de biometanización posible para esta concentración de sustrato. Las CO de 8 y 12 también presentaron diferencias no significativas ($p > 0,05$) entre el PBM experimental y $\mu_{m\acute{a}x}$ de $0,01$ y $0,02 \text{ m}^3 \text{ CH}_4/\text{kg SV}$, respectivamente. Sin embargo, CO inferiores a 12 g SV/L, a pesar de

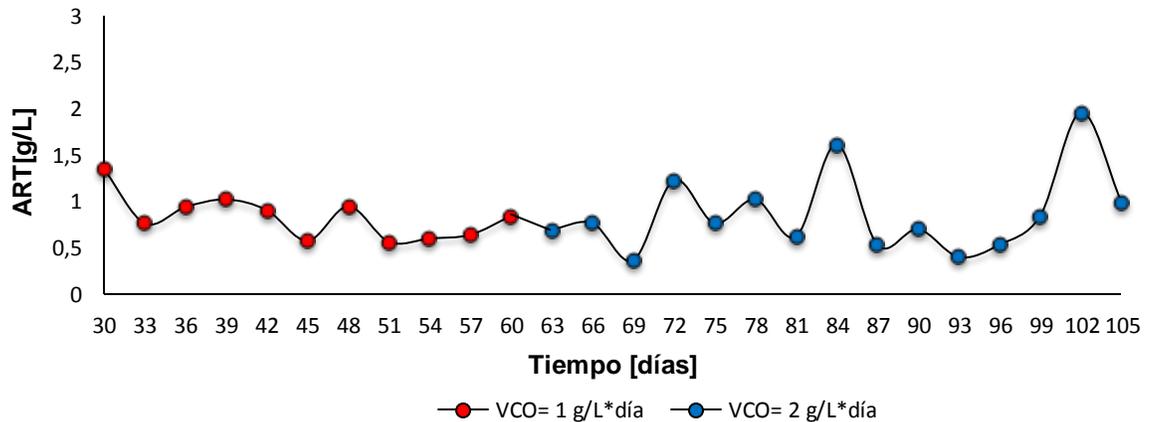
su rápida velocidad de desintegración, presentan un bajo PBM comparado con la CO de 17 g SV/L. Esto se debe a limitaciones en la disponibilidad de sustrato, lo cual desfavorece la factibilidad del proceso (Yang *et al.*, 2015). En el caso de la GJ, la cinética también se encuentra condicionada por la velocidad de generación del compuesto inhibitorio. A una carga de 17 g SV/L aún no se alcanza la concentración inhibitoria de NTA de 2.500 mg/L (ver figura 4), y se logra alcanzar un 75% de su máximo PBM de 0,41 m³ CH₄/kg SV, que corresponde al máximo PBM obtenido en la experimentación. No obstante, una concentración inicial de sustrato de 17 g SV/L permite un buen arranque del proceso, dado el alto potencial de biometanización libre de inhibición.

3.3 EVALUACIÓN DE LA VELOCIDAD DE CARGA PARA EL CSTR

3.3.1 Evaluación de la cinética de consumo de azúcares La figura 6 muestra el consumo de ART para la DA de la GJ durante la operación en continuo (después de 30 días de la puesta en marcha del biodigestor). Los ART son compuestos solubles fácilmente biodegradables por los microorganismos. Una alta concentración inicial de ART garantiza el arranque del proceso (Madigan *et al.*, 2006). En la figura 6 se observa, que se presentaron periodos de hidrólisis y de posible consumo de azúcares por parte del consorcio microbiano, dado que la curva presenta una línea que oscila sobre un valor promedio, esta tendencia se da gracias a la carga diaria de sustrato. Durante la primera VCO de 1 g/L*día, la concentración de ART inició en 1,4 g/L y finalizó en 0,9 g/L, arrojando un valor de 0,016 g/L para la actividad hidrolítica, corroborando que en esta primera parte la actividad hidrolítica fue más notoria, esto debido a la afinidad del inóculo con el sustrato (Quintero *et al.*, 2012). A partir del día 60 en el cual el biodigestor se operó con una VCO de 2 g/L*día, se nota una tendencia al aumento, iniciando con una concentración de ART de 0,7 g/L y finalizando en 1 g/L, evidenciando que hubieron más periodos de producción de azúcares durante esta etapa. Un

aumento en la concentración de ART implica un aumento en la producción de biogás, que a su vez estará influenciado por la interacción de otras variables de respuesta como: la concentración de AGV Y NTA, las cuales tienen relación directa con la inhibición.

