

Fermentación anaeróbica de agua residual de lavado de vísceras (AV) para la producción de
ácidos grasos volátiles (AGV's)

Leidy Johana Solis Gonzalez

Andres Mauricio Sanchez Osorio

Trabajo de grado para optar el título de Ingeniero Químico

Director:

Liliana del Pilar Castro Molano

Ph.D. en Ingeniería Química

Codirector:

Zamir Sanchez Castro

MSc. en Ingeniería Química

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Ingenierías Fisicoquímicas

Escuela de Ingeniería Química

Bucaramanga

2020

DEDICATORIA

A Dios por su infinito amor, por darme sabiduría e inteligencia para terminar este proyecto, por darme la fortaleza para afrontar cada obstáculo que se me presento durante este tiempo de aprendizaje.

A mis padres, en especial a mi madre por ser mi pilar fundamental quien con su amor, paciencia y esfuerzo me ha permitido llegar a cumplir hoy un sueño más, gracias por inculcar en mí el ejemplo de esfuerzo y valentía, de no temer a las adversidades porque Dios está conmigo siempre.

A mi hermana por su cariño y apoyo incondicional, durante todo este proceso, por estar conmigo en todo momento gracias.

A todos mis tíos, muchas gracias por sus consejos y enseñanzas en cada etapa de mi vida.

A mis amigos Sneyberth Meza, María Camila Jaimes, Helmunth Vega, Sindy Torres, Iván Porras, Mariana Guerrero y Camilo Martínez por formar parte importante durante este proceso de aprendizaje.

A mi compañera de Proyecto de grado Leidy Johana Solís González quien fue un gran apoyo para terminar con este trabajo.

Andres Mauricio Sanchez Osorio

DEDICATORIA

A Dios porque a él le debo todo lo que tengo y lo que soy, gracias a él por derramar sus bendiciones sobre mí y llenarme de su fuerza para vencer todos los obstáculos y permitirme culminar esta etapa de mi vida.

A mi madre Luz Fanny por darme la vida.

A María Leticia Barón mi madre de crianza por todo su esfuerzo, sacrificio y amor por sacarme a adelante. Por enseñarme que si se vale luchar por los sueños y que haciendo las cosas bien puedo lograr lo que me proponga. Por ser esa mujer excepcional que nunca dejo de creer en mí.

A mi padre Wilson de Jesús González (QEPD) porque sé que desde el cielo me cuida y nunca me ha dejado sola.

A mi familia en general por acompañarme en este proceso, en especial a mi hermana Ahida González por ser la mejor hermana y por siempre confiar y tener fe en mí.

A Don Ramon Pabón por ser ese apoyo incondicional y acogerme como si fuera una hija más.

A Alejandro Sierra por brindarme su amor, compañía y apoyo mostrándome que vale la pena confiar.

A mis amigos de la carrera Sindy Torres, Mariana Guerrero, Laura Salgar, Mónica Rodríguez, Nora Ortiz, Yurley Lozano, Helmunth Vega, Aldair Vergel y Iván Porras por hacer de este proceso de aprendizaje una gran experiencia siempre los llevaré en mi corazón.

A mis amigos Diana B, Karen C, Alejandra C, María José C, Karen J, Elcira, Nerminis, Ledis F y Cristina R, Por su apoyo durante este proceso.

A mi compañero de tesis Andrés Mauricio Sánchez Osorio por su paciencia, apoyo e incondicionalidad para culminar este proyecto de la mejor manera.

Leidy Johana Solís González

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por permitirnos alcanzar esta meta.

A la Universidad Industrial de Santander por concedernos el espacio para vivir, crecer y aprender.

A nuestra directora Liliana del Pilar Castro Molano por la confianza y el compromiso, por su orientación durante este proceso de aprendizaje, por permitirnos crecer como profesionales y como personas.

Al profesor Humberto Escalante Hernández por guiarnos, compartir sus conocimientos, por las oportunidades que nos brindó, la confianza y ser nuestra guía durante este proyecto.

A nuestro Codirector Zamir Sanchez Castro por su compromiso, dedicación y apoyo incondicional para terminar con éxito este trabajo. A ustedes les agradecemos enormemente por guiarnos y compartirnos sus conocimientos.

Al laboratorio de digestión anaeróbica de la escuela de Ingeniería Química de la Universidad Industrial de Santander por acogernos y brindarnos su colaboración.

A Don Guillermo y Don Eduardo por la amabilidad y su colaboración.

Contenido

	Pág.
Introducción	14
1. Marco Referencial.....	17
1.1. Estado del arte.....	17
1.2 Marco teórico	22
1.2.1 Fermentación anaeróbica	22
1.2.2 Ácidos grasos volátiles (AGV's).....	23
2. Objetivos.....	24
2.1 Objetivo general.....	24
1.2 Objetivos específicos	24
3. Descripción metodológica	25
3.1 Etapa 1. Recolección y Caracterización del Sustrato y los Inóculos	25
3.2 Etapa 2. Proceso de Fermentación Anaeróbica.....	27
3.2.1 Descripción del equipo	27
3.2.2 Selección del Inóculo.....	28
3.2.3 Evaluación del TRH.....	29
4. Resultados.....	30
4.1 Selección del inóculo	30
4.1.1 Concentración de AGV's y producción de Biogás	30
4.1.2 Determinación de la composición de AGV's por cromatografía.....	33

4.2 Evaluación del TRH.....	35
4.2.1 Concentración de AGV's y producción de Biogás	35
4.2.2 Determinación de la composición de AGV's por cromatografía.....	38
4.2.3 Tasa de acidificación.....	39
5. Conclusiones	41
6. Recomendaciones	42
Referencias bibliográficas.....	43
Apéndices.....	49

Lista de Figuras

	Pág.
Figura 1. Investigaciones anuales realizadas sobre estudios de DA centrados en la producción de AGV's	15
Figura 2. Digestores CSTR, baño y mezclador empleados en las pruebas	28
Figura 3. (a. Monitoreo de la producción de AGV's y pH para R1 y R2 con un TRH de 30 días. (b. Biogás producido de R1 y R2.....	31
Figura 4. Composición de los AGV's de R1 y R2 para una TRH de 30 días.....	33
Figura 5. (a. Monitoreo de la producción de AGV's y pH de R1 con TRH de 30, 20, 15 Y 10 días. (b. Biogás producido y porcentajes de remoción de SV de R1.....	35
Figura 6. Composición de los AGV's de R1 para TRH de 30, 20, 15 Y 10 días.	38

Lista de Tablas

	Pág.
Tabla 1. Caracterización del sustrato.	26
Tabla 2. Caracterización de los inóculos.	26
Tabla 3. Factor de conversión para cada AGV	29
Tabla 4. Resumen de estudios relacionados.	39

Lista de Apéndices

	Pág.
Apéndice A. Sólidos totales y sólidos volátiles	49
Apéndice B. Demanda química de oxígeno.....	50
Apéndice C. Alcalinidad total y ácidos grasos volátiles.....	51
Apéndice D. pH	53
Apéndice E. Determinación de la actividad metanogénica específica.	54
Apéndice F. Determinación de la actividad hidrolítica específica.	56
Apéndice G. Determinación del factor de conversión equivalente de DQO para cada AGV.	58

Lista de abreviaturas

AGV's: Ácidos grasos volátiles

AV: Agua residual de lavado de vísceras blancas

AC: Aguas de corral

AS: Aguas de sacrificio

AE: Aguas de lavado estomacal

DQO: Demanda química de oxígeno

DA: Digestión anaeróbica

FA: Fermentación anaeróbica

TRH: Tiempo de retención hidráulica

CO: Carga orgánica

ST: Sólidos totales

SV: Sólidos volátiles

AT: Alcalinidad total

LR: Líquido ruminal

LEB: Lodo de estiércol bovino digerido

AME: Actividad metanogénica específica

AHE: Actividad hidrolítica específica

Resumen

Título: Fermentación anaeróbica de agua residual de lavado de vísceras (AV) para la producción de ácidos grasos volátiles (AGV's)*

Autores: Leidy Johana Solís González, Andrés Mauricio Sánchez Osorio**.

Palabras claves: Ácidos grasos volátiles, aguas de lavado de vísceras blancas, fermentación anaeróbica.

Descripción:

Las aguas residuales de lavado de vísceras blancas generadas en el proceso de beneficio bovino se caracterizan por contener proteínas, lípidos y carbohidratos que pueden llegar a aprovecharse con varios procesos para su tratamiento, los tratamientos biológicos como la fermentación anaeróbica, son una opción destacada dentro de estos. En este trabajo se determinó la producción de ácidos grasos volátiles (AGV's) a partir de la fermentación anaeróbica de agua residual de lavado de vísceras blancas (AV) provenientes de la Planta de Beneficio Animal Colbeef SAS utilizando reactores CSTR semicontinuo en condiciones mesofílicas sin control del pH. Evaluando dos sustratos diferentes, el líquido ruminal (LR) y el lodo de estiércol bovino (LEB) además variando el tiempo de retención hidráulico (TRH) entre 30, 20, 15 y 10 días luego de haber determinado el sustrato. Se hizo seguimiento de la concentración de sólidos totales y volátiles (ST-SV), Demanda Química de Oxígeno (DQO), Ácidos Grasos Volátiles (AGV's), Alcalinidad total (AT), Cromatografía y pH para llevar un control de la operación. Obteniendo como resultado que con el LR se obtuvo una concentración mayor de AGV's en el rango de los 640 mg Ac/L, un pH alcalino entre 7,3 y 7,5 y una menor producción de biogás. El TRH que dio mejores resultados fue el de 20 días, obteniendo un grado de acidificación de 49,7% siendo muy superior al obtenido con los otros TRH.

