

Potencial de Biometanización de Mezclas de Co-Sustratos, Bovino-Equino-Porcino

Yilber Alexander Parrales Ramírez

Trabajo para optar al título de Ingeniero Químico

Director

Humberto Escalante Hernández

Phd en Ingeniería Química

Codirectora:

Liliana Del Pilar Castro Molano

Phd en Ingeniería Química

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Ingenierías Fisicoquímicas

Escuela de Ingeniería Química

Bucaramanga

2019

DEDICATORIA

Principalmente agradecer a Dios por haberme dado la oportunidad de llegar hasta aquí, por darme fuerzas en los momentos difíciles y no dejar que me diera por vencido cuando veía todo perdido.

A mis padres por apoyarme y creer en mí durante este tiempo, gracias a ellos por darme la posibilidad de cumplir mis sueños y acompañarme en la realización de ellos a través de sus consejos, su cariño y su fe en mí.

A mi madre por todo su sacrificio, por preocuparse por mí y darme palabras de aliento como sus consejos en todo momento, así como por el amor que me ha brindado a pesar de la distancia.

A mi padre por sus anécdotas y mostrarme los diferentes puntos de vista de las cosas, porque no todo lo malo es tan malo como se ve.

Gracias también a todos mis amigos a lo largo de mi carrera y a todos los que me han apoyado de forma incondicional y han hecho parte de mi camino en estos años.

A mis profesores por cada enseñanza transmitida, por su apoyo y colaboración para la culminación de mis estudios universitarios. A la profesora Liliana y a mi director de tesis Humberto Escalante por instruirme en este proyecto.

A la UIS por abrirme sus puertas y darme el conocimiento para ver la vida diferente.

Se diferente, descubre tu vida, llega más allá de tus límites.

– **Yilber.**

Tabla de Contenido

Introducción.....	13
1. Marco Teórico.....	17
1.1. Digestión Anaerobia (Da)	17
1.2. Parámetros y Variables de la Digestión Anaeróbica.....	18
1.2.1. Temperatura	18
1.2.2. PH.....	19
1.2.3. Ácidos grasos volátiles (AGV)	19
1.2.4. Potencial bioquímico de metano (PBM)	19
1.2.5. Actividad metanogénica específica (AME).....	20
1.2.6. Demanda química de oxígeno (DQO).....	20
2. Metodología.....	20
2.1. Recolección y Caracterización de los Sustratos	21
2.2. Diseño Estadístico de Mezcla de Sustratos	22
2.3. Determinación del Potencial de Biometanización de los Sustratos y Sus Mezclas.....	24
2.4. Determinación De La Sinergia De Las Co Digestiones.....	25
3. Resultados.....	26
3.1. Caracterización Física de los Estiércoles	26
3.2. Potencial de Biometanización (Pbm) de Estiércoles y sus Mezclas	27

3.3. Análisis de la sinergia de las digestiones de los estiércoles	31
3.4. Análisis del poder calorífico de las digestiones de los estiércoles	34
4. Conclusiones	36
Referencias	37
Apéndice	44

Lista de Tablas

Tabla 1. Porcentajes de dilución de estiércol puro en cada experimento en %P/P.....	20
Tabla 2. Porcentaje peso a peso de estiércol y agua en cada experimento.....	20
Tabla 3. Significado del valor Φ	22
Tabla 4. Caracterización física de los estiércoles sin diluir.....	23
Tabla 5. Potencial de biometanización y sinergia de las codigestiones.....	29

Lista de Figuras

Figura 1. Diseño gráfico enrejado de simplex {3, 3} aumentado con puntos axiales.....	19
Figura 2. Cinética de rendimiento de metano a) Monodigestión de estiércoles.....	26
Figura 3. Cinética de rendimiento de metano b) Digestión binaria de estiércoles.....	27
Figura 4. Cinética de rendimiento de metano c) Digestión ternaria de estiércoles.....	27
Figura 5. Análisis de medias de los experimentos: 3a. Monodigestiones, 3b. Digestiones Binarias y 3c. Digestiones Ternarias.....	28
Figura 6. Comportamiento de la sinergia de la codigestión y el PBM a diferentes %P/P de estiércol equino.....	30
Figura 7. Escenarios.....	31

Lista de Apéndices

Apéndice A. pH.....	40
Apéndice B. Sólidos totales (ST) y sólidos volátiles (SV).....	41
Apéndice C. Desplazamiento alcalino.....	43
Apéndice D. Determinación de las diluciones de las mezclas de estiércoles.....	44
Apéndice E. Cantidad de muestra presente en cada una de las diferentes diluciones....	45

Lista de Abreviaturas

AGV: Ácidos grasos volátiles

AD: Agua destilada

AME: Actividad metanogénica específica

ART: Azúcares reductores totales

AT: Alcalinidad total

DA: Digestión anaerobia

CODA: Cogestión anaerobia

DQO: Demanda química de oxígeno

EB: Estiércol bovino

EE: Estiércol equino

EP: Estiércol porcino

PBM: Potencial bioquímico de metanización

SST: Sólidos suspendidos totales

SSV: Sólidos suspendidos volátiles

ST: Sólidos totales

SV: Sólidos volátiles

Resumen

TITULO: POTENCIAL DE BIOMETANIZACIÓN DE MEZCLAS DE COSUBSTRATOS, BOVINO-EQUINO-PORCINO*

AUTOR: YILBER ALEXANDER PARRALES RAMÍREZ**

PALABRAS CLAVE: POTENCIAL BIOMETANIZACIÓN, ESTIÉRCOL, COSUBSTRATO, SINERGIA, BIOGÁS, CODIGESTIÓN, PODER CALORÍFICO.

DESCRIPCIÓN: Los estiércoles: bovino (EB), equino (EE) y porcino (EP) se encuentran entre los residuos renovables más abundantes en los agroecosistemas, que pueden gestionarse y evitar problemas de contaminación, una opción es la estabilización mediante digestión anaerobia (DA). En el desarrollo de esta investigación se realizó un estudio que permitiera reflejar el comportamiento bioquímico y microbiológico de mezclas de diluciones de estiércol bovino, equino y porcino según las proporciones descritas por el diseño de experimento simplex {3,3} aumentado con puntos axiales, teniendo en cuenta como variables de respuesta el potencial de biometanización (PBM) para la parte bioquímica y la sinergia (Φ) para la parte microbiológica. Se realizó una caracterización de las propiedades físicas antes de realizar los experimentos para la determinación del PBM. Para la DA de los casos de estudio la mezcla estiércol equino-bovino con una relación en %P/P 8,3% y 16,7% respectivamente y restante en agua, generó la mayor sinergia 3,63 y logró el segundo mejor potencial 46,56 N- $\text{ICH}_4/\text{kg SV}$, mostrando como el estiércol equino es un excelente cosustrato para el estiércol bovino y la mezcla estiércol equino-porcino con una relación en %P/P 16,7% y 8,3% respectivamente y restante en agua, alcanzó el mayor PBM de 51,22 N- $\text{ICH}_4/\text{kg SV}$ con una sinergia 3,09 siendo esta la segunda más alta entre todas las digestiones, indicando como estos estiércoles complementan sus cualidades bioquímicas y microbiológicas para obtener un mayor resultado. En cuanto al análisis del potencial energético de las digestiones la mayor producción de energía es de 0,43 kWh/kg a partir de la mezcla de EE-EP y el sustrato que genera menor cantidad de energía es el estiércol bovino con 0,08 kWh/kg de muestra.

*Trabajo de grado.

**Facultad de Ingenierías Físicoquímicas. Escuela de Ingeniería Química. Director: Humberto Escalante Hernández, Phd En Ingeniería Química. Codirectora: Liliana Del Pilar Castro Molano, Phd En Ingeniería Química.

Abstract

TITLE: BIOMETHANATION POTENTIAL OF CO-SUBSTRATE MIXTURES FROM BOVINE-EQUINE-PORCINE MANURE*

AUTHOR: YILBER ALEXANDER PARRALES RAMÍREZ**

KEYWORDS: BIOMETHANATION POTENTIAL, MANURE, CO-SUBSTRATE, SYNERGY, BIOGAS, CO-DIGESTION, CALORIFIC POWER.

DESCRIPTION: The manures from bovine (EB), equine (EE) and porcine (EP) are among the most abundant renewable waste in agroecosystems, which can be managed and avoid contamination problems, and one option is a stabilization by anaerobic digestion (DA). This study was carried out to reflect the biochemical and microbiological behavior of mixtures of dilutions from bovine, equine and porcine manures and according to the proportions described by the simplex experiment design {3,3} augmented with axial points, having consider as response variables the potential of biomethanation (PBM) for the biochemical part and the synergy (Φ) for the microbiological part. Characterization of the physical properties was performed before performing the experiments for the determination of the PBM. For the DA of the case studies, the equine-bovine manure mixture with a ratio in % P / P 8,3% and 16,7% respectively and remaining in water, generated the greatest synergy 3,63 and achieved the second-best potential 46,56 N-ICH₄ / kg SV, showing how equine manure is an excellent co-substrate for bovine manure and equine-porcine manure mixture with a ratio in % P / P 16,7% and 8,3% respectively and remaining in water, reached the highest PBM of 51,22 N-ICH₄ / kg SV with a synergy 3,09 being the second-highest among all digestions, indicating how these manures complement their biochemical and microbiological qualities to obtain a greater result. As for the analysis of the digested energy potential, the highest energy production is 0,43 kWh / kg from the EE-EP mixture and the substrate that generates the least amount of energy is bovine manure with 0,08 kWh / kg of sample.