Figura 6. Variación del consumo de los ART

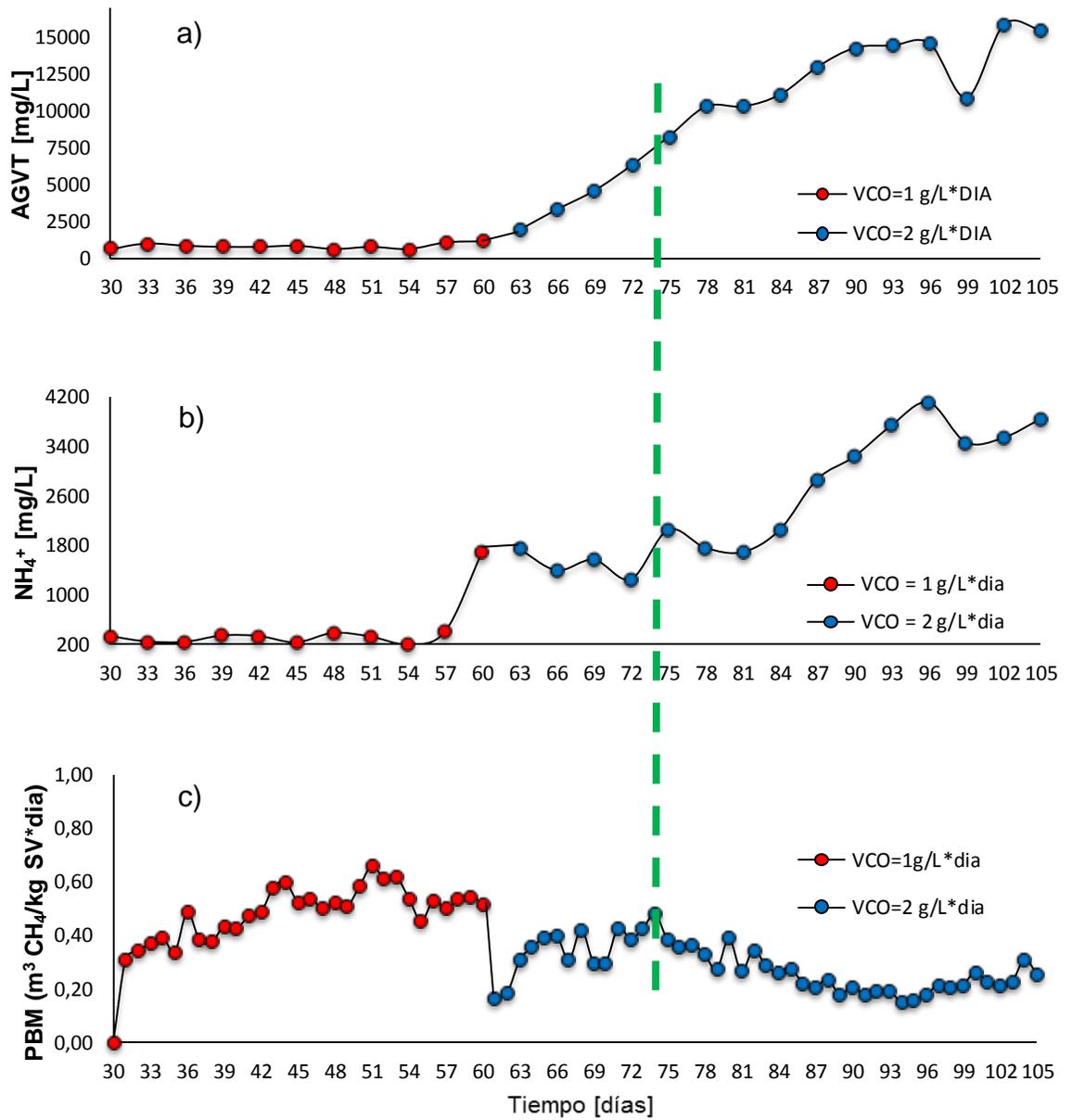


3.3.2 Producción de biogás, NTA Y AGV en la DA de GJ La figura 7 describe el comportamiento de la digestión anaerobia de gallinaza de jaula en términos del perfil de concentración de AGV (a), concentración de NTA (b) y producción de biogás (c) a VCOs de 1 y 2 g SV/L*día, respectivamente. En la figura 7a, se muestra que la concentración de AGV permaneció estable durante los 30 días de operación para la VCO de 1 g SV/L*día. Al inicio del experimento la concentración de AGV fue de 750 mg/L mientras que al final fue 1.200 mg/L.

De acuerdo con la figura 7b, la concentración de NTA, se mantuvo en valores que oscilaron entre 325 mg/L y 406 mg/L hasta el día 57, al finalizar esta etapa se observa un incremento significativo hasta 1.695 mg/L ($p < 0,001$). Durante este periodo el biodigestor no sufrió inhibición, lo cual se manifestó en una producción de biogás estable entre 0,31 y 0,66 m³/kg SV* día. Estas producciones fueron más altas que las producciones de 0,35–0,4 m³/kg SV*día obtenidas por Niu *et al.*

(2013), a una VCO de 1 g SV/L*día y bajo concentraciones de AGV y NTA de 2.300 mg/L y 500 mg/L respectivamente. Este resultado demuestra que arrancar el biodigestor cercano a las condiciones de saturación (17 g SV/L), y mantenerlo en dichas condiciones a través de una carga diaria de 1 g SV/L*día, proporciona una correcta operación, libre de inhibición y con alta producción de biogás. La veracidad de este resultado se pudo comprobar al duplicar la VCO a 2 g SV/L*día. En la segunda etapa se observó que la concentración de AGV, concentración de NTA y producción diaria de biogás, tienden a aumentar considerablemente durante los primeros días de operación con la VCO de 2 g SV/L*día. El biodigestor alcanzó su máxima producción de biogás con esta carga el día 74, correspondiente a 0,48 m³/kg SV*día. La concentración de NTA y AGV para este día fueron 2.054 mg/L y 8.325 mg/L, indicando que el sistema está en su máxima capacidad. Luego del día 74, la producción de biogás desciende significativamente alcanzando una producción de 0,15 m³/kg SV*día en el día 94, donde el NTA y AGV alcanzaron concentraciones de 4.119 mg/L y 15.900 mg/L respectivamente. No obstante, a partir del día 75 se inicia un estado pseudo estacionario, producto del efecto del NTA y AGV. En los estados estacionarios el proceso opera en estado estable pero con baja producción de biogás (Lu *et al.*, 2013). Durante el estado pseudo estacionario la concentración de NTA aumenta, dado la actividad enzimática de las bacterias fermentativas sobre la hidrólisis de las proteínas, al igual que la concentración de AGV que aumenta debido al efecto inhibitorio del amonio sobre las archeas metanogénicas. Este estado se refleja a partir del día 84, cuando la concentración de NTA sobrepasa los 2.000 mg/L, corroborando la validez del estudio realizado por Wang *et al.* (2014), en el que se estableció que la inhibición por amonio se presenta en rangos de NTA entre 2.000 y 4.000 mg/L.