* Proyecto de grado

** Facultad de Ingenierías Físicoquímicas Escuela de Ingeniería Química Director: Liliana del Pilar Castro Molano Ph.D. en Ingeniería Química Codirector: Zamir Sanchez Castro MSc. en Ingeniería Química

Abstract

Title: Anaerobic fermentation of viscera washing wastewater (VW) to produce volatile fatty acids (VFA) *.

Authors: Leidy Johana Solís González, Andrés Mauricio Sánchez Osorio **.

Keywords: Volatile fatty acids, white viscera washing wastewaters, anaerobic fermentation.

Summary

The white viscera washing wastewater generated in the bovine beneficiation process are characterized by containing proteins, lipids and carbohydrates that can be used with various processes for their treatment; biological treatments such as anaerobic fermentation is a prominent option within these. In this work, the production of volatile fatty acids (VFA) was determined from the anaerobic fermentation of viscera washing wastewater (VW) from the Colbeef SAS Animal Benefit Plant using semi-continuous CSTR reactors under mesophilic conditions without pH control. Evaluating two different substrates, the rumen liquid (RL) and the bovine manure sludge (BMS), also varying the hydraulic retention time (HRT) between 30, 20, 15 and 10 days after having determined the substrate. The concentration of total and volatile solids (TS-VS), Chemical Oxygen Demand (COD), Volatile Fatty Acids (VFA), Total alkalinity (TA), Chromatography and pH were monitored to control the operation. Obtaining as a result that with the RL a higher concentration of VFA was obtained in the range of 640 mg Ac / L, an alkaline pH between 7.3 and 7.5 and a lower production of biogas. The HRT that gave the best results was that of 20 days, obtaining a degree of acidification of 49.7%, being much higher than that obtained with the other HRT.

* Project of grade

** Facultad de Ingenierías Físicoquímicas Escuela de Ingeniería Química Director: Liliana del Pilar Castro Molano Ph.D. en Ingeniería Química Codirector: Zamir Sanchez Castro MSc. en Ingeniería Química

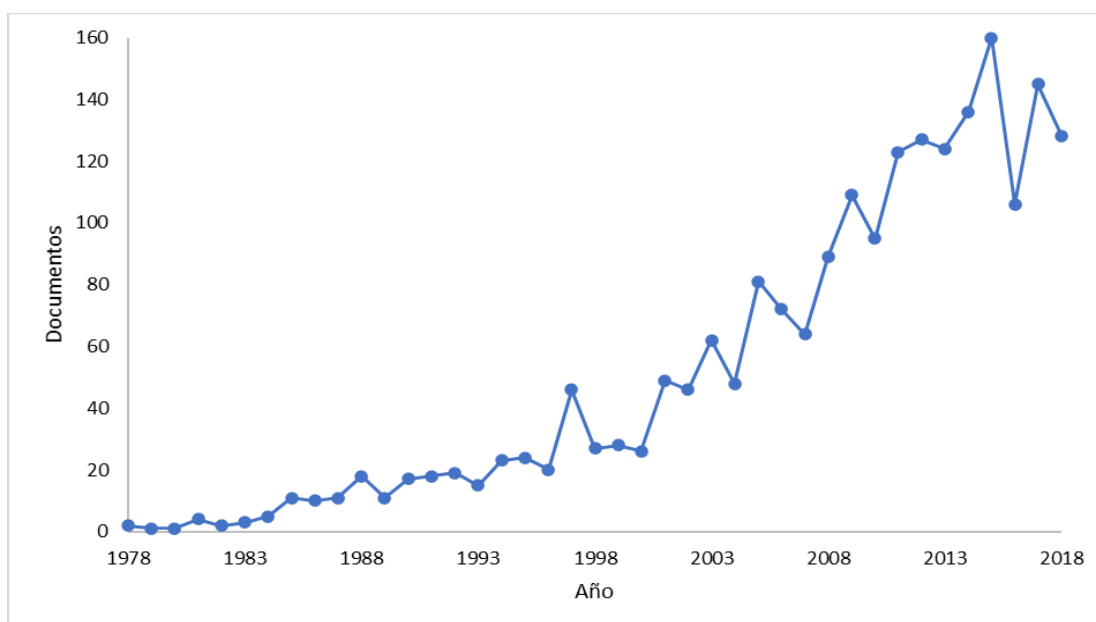
Introducción

Se estima que el proceso de beneficio animal consume alrededor del 24% del agua mundial destinada al sector alimenticio (Bustillo-Lecompte & Mehrvar, 2015). Es así como las plantas de beneficio animal reportan caudales de aguas residuales entre 1.14 y 4.22 m³/bovino sacrificado (Jensen, Sullivan, Carney, & Badstone, 2014). Estas aguas residuales se pueden clasificar según la zona de procedencia en: I) aguas de corrales (AC), contienen principalmente estiércol diluido; II) aguas de sacrificio (AS), caracterizadas por contener sangre; III) aguas de lavado de vísceras blancas (AV), presentan partículas de carne y grasa y IV) aguas de lavado estomacal (AE), tienen el contenido ruminal desechado en la apertura de panzas. Dado que las aguas residuales del beneficio bovino se caracterizan por tener valores de demanda química de oxígeno (DQO), entre 2000 (Caixeta, Cammarota, & Xavier, 2002) y 20400 mg/L (Saddoud & Sayadi, 2007); estas aguas deben ser tratadas antes de su disposición final. Actualmente en países en desarrollo como Colombia se realiza generalmente un tratamiento fisicoquímico primario a estas aguas residuales, el cual consta de: almacenamiento, tamizado, homogenización, floculación, coagulación, prensado y secado de lodos. Este tratamiento es costoso (US\$160.000/año (Garnica & Perea, 2019)) y no permite la valorización del residuo. Dado su contenido de materia orgánica, la digestión anaeróbica (DA) ha sido una alternativa biológica aplicada en el tratamiento de este tipo de residuo, permitiendo su valorización a partir de la producción de biogás, ácidos grasos volátiles (AGV's) y un digerido rico en nutrientes (Bustillo-Lecompte & Mehrvar, 2015).

Gran parte de las investigaciones encontradas en la literatura científica sobre DA se enfocan en la producción de biogás. Sin embargo, la producción de AGV's ha recibido gran atención en los últimos años (Fig. 1) debido a su uso en: la producción de polihidroxicanoatos, acidulantes y conservantes de alimentos y alimentación para celdas de electrolisis (Bermúdez-Penabad & Kennes, 2017). La producción anaeróbica de AGV's se lleva a cabo a partir de una serie de reacciones bioquímicas catalizadas por bacterias acidogénicas y acetogénicas. En primer lugar, las bacterias acidogénicas fermentan los monómeros hidrolizados en acetato, propionato, butirato, alcoholes, H₂, CO₂ y otros solventes (Jiang, y otros, 2013). Luego el propionato, butirato, los alcoholes y el CO₂ se convierten en acetato, a través de vías acetogénicas reductoras de protones o vías homoacetogénicas (Choudhari, y otros, 2015). Comúnmente el acetato, el propionato y el butirato son los principales productos de AGV's durante la fermentación anaeróbica (FA) (Zhou, Yan, Wong, & Zhang, 2018).

Figura 1.

Investigaciones anuales realizadas sobre estudios de DA centrados en la producción de AGV's



Estudios anteriores han reportado rendimientos en la conversión de DQO a AGV's de 54% para residuos ricos en azúcares (Jankea, y otros, 2016; Castillo, Gonzalez, & Tejero, 1999), 36% para residuos grasos (Scoma, Betin, & Fava, 2013), entre 16 y 45% para residuos ricos en proteínas (Yu, y otros, 2018) y de 11 a 13% para residuos lignocelulósicos (Jankowska, Chwialkowska, Stodolny, & Oleskowicz-Popiel, 2017). Así mismo, se ha demostrado que la hidrólisis es la etapa limitante en la FA de sustratos complejos como los lípidos y las proteínas (Alibardi & Cossu, 2015). En ese sentido, las variables de mayor influencia en el proceso de FA son el tipo de digestor, el tiempo de retención hidráulica (TRH) y el pH. Los digestores más utilizados para el proceso de FA han sido los digestores Batch (Jiang, y otros, 2013), Batch secuencial (ASBR) (Yarımtepe, Ayman, & Ince, 2017), CSTR (Cavinato, Da Ros, Pavan, & Bolzonella, 2016) y de lecho lixiviado (Cadavid & Horan, 2014). A pesar de la diversidad de los resultados, los anteriores estudios coinciden en la necesidad de la agitación para garantizar un adecuado contacto entre los microorganismos y el sustrato (Yua, Sparling, & Oleszkiewicz, 2011) y en las condiciones mesofílicas de temperatura (27-40 °C) para asegurar una mayor producción de AGV's (Gruhn, Fringon, & Guiot, 2016).