*Bachelor Thesis.

**Facultad de Ingenierías Físicoquímicas. Escuela de Ingeniería Química. Director: Humberto Escalante Hernández, Phd en Ingeniería Química. Codirectora: Liliana Del Pilar Castro Molano, Phd en Ingeniería Química.

Introducción

El Instituto Colombiano de Agricultura - ICA reportó que en Colombia para el año 2017 había 23,5 millones de cabezas de bovino, 1,4 millones de equinos y 5,3 millones de porcinos, presentando un aumento de 3,5%, 1,25% y 4,6% respectivamente en su población comparada con el año anterior (ICA, 2017). El desarrollo de esta actividad pecuaria genera grandes volúmenes de residuos: a) 8kg de estiércol/100kg de peso bovino (Martí-Herrero, J., 2008), b) 3,8kg de estiércol/100kg de peso de equino, y C) 2kg de estiércol/100kg de peso porcino (Sagarpa, 2000). Sin embargo, a pesar de conocerse diferentes alternativas de gestión que brindan beneficios ambientales y promueven el desarrollo de las energías limpias, el manejo de estos desechos no ha sido aprovechado en su máximo potencial (Bolívar, H., & Ramírez, E., 2012).

La digestión anaerobia (DA) se puede considerar como una alternativa para la gestión y valorización de los estiércoles proveniente de actividades pecuarias. La DA brinda tres beneficios: 1) producción de un biogás que puede ser utilizado como fuente de energía renovable, 2) reducción en la contaminación ambiental producida por sustancias presentes en el estiércol y 3) producción de un fertilizante de tipo orgánico. En la DA los sustratos son biodegradados, por microorganismos en un ambiente libre de oxígeno (Angelidaki, I., Karakashev, D., Batstone, D. J., Plugge, C. M. & Stams, A. J. M., 2011).

La valorización energética de un residuo mediante DA requiere su caracterización bioquímica y microbiológica. El estudio bioquímico conlleva la cuantificación del Potencial de Biometanización (PBM), el cual se define como la capacidad de biodegradabilidad anaeróbica

que posee un sustrato y se expresa en términos de rendimiento (Y_p/s) (Stromberg, S., Nistor, M., & Liu, J., 2014, pp. 1939-1948).

El desempeño de los microorganismos en la DA para producir metano, se evalúa por medio de la actividad metanogénica específica (AME) presente en la ruta metabólica. Dependiendo del tipo de análisis requerido se pueden obtener resultados independientes que van desde hidrólisis, acetogénesis, fermentación hasta metanogénesis. La DA permite la gestión y valorización energética de los estiércoles mediante la estabilización de su materia orgánica contenida. La DA de los estiércoles permite la producción de energía renovable en sectores o zonas que no están interconectadas (Rodríguez, L., 2016. pp. 35–38.). En estos sectores la DA se realiza mediante la implementación de biodigestores tubulares de bajo costo (BTBC) que brindan excelentes beneficios económicos, técnicos y ambientales (Botero Botero, R. & Preston, T. R., 1987. pp. 1-20). Los BTBC consisten en una bolsa de plástico, con una entrada (alimentación) y dos salidas en tubo de PVC (descarga de digerido y salida de biogás). El gas producido se recolecta en un reservorio también plástico. Este tipo de digestores, se caracterizan por no tener sistemas de agitación, ni calentamiento y ser de fácil adquisición, por lo cual son llamados sistemas de bajo costo (Garfí, M., Martí-Herrero, J., Garwood, A., & Ferrer, I. (2016)).

Con respecto a la operación del digestor para evitar atascamientos con masas, formaciones de nata en su superficie y asegurar la operación a flujo continuo, se requiere diluir el estiércol con agua. Esto no solo evita los problemas mencionados, además mejora la producción de biogás.

Colombia cuenta con más de 500 biodigestores de bajo costo operando con estiércol porcino (EP) y estiércol bovino (EB) (Castro, L., Escalante, H., Jaimes-Estévez, J., Díaz, L. J.,

Vecino, K., Rojas, G. & Mantilla, L., 2017, 311-317) (Escalante, H., Castro, L., Amaya, M. P., Jaimes, L. & Jaimes-Estévez, J., 2018, 711-718), en zonas interconectadas, generando biogás para cocción de alimentos. Sin embargo, para el estiércol equino (EQ) aún no ha sido reportado ningún biodigestor. En Colombia, es usual que las granjas dispongan de EB, EE y EP. Por lo tanto, se esperaría poder gestionar y valorizar conjuntamente estos tres residuos. Sin embargo, no se tiene claro cuál sería la mejor o mejores combinaciones de los tres estiércoles y la proporción de mezcla para realizar una codigestión (CoDA) con elevado rendimiento. La operación del biodigestor requiere de la dilución del estiércol con agua, para facilitar el flujo de la carga alimentada de forma continua y garantizar una permanente producción de metano. Se ha demostrado que los rangos óptimos de dilución (V/V) de estiércol-agua son: 1:3 para EB, 1:3 para EE y 1:7 para EP (Castro, L., Mojica, A., Tovar., Quintero, M. & Escalante, H., 2018). En la CoDA se debe establecer la sinergia entre los sustratos para aumentar la producción de biogás, en comparación con la monodigestión. Autores como Cavinato, C., Cavinato, F., Bolzonella D. & Pavan, P. (2011), y Shah, F., Mahmood, Q., Rashid, N., Pervez, A., Raja I. & Shah M. (2015) afirman que la CoDA puede aumentar la producción de biogás de 25% a 400% sobre la DA de los mismos sustratos. Sin embargo, este es un proceso desafiante debido a los problemas de estabilidad y optimización (Estévez, J., 2018, p. 28.).

Para establecer las condiciones de operación de un BTBC mediante CoDA, se requiere caracterizar de forma bioquímica las mezclas de cosustratos. Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fin de carrera (modalidad investigación) fue evaluar mediante el parámetro PBM, en términos de rendimiento productivo de biogás, cuál es la mejor mezcla y dilución de los estiércoles bovino, porcino y equino. El indicador de este trabajo entrega los mejores

rendimientos para diferentes alternativas de mezclas, los cuales a futuro brindan una alternativa para la puesta en marcha de un biodigestor doméstico, dada la disponibilidad de los estiércoles en las granjas.

1. Marco Teórico

1.1. Digestión Anaerobia (Da)

La DA es un proceso biológico que permite biodegradar la materia orgánica y producir biogás por acción de un grupo de bacterias en ausencia de oxígeno. El biogás producido está compuesto principalmente por metano y dióxido de carbono, los cuales contribuyen a la generación de calor y electricidad. (Surendra, K. C., Takara, D., Hashimoto, A. G. & Khanal, S. K., 2014. p. 846-850). La ruta metabólica de la DA comprende las etapas de: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis.

En la primera etapa se degradan los carbohidratos, lípidos y proteínas para formar azúcares, ácidos grasos y aminoácidos (Vasco Correa, J., Khanal, S., Manandhar, A. & Shah, A., 2017. p. 1015-1026). La hidrólisis es la etapa más activa, pero a su vez la más lenta, esto se debe principalmente a las moléculas de gran complejidad que deben ser degradadas. Se tiene reporte del uso de pretratamientos iniciales para facilitar y acelerar el proceso (Amani, T., Nosrati, M. & Sreekrishnan, T. R., 2010. p. 255-278).

En la acidogénesis, las moléculas que resultan de la primera fase son transformadas por bacterias acidogénicas-fermentativas en ácidos grasos volátiles, compuestos por tres carbonos o más como: ácido butírico y ácido propiónico, también hidrógeno, dióxido de carbono y algunos alcoholes (Cherosky, P. B., 2012).

En fase de acetogénesis, la transformación se desarrolla por medio de bacterias acetogénicas por oxidación anaerobia de los alcoholes y ácidos grasos, transformándose en acetatos principalmente, así como en dióxido de carbono e hidrógeno, el cual controla la

conversión debido a la concentración de éste en la mezcla (Appels, L., Baeyens, J., Degreè, J. y Dewil, R., 2008. p. 755-781).

La última fase corresponde a la metanogénesis, donde se da la participación de los distintos grupos de bacterias metanogénicas para producir metano por dos diferentes caminos. En el primero el acetato se divide para formar metano y dióxido de carbono, y en el segundo camino se utiliza el hidrógeno como donador de electrones y el dióxido de carbono es reducido para producir metano (Surendta, K. C., Takara, D., Hashimoto, A. G. & Khanam S. K., 2014. p. 846-859).

Es de resaltar la ventaja de utilizar estiércol como sustrato para DA, dado que ya contiene su propio inóculo, por la presencia de consorcios microbianos (Alzate, M. S. y Quintero, M. J. 2016. 117-123) (Mönch-tegeder, M., Lemmer, A. y Oechsner, H. 2014. 523-530) (Villar, I., Alves, D. y Mato, S. 2017. 498-507).