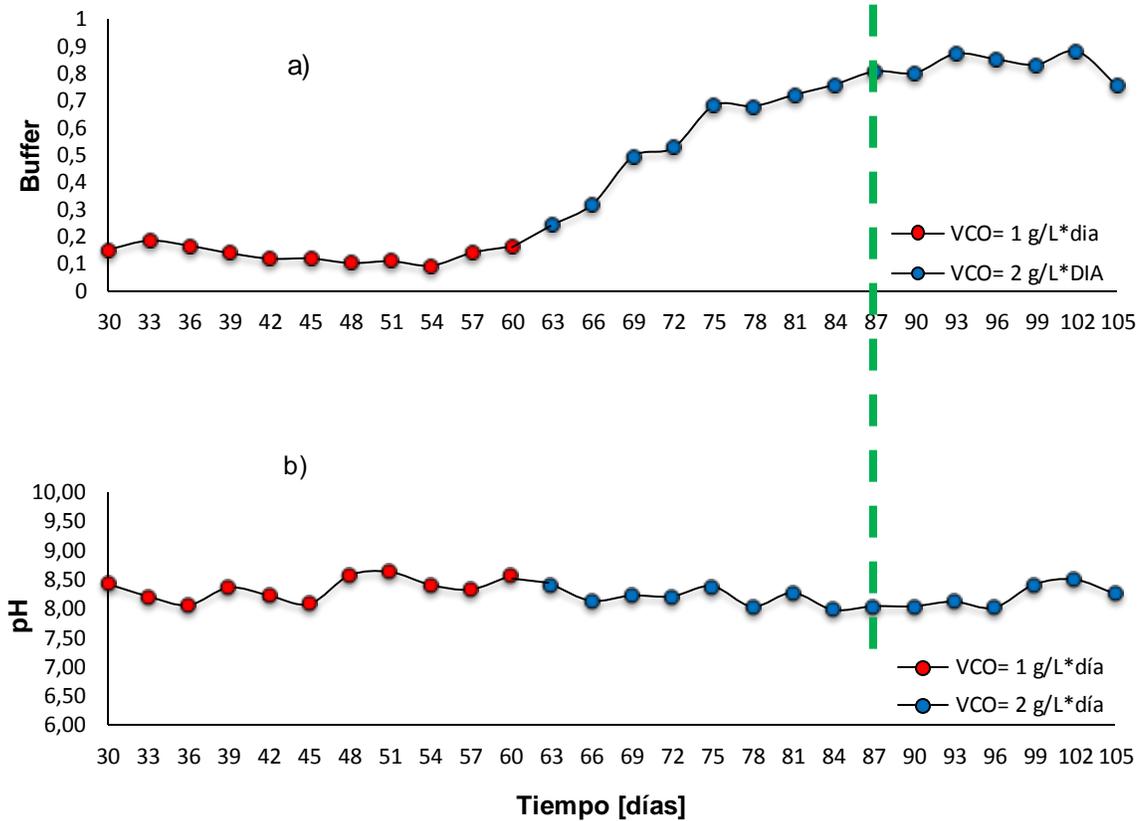
Figura 7. Monitoreo de las variables de control: a) Ácidos Grasos Volátiles, b) Concentración de NTA y c) Producción de biogás



3.3.3 Estabilidad del reactor

La figura 8 muestra la estabilidad del sistema representada en el perfil de variación de la capacidad *buffer* (a) y pH (b).

Figura 8. Evaluación de la estabilidad del digestor: a) Capacidad *buffer*, b) pH



La relación AGV/AT o capacidad *buffer* es usada como un indicador de la estabilidad del proceso, el rango en el que los procesos anaerobios alcanzan la estabilidad se encuentra entre 0,2-0,8. Relaciones superiores a 0,8 indican que no hay balance entre la población de microorganismos acidogénicos y metanogénicos, mientras que los cambios de pH se asocian a variaciones en la concentración de AGV (Wan *et al.*, 2011). De acuerdo a la figura 8, podemos observar que tanto el pH como la capacidad *buffer*, presentaron fluctuaciones menores durante el tiempo de operación del biodigestor en la primera VCO, en las

que se puede notar de manera leve que cuando aumenta el valor de pH, la capacidad buffer disminuye. En esta etapa los valores de la relación AGV/AT oscilaron entre 0,15-0,094, permaneciendo estable durante este tiempo, mientras que el pH estuvo entre 8-8,6. Según Li *et al.*, (2013), el rango óptimo de pH para el crecimiento de un microorganismo metanogénico está entre 7-8. Sin embargo los microorganismos son capaces de adaptarse a estas condiciones de pH debido a que el sistema es estable, tal como lo indica la capacidad *buffer*.