Así mismo, los estudios realizados a la fecha han encontrado tiempos de retención hidráulica (TRH) óptimos entre 12 h (0.56 g DQO-AGV's/g DQO) (Demirel & Yenigun, 2004) y 20 d (y 0.73 g DQO AGV's/ g DQO) (Bermúdez-Pena, Kennes, & Veiga, 2017). Con respecto al pH, se han realizados estudios en pH ácidos (Lim, y otros, 2008; Jiang, y otros, 2013), neutros (Jankowska, Chwialkowska, Stodolny, & Oleskowicz-Popiel, 2017; Ma, Chen, Liu, Liu, & Fu, 2016) y alcalinos (Yu, He, Shao, & He, 2008; Zhao, y otros, 2018), por lo tanto, no existe un consenso sobre el pH adecuado para el proceso de FA.

En la literatura actual no existen estudios sobre la FA de aguas residuales del beneficio animal, por lo cual no es posible establecer sus rendimientos. Sin embargo, dado su composición de lípidos (39% de sus sólidos volátiles) y proteínas (36% de sus sólidos volátiles) (Gomez, 2019) las AV del proceso de beneficio bovino pueden ser un sustrato adecuado para la producción de AGV's. Adicionalmente, las plantas de beneficio bovino cuentan con estiércol bovino (Cavinato, Da Ros, Pavan, & Bolzonella, 2016) y líquido ruminal (Jenkins, 1993), los cuales contienen microorganismos capaces de hidrolizar sustratos complejos.

Por lo anterior, la pregunta de investigación que respondió el presente trabajo fue ¿Cuál es la producción de AGV's a partir de la fermentación anaeróbica (FA) de aguas residuales de lavado de vísceras blancas (AV) del proceso de beneficio bovino en condiciones mesofílicas? Para garantizar una adecuada agitación, el proceso de FA se llevó a cabo en un digestor CSTR sin control de pH, variando el TRH y utilizando lodo de estiércol bovino y líquido ruminal como inóculos.

1. Marco Referencial

1.1. Estado del arte

Estudios previos sobre FA demuestran que la producción de AGV's se encuentra influenciada por la composición del sustrato, el tipo de digestor, la carga orgánica (CO), el tiempo de retención hidráulica (TRH) y el pH.

Durante la FA, la velocidad de hidrólisis de un sustrato se encuentra determinada principalmente por la composición. Por ejemplo, Alibardi & Cossu et al. (2015) demuestran que residuos ricos en azúcares son sustratos adecuados para la FA dada su rápida conversión a AGV's (Alibardi & Cossu, 2015). Resultados similares fueron encontrados por Jankowska. et al. (2017), quienes investigaron la FA de ensilaje de maíz, lacto suero, biomasa de microalgas y glucosa. Los resultados demuestran que mientras el lacto suero tuvo un porcentaje de hidrólisis del 20.82% el ensilaje de maíz alcanzó solo 1.68% dada su estructura lignocelulósica (Jankowska, Chwialkowska, Stodolny, & Oleskowicz-Popiel, 2017). Los residuos de alimentos ricos en proteínas también han demostrado ser adecuados para la FA. Sin embargo, en algunas circunstancias se requieren pretratamientos por su estructura compleja. Shen et al. (2017) evaluaron el efecto de un pretratamiento hidrotérmico sobre la producción de AGV's a partir tofu (plato típico oriental) y huevos. El pretratamiento mejoró significativamente FA del Tofu, pero no afectó la FA de los huevos. Así mismo, la FA ha sido una alternativa utilizada en la gestión y valorización de aguas residuales grasas (Shen, y otros, 2017). Scoma et al. (2013) realizaron la FA de aguas residuales del proceso de producción de aceite de oliva. Los autores encontraron una tasa de conversión de DQO a AGV's del 36% a un TRH de 5 días (Scoma, Betin, & Fava, 2013). Para este mismo sustrato Yarimtepe et al. (2017) encontraron conversiones de hasta 68% con un TRH de 2 días (Yarimtepe, Ayman, & Ince, 2017).

Para la producción de AGV's los reactores más utilizados han sido: Batch, Batch secuenciales (ASBR), CSTR y de lecho lixiviado. Atasoy M et al (2020) evaluaron la FA de aguas residuales de la industria láctea en digestores Batch y ASBR. Los rendimientos encontrados en los digestores fueron comparables (Batch: 0.97 g DQO-AGV's/g DQO_s y ASBR: 0.94 g DQO-AGV's/g DQO_s). Sin embargo, se encontraron diferencias significativas en la composición, siendo

el ácido láctico el predominante en el digester Batch (49%) y el propiónico en el ASBR (80%) (Atasoy, Eyice, & Cetecioglu, 2020). Lagoa-Costa et al. (2020) llevaron a cabo la FA de lacto suero en un ASBR, encontrando una acidificación entre 0.86 y 0.9 g DQO-AGV's/g DQO (Lagoa-Costa, Kennes, & Veiga, 2020). Yasser Farouk et al (2019) fermentaron residuos de comida en un digester CSTR. Los resultados demuestran rendimientos de AGV's entre $55,44 \pm 2,39$ g/L y $926,21 \pm 42,27$ mg/g DQOs (Farouk, Li, Wang, Li, & Melak, 2020). Cadavid-Rodríguez & Horan (2014) estudiaron la FA de residuos cribados de aguas residuales en un digester de lecho lixiviado con recirculación. La producción de AGV's incrementó un 11% al aumentar la recirculación de 4 a 8 L/L_{reactor} d, alcanzando 264 g de AGV's/ kg de residuos seco (Cadavid & Horan, 2014). La mayor parte de los estudios han sido realizados en un rango mesofílico de temperatura (27-40 [°C]). De hecho, el estudio realizado por Gruhn et al. (2016) demuestra que las condiciones mesofílicas favorecen el proceso de FA. Todos los estudios anteriores coinciden en la necesidad de agitación para asegurar un adecuado contacto entre inóculo y sustrato (Gruhn, Fringon, & Guiot, 2016).

La variación de CO y/o el TRH permiten controlar la acumulación de AGV's durante el proceso de FA. Cargas orgánicas altas y TRH bajas puede garantizar la acidificación de los digestores. Sin embargo, si los valores de CO y TRH sobrepasan ciertos límites se puede producir el lavado celular (arrastre de inóculo de los digestores). Jiang et al. (2013) evaluaron el efecto de la CO sobre la FA de residuos de comida en un digester por lotes. A pesar de que la concentración de AGV's aumentó con la CO, su rendimiento se redujo de 0.504 a 0.306 g/g SV cuando la carga aumentó de 5 a 16 g de sólidos totales/L (Jiang, y otros, 2013). Por su parte, Scoma et al. (2013) en su estudio de FA de aguas grasas en lecho empacado hallaron la mayor conversión de DQO a AGV's (36%) a una CO de 7,8 g/L d. El aumento de la carga hasta 38.8 g/L d redujo la conversión

al 10% (Scoma, Betin, & Fava, 2013). Este mismo sustrato fue digerido por Yarimtepe et al. (2017) en digestores batch secuenciales. Un incremento inicial de la CO de 5 a 20 g DQO/L ocasionó un máximo en la concentración de AGV's de 27 g/L. Sin embargo, cuando la CO alcanzó 40 g DQO/L la concentración de AGV's decayó a 15 g/L, debido al estrés de los microorganismos (Yarimtepe, Ayman, & Ince, 2017).

Con respecto al TRH Demirel & Yenigun (2004) llevaron a cabo la FA de aguas residuales lácteas con TRH entre 24 y 12 h. La mayor acidificación lograda fue de 0.56 g DQO-AGV's/g DQO a un TRH de 12 h (Demirel & Yenigun, 2004). Cavinato et al (2017) investigaron la producción de AGV's a partir de la FA de estiércol bovino variando el TRH entre 2 y 6 d. Los resultados demostraron una acidificación de 183,2 g DQO-AGV's/ kg sólidos totales (ST) para un TRH de 4 d (Cavinato, Da Ros, Pavan, & Bolzonella, 2016). Khan et al. (2019) evaluaron la producción de AGV's a partir de aguas residuales en TRH entre 6 y 48 h. Para un TRH de 8 h se logró un rendimiento global de 48.20 ± 1.21 mg AGV/100 mg DQO (Khan, y otros, 2019). Lagoa-acosta et al (2020) exploró la optimización de AGV's a partir de lacto suero mediante la variación del TRH. Los grados de acidificación aumentaron de 0.86 a 0.9 g DQO-AGV's/g DQO cuando la TRH se redujo de 3 a 1 d (Lagoa-Costa, Kennes, & Veiga, 2020). La mayor parte de los estudios demuestran un aumento en la producción de AGV's a bajos TRH. Sin embargo, Bermúdez et al. (2017) demostraron un incremento de 2000 mg/L a 30611 mg/L en la concentración de AGV's, cuando el TRH aumentó de 10 a 20 d en la FA de residuos de atún (Bermúdez-Penabad & Kennes, 2017).