1.2. Parámetros y Variables de la Digestión Anaeróbica

1.2.1. Temperatura Según el rango de temperatura la DA se puede clasificar: psicrófilo ($T^{\circ} < 20^{\circ}\text{C}$), mesófilo ($20^{\circ}\text{C} < T^{\circ} < 40^{\circ}\text{C}$) y termófilo ($40^{\circ}\text{C} > T^{\circ}$). Los procesos mesófilos y termófilos (especialmente entre 50°C - 60°C) presentan los resultados más sobresalientes, mientras que aquellos llevados a cabo por debajo de los 20°C tienden a generar aumento en la acumulación de ácidos grasos volátiles, una baja eficiencia en la reducción de la demanda química de oxígeno y una menor calidad y producción de biogás, en especial con sustratos de alto contenido lignocelulósico (Álvarez, R. & Lidén, G., 2008. p. 7278-7284).

1.2.2. PH El proceso de DA presenta su mejor rendimiento a pH en un rango entre 6,5-7,5 dado que se evita la acidificación. Si el proceso se aleja de estos valores puede afectar etapas como la hidrólisis, metanogénesis o algunos componentes como los consorcios microbianos en especial bacterias acidogénicas y metanogénicas llevando a una inhibición del proceso (Zhai, N., Zhang, T., Yin, D., Yang, G., Wang, X., Ren, G. & Feng., 2015. p. 126-131).

1.2.3. Ácidos grasos volátiles (AGV) Los AGV son los ácidos grasos de cadena corta que pueden ser destilados a presión atmosférica. Estos forman el producto principal de la etapa acidogénica de la DA (Kuruti, K., Nakkasunchi, S., Begum, S., Juntupally, S., Arelli, V. & Anupaju, G. R., 2017, vol. 238, pp. 188–193).

De su concentración depende que se produzca como una inhibición como también una producción favorable de metano. Un factor para tener presente es la cantidad de ácido propiónico debido a que suele ser un indicador de desbalances y fallas en el proceso.

1.2.4. Potencial bioquímico de metano (PBM) Este es un parámetro para la caracterización y posterior evaluación de los sustratos. Se define como el máximo potencial para producir biogás en condiciones anaeróbicas, a partir un determinado sustrato. La determinación del PBM se basa en la medición del metano producido hasta obtener un estado estable, por consiguiente, el tiempo del ensayo depende del tipo de sustrato (Kafle, G. K. y Chen, L., 2016. p. 492-500).

1.2.5. Actividad metanogénica específica (AME) Es la capacidad de la biomasa microbiana para convertir un sustrato específico como hidrógeno, acetato o propionato, en metano. Normalmente se expresa en términos de la Demanda Química de Oxígeno (DQO) que es convertida a metano. Conocer AME se considera importante dado que permite evaluar el arranque de reactores anaerobios y también permite la optimización del proceso (Le Hyaric, R., Chardin, C., Benbelkacem, H., Bollon, J., Bayard, R., Escudié, R. y Buffière, P., 2005. p. 822-827).

1.2.6. Demanda química de oxígeno (DQO) La DQO es la cantidad de masa de oxígeno necesaria para oxidar la materia orgánica e inorgánica (metales, sulfatos o nitratos) presente en el sustrato. Debido a la rapidez de su análisis es un parámetro muy útil como indicador de la remoción orgánica y del rendimiento del proceso.

2. Metodología

El diseño metodológico se orientó hacia la determinación de la producción de biogás a partir de estiércoles (PBM) y la relación que se presenta entre las mezclas de disolución de estiércol. El desarrollo experimental de este trabajo se llevó a cabo en tres etapas: la primera consistió en la caracterización física de los estiércoles EE, EB, EP. En la segunda se realizó un Diseño estadístico simplex {3,3} aumentado con puntos axiales para analizar los 3 componentes y sus

mezclas. Finalmente, se determinó la producción de biogás y la sinergia entre las mezclas de disolución de estiércol, obtenidas del diseño de experimentos.

2.1. Recolección y Caracterización de los Sustratos

Los sustratos utilizados fueron EE, EB y EP, recolectados en una finca campesina ubicada a 30 minutos (Lat. N 7°11'40,1", Long. 73°04'34,7") en la vía que comunica a la ciudad de Bucaramanga con el municipio de Matanza, Santander. Esta finca cuenta con las tres especies de animales productoras de estos estiércoles (8 bovinos, 2 equinos y 2 cerdos), además del servicio de agua. La temperatura ambiente en la noche y la madrugada alcanza valores inferiores a 20 ± 2 °C y durante el día la temperatura promedio es de 22 ± 2 °C y 28 ± 2 °C en el día.

Los bovinos y equinos con los que cuenta la finca tienen periodos de estabulación de 12 horas. Por otra parte, los porcinos se encuentran las 24 horas en el corral.

La recolección de los estiércoles se realizó a las 7:00 a.m. En su respectivo establo, el EB y EP fue recogido con pala y almacenado en un contenedor plástico para su transporte. De la misma forma fue recogido el EE en la zona de alta vegetación. Los recipientes fueron almacenados a 4 ± 2 °C en el laboratorio de biotecnología de la Escuela de Ingeniería Química.

Los sustratos (EE, EB y EP) fueron caracterizados mediante pruebas de densidad, ST y SV de acuerdo con los protocolos establecidos por APHA, AWWA & WEF. (2005). Las pruebas se realizaron por triplicado para garantizar estabilidad y valores de referencia.

2.2. Diseño Estadístico de Mezcla de Sustratos

Dada la aleatoriedad y las diferentes formas de mezclar los componentes (estiércoles), se implementó un diseño estadístico enrejado simplex $\{3,3\}$ aumentado con puntos axiales. El diseño experimental se representa con un triángulo equilátero (figura 1). El simplex consta de 13 puntos (relaciones en porcentaje peso a peso de mezcla de diluciones), donde los vértices corresponden a la monodigestión de cada sustrato (soluciones de estiércoles puros). Los puntos sobre los ejes son las porciones binarias y los puntos del interior del simplex coinciden con las proporciones ternarias (Tabla 1).

El software STATGRAPHICS Centurion XVI versión 16.1.11 se empleó para generar y analizar el diseño en referencia. El test LSD Fisher se utilizó para determinar las diferencias estadísticamente significativas de las monodigestiones, digestiones binarias y ternarias con un intervalo de confianza del 95%.

Figura 1. Diseño gráfico enrejado de simplex $\{3, 3\}$ aumentado con puntos axiales

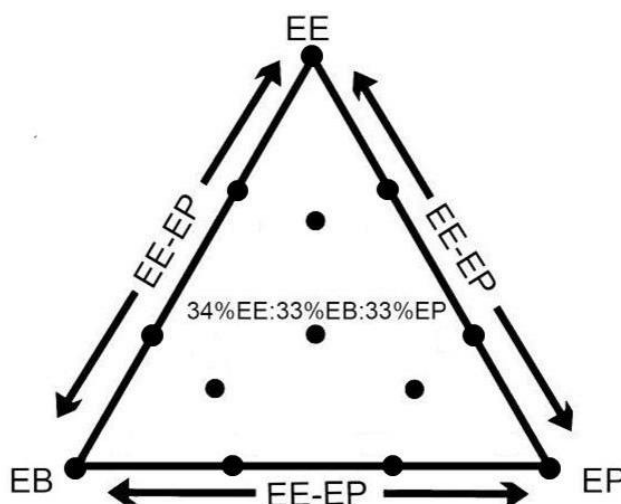


Tabla 1. Porcentajes de dilución de estiércol puro en cada experimento en %P/P

		Experimento												
Dilución [%p/p]		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
	EE	100	0	0	67	67	33	0	33	0	34	66	17	17
	EB	0	100	0	33	0	67	67	0	33	33	17	66	17
	EP	0	0	100	0	33	0	33	67	67	33	17	17	66
Tipo Digestión		Mono			Binaria						Ternaria			

Para los 13 experimentos se determinó la masa de agua y de estiércol puro, teniendo en cuenta 60g de capacidad de carga en los reactores y siguiendo las relaciones estiércol-agua 1:3, 1:3 y 1:7 para estiércol equino, bovino y porcino respectivamente Castro, L., Mojica, A., Tovar., Quintero, M. & Escalante, H. (2018), ver Tabla 2. La información específica de cada experimento se muestra en el anexo E.

Tabla 2. Porcentaje peso a peso de estiércol y agua en cada experimento

		Experimento												
[%p/p]		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
	EE	25	0	0	16,7	16,7	8,3	0	8,3	0	8,5	16,5	4,2	4,2
	EB	0	25	0	8,3	0	16,7	16,7	0	8,3	8,2	4,2	16,5	4,2
	EP	0	0	12,5	0	4,2	0	4,2	8,3	8,3	4,2	2,2	2,2	8,3
H ₂ O		75	75	87,5	75	79,1	75	79,1	83,4	83,4	79,1	77,1	77,1	83,3
Tipo Digestión		Mono			Binaria						Ternaria			

2.3. Determinación del Potencial de Biometanización de los Sustratos y Sus Mezclas.

El ensayo de metanización se llevó a cabo por triplicado a $37 \pm 2^\circ\text{C}$ para los sustratos en diluciones y mezclas específicas, siguiendo el protocolo propuesto por Holliger, C., Alves, M., Andrade, D., Angelidaki, I., Astals, S., Baier, U., & Wierinck, I. (2016).