Durante la operación con la VCO 2 g SV/L*día, se observó un aumento considerable en la relación AGV/AT. El pH presentó variaciones entre 8,5-8,0 durante todo el tiempo de operación. El día 87 el valor del pH fue de 8,0 que corresponde a uno de los puntos más bajos, corroborando que a valores bajos de pH la producción de AGV es mayor, por lo tanto la relación AGV/AT aumenta. Después del día 87, la capacidad *buffer* alcanzó el valor de 0,8, en este punto el sistema pierde la estabilidad, por lo que se infiere que ocurre la inhibición. Según los resultados obtenidos, no es recomendable operar el biodigestor con una VCO de 2 g SV/L*día dado que puede propiciar el estado pseudo estacionario del sistema, provocando que el biodigestor opere en estado estable pero con baja producción de biogás.

4. CONCLUSIONES

1. Los ensayos de biometanización evaluados, muestran que la digestión anaerobia de la gallinaza de jaula puede soportar altas cargas orgánicas (17 g SV/L) con altos rendimientos en la producción de metano de 0,31 m³ CH₄/ kg SV.
2. La constante de desintegración (K_{dis}) evidenció que a mayores cargas orgánicas la velocidad de desintegración es más lenta (0.05 día⁻¹), y la diferencia entre el PBM teórico y el PBM_{max} es menor, lo cual indica que a altas cargas orgánicas el metabolismo de los microorganismos es retardado ya que está próximo a la inhibición por amonio, sin embargo esta carga orgánica permite un buen arranque del proceso.
3. El efecto del amonio sobre el proceso de digestión anaerobia es inhibitorio cuando las concentraciones de sustrato son superiores a 17 g SV/L, dado que a partir de este punto el sistema opera en un estado pseudo estacionario, producto del aumento del NTA debido a la actividad enzimática de las bacterias fermentativas sobre las proteínas.
4. Los resultados obtenidos a través de este estudio de investigación revelan que la producción de metano a partir de gallinaza de jaula es viable, con lo cual se podrían resolver problemas de contaminación debido a los grandes volúmenes que se generan de este residuo.

BIBLIOGRAFÍA

Angelidaki, I., Alves, M., Bolzonella, D., Borzacconi, L., Campos, J. L., Guwy, A. J., Kalyuzhnyi, S., Jenicek, P., Van-Lier, J. B., 2009. Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: a proposed protocol for batch assays. *Water Science & Technology*, Volumen 59, pp. 927-934.

APHA, 2005. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. Washington, ISBN 978-0-87553-047-5.

Appels, L., Baeyens, J., Degréve, J., Dewil, R., 2008. Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge. *Progress in Energy and Combustion Science*, Volumen 34, pp. 755-781.

Bensmann, A., Hanke-Rauschenbach, R., Sundmacher, K., 2013. Reactor configurations for biogas plants – a model based analysis. *Chemical Engineering Science*, Volumen 104, pp. 413-426.

Dalkilic, K., Ugurlu, A., 2015. Biogas production from chicken manure at different organic loading rates in a mesophilic-thermophilic two stage anaerobic system. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, Volumen 120, pp. 315-322.

Dareioti, M, A., Kornaros, M. , 2015. Anaerobic mesophilic co-digestion of ensiled sorghum, cheese whey and liquid cow manure in a two-stage CSTR system: Effect of hydraulic retention time. *Bioresource Technology*, Volumen 175, pp. 553-562.

Demeyer, D. V.-N. C., 1979. Protein fermentation and growth by rumen microbes. *HAL archives-ouvertes*, pp. 277-279.

Derbal, K., Bencheikh-lehocine, M., Cecchi, F., Meniai, A.H., Pavan, P. , 2009. Application of the IWA ADM1 model to simulate anaerobic co-digestion of organic waste with waste activated sludge in mesophilic condition. *Bioresource Technology*, Volumen 100, pp. 1539-1543.

Escalante, H., Orduz, J. y Zapata, L., 2010. *Atlas del potencial energético*. s.l.:Unidad de planeación minero energética, Universidad Industrial de Santander,UIS.

Gutierrez, M, 2014. *Co-Digestion Anaerobia de Lodo EDAR con Residuos Orgánicos de Diferente Naturaleza: Combinación de Técnicas Experimentales y Herramientas Matemáticas*, Donostia, San Sebastian, España: Universidad de Navarra.

Hagen- Haldal, L., Vivekanand, V., Linjordet, R., Pope, P.B., Eijsink, V., Horn, S.J., 2014. Microbial community structure and dynamics during co-digestion of whey permeate and cow manure in cstr systems. *Bioresource Technology*, Volumen 171, pp. 350-359.

Hamawand, I., 2015. Anaerobic digestion process and bio-energy in meat industry: A review and a potential. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Volumen 44, pp. 37-51.

Hernandez- Peñaranda, A., Alfaro-Álvarez, I., Arrieta Calvo, R., 2003. *Microbiología Industrial*. San Jose, Costa Rica: Universidad Estatal a Distancia.

Jain, S., Jain, S., Wolf, I.T., Lee, J., Tong, Y.W., 2015. A comprehensive review on operating parameters and different pretreatment methodologies for anaerobic digestion of municipal solid waste. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Volumen 42, pp. 142-154.

Kothari, R., Pandey, A.K., Kumar, S., Tyagi, V.V., Tyagi, S.K. , 2015. Different aspects of dry anaerobic digestion for bio-energy: An overview. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Volumen 39, pp. 174-195.