El pH afecta el crecimiento microbiano y la tasa de hidrólisis de la materia orgánica particulada (Jiang, y otros, 2013); sin embargo, para la producción de AGV's la literatura no es concluyente con respecto a las mejores condiciones de pH (ácido, neutro o alcalino). Por ejemplo,

Begum et al (2017) evaluaron el impacto del pH sobre la FA de lixiviado de vertederos a una TRH de 6 d. Las concentraciones de AGV's para los pH de 5.5 y 10.5 fueron 3600 mg/L (2000 mg/L de ácido acético) y 2800 mg/L (800 mg/L de ácido acético), respectivamente (Begum, y otros, 2017). Resultados similares fueron hallados por Eryildiz et al (2020), quienes encontraron que para la FA de desechos cítricos el mayor rendimiento de AGV's (0,793g AGV's/g SV) se logró con un pH de 6 (Eryildiz & Taherzadeh, 2020). Sin embargo, Khan et al. (2019) encontraron los mayores rendimientos en la FA de aguas residuales (de $48,74 \pm 1,5$ mg AGV's/100mg DQO) a un pH de 7 (Khan, y otros, 2019). Mientras que Zhao et al. (2018) muestra un rango óptimo de pH entre 9 y 11 para la FA de lodo activado, con una concentración de 2356 mg AGV's /L (Zhao, y otros, 2018).

La bibliografía científica revisada permite concluir que los residuos ricos en lípidos y proteínas, como es el caso de las aguas residuales del beneficio bovino, son sustratos adecuados para la producción de AGV's. A pesar de que se han utilizado diferentes digestores para la producción de AGV's, todos los estudios analizados coinciden en las condiciones mesofílicas y el uso de agitación. Así mismo, el TRH óptimo depende del tipo de sustrato y del digestor utilizado. Los valores hallados varían en un amplio rango de las 12 h a los 20 d. Por su parte, los resultados con respecto al pH óptimo no son concluyentes dado que se ha reportado un rango de 5.5 a 11.

1.2 Marco teórico

1.2.1 Fermentación anaeróbica

Es un proceso catabólico de oxidación incompleta que no requiere oxígeno y produce biogás y digerido. El biogás es mezcla gaseosa de metano (50 a 70 %) y dióxido de carbono (30 a 50 %), con pequeñas proporciones de otros componentes (nitrógeno, oxígeno, hidrógeno, sulfuro de hidrógeno), cuya composición depende tanto de la materia prima como del proceso en sí. La cantidad de gas producido es muy variable, aunque generalmente oscila alrededor de los 350 L/kg de sólidos degradables, con un contenido en metano del 70 %, el digerido es rico en nitrógeno, potasio, remanentes de la materia orgánica no digerida. La ruta metabólica de la digestión anaeróbica comprende las siguientes etapas: la primera etapa es la Hidrólisis; donde los compuestos orgánicos son solubilizados por enzimas excretadas por bacterias hidrolíticas que actúan en el exterior celular por lo que se consideran exoenzimas. La hidrólisis es, por tanto, la conversión de los polímeros en sus respectivos monómeros. Seguido de una segunda etapa llamada Acidogénesis en la cual los compuestos orgánicos solubles que comprenden los productos de la hidrólisis son convertidos en ácidos orgánicos tales como acético, propiónico y butírico, fundamentalmente. Como tercera etapa encontramos la Acetogénesis o llamada también acidogénesis intermediaria en la cual los productos correspondientes son convertidos en ácido acético, hidrógeno y CO₂. Es en esta etapa en donde se detiene el proceso de fermentación anaeróbica, gracias a la estrecha relación simbiótica con las bacterias metanogénicas que substraen los productos finales del medio minimizando la concentración de estos en la cercanía de las bacterias acetogénicas. Esta baja concentración de productos finales es la que activa la reacción y

actividad de estas bacterias, haciendo posible la degradación manteniendo el equilibrio energético. La cuarta etapa conocida como Metanogénesis es donde el CH_4 es producido a partir del ácido acético o de mezclas de H_2 y CO_2 , pudiendo formarse también a partir de otros sustratos tales como ácido fórmico y metanol. El rol de las bacterias metanogénicas se define por el tipo de sustrato disponible (Acosta & Obaya, 2005).

1.2.2 Ácidos grasos volátiles (AGV's)

Los AGV's son ácidos grasos de cadena corta compuestos por 6 carbonos o menos y de bajo peso molecular, estos ácidos contienen de 1 a 5 carbonos y corresponden al fórmico (C1), ácido acético (C2), propiónico (C3), butírico (C4), isobutírico (C4), valérico (C5), e isovalérico (C5). Los AGV son principales intermediarios de la digestión anaeróbica de compuestos orgánicos presentes en los residuos y efluentes (Mesquita, Afonso, Aquino, & Leite, 2013).

Para la producción de AGV se deben mantener unas condiciones operacionales adecuadas a partir de unos parámetros controlados como el pH, el tipo de sustrato, el tiempo de retención hidráulica (TRH), el contenido orgánico y la temperatura.

2. Objetivos

2.1 Objetivo general

Determinar la producción de ácidos grasos volátiles (AGV's) a partir de la fermentación anaeróbica de agua residual de lavado de vísceras blancas (AV) en un digestor CSTR a condiciones mesofílicas.

1.2 Objetivos específicos

- Seleccionar el inóculo (líquido ruminal o lodo de estiércol bovino digerido), adecuado para la producción de AGV's a partir de su rendimiento en la fermentación anaeróbica de AV.
- Evaluar el efecto del tiempo de retención hidráulica (TRH) sobre la producción de AGV's a partir del inóculo seleccionado.

3. Descripción metodológica

3.1 Etapa 1. Recolección y Caracterización del Sustrato y los Inóculos

El agua residual de lavado de vísceras blancas (AV) se tomó de la Planta de Beneficio Animal Colbeef SAS, ubicada en Floridablanca Santander (Lat. N 7°03'16.2" Long. W 73°07'55.2"). Las muestras se trasladaron a las instalaciones del laboratorio de biotecnología de la escuela de Ingeniería Química en la Universidad Industrial de Santander donde se refrigeraron en una nevera a una temperatura de 7°C. Las AV se caracterizaron mediante la medición de los sólidos totales (ST), sólidos volátiles (SV), demanda química de oxígeno total (DQO) y pH siguiendo protocolos estandarizados por la asociación americana de salud pública (APHA 2017) método gravimétrico 2540G, Método colorimétrico 5220D y método potenciométrico 4500-H, respectivamente (Rice, Baird, & Eaton, 2017). La concentración de ácidos grasos volátiles (AGV's) y la alcalinidad total (AT) se determinó por titulación (Jobling, y otros, 2014), la caracterización del sustrato se presenta en la tabla 1. Para la composición de los AGV's se realizó una caracterización por cromatografía de gases con un detector FID, en un cromatógrafo Agilent 7890a, usando una columna capilar (30m*0.25mm*0,25µm), fase estacionaria polar de polietilenglicol tratado con ácido nitrotereftálico, marca SEG Analytical Science (ref: BP21) e hidrogeno como gas de arrastre (flujo de 15 mL/min a una presión de 40kPa).

Se evaluaron como inóculos para la fermentación anaeróbica (FA) de las AV líquido ruminal (LR) y lodo de estiércol bovino digerido (LEB). EL LR fue tomado de la misma planta de

beneficio de donde se recolectaron las AV. El LEB se recolectó de una planta de biogás ubicada en una granja agropecuaria (Lat. N 7°01' 0,07'' Long. W 73°08'13,3'') que opera a condiciones mesofílicas (30-40 °C). La caracterización de los inóculos se presenta en la Tabla 2.

Tabla 1.

Caracterización del sustrato.

Parámetro	Sigla	Unidad	AV	Anexo
Demanda química de oxígeno	DQO	mg/L	9417,125	B
Ácidos grasos volátiles	AGV's	mg Ac/L	280	C
Alcalinidad total	AT	mg CaCO ₃ /L	600	C
Sólidos volátiles	SV	g/kg	5,97	A
Sólidos totales	ST	g/kg	6,85	A
pH	pH	-	6,95	D
Carbohidratos	-	%SV	14	-
Lípidos	-	%SV	44	-
Proteínas	-	%SV	42	-

Tabla 2.

Caracterización de los inóculos.