Se utilizaron reactores de 100 ml para mantener condiciones y propiedades termodinámicas constantes, con un volumen de operación de 60 ml, dejando el volumen restante para la acumulación de biogás. Los reactores fueron sellados con tapón de butilo y agrafe metálico y purgados con N_2 para obtener condiciones anaerobias. Se cuantificó el volumen de metano durante 30 días utilizando el método de desplazamiento alcalino (anexo C). La ecuación (1) se utilizó para llevar a condiciones normales el volumen de metano producido. La variable de respuesta fue el PBM representada con la ecuación (2).

$$V_0 = V \frac{(P - P_v)T_0}{P_0 T} \quad (1)$$

V_0 : Volumen de gas seco en condiciones normales [N-lCH_4]
 V : Volumen registrado de biogás en la medición
 P : Presión de la fase de biogás en el momento de la lectura
 P_v : Presión de vapor en función de la temperatura ambiente
 T_0 : Temperatura normal (273,15K)
 P_0 : Presión normal (101325Pa)
 T : Temperatura ambiente

$$PBM = \frac{V_0}{SV} \quad (2)$$

PBM : Potencial de biometanización [$\text{N-lCH}_4/\text{kg sv}$ adicionados]
 SV : Sólidos volátiles [kg sv]

Para determinar el potencial energético calórico se utilizó el factor de conversión $3,8 \text{ kWh/m}^3$ CH_4 . (Lombardi, M. and Tricase, C., 2009).

2.4. Determinación De La Sinergia De Las Co Digestiones.

La sinergia (Φ) se refiere a la descripción del trabajo colectivo de varios actores, creando así un efecto más grande que el esperado por la suma de los efectos de cada uno al operar independientemente (Van Gerven, T., Stankiewicz, A., 2009).

Para calcular los efectos sinérgicos de la codigestión anaeróbica se realizó una comparación de la producción específica de metano de cada codigestión ($PBM_{co-digestión}$) con el PBM ponderado ($PBM_{ponderado}$) de acuerdo con la ecuación (3) propuesta por Labatut, R. A., Angenent, L. T., & Scott, N. R. (2011).

$$(\Phi) = \frac{PBM_{co-digestión}}{PBM_{ponderado}} \quad \text{Ecuación (3)}$$

$$PBM_{ponderado} = PBM_1 * f1 + PBM_2 * f2 + \dots + PBM_n * fn \quad \text{Ecuación (4)}$$

Donde PBM_n representa la producción de metano de las monodigestiones del componente n . Los valores de $f1, f2, \dots, fn$ son las fracciones de SV adicionados de según el componente n . Según los valores resultados para Φ se puede determinar el efecto de la combinación, como se muestra en la tabla 3.

Tabla 3. Significado del valor Φ

RESULTADO	DESCRIPCIÓN
$\Phi > 1$	Existe efecto sinérgico
$\Phi < 1$	Existe efecto antagónico
$\Phi = 1$	El resultado no es claro

3. Resultados

3.1. Caracterización Física de los Estiércoles

En la Tabla 4 se presentan los resultados de la caracterización física de los estiércoles. Los resultados muestran que las densidades del EB y el EE 0,99g/ml y 0,97g/ml respectivamente, poseen densidades equivalentes a la del agua, por lo cual la homogeneidad en las diluciones se ve mejorada. En el estiércol porcino (EP) se evidenció la densidad más baja por lo cual se generaron suspensiones en la dilución, similar a lo reportado por (André, L., Pauss, A. & Ribeiro, T., 2018. p. 1027-1037).

Tabla 4. Caracterización física de los estiércoles sin diluir

Estiércol	Densidad [g/ml]	Muestra [gSV/kg]	Biodegradabilidad [gSV/gST]
EB	0,99	151,23	80,92
EP	0,94	203,99	85,77
EE	0,97	169,19	83,21

La concentración de SV representa la materia orgánica disponible para ser degradada en forma de biogás. Según los resultados, el estiércol porcino y el estiércol equino contienen las mayores concentraciones de materia orgánica, por lo cual son sustratos con mayor potencial para producción de biogás, comparado con el estiércol bovino que tiene el contenido más bajo de materia orgánica.

3.2. Potencial de Biometanización (PBM) de Estiércoles y sus Mezclas

La figura 2 muestra las cinéticas de rendimiento de biogás para monodigestión, la digestión binaria (figura 3) y digestión ternaria (figura 4). Analizando la figura 2, el comportamiento de la cinética del experimento 1 (estiércol equino) se divide en dos fases; la primera es una hidrólisis rápida (degradación de materia orgánica soluble fácilmente biodegradable) hasta el día 16, y la segunda corresponde a una hidrólisis lenta de las fibras y material particulado presente en el estiércol equino, hasta el final del proceso. Este ensayo alcanzó el mayor rendimiento de biogás comparado con el EB y EP con un valor de PBM de 17,09 N-ICH₄/kg SV. Lo anterior, debido a que el estiércol equino tiene una alta actividad hidrolítica (0,0231gDQO/gSV) y metanogénica (0,0234gDQO/gSV) Castro, L., Mojica, A., Tovar., Quintero, M. & Escalante, H. (2018). En cuanto al experimento 2 (monodigestión de estiércol bovino) se presenta una conversión de la materia orgánica hasta el día 10 y posteriormente se alcanza el estado estacionario con el rendimiento más bajo de metano 10,44 N-ICH₄/kg SV comparado con EE y EP. De acuerdo con estos resultados, el estiércol bovino es una matriz que requiere un cosustrato para aumentar su producción de biogás. La monodigestión de estiércol porcino (experimento 3) alcanzó el estado estacionario en el día 20 con un rendimiento de 15,13% más bajo que el estiércol equino. Estos resultados se presentan porque el estiércol porcino presenta compuestos inhibitorios como el amonio (en promedio concentración de amonio de 2,73g/L) que afectan su rendimiento de biogás. (Castro, L., Mojica, A., Tovar., Quintero, M. & Escalante, H., 2018b). En términos estadísticos, la figura 5 muestra que los valores de PBM de las monodigestiones presentaron diferencias significativas (p value $5,04 \times 10^{-5}$) entre los 3 experimentos.

En la figura 3 (digestiones binarias de estiércoles; experimentos 4, 5, 6, 7, 8 y 9) se observa que la cinética de rendimiento de biogás presenta dos fases, en la primera todos los experimentos tienen un comportamiento similar hasta el día 13, intervalo de tiempo en el cual hay una rápida degradación de la materia orgánica. En la segunda fase (día 13 al día 30) se establecen diferentes comportamientos en cada uno de los experimentos. Las mezclas que contienen estiércol equino presentaron los mayores rendimientos; 51,24N- $\text{ICH}_4/\text{kg SV}$, 46,61N- $\text{ICH}_4/\text{kg SV}$, 41,78N- $\text{ICH}_4/\text{kg SV}$ para los experimentos 5, 6 y 8 respectivamente. Los resultados indican que la mezcla estiércol equino y estiércol porcino presenta las mejores propiedades bioquímicas para alcanzar altos rendimientos de metano. Los experimentos 7, 9 y 4 mostraron los rendimientos más bajos de metano 16,46N- $\text{ICH}_4/\text{kg SV}$, 19,53N- $\text{ICH}_4/\text{kg SV}$ y 25,09N- $\text{ICH}_4/\text{kg SV}$ respectivamente. Lo anterior, demuestra que mezclar estiércol bovino y porcino mejora en baja proporción el rendimiento de metano, con respecto a las mezclas binarias. Los resultados estadísticos de los experimentos 4 al 9 (mezclas binarias) señalan que existen diferencias significativas ($p \text{ value } 2,95 \cdot 10^{-14}$) entre ellos (Figura 5). Comparando los experimentos 7 y 9 por análisis de dos muestras, se presenta que no hay diferencias significativas con un valor de p de 0,0581.

La figura 4, que corresponde a las mezclas ternarias presenta un comportamiento similar a las mezclas binarias. Por lo cual se puede inferir que cuando se realiza una mezcla de dos o más sustratos, el comportamiento cinético se divide en dos fases. Una fase donde se alcanza el estado estacionario, que para este estudio (mezclas binarias y ternarias) fue en promedio el día 13 y una segunda fase con bifurcaciones donde los rendimientos se diferencian hasta el día 30. Los experimentos con mayor contenido de estiércol equino presentaron PBM de

51,24N-ICH₄/kg SV y 41,78 N-ICH₄/kg SV. Estos resultados se correlacionan con los rendimientos de metano que reportaron las mezclas binarias. Estadísticamente, las mezclas ternarias tienen diferencias significativas (*p value* $2,04 \times 10^{-09}$). Sin embargo, al hacer la comparación de dos muestras para los experimentos 10 y 11, el valor de (*p value* 0,958), indica que no existen diferencias significativas entre estos ensayos, por lo cual se infiere que la cantidad de estiércol equino es el factor más influyente en la codigestión. El análisis de los experimentos demuestra que los estiércoles equino y porcino presentan los mejores rendimientos en una digestión anaerobia y que el estiércol bovino requiere un cosustrato para aumentar la carga orgánica biodegradable del proceso. En este sentido, Escalante et al; en 2018 determinaron que el lactosuero es uno de los mejores cosustratos para el estiércol bovino por su concentración de materia orgánica soluble fácilmente biodegradable (Escalante, H., Castro, L., Amaya, M. P., Jaimes, L. & Jaimes-Estévez, J., 2018, p. 711-718).