Lee, W.S., May-Shua, A.S., Yeoh, H.K., Ngog, G.C. , 2014. A review of the production and applications of waste-derived volatile fatty acids. *Chemical Engineering Journal*, Volumen 235, pp. 83-99.

Li, L., Feng, L., Zhang, R., He, Y., Wang, W., Chen, C., Liu, G., 2015. Anaerobic digestion performance of vinegar residue in continuously stirred tank reactor. *Bioresource Technology*, Volumen 185, pp. 338-342.

Li, Y., Zhang, R., He, Y., Zhang, C., Liu, X., Chen, C., Liu, G., 2014. Anaerobic co-digestion of chicken manure and corn stover in batch and continuously stirred tank reactor (CSTR). *Bioresource Technology*, Volumen 156, pp. 342-347.

Li, Y., Zhang, R., Liu, G., Chen, C., He, Y., Liu, X., 2013. Comparison of methane production potential, biodegradability, and kinetics of different organic substrates. *Bioresource Technology*, Volumen 149, pp. 565-569.

Liu, Z.G., Zhou, X.F., Zhang, Y.L., Zhu, H.G., 2012. Enhanced anaerobic treatment of CSTR-digested effluent from chicken manure: The effect of ammonia inhibition. *Waste Management*, Volumen 32, pp. 137-143.

Lu, F., Hao, L., Guan, D., Qi, Y., Shao, L., He, P., 2013. Synergetic stress of acids and ammonium on the shift in the methanogenic pathways during thermophilic anaerobic digestion of organics. *Water Research*, Volumen 47, pp. 2297-2306.

Mao, C., Feng, Y., Wang, X., Ren, G., 2015. Review on research achievements of biogas from anaerobic digestion. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Volumen 45, pp. 540-555.

Marin-Batista, J., Castro, L., Escalante, H., 2015. Efecto de la carga orgánica de la gallinaza de jaula en el potencial de biometanización. *Revista Colombiana de Biotecnología*, Volumen 17, pp. 18-23.

Martí-Ortega, N., 2006. *Phosphorus precipitation in anaerobic digestion process*, Boca Raton, Florida, USA: Dissertation.com.

Mata-Alvarez, J., Dosta, J., Romero-Guisa, M.S., Fonoll, X., Peces, M., Astals, S., 2014. A critical review on anaerobic co-digestion achievements between 2010 and 2013. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Volumen 36, pp. 412-427.

Miller, G, 1959. Use of Dinitrosalicylic Acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. chem* , Volumen 31, pp. 426-428.

Mrwebi, M, 2004. *Testing Monod: growth rate as a function of glucose concentration in Saccharomyces cerevisiae* , Stellenbosch, Sudáfrica: University of Stellenbosch.

Muhammad Rizwan, H., Sohail, Y., Riffat, N, M., Chettiyappan, V., 2015. Effect of mixing ratio of food waste and rice husk co-digestion and substrate to inoculum ratio on biogas production. *Bioresource Technology*, Volumen 190, p. 451–457.

Niu, Q., Hojo, T., Qiao, W., Qiang, H., Li, Y.Y., 2014. Characterization of methanogenesis, acidogenesis and hydrolysis in thermophilic methane fermentation of chicken manure. *Chemical Engineering Journal*, Volumen 244, pp. 587-596.

Niu, Q., Qiao, W., Qiang, H., Hojo, T., Li, Y., 2013. Mesophilic methane fermentation of chicken manure at a wide range of ammonia concentration: Stability, inhibition and recovery. *Bioresource Technology*, Volumen 137, pp. 358-367.

Niu, Q., 2014. *Process performance and microbial community dynamics during methane fermentation of chicken manure*, Sendai, Japon: Tohoku University.

Okpokwasili, G.C., Nweke, C.O., 2005. Microbial growth and substrate utilization kinetics. *African Journal of Biotechnology*, Volumen 5, pp. 305-317.

Pages-Diaz, J., Pereda-Reyes, I., Lundin, M., Sárvári-Horváth, I., 2011. Co-digestion of different waste mixtures from agro-industrial activities: Kinetic evaluation and synergetic effects. *Bioresource Technology*, Volumen 102, pp. 10834-10840.

Parra-Orobio, B., Torres-Lozada, P., Marmolejo-Rebellón, L., Cárdenas-Cleves, L., Vásquez-Franco, C., Torres-López, W., Ordoñez-Andrade, J., 2015. Efecto de la relación sustrato-inóculo sobre el potencial bioquímico de metano de biorresiduos de origen municipal. *Ingeniería Investigación y Tecnología*, 16(4), pp. 515-526.

Poh, P.E., Chong, M.F., 2009. Development of anaerobic digestion methods for palm oil mill effluent (POME) treatment. *Bioresource Technology*, Volumen 100, pp. 1-9.

Quintero, M., Castro, L., Ortiz, C., Guzmán, C., Escalante, H., 2012. Enhancement of starting up anaerobic digestion of lignocellulosic substrate: fique's bagasse as an example. *Bioresource Technology*, Volumen 108, pp. 8-13.

Rajagopal, R., Massé, D.I., Singh, G., 2013. A critical review on inhibition of anaerobic digestion process by excess ammonia. *Bioresource Technology*, Volumen 143, pp. 632-641.