Parámetro	Sigla	Unidad	LR	LEB	Anexo
Actividad metanogénica específica	AME	g DQO CH ₄ /g SV	0,002	0,035	E
Actividad hidrolítica específica	AHE	g DQO/g SV	0,068	0,060	F
Demanda química de oxígeno total	DQO	mg/L	8453,4	13626,75	B
Ácidos grasos volátiles	AGV's	mg Ac/L	1800	390	C
Alcalinidad total	AT	mg CaCO ₃ /L	6300	1033	C

Parámetro	Sigla	Unidad	LR	LEB	Anexo
Solidos volátiles	SV	g/kg	10,678	29,553	A
Solidos totales	ST	g/kg	19,85	38,153	A
Ph	pH	-	7,84	6,95	D

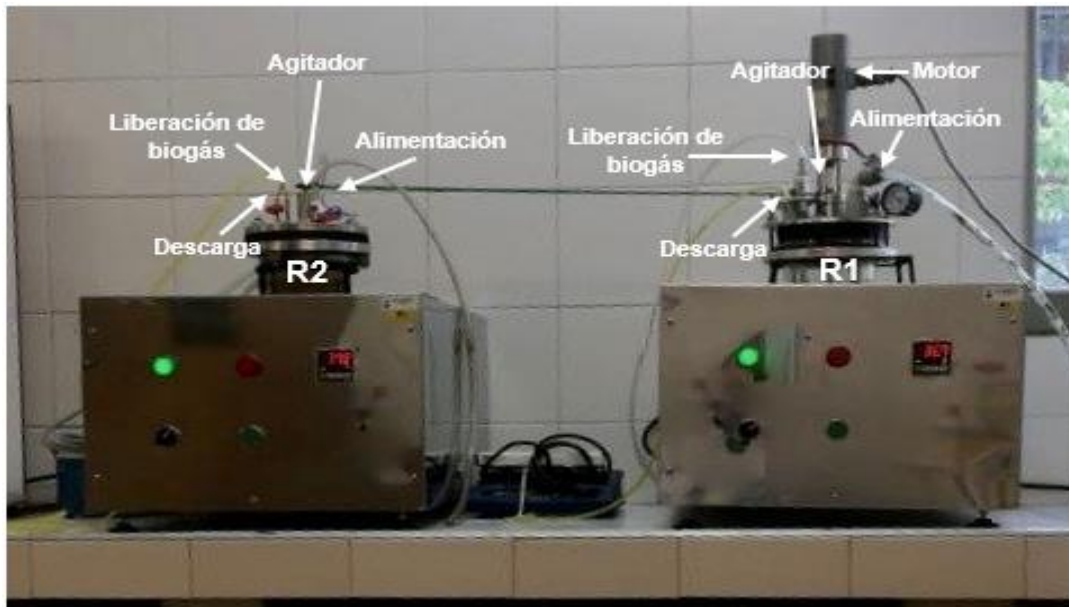
3.2 Etapa 2. Proceso de Fermentación Anaeróbica

3.2.1 Descripción del equipo

Para la fermentación anaeróbica se utilizaron dos digestores CSTR con puntos para alimentación, toma de muestras y liberación de biogás (Figura 2). El primer digestor (R1) con volumen de 3.22 L (1.7 L de volumen de trabajo) se inoculó con LR. El segundo digestor (R2) con un volumen de 2.44 L (1.5 L de volumen de trabajo) se inoculó con LEB. Inicialmente R1 y R2 fueron llenados con una relación inóculo sustrato (g SV inóculo/ g SV sustrato) de 1.5. Los digestores fueron sumergidos en un baño térmico y mantenidos a 37 °C. La agitación se realizó durante 2 horas al día (1 hora en la mañana y 1 h en la tarde) a una velocidad entre 100 y 120 rpm, siguiendo las indicaciones de la literatura (Fortela, y otros, 2016).

Figura 2.

Digestores CSTR, baño y mezclador empleados en las pruebas



3.2.2 Selección del Inóculo

Para la selección del inóculo, los digestores R1 y R2 fueron operados a un tiempo de retención hidráulica (TRH) de 30 días, por un periodo igual a 1 TRH (tiempo suficiente para alcanzar el estado estable). Se tomó diariamente una muestra de 85 y 75 ml de los digestores R1 y R2 respectivamente, al mismo tiempo se cuantificó el biogás producido mediante un manómetro de tubo en U para luego ser alimentados con el mismo volumen de AV. A la muestra recolectada de cada digestor se le determinó diariamente el pH y la concentración de AGV's por titulación (Jobling, y otros, 2014). Dos veces por semana se determinaron los SV y la DQO y una vez por semana la composición de los AGV's por cromatografía. El grado de acidificación fue calculado a partir de la ecuación 1 (Oktem, Ince, Donnelly, Sallis, & .Ince, 2006).

$$\text{Grado de acidificación}(\%) = \frac{\text{DQO de AGV's}(\text{mg/L})}{\text{DQO del sustrato}(\text{mg/L})} \times 100$$

(Ec. 1)

Los mg/L de cada ácido determinado por cromatografía fueron convertidos a mg DQO/L por medio del factor de equivalencia de la tabla 3 (Lim, y otros, 2008) (ver anexo G). Al finalizar fue seleccionado el inóculo con el mayor grado de acidificación.

Tabla 3.

Factor de conversión para cada AGV

Acido	Factor de conversión (DQO equivalente)
A. ACÉTICO	1,066
A. PROPIÓNICO	1,512
A. iSOBUTÍRICO	1,816
A. BUTÍRICO	1,816
A. ISOVALÉRICO	2,036
A. vALÉRICO	2,036
A. iSOCAPROICO	2,204
A. cAPROICO	2,204

3.2.3 Evaluación del TRH

Para evaluar el efecto del TRH sobre la producción de AGV's, el TRH de R1 fue inicialmente de 30, luego se disminuyó a 20 posteriormente a 15 días y finalmente fue reducido a 10 días. La metodología para la determinación de parámetros es la misma que se utilizó para la

selección del inóculo a diferencia del grado de acidificación que se determinó usando la ecuación 1.

4. Resultados

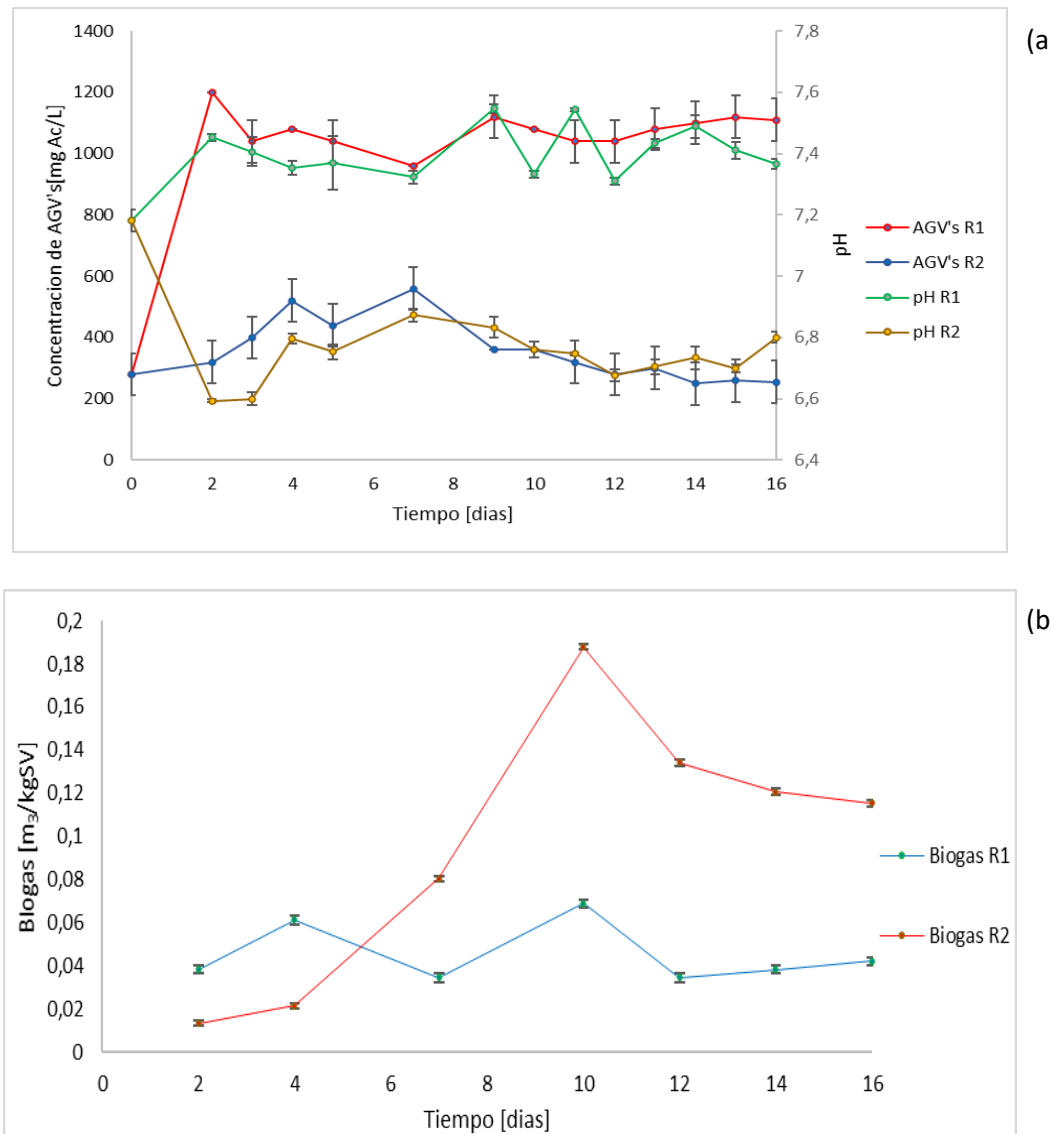
4.1 Selección del inóculo

4.1.1 Concentración de AGV's y producción de Biogás

En la figura 3 se presenta los resultados del monitoreo de la concentración de ácidos grasos volátiles (AGV's), pH, producción específica de biogás, en los digestores R1 (inoculado con LR) y R2 (inoculado con LEB) a un TRH de 30 días.