Figura 2. Cinética de rendimiento de metano: Monodigestión de estiércoles

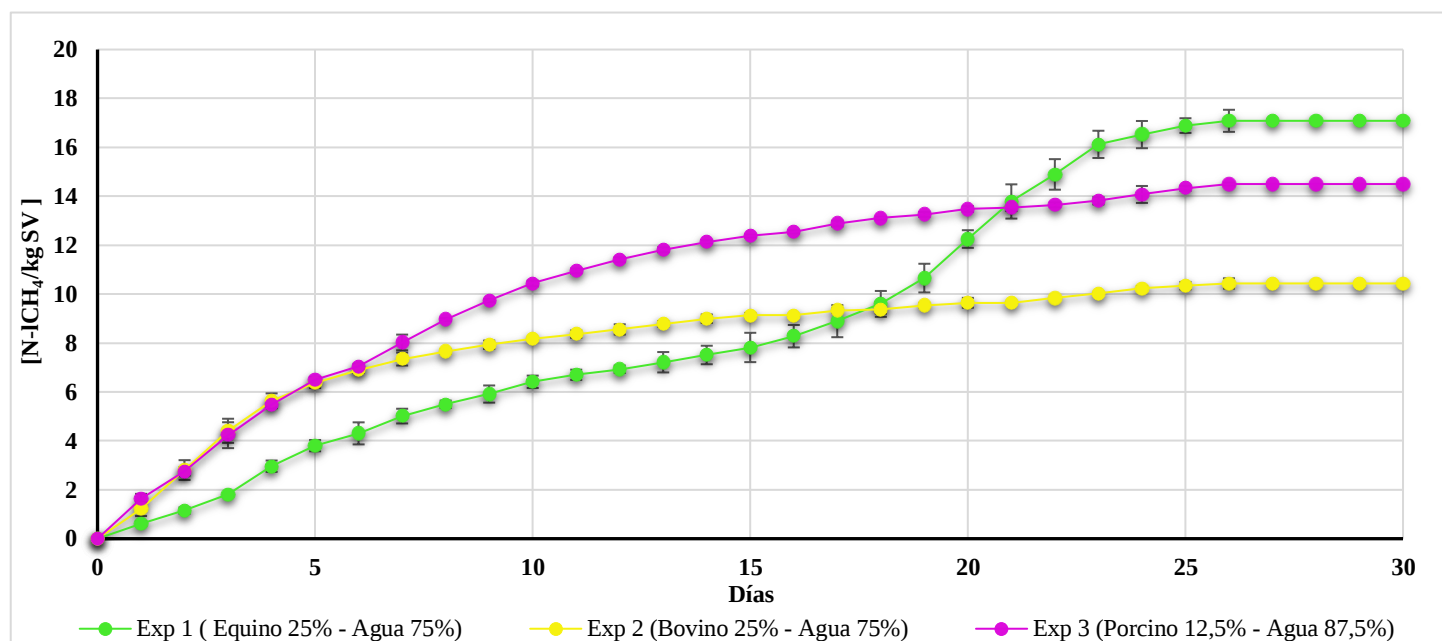


Figura 3. Cinética de rendimiento de metano: Digestión binaria de estiércoles

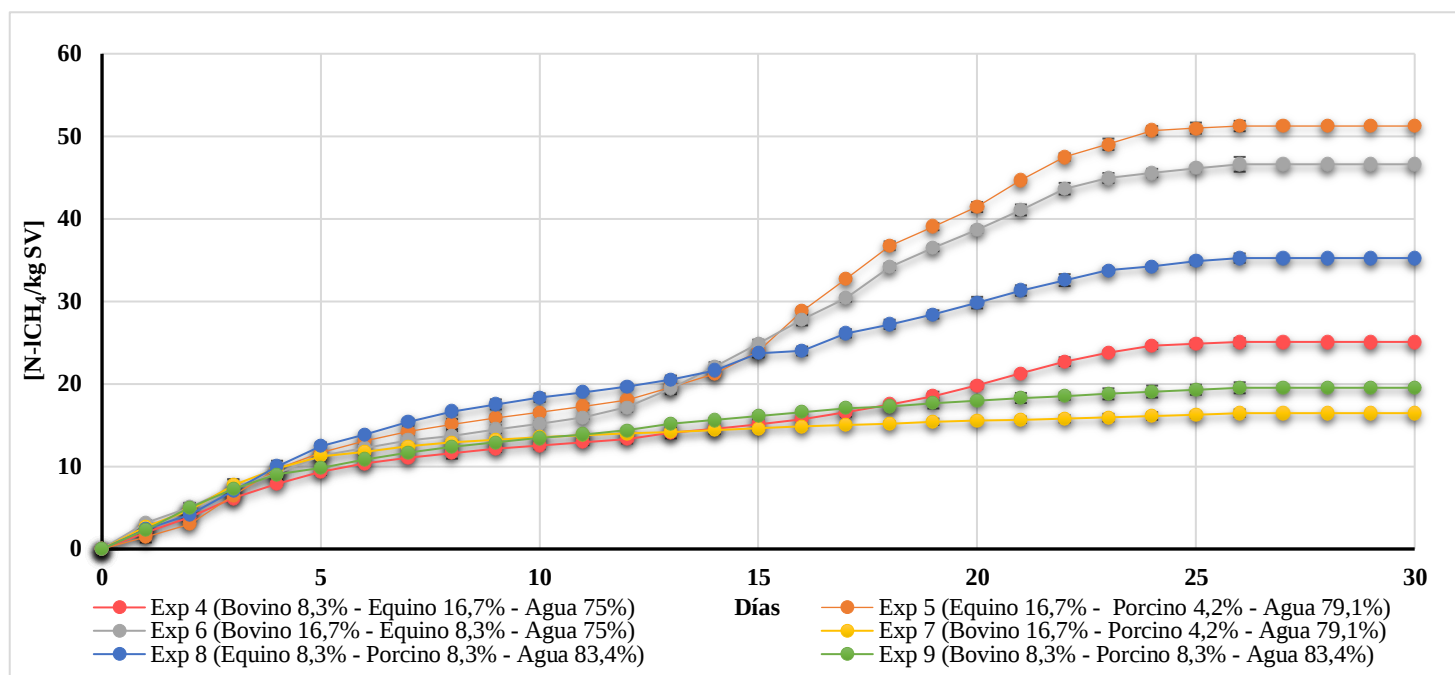


Figura 4. Cinética de rendimiento de metano: Digestión ternaria de estiércoles

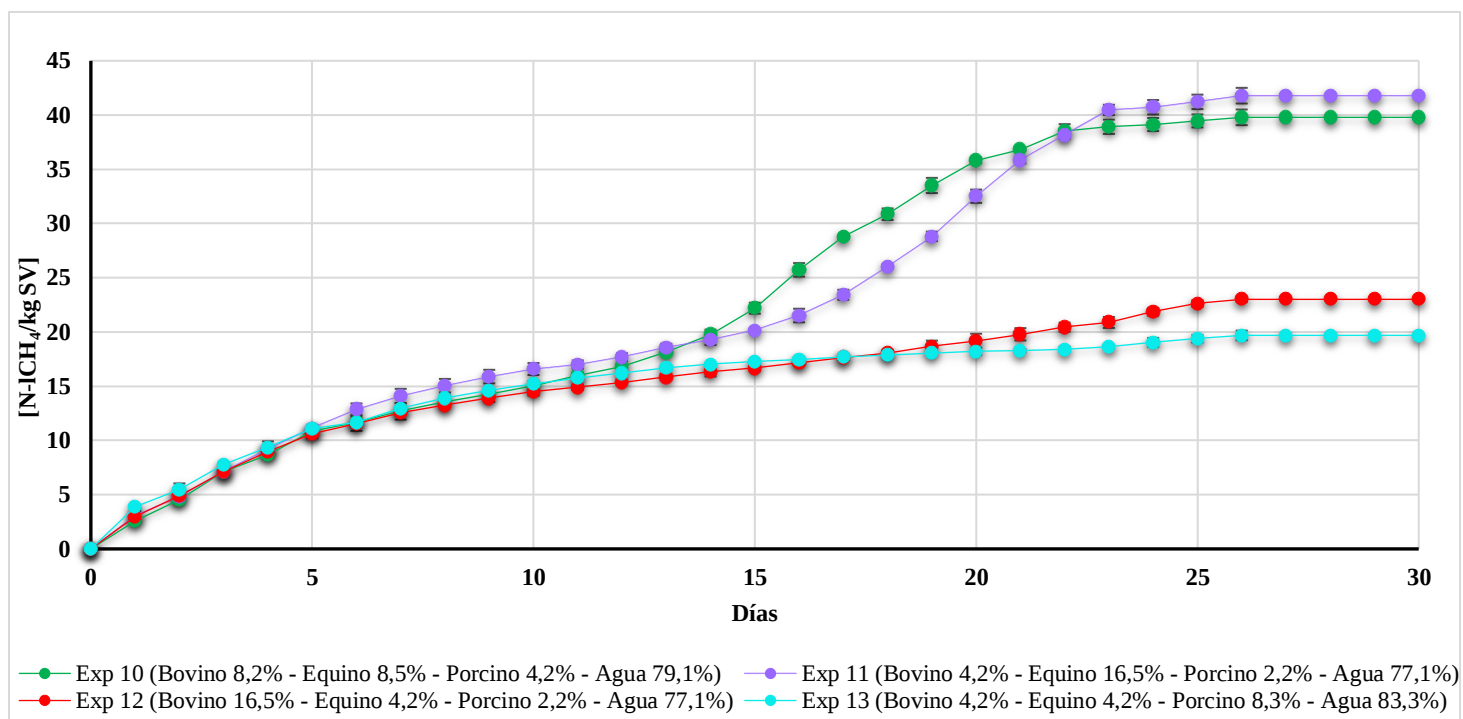
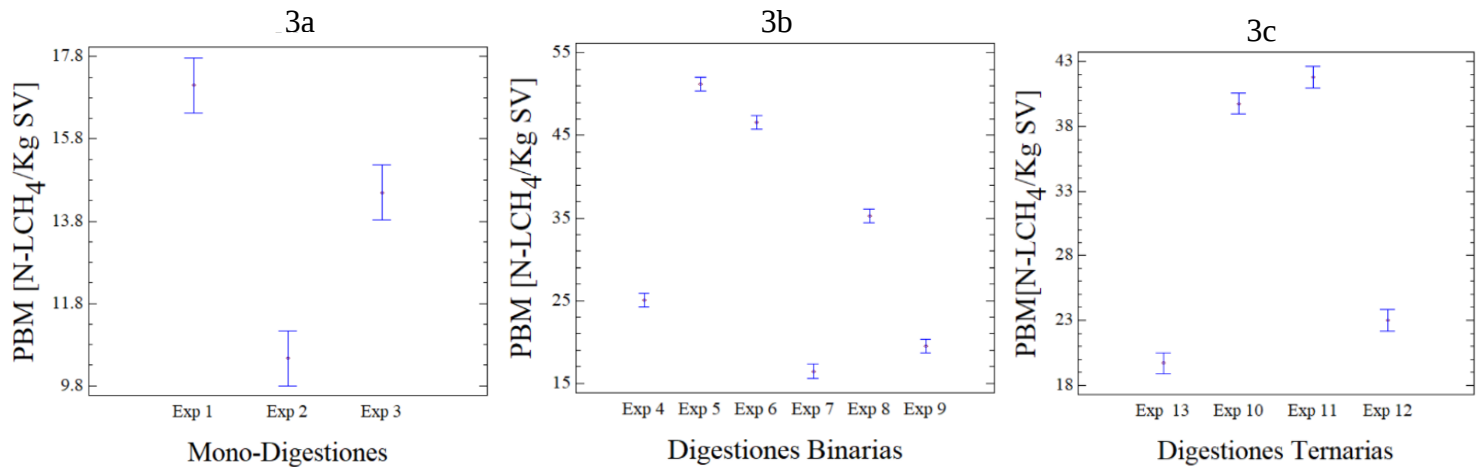