Raposo, F., Banks, C.B., Siegert, I., Heaven, S., Borja, R., 2006. Influence of inoculum to substrate ratio on the biochemical methane potential of maize in batch tests. *Process Biochemistry*, Volumen 41, pp. 1444-1450.

Raposo, F., Borja, R., Martín, M.A., Martín, A., de la Rubia, M.A., Rincón, B., 2009. Influence of inoculum–substrate ratio on the anaerobic digestion of sunflower oil cake in batch mode: Process stability and kinetic evaluation. *Chemical Engineering Journal*, Volumen 149, pp. 70-77.

Tanimu, M., Ghazi, T., Harun, M. & Idris, A., 2014. Effect of feed loading on biogas methane production in batch mesophilic anaerobic digesters treating food waste. *International Journal on chemical and environmental engineering*, 5(1).

Wan, C., Zhou, Q., Fu, G., Li, Y., 2011. Semi-continuous anaerobic co-digestion of thickened waste activated sludge and fat, oil and grease. *Waste Management*, Volumen 31, p. 1752–1758.

Wang, B., Strömberg, S., Li, C., Nges, I.A., Nistor, M., Deng, L., Liu, J., 2015. Effects of substrate concentration on methane potential and degradation kinetics in batch anaerobic digestion. *Bioresource Technology*, Volumen 194, pp. 240-246.

Wang, H., Lehtomäki, A., Tolvanen, K., Puhakka, J., Rintala, J., 2009. Impact of crop species on bacterial community structure during anaerobic co-digestion of crops and cow manure. *Bioresource Technology*, Volumen 100, pp. 2311-2315.

Wang, M., Sun, X., Li, P., Yin, L., Liu, D., Zhang, Y., Li, W., Zheng, G., 2014. A novel alternate feeding mode for semi-continuous anaerobic co-digestion of food waste with chicken manure. *Bioresource Technology*, Volumen 164, pp. 309-314.

Ward, A.J., Hobbs, P.J., Holliman, P.J., Jones, D.L., 2008. Optimisation of the anaerobic digestion of agricultural resources. *Bioresource Technology*, Volumen 99, pp. 7928-7940.

Yang, G., Zhang, P., Zhang, G., Wang, Y., Yang, A, 2015. Degradation properties of protein and carbohydrate during sludge anaerobic digestion. *Bioresource Technology*, Volumen 192, p. 126–130.

Zhang, C., Su, H., Baeyens, J., Tan, T., 2014. Reviewing the anaerobic digestion of food waste for biogas production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Volumen 38, pp. 383-392.

Zhang, W. y otros, 2014. Anaerobic digestion characteristics of pig manures depending on various growth stages and initial substrate concentrations in a scaled pig farm in Southern China. *Bioresource technology* , Volumen 156, pp. 63-69.

ANEXOS

ANEXO A. Protocolo para la recolección de muestras de gallinaza de jaula.

Materiales:

- Bolsa plástica con cierre hermético.
- Cinta de enmascarar.
- Espátula.
- Recipientes plásticos de dos litros.
- Guantes de látex
- Marcadores permanentes.
- Nevera de icopor.
- Tapa bocas.

Procedimiento

La toma de muestras de gallinaza se debe realizar antes de ser llevada a la planta de abonos; preferiblemente en la jornada de la mañana.

1. Con una espátula tomar las muestras de gallinaza hasta llenar la totalidad de las bolsas y cerrar inmediatamente.
2. Rotular las bolsas con las muestras con lugar y fecha de toma de muestra.
3. Trasladar las muestras hasta el laboratorio en las neveras de icopor.
4. En el laboratorio envasar las muestras en recipientes plásticos y refrigerar.

ANEXO B. Caracterización fisicoquímica de la gallinaza de jaula



Somos su mejor alternativa...

ASISTENCIA TÉCNICA AGRÍCOLA
CONTROL DE CALIDAD
FOJARR
SUELOS
AGUAS

Bogotá D.C., 10 de Julio del 2015

ANÁLISIS FISICO-QUÍMICO

Muestra No. 18266

Empresa: Universidad Industrial de Santander
Descripción: Gallinaza
Identificación: Ga
Características: Producto café oscuro
Procedencia: Bucaramanga - Santander

Orden de T# 53837

RESULTADOS ANALÍTICOS

	Resultados	
	Base Húmeda	Base Seca
Humedad; %	78,31	
ANÁLISIS ELEMENTAL		
Carbono; C; %	6,09	28,06
Hidrógeno; H; %	0,79	3,65
Oxígeno; O; %	5,84	26,91
Nitrógeno; N; %	0,55	2,52
Azufre; S; %	0,10	0,44
Amonio; mg/kg	843,5	

NOTA: El presente reporte preliminar ha sido tomado de la base de datos donde reposan los resultados analíticos y corresponde fielmente a la muestra analizada.



Felipe Calderón Sáenz
Felipe Calderón Sáenz
Director General T.P.3186

ANEXO C. Método de desplazamiento alcalino

Materiales

- Biodigestor anaerobio
- Probeta de 100 mL
- Agujas y mangueras
- salmuera

Procedimiento

El biodigestor se conecta con un recipiente de desplazamiento alcalino por medio de una red de mangueras de plástico. El biogás producido en el biodigestor se burbujea en la solución de salmuera con pH mayor que 12, en el cual el CO₂ es absorbido y el volumen de gas metano desplaza un volumen igual de la solución de salmuera. El volumen de la solución desplazada en el recipiente colector es equivalente al volumen de metano y otros gases en menor proporción generados por el sistema.