Figura 3.

(a. Monitoreo de la producción de AGV's y pH para R1 y R2 con un TRH de 30 días. (b. Biogás producido de R1 y R2.



Los digestores fueron cargados y luego de dos días se inició la alimentación una vez al día. El digestor R1 alcanzó en el día dos su máxima concentración de 1200 mg Ac/L, luego descendió hasta 960 mg/L al día 7 e incrementó nuevamente hasta estabilizarse cerca de los 1100 mg Ac/L al día 16. El pH del digestor R1 incrementó en los primeros dos días y alcanza un valor levemente

alcalino entre 7.3 y 7.5. La producción de Biogás en el digestor R1 (Figura 3b) se incrementó del día 2 al día 4 de 0,03 a 0.06 m³/kg SV, lo cual indica que parte de los AGV's acumulados en el digestor durante los primeros dos días fueron transformados a biogás por la ruta metabólica de la digestión anaeróbica. Sin embargo, a partir del día 4 se observó que la concentración de AGV's y la producción de biogás siguieron un comportamiento similar, incrementando y disminuyendo a la vez. Así mismo se determinó que la remoción de SV fluctuó entre 30 y 60% siguiendo la misma tendencia de la producción de biogás. Por su parte, en el reactor R2 presentó un incremento de la concentración de AGV's en los primeros 7 días (Fig. 3a), alcanzando una máxima de 600 mg Ac/L, la cual posteriormente disminuyó hasta un valor cercano a 280 mg Ac/L en el día 16. A su vez el pH se mantuvo por debajo de 7.0 (6,6-6,8). El biogás producido en el digestor R2 (Figura 3b) incrementó hasta alcanzar un máximo de 0,18 m³/kg SV en el día 10 y posteriormente decreció junto con los AGV's y la remoción de SV que se obtuvo osciló entre 75 y 45%. Nuevamente se observó que la concentración de AGV's, la producción de biogás y la remoción de SV siguieron el mismo comportamiento al incrementar y reducir de forma casi simultánea.

La reducción simultánea de la concentración de AGV's, la producción de biogás y la remoción de SV, es un indicio de la hidrólisis como etapa limitante del proceso (Luste & Luostarinen, 2010). Esto coincide con los resultados de Shen et al. (2017), quienes encontraron que la hidrólisis de proteínas fue el paso limitante en la FA de residuos de huevos (Shen, y otros, Acidogenic fermentation characteristics of different types of protein-rich substrates in food waste to produce volatile fatty acids, 2017). Similarmente, Neves et al. (2008) demostró que la digestión anaeróbica de residuos de comida ricos en lípidos y proteínas presentan bajas tasas de hidrólisis (0.12 y 0.22 d⁻¹, respectivamente) con los residuos ricos en carbohidratos (0.32 d⁻¹) (Neves, Gonzalo, Olivera, & Alves, 2008). Esto puede explicar porque la concentración de AGV's lograda

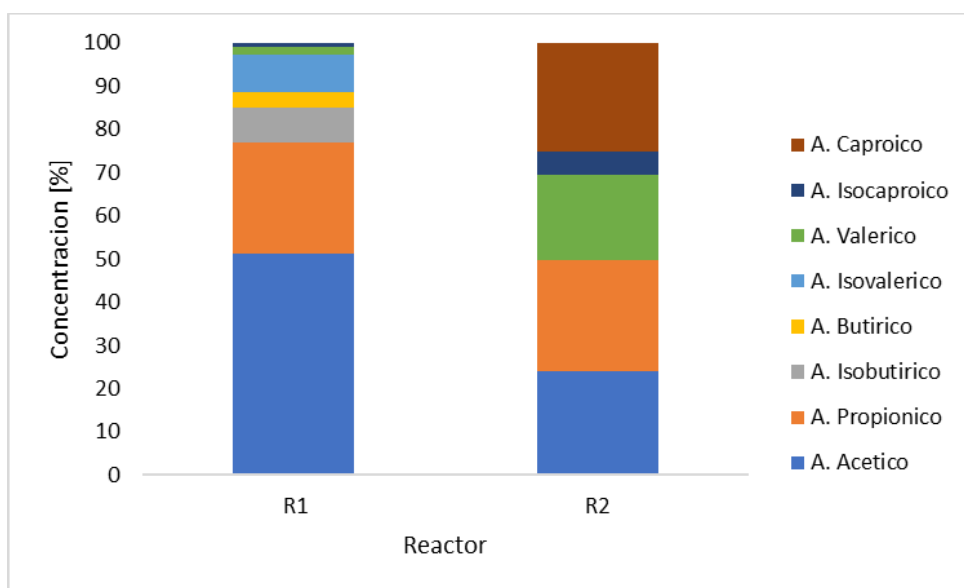
con el LR es entre 640 y 710 mg Ac/L superior a la presentada por el LEB, dado que el primero presenta una actividad hidrolítica específica (AHE) superior (Tabla 2). Adicionalmente, estudios anteriores evidencian que los pH levemente alcalinos, como el presentados en R1, favorecen la hidrólisis de lípidos y proteínas (Lee, May, Yeoh, & Ngoh, 2014). Por otra parte, en comparación con el LR, el LEB favorece más la degradación de los AGV's en la etapa metanogénica del proceso de FA, lo cual se refleja en una producción de biogás en R2 47% superior a R1. Esto coincide con su mayor actividad metanogénica específica (AME) en comparación con el LR (Tabla 2).

4.1.2 Determinación de la composición de AGV's por cromatografía.

La Figura 4 presenta los resultados promedio de la cromatografía de AGV's de los digestores R1 y R2.

Figura 4.

Composición de los AGV's de R1 y R2 para una TRH de 30 días.



Para el digestor R1 los ácidos predominantes fueron el ácido acético (51,26%) y el ácido propiónico (25,6%). Por su parte el digestor R2 presento una composición casi homogénea de ácido acético (24,07%), propiónico (25,68%), valérico (19,61%) y caproico (25,08%). Estudios anteriores han demostrado que el pH óptimo para la producción de un ácido específico depende del tipo de sustrato (Lee, May, Yeoh, & Ngoh, 2014). Por ejemplo, Khan et al (2019) encontraron que un pH entre 7 y 7,5 favorece la producción de ácido acético y ácido propiónico durante la FA de aguas residuales sintéticas de baja resistencia (Khan, y otros, 2019). Por otra parte, Begum et al. (2017) evidenciaron que pH entre 5.5 y 6.5 propician la formación de los ácidos acéticos, butíricos y propiónicos durante la FA de lixiviado de vertederos (Begum, y otros, 2017). En este sentido, se puede deducir que un pH levemente alcalino favorece la producción de ácido acético y propiónico en la AV, mientras que un pH por debajo de 7 conlleva a la aparición de proporciones importantes de ácido valérico y caproico.

Ninguno de los dos digestores logró concentraciones de AGV's lo suficientemente altas para inhibir la etapa metanogénica (4700 mg Ac/L) (Lee, y otros, 2015). Sin embargo, es evidente que el LR presenta un mejor desempeño en la producción de AGV's, debido a una mayor hidrólisis y una menor producción de biogás. Por lo tanto, el LR fue seleccionado como inóculo para evaluar el efecto del TRH.