Figura 5. Análisis de medias de los experimentos: 3a. Monodigestiones, 3b. Digestiones Binarias y 3c. Digestiones Ternarias



3.3. Análisis de la sinergia de las digestiones de los estiércoles

La sinergia hace posible un aumento de la biodegradabilidad del sustrato lo cual resulta en un potencial de biometanización mayor al de los sustratos por separado (Mata-Alvarez, J., Dosta, D., Romero-Güiza, J., Fonoll, X., Peces, M. & Astals, S., 2014). Este concepto se evidencia con los resultados de este trabajo de investigación (Tabla 5).

Tabla 5. Potencial de biometanización y sinergia de las codigestiones

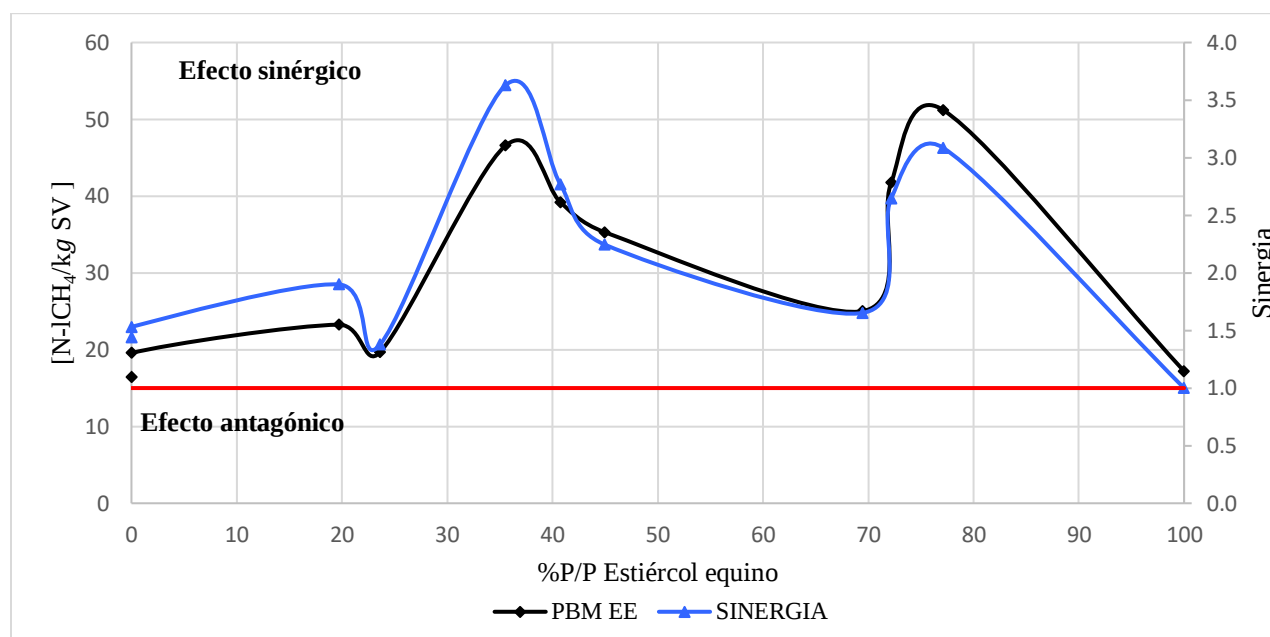
		Dilución [%p/p]				
	Experimento	EE	EB	EP	SINERGIA	PMB [N-ICH ₄ /kg SV]
Binario	4	69,4	30,6	0	1,65	25
	5	77,1	0	22,9	3,09	51,2
	6	35,5	64,5	0	3,63	46,6
	7	0	75,1	24,9	1,44	16,5
	8	45	0	55	2,25	35,3
	9	0	42,2	57,8	1,53	19,6
Ternario	10	40,8	35,4	23,9	2,77	39,2
	11	72,2	16,6	11,2	2,65	41,8
	12	19,7	68,4	11,9	1,9	23,3
	13	23,6	21,1	55,3	1,38	19,7

Todas las codigestiones (binarias y ternarias) son sinérgicas ($Syn > 1$). Vale la pena resaltar que a pesar de que todas las mezclas fueron sinérgicas, en el proceso de codigestión, se deben establecer buenas sinergias para aumentar la producción de biogás en comparación con la monodigestión de los estiércoles. En este sentido, en la figura 6 se observa el comportamiento de la sinergia y el PBM con respecto al porcentaje de estiércol equino presente en la mezcla. Se escogió el estiércol equino dado que en su monodigestión tiene el valor más alto (17,22N-ICH₄/kg SV) comparado con los estiércoles bovino y porcino. Los resultados muestran dos picos donde se alcanza la mayor sinergia y los mejores potenciales de biometanización (experimentos 5 y 6). La particularidad que tienen estos ensayos es que son mezclas binarias que contienen estiércol equino. La sinergia de 3,63 corresponde a una mezcla estiércol equino-bovino (experimento 6) en la cual se alcanza un potencial 347% mayor respecto a la monodigestión de estiércol bovino. Estos datos confirman que el estiércol bovino tiene un gran potencial de

biometanización si se mezcla con el cosustrato adecuado. Por ejemplo, si se utiliza estiércol porcino como cosustrato de estiércol bovino (experimento 7) la sinergia disminuye de 3,63 a 1,44. El segundo pico ocurre cuando la sinergia tiene un valor de 3,09 (experimento 5), en este caso la mezcla de dos buenos sustratos (EE y EP) genera un resultado mayor que los estiércoles por separado, complementando sus cualidades bioquímicas y microbiológicas entre sí. Lo anterior, dado que investigaciones previas determinaron que los EE y EP tienen buenos potenciales de biometanización, valores adecuados de actividad hidrolítica y metanogénica (Castro, L., Mojica, A., Tovar., Quintero, M. & Escalante, H., 2018b).

Teniendo en cuenta que la mezcla binaria estiércol porcino-estiércol bovino (experimento 7) presenta una sinergia de 1.4; este patrón se repite en la mezcla terciaria (experimento 13), con el valor más bajo de sinergia que es 1.38. Con respecto a las mezclas binarias, la menor sinergia se da en los experimentos que no contienen estiércol equino (experimentos 7 y 9). Los resultados demuestran que las sinergias más bajas se dan por dos razones: la primera ausencia de estiércol equino y la segunda porque las mezclas no son adecuadas para elevar significativamente el potencial de biometanización de la mezcla, comparado con el de las monodigestiones.