Cálculo del volumen de biogás a condiciones normalizadas (VNTP)

Para poder comparar las producciones de biogás y por lo tanto el rendimiento, es necesario llevar el volumen de metano a condiciones normalizadas

$$VNTP = V \frac{P_{atm} - P_v * T_o}{P_o * T}$$

Donde:

V= volumen de gas generado (mL).

Patm= presión atmosférica.

T_o=Temperatura estándar 273,15 (K).

P_0 = presión estándar 1013.25 (mbar).

P_v = Presión de vapor de agua.

$$P_v = 10 * e^{(16.573 - \frac{5988.84}{T * 247})}$$

T=Temperatura al momento de medir (K)

ANEXO D. Determinación de la concentración de azúcares reductores totales (ART)

El método DNS o del ácido 3-5 DNS es un método colorimétrico, desarrollado para la cuantificación de azúcares reductores.

Materiales y Reactivos:

- Agua destilada.
- DNS.
- Hielo.
- Micropipeta.
- Tubos de ensayo.
- Espectrofotómetro.

Reactivo DNS

- Mezclar y disolver en 250 ml de agua destilada 8 g de NaOH y 150 g de tartrato sodio potasio.
- Se agregan 5 g de ácido dinitrosalicílico.
- Aforar a 500 mL con agua destilada.
- Almacenar a temperatura ambiente y proteger de la luz

Procedimiento

1. Tomar una muestra aproximadamente de 7 mL en tubos falcon de 15 mL.
2. Centrifugar las muestras por 15 minutos a 10,000 rpm.
3. Llevar el sobrenadante a otro falcon.
4. Medir 2 μ L del sobrenadante y llevarlo a un tubo de ensayo.

5. Agregar 2 μL de DNS.
6. Dejar en baño con agua en ebullición durante 5 minutos.
7. Hacer un choque térmico para detener la reacción en un baño de hielo.
8. Agregar 2 mL de agua destilada, y dejar reposando durante 15 minutos.
9. Calibrar el equipo usado un blanco obtenido en el procedimiento anterior pero agregando agua destilada en lugar de muestra
10. Leer la densidad óptica a 540 nm de la muestra. Usando la curva estándar de glucosa hallar las concentraciones de ART.

Curva estándar de glucosa

Se preparan las muestras de glucosa con concentraciones conocidas, se aplica el método DNS y se lee su absorbancia en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 540 nm.

Con los datos obtenidos se traza un gráfico lineal de la concentración de glucosa (azúcar reductor) como una función de absorción, y así se determina la ecuación que relaciona las dos cantidades.

ANEXO E. Determinación de la concentración de ácidos grasos volátiles (AGV) y alcalinidad total (AT)

Materiales

- Vaso precipitado de 100 ml.
- Probeta de 50 ml.
- Centrífuga.
- pH-metro.
- Agitador magnético.
- Plancha de agitación magnética.
- 2 balones esmerilados de fondo redondo.
- Condensador.
- Plancha de calentamiento.
- 2 Buretas.
- Soporte de plancha.
- Soporte universal.
- Pinzas de nuez.
- Solución de NaOH al 0.1 N.
- Solución de HCl al 0.1 N.

Procedimiento

1. Tomar una muestra de 35 ml de en los tubos falcon de 50ml.
2. Centrifugar las muestras durante 30 min a 5000 rpm.
3. Llevar el sobrenadante a frascos plásticos, medir el pH y registrar su valor.
4. Medir 5 ml de sobrenadante y llevarlo a un vaso precipitado de 100 ml.
5. Medir en la probeta 25 ml de agua destilada y agregar a los 5 ml de sobrenadante.

6. Titular con la solución HCl 0.1 N hasta alcanzar un pH de 3, registrar el volumen V1, manteniendo agitación constante.
7. La solución se lleva a un balón esmerilado de fondo redondo, adaptarlo al condensador.
8. La muestra se calienta hasta su punto de ebullición y mantenerla durante 2 minutos.
9. Titular la solución previamente preparada con una solución de NaOH 0.1 N hasta alcanzar un pH de 6.5 y registrar el volumen V2.

Cálculos

$$\text{Alcalinidad Total } AT = \frac{V_1 * N_{HCl} * 50000}{V_m} \text{ [mg/ L]}$$

$$\text{Acidos Grasos Volatiles } AGV = \frac{V_2 * N_{NaOH} * 60000}{V_m} \text{ [mg/ L]}$$

Donde:

NHCL =concentración de ácido clorhídrico (Normalidad)

NNaOH =concentración de ácido clorhídrico (Normalidad)

V1= volumen de HCl para llevar la muestra a pH 3 (mL)

V2= volumen de NaOH para llevar la muestra a pH 6.5 (mL)

Vm = volumen de la muestra

ANEXO F. Determinación de los sólidos totales fijos (ST) y volátiles (SV) en muestras sólidas y semisólidas

Materiales

1. Crisoles.
2. Mufla que opera entre 500 - 550 °C.
3. Horno secador que opera entre 100 -105 °C.
4. Desecador provisto de un desecante que contiene un indicador colorimétrico de concentración de humedad.
5. Balanza analítica.

Procedimiento

1. Pesar un crisol (P1) previamente secado (durante 24 horas en el horno secador).
2. Agregar muestra.
3. Trasladar el crisol con la muestra al horno secador durante un día. Después dejar la muestra durante 10 minutos en el desecador para equilibrar la temperatura y pesar el crisol (P2).
4. Llevar la muestra a la mufla durante de una hora.
5. Dejar en el desecador durante de 10 minutos, registrar el peso (P3).