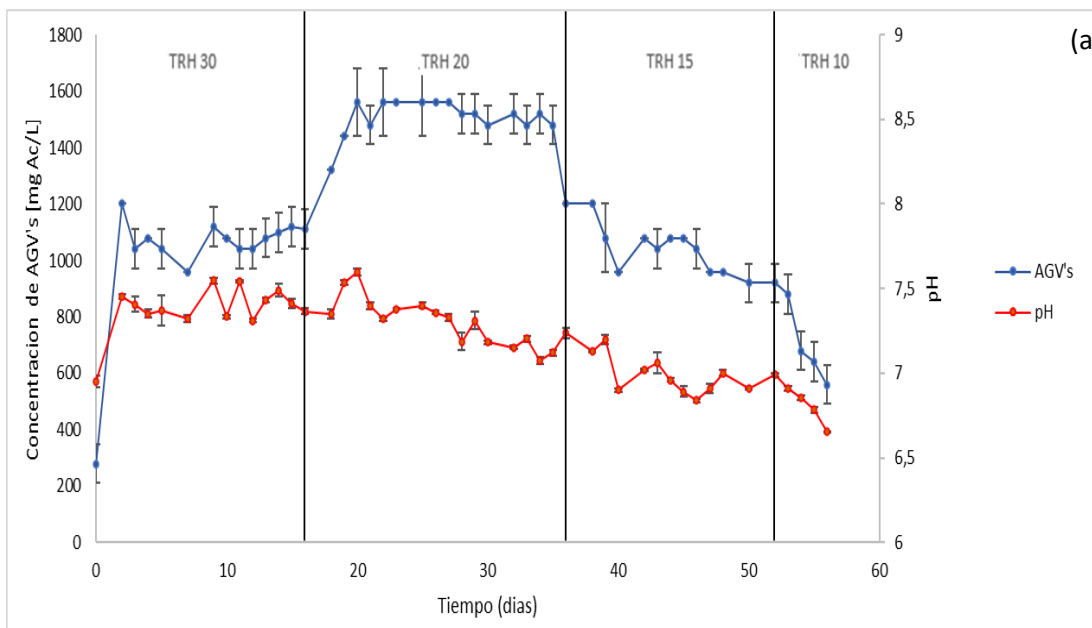
4.2 Evaluación del TRH

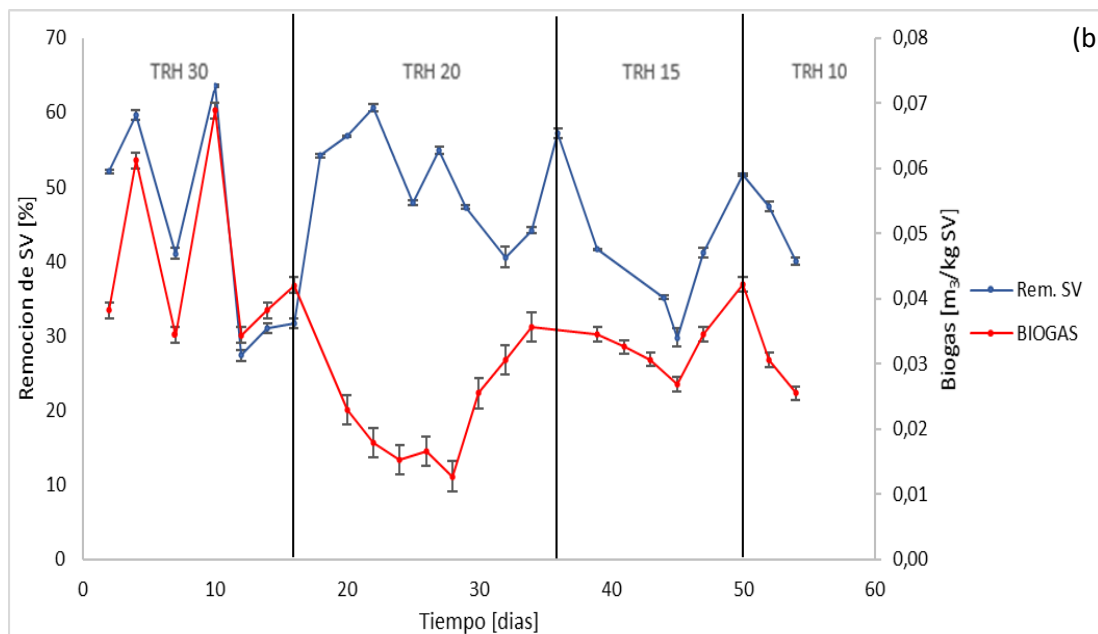
4.2.1 Concentración de AGV's y producción de Biogás

Una vez seleccionado el LR como inóculo, el TRH se redujo a 20, 15 y 10 días. Los resultados de la concentración de ácidos grasos volátiles (AGV's), pH, producción específica de biogás y remoción de SV se presentan en la Figura 5.

Figura 5.

(a. Monitoreo de la producción de AGV's y pH de R1 con TRH de 30, 20, 15 Y 10 días. (b. Biogás producido y porcentajes de remoción de SV de R1.





Al reducir el TRH de 30 a 20 días, la concentración de AGV's incrementó de 1110 a 1560 mg Ac/L entre los días 16 y 20, lo cual coincidió con un aumento de pH de 7,35 a 7,60 y de la remoción de SV de 31 a 60%. Esto indica un mejoramiento en la tasa de hidrólisis dentro del proceso de FA. El incremento en la concentración de AGV's puede ocasionar estrés en los microorganismos metanogénicos (Ahring, Sandber, & Angelidaki, 1995). Esto explica la caída en la producción de biogás de 0,04 a 0,01 m³/kg SV entre los días 16 y 28. Sin embargo, se observó una recuperación en la producción de biogás a partir del día 28, mientras la concentración de AGV's decayó aproximadamente un 7%. Esto se puede deber a la capacidad de los microorganismos metanogénicos de adaptarse a las nuevas condiciones de concentración de AGV's (Li, Peng, Wang, & Wu, 2018), la etapa metanogénica se inhibe a los 4700 mg Ac/L (Lee, y otros, 2015) y cómo se observa en la figura 5 no se alcanzaron esas concentraciones por lo cual no se logró la inhibición en el digestor. A partir del día 20 el pH decayó de una manera casi constante hasta alcanzar un valor de 7.13 en el día 38.

Al reducir el TRH a 15 días la concentración de AGV's decayó cerca de 920 mg Ac/L, mientras que la producción de biogás y la remoción de SV se mantuvieron entre 57 y 30% y entre 0,02 y 0,04 m³/kg SV, respectivamente. El pH continuó bajando hasta alcanzar un valor de 6.99 en el día 52, el cual es cercano al medido para las AV (Tabla 1). Han & Shin (2002) estudiaron la FA de residuos de alimentos utilizando un consorcio microbiano ruminal. Para un TRH de 0.25 d los autores evidenciaron una reducción en la concentración de AGV's y un cambio del pH a valores cercanos al del sustrato, lo cual fue atribuido a el lavado celular en el digestor (Shin, 2002). Por tanto, la reducción simultánea en la concentración de AGV's y en el pH encontrada en este trabajo es un indicio del lavado celular del digestor. La posterior reducción del TRH hasta un valor de 10 d, ocasionó el lavado total del digestor.

La concentración máxima de AGV's hallada en el presente estudio es similar a las encontradas en la FA de aguas residuales con similar concentración de SV y DQO. Por ejemplo, Demirel & Yenigun (2004) hallaron concentraciones de AGV's de 1600 mg/L para la FA de aguas residuales de lechería (SV=1,5 g/L) (Demirel & Yenigun, 2004). Oktem et al. (2006) determinaron concentraciones de AGV's de 1500 mg/L para una mezcla de aguas residuales farmacéuticas y glucosa (DQO= 1000 mg/L) (Oktem, Ince, Donnelly, Sallis, & .Ince, 2006). Sin embargo, al parecer el aumento en la carga orgánica de las aguas favorece notablemente la producción de AGV's. Por ejemplo, Scoma et al. (2013) presentan concentraciones de AGV's entre 11930 y 18380 mg DQO/L para aguas residuales de la molienda de oliva con DQO entre 25280 y 38790 mg/L (Scoma, Betin, & Fava, 2013). Para este mismo sustrato, Yarimtepe et al. (2017) reportan concentraciones de AGV's de 27152 mg/L (Yarimtepe, Ayman, & Ince, 2017). Este análisis permite deducir que la carga orgánica de las AV evaluadas no es lo suficientemente alta para

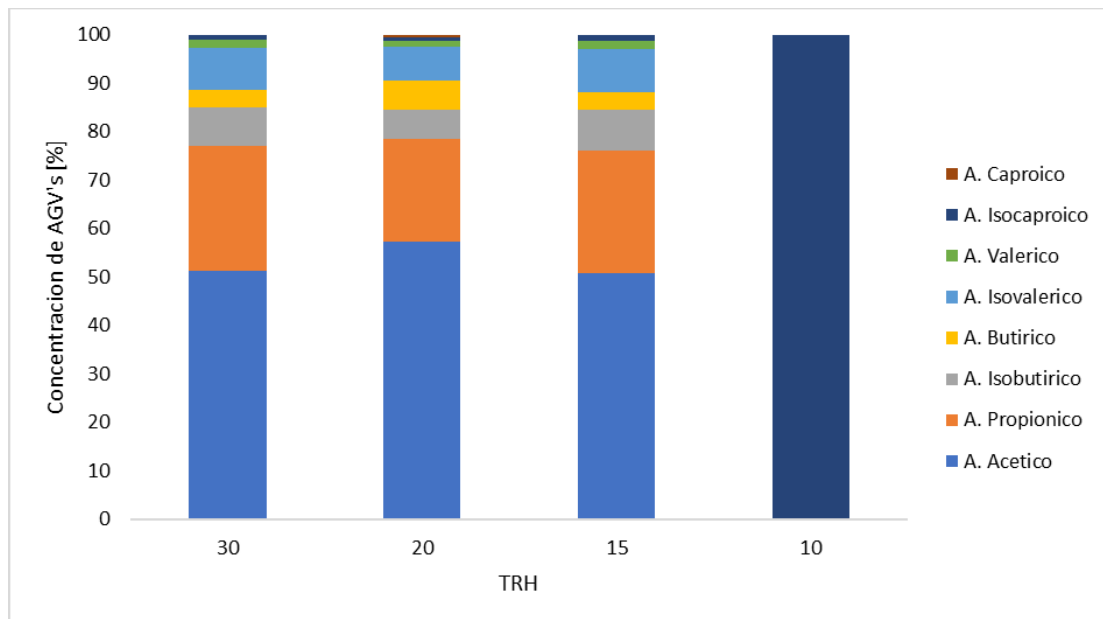
acidificar completamente el proceso (concentración de AGV's > 4700 mg Ac/L (Lee, y otros, 2015)), dado que no se logra la sobrecarga del digester sin evitar el lavado celular.