Figura 6. Comportamiento de la sinergia de la codigestión y el PBM a diferentes %P/P de estiércol equino

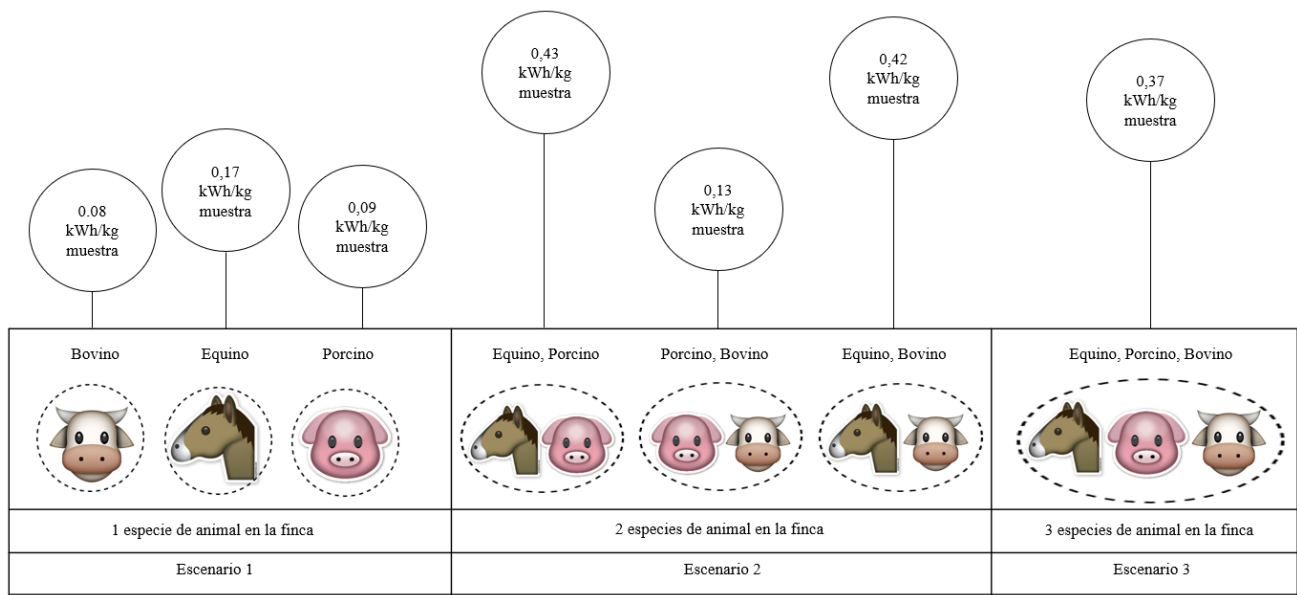


3.4. Análisis del potencial energético de las digestiones de los estiércoles

Los productores agropecuarios presentan diversas situaciones agrícolas, en cuanto a la cantidad y el tipo de animales. Esto permite una variedad de escenarios para realizar un aprovechamiento del estiércol como fuente energética alternativa, principalmente para lugares de difícil acceso. Dentro de las distintas posibilidades y de acuerdo con los resultados mostrados en la figura 7, la mejor situación es contar con equinos y porcinos (0,43kwh/kg muestra) con una relación de mezcla en %P/P de 16,7% y 4,2% respectivamente y el restante en agua. Es de resaltar la mezcla ternaria (0,37kwh/kg), aunque no produzca la mayor cantidad de energía por kilogramo de muestra, es necesario conocer la cantidad de estiércol disponible en la finca para determinar cuál

sería la mejor forma de aprovechamiento. Luego la producción dependerá de los tipos de animales y la cantidad de estiércol que puedan aportar para el proceso de DA.

Figura 7. Escenarios



4. Conclusiones

El potencial de biometanización de las mezclas de cosustratos bovino, equino y porcino fue mayor comparado con las monodigestiones de los estiércoles; lo que indica una mejor gestión y valorización energética a partir de mezclas de estiércoles que por separado.

En términos del proceso anaerobio, todas las mezclas realizadas en este trabajo generaron efecto sinérgico; siendo las mejores las que contienen estiércol equino: mezcla estiércol equino-porcino con una relación en %P/P 8,3% y 16,7% respectivamente y restante en agua, genero la mayor sinergia 3.63 y logro el segundo mejor potencial 46,56N-ICH₄/kg SV, mostrando como el estiércol equino es un excelente cosustrato tanto para el estiércol bovino como porcino y la mezcla estiércol equino-bovino con una relación en %P/P 16,7% y 8,3% respectivamente y restante en agua, alcanzo el mayor PBM de 51.22N-ICH₄/kg SV con una sinergia 3,09 siendo esta la segunda más alta entre todas las codigestiones, indicando como estos estiércoles complementan sus cualidades bioquímicas y microbiológicas para obtener un mayor resultado.

Los estiércoles bovino equino y porcino presentan potenciales energéticos de 0,08kWh/kg, 0,17 kWh/kg y 0,09 kWh/kg respectivamente. La mayor producción de energía es de 0,43 kWh/kg a partir de la mezcla equino bovino y el sustrato que genera menor cantidad de energía es el estiércol bovino con 0,08 kWh/kg de muestra.

Referencias

- Alvarez, R. & Lidén, G. (2008). *The effect of temperature variation on biomethanation at high altitude*. Bioresource Technology., vol 99, pp. 7278–7284.
- Alzate, M. S. & Quintero, M. J. (2016). *Characterization of trophic groups throughout an anaerobic digestion process with cattle manure slurry using a low-cost method*. Revista Investigación, Optimización Y Nuevos Procesos En Ingeniería., vol. 29, pp. 117–123.
- Amani, T., Nosrati, M. & Sreekrishnan, T. R. (2010). *Anaerobic digestion from the viewpoint of microbiological, chemical, and operational aspects — a review*. Environmental Reviews., vol. 18, pp. 255–278.
- 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 and Technology., vol. 59, pp. 927–934.
- Angelidaki, I., Karakashev, D., Batstone, D. J., Plugge, C. M. Y Stams, A. J. M. (2011). *Biomethanation and its potential*. Methods in Enzymology, vol. 494, pp. 327-351.
- Disponible en:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123851123000160?via%3Dihub>

- Astals, S., Batstone, D. J., Tait, S. & Jensen, P. D. (2015). *Development and validation of a rapid test for anaerobic inhibition and toxicity*. Water Research., vol. 81, pp. 208-215.
- Bolívar, H. E. (2012). *Propuesta para el diseño de un biodigestor para el aprovechamiento de la materia orgánica generada en los frigoríficos de Bogotá*. Tesis de pregrado. Universidad Distrital Francisco José de Caldas. Bogotá. Disponible en: <http://udistrital.edu.co:8080/documents/138588/3154083/DOCUMENTO+FINAL.pdf>
- Botero Botero, R. & Preston, T. R. (1987). *Biodigestor de bajo costo para la producción de combustible y fertilizante a partir de excretas*. Bbc. pp. 1-20. Disponible en: <http://www.produccion-animal.com.ar/Biodigestores/04-biodigestores.pdf>
- Burke, D. A. (2001). *Dairy Waste Anaerobic Digestion Handbook: Options for Recovering Beneficial Products From Dairy Manure*. Olympia: Environmental Energy Company. pp. 1-54. Disponible en: <http://www.makingenergy.com/Dairy%20Waste%20Handbook.pdf>
- Castro, L., Mojica, A., Tovar., Quintero, M. & Escalante, H. (2018b). *Efecto de la dilución agua/estiércol sobre la actividad microbiana y el potencial de biometanización en procesos anaerobios*. Encuentro RedBioLac. Recuperado de: <http://redbiolac.org/wp-content/uploads/01.08-Liliana-Castro-Efecto-de-la-dilucio%CC%81n-de-estie%CC%81rcoles-COLOMBIA.vf2-ilovepdf-compressed.pdf>
- Cavinato, C., Cavinato, F., Bolzonella D. & Pavan, P. (2011). Thermophilic anaerobic co-digestion of cattle manure with agro-wastes and energy crops: comparison of pilot and full scale experiences. Bioresource technology, 101(2), pp. 545-550.

Cherosky, P. B. (2012). *Anaerobic Digestion of Yard Waste and Biogas Purification by Removal of Hydrogen Sulfide*. Tesis de Maestría. The Ohio State University.

Escalante, H., Castro, L., Amaya, M. P., Jaimes, L. & Jaimes-Estévez, J. (2018). *Anaerobic digestion of cheese whey: Energetic and nutritional potential for the dairy sector in developing countries*. Waste Management, 71, 711-718.

Esposito, G. (2012). *Bio-Methane Potential Tests To Measure The Biogas Production From The Digestion and Co-Digestion of Complex Organic Substrates*. The Open Environmental Engineering Journal.. vol.

Estévez, J. (2018). *Diseño de un proceso integral de la codigestión anaeróbica del lactosuero mediante la optimización de la sinergia de sustratos, que permita la producción de biogás y estruvita*. Tesis de maestría. Bucaramanga, Universidad Industrial de Santander.

Garfí, M., Martí-Herrero, J., Garwood, A., & Ferrer, I. (2016). *Household anaerobic digesters for biogas production in Latin America: A review*. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 60, p. 599-614.

Holliger, C., Alves, M., Andrade, D., Angelidaki, I., Astals, S., Baier, U., & Wierinck, I. (2016). *Towards a standardization of biomethane potential tests*. Water Science and Technology, 74(11), p. 2515–2522. Recuperado de: <https://doi.org/10.2166/wst.2016.336>

Instituto Colombiano Agropecuario. (2017). *Censo Bovino, Equino y Porcino en Colombia*. Censo Pecuario Nacional. Disponible en:

<https://www.ica.gov.co/Areas/Pecuaria/Servicios/Epidemiologia-Veterinaria/Censos-2016/Censo-2017.aspx>

Kafle, G. K. & Chen, L. (2016). *Comparison on batch anaerobic digestion of five different livestock manures and prediction of biochemical methane potential (BMP) using different statistical models*. Waste Management. vol. 48, pp. 492–50.