Cálculos

$$\text{Sólidos Totales} = \frac{P2 - P1}{Pm} \text{ [g/ L]}$$

$$\text{Sólidos Volátiles} = \frac{P2 - P3}{Pm} \text{ [g/ L]}$$

Donde:

P1: peso del crisol (g)

P2: peso del crisol después del horno secador (g)

P3: peso del crisol después de la mufla (g)

Pm: peso de la muestra (g)

ANEXO G. Determinación del N-Amoniaco

Materiales:

- Vaso de precipitado de 50 mL.
- Centrífuga.
- Electrodo selectivo de amoniaco.
- Agitador magnético.
- Plancha de agitación magnética.
- Solución ISA (hidróxido de sodio-Etanol)

Procedimiento

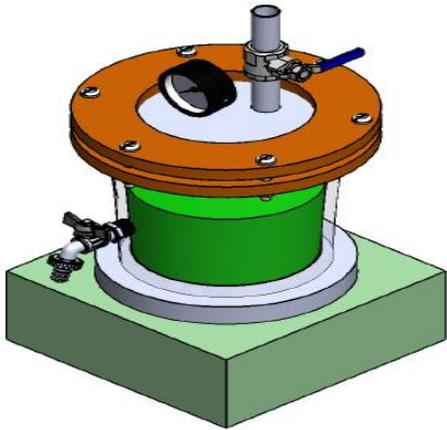
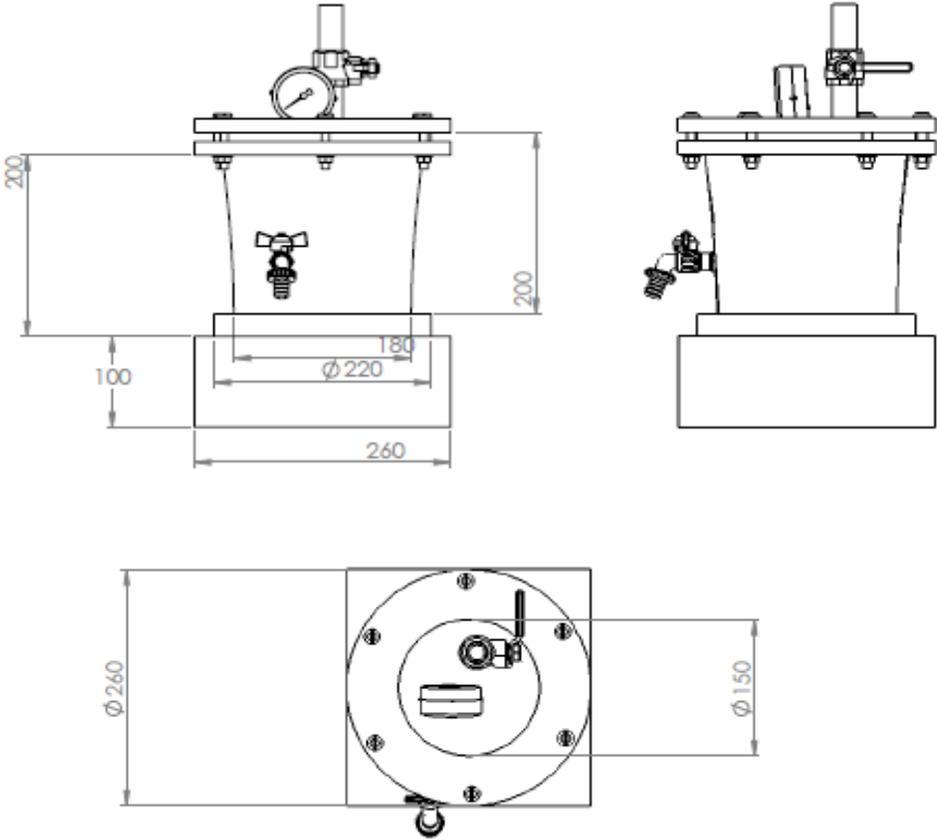
Con anterioridad se debe verificar que el equipo y realizar la curva de calibración, de acuerdo al manual.

1. Tomar una muestra aproximadamente de 35 mL en tubos falcon de 50 mL
2. Centrifugar las muestras por 30 minutos a 5000 rpm.
3. Llevar el sobrenadante a un falcon.
4. Medir 5 mL de sobrenadante y llevarlo a un vaso precipitado de 50 mL.
5. Agregar 2 mL de la solución ISA y agitar continuamente.
6. Sumergir el electrodo en la muestra por 1 minuto para obtener lecturas estables.

Curva de calibración

- Preparar soluciones de 1, 10, 100 mg/L de NH_4Cl .
- Disponer el equipo en modo calibración. Medir 15 mL de la solución y agregar a cada una 2 mL de ISA; agitación continua. Sumergir el electrodo en el nivel de concentración más baja y la mezcla con un agitador magnético. Medir la concentración de N-amoniaco, para cada concentración. El equipo asocia un mV para cada concentración y realiza la curva.

ANEXO H. Plano del biodigestor (todas las unidades en mm)



ANEXO I. Registro fotográfico

Gallinaza de jaula



Medición de amonio (NH_3)



Medición de Azúcares (ART)



Medición de pH, AGV y AT



Operación en Batch



Operación en Continuo