Labatut, R. A., Angenent, L. T., & Scott, N. R. (2011). *Biochemical methane potential and biodegradability of complex organic substrates*. Bioresource Technology, 102(3), p. 2255-2264.

Le Hyaric, R., Chardin, C., Benbelkacem, H., Bollon, J., Bayard, R., Escudié, R. & Buffière, P. (2005). *Influence of substrate concentration and moisture content on the specific methanogenic activity of dry mesophilic municipal solid waste digestate spiked with propionate*. Bioresource Technology. vol. 102, pp. 822–827.

Lombardi, M. and Tricase, C. (2009). *State of the art and prospects of Italian biogas production from animal sewage. Technicaleconomic considerations*. Renewable Energy, 34(3), p. 477- 485. DOI: 10.1016/j.renene.2008.06.013

Mantilla-Avila., L. (2016). *Implementación de un reactor rural para la digestión anaerobia de estiércol de bovino en la finca la Marcella*. Tesis de pregrado. Universidad Industrial de Santander.

Martí Herrero, J. (2008). *Biodigestores familiares: Guía de diseño y manual de instalación*. Proyecto EnDev Bolivia – acceso a Energía GTZ. Disponible en: <http://www.bivica.org/upload/biodigestores-familiares.pdf>

- Mata-Alvarez, J., Dosta, D., Romero-Güiza, J., Fonoll, X., Peces, M. & Astals, S. (2014). *A critical review on anaerobic co-digestion achievements between 2010 and 2013*. Renewable and Sustainable Energy Reviews, vol. 36, p. 412–427.
- Mojica, A. & Tovar, B. (2018). *Potenciales de biometanización y actividades microbiológicas de estiércoles: bovino, porcino y equino a diferentes diluciones*. Bucaramanga, Universidad Industrial de Santander. Pp. 32-45.
- Mönch-Tegeder, M., Lemmer, A. & Oechsner, H. (2014). *Enhancement of methane production with horse manure supplement and pretreatment in a full-scale biogas process*. Energy. vol. 73, pp. 523–530.
- Olaya, Y. & González, L. (2009). *Fundamentos para el diseño de biodigestores: Modulo Para La Asignatura de Construcciones Agrícolas*. Palmira, Universidad Nacional de Colombia. Disponible en: <http://www.bdigital.unal.edu.co/7967/4/luisoctaviogonzalezsalcedo.20121.pdf>
- Perfetti, M., Corral, D., Carlos, S., & Prada, F. (2017). *Cuentas Trimestrales -Colombia Producto Interno Bruto (PIB) Segundo Trimestre de 2017*. Disponible en: <https://www.minagricultura.gov.co/noticias/Paginas/El-agro-fue-el-jalonador-de-la-econom%C3%ADa-durante-2017,-presentando-una-variaci%C3%B3n-en-el-PIB-de-4,9.aspx>
- Rodríguez, L. (2016). *La fundación UTA y la promoción de los sistemas integrados sostenibles*. En: RedBioCol. Abril. Vol. 1, pp. 35–38.

- Sagarpa. (2000). *Utilización de estiércoles*. Disponible en: <http://www.sagarpa.gob.mx/desarrolloRural/Documents/fichasaapt/Utilizaci%F3n%20de%20esti%20E9rcoles.pdf>
- Shah, F., Mahmood, Q., Rashid, N., Pervez, A., Raja I. & Shah M. (2015). Co-digestion, pretreatment and digester design for enhanced methanogenesis. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 42, pp. 627-642.
- Surendra, K. C., Takara, D., Hashimoto, A. G. & Khanal, S. K. (2014). *Biogas as a sustainable energy source for developing countries: Opportunities and challenges*. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. vol. 31, pp. 846–85.
- Stromberg, S., Nistor, M., & Liu, J. (2014). *Towards eliminating systematic errors caused by the experimental conditions in Biochemical Methane Potential (BPM) tests*. *Waste Management*. vol. 34, pp. 1939-1948.
- Van Gerven, T., Stankiewicz, A. (2009). Structure, energy, synergy, time-the fundamentals of process intensification. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 48(5), 2465-2474.
- Vasco-Correa, J., Khanal, S., Manandhar, A. & Shah. (2017). *Anaerobic digestion for bioenergy production: Global status, environmental and techno-economic implications, and government policies*. *Bioresource Technology*. vol. 247, pp. 1015–1026.
- Villar, I., Alves, D. & Mato, S. (2017). *Product quality and microbial dynamics during vermicomposting and maturation of compost from pig manure*. *Waste Management*. vol. 69, pp. 498–507.

Zhai, N., Zhang, T., Yin, D., Yang, G., Wang, X., Ren, G. & Feng, Y. (2015). *Effect of initial pH on anaerobic co-digestion of kitchen waste and cow manure*. Waste Management. vol. 38, pp. 126–131.

Apéndice

Apéndice A. pH

1. Calibrar el pH-metro con soluciones tampón.
2. Una vez calibrado el pH-metro, introducir el electrodo a la muestra a analizar.
3. Esperar que se estabilice el valor mostrado en el pH-metro.
4. Registrar el dato.
5. Lavar correctamente el electrodo con agua destilada y guardarlo en la solución correspondiente para evitar un daño en el mismo.

Apéndice B. Sólidos totales (ST) y sólidos volátiles (SV)

1. Pesar los crisoles en una balanza. **A**
2. Agregar a cada crisol una alícuota homogenizada de la muestra a analizar. Pesar nuevamente los crisoles. **B**
3. Llevar los crisoles al horno a 103°-105°C durante 24-48 horas hasta que la muestra esté seca y su peso en la balanza no varíe más del 4% con el tiempo. **C**
4. Llevar ahora los crisoles a una mufla a 550°C durante 1 hora. Apagar la mufla.
5. Dejar enfriar durante 12-24 horas la mufla hasta que la temperatura baje lo suficiente para sacar los crisoles de esta.
6. Pesar los crisoles. **D**

Para sólidos totales (ST):

$$ST \left[g^{ST} / Kg \text{ de muestra} \right] = \frac{(C - A) * 1000}{(B - A)}$$

Para sólidos volátiles (SV):

$$SV \left[g^{SV} / Kg \text{ de muestra} \right] = \frac{(C - D) * 1000}{(B - A)}$$

Apéndice C. Desplazamiento alcalino

1. Preparar una solución de NaOH 2N en una botella de 500ml.
2. Sujetar boca abajo la botella a un soporte.
3. Introducir 1 aguja hipodérmica con una manguera corta por el tapón de butilo de la botella y colocar debajo de la misma una probeta.
4. Utilizar una manguera larga a la cual se le colocan 2 agujas hipodérmicas a cada extremo.
5. Verificar que el regulador de flujo de la manguera larga este cerrado. Posteriormente conectar un extremo al tapón de butilo de la botella de NaOH y el otro al de la botella del biorreactor que contiene la muestra.
6. Deslizar el regulador de flujo permitiendo el flujo de biogás a través de la manguera larga llegando hasta la botella de 500 ml con la solución de NaOH.
7. El CO₂ reaccionará con la solución quedando atrapado en ella y dejando pasar la cantidad de CH₄ presente. Este volumen extra ocupado por el CH₄ en la parte superior de la botella de 500 ml será equivalente al que se desplazará a través de la manguera corta hasta la probeta.
8. Medir el volumen desplazado.

Apéndice D. Determinación de las diluciones de las mezclas de estiércoles

Realizar dilución de las muestras puede traer beneficios como: permitir una mayor interacción fisicoquímica entre las partes que componen el proceso, pero también puede acarrear problemas si se exagera esta actividad, causando sedimentación o fases dentro del reactor (BURKE, D. A. 2001. 1-54).

De acuerdo a esto es necesario partir de una dilución adecuada que optimice el proceso de DA, para ello se tomaron las diluciones en proporción V/V de estiércol-agua destilada: 1:3 para EB, 1:3 para EE y 1:7 para EP teniendo en cuenta la mayor producción de biogás y mejor actividad metanogénica, además de ser aplicable y factible en biodigestores reales (MOJICA, A. y TOVAR, B. (2018) Potenciales de biometanización y actividades microbiológicas de estiércoles: bovino, porcino y equino a diferentes diluciones. Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia. Pp. 32-45). Dada la densidad de las disoluciones que son aproximadamente 1 g/ml , la proporción se trabajara en % P/P principalmente por la sensibilidad y facilidad de los equipos para medir masa, comparada con las mediciones de volumen.

Partiendo de las diluciones anteriores, se mezclaron según los porcentajes establecidos para cada experimento descritos en la tabla 1, para un volumen total de 60 ml o 60 g. Según los porcentajes, la masa total, las relaciones de mezcla se construyó la tabla 2 donde se recopila toda la información sobre cada experimento para su respectiva preparación.

Apéndice E. Cantidad de muestra presente en cada una de las diferentes diluciones

Experimento	SV [g]	EE [g]	EB [g]	EP [g]	H2O [g]
1	2,54	15	0	0	45
2	2,27	0	15	0	45
3	1,53	0	0	7,5	52,5
4	2,45	10	5	0	45
5	2,21	10	0	2,5	47,5
6	2,36	5	10	0	45
7	2,02	0	10	2,5	47,5
8	1,86	5	0	5	50
9	1,77	0	5	5	50
10	2,12	5,1	4,9	2,5	47,5
11	2,32	9,9	2,5	1,3	46,3
12	2,19	2,5	9,9	1,3	46,3
13	1,83	2,5	2,5	5	50