4.2.2 Determinación de la composición de AGV's por cromatografía.

La Figura 6 presenta los resultados promedio de la cromatografía de AGV's del digester R1, para TRH de 30, 20, 15 y 10 días.

Figura 6.

Composición de los AGV's de R1 para TRH de 30, 20, 15 Y 10 días.



Los tiempos de RTH de 30, 20 y 15 días presentaron una composición similar de AGV's, con los ácidos acético (53,1%) y propiónico (24,1%) como los de mayor proporción, seguidos por los ácidos isobutírico (%7,5) e isovalérico (8,2%). Debido al lavado celular ocurrido en R1 a una HRT de 10 días, el único ácido detectado fue el isocaproico. Estos resultados demuestran que el

TRH entre 15 y 30 días no tiene un efecto significativo sobre la composición de AGV's. Sin embargo, se debe resaltar que el HRT de 20 días favoreció entre 6 y 7% más la producción de ácido acético comparado con las HRT de 15 y 30 días. Esta observación concuerda con las conclusiones de Oktem et al (2006), quienes evidenciaron que el TRH solo tuvo un efecto menor en la composición de AGV's producido en la FA de aguas residuales farmacéuticas. Así mismo, los autores encontraron que los ácidos de mayor producción fueron el ácido acético, propiónico y butírico (Oktem, Ince, Donnelly, Sallis, & .Ince, 2006).

4.2.3 Tasa de acidificación

La tasa de acidificación (determinada por la ecuación 1) se presenta en la Tabla 4.

Tabla 4.

Resumen de estudios relacionados.

TRH	Sustrato	Grado de acidificación (%)	Autor
30 DÍAS	AV	23,1	Este estudio
20 DÍAS	AV	49,7	Este estudio
15 DÍAS	AV	37,5	Este estudio
10 DÍAS	AV	0,4	Este estudio
12 HORAS	Aguas residuales lácteas	56	Demirel & Yenigun (2004) (Demirel & Yenigun, 2004)
12 HORAS	Aguas residuales farmacéuticas	44	Oktem et al (2006) (Oktem, Ince,

TRH	Sustrato	Grado de acidificación (%)	Autor
			Donnelly, Sallis, & Ince, 2006)
5 DÍAS	Aguas residuales de molino de oliva desfenolizada	50,7	Scoma et al (2013) (Scoma, Betin, & Fava, 2013)
2 DÍAS	Aguas residuales pretratadas de molino de oliva	68	Yarimtepe et al (2017) (Yarimtepe, Ayman, & Ince, 2017)
20 DÍAS	Lixiviado de vertedero	36	Begum et al (2017) (Begum, y otros, 2017)

La reducción del TRH de 30 a 20 días aumentó significativamente la tasa de acidificación. Una reducción adicional del TRH de 20 a 15 días redujo la tasa de acidificación 12 puntos, mientras que para un TRH de 10 días la tasa de acidificación fue casi nula debido al lavado total del digester. Este comportamiento coincide con el observado en la concentración de AGV's (Figura 5). La máxima tasa de acidificación encontrada en el presente estudio (TRH 20 días) se encuentra en el rango óptimo reportado en la literatura para la FA de diferentes tipos de aguas residuales. De hecho, la acidificación de las AV supera la presentada por aguas residuales farmacéuticas (Oktem, Ince, Donnelly, Sallis, & Ince, 2006) y lixiviados de vertederos (Begum, y otros, 2017) y es cercana a la reportada para aguas residuales de la molienda de oliva (Scoma, Betin, & Fava, 2013).

5. Conclusiones

El líquido ruminal presentó ventajas sobre el lodo de estiércol bovino como inóculo para la fermentación anaeróbica de las aguas residuales del lavado de vísceras blancas del proceso de beneficio bovino. Esto se debe a que los consorcios microbianos contenidos en el líquido ruminal presentan una mayor actividad hidrolítica específica (0,068) que el lodo de estiércol bovino (0,060) y adicionalmente tiene un pH levemente alcalino (7,84) el cual favorece la hidrólisis. Dicha actividad hidrolítica mejora la fermentación anaeróbica debido a que es la etapa del proceso en la cual se degradan los lípidos y proteínas presentes en gran proporción en las aguas residuales de lavado de vísceras blancas.

El tiempo de retención hidráulica afectó la producción de AGV's durante la fermentación anaeróbica de aguas residuales de lavado de vísceras blancas. La reducción del tiempo de retención hidráulica de 30 días a 20 días incrementó la concentración máxima de AGV's de 1200 mg Ac/L a 1560 mg Ac/L y la tasa de acidificación de 23,1% a 49,7%. Sin embargo, tiempos de retención hidráulicos por debajo de 20 días deben evitarse dado que pueden ocasionar el lavado celular del digestor.

La mayor tasa de acidificación (49,7%) y concentración de AGV's (1560 mg Ac/L) se logró con un tiempo de retención hidráulico de 20 días, las cuales son similares a las encontradas en la literatura para aguas residuales de características semejantes. Sin embargo, dada la baja concentración de sólidos volátiles de las aguas residuales de lavado de vísceras blancas, no es posible acidificar completamente el digestor.

6. Recomendaciones

El sistema de alimentación de los reactores por gravedad no permitió regular el caudal de manera óptima, por lo que se recomienda usar una bomba peristáltica o la implementación de un método de alimentación que permita mantener un caudal de entrada constante y no permita la entrada de aire a los reactores.

Realizar el muestreo de biogás, cuantificar los SV y la DQO en los reactores diariamente con el fin de obtener una mejor explicación del comportamiento de las variables.

Se recomienda que para lograr la acidificación total del proceso y obtener una mayor producción de AGV's, mezclar algunos de los tipos de aguas residuales de matadero, que posean la mayor cantidad de SV, lípidos y proteínas para optimizar el proceso.

Realizar un diseño de experimentos más completo donde se varíen no solamente el TRH y la CO, asimismo se tenga en cuenta un control de pH del efluente de los reactores.

Referencias bibliográficas

- Acosta, Y., & Obaya, C. (2005). Introducción. En *La digestión anaeróbica. Aspectos teóricos. Parte 1* (págs. 35-48). Ciudad de la Habana, Cuba: ICIDCA.
- Ahring, B., Sandber, M., & Angelidaki, I. (1995). Volatile fatty acids as indicators of process imbalance in anaerobic digestors. *Environmental Biotechnology*, 43, 559-565.
- Alibardi, L., & Cossu, R. (2015). Effects of carbohydrate, protein and lipid content of organic waste on hydrogen production and fermentation products. *Waste Management*, 47, 69-77.
- Astals, S. B. (2015). Development and validation of a rapid test for anaerobic inhibition and toxicity. *Water Research*, 208-215.
- Atasoy, M., Eyice, O., & Cetecioglu, Z. (2020). A comprehensive study of volatile fatty acids production from batch reactor to anaerobic sequencing batch reactor by using cheese processing wastewater. *Bioresource Technology*, 311, 123529.
- Begum, S., Anupoju, G., Sridhar, S., Bhargava, S., Jegatheesan, V., & Eshtiaghi, N. (2017). Evaluation of single and two stage anaerobic digestion of landfill leachate: Effect of pH and initial organic loading rate on volatile fatty acid (VFA) and biogas production. *Bioresource Technology*, 251, 364-373.
- Bermúdez-Pena, N., Kennes, C., & Veiga, M. (2017). Anaerobic digestion of tuna waste for the production of volatile fatty acids. *Waste Management*, 68, 96-102.
- Bermúdez-Penabad, N., & Kennes, C. V. (2017). Anaerobic digestion of tuna waste for the production of volatile fatty acids. *Waste Management*, 68, 96-102.

- Bustillo-Lecompte, D., & Mehrvar, M. (2015). Slaughterhouse wastewater characteristics, treatment, and management in the meat processing industry: A review on trends and advances. *Journal of Environmental Management*, 161, 287-302.
- Cadavid, L., & Horan, M. (2014). Production of volatile fatty acids from wastewater screenings using a leachbed reactor. *Water Research*, 60, 242-249.
- Caixeta, C., Cammarota, M., & Xavier, A. (2002). Slaughterhouse wastewater treatment: evaluation of a new three-phase separation system in a UASB reactor. *Bioresource technology*, 31, 61-69.
- Castillo, P., Gonzalez, G., & Tejero, I. (1999). Prefermentacion de agua residual urbana empleando un reactor biopelícula de lecho sumergido. *Ingenieria del agua*, 6(3), 259-268.
- Cavinato, D., Da Ros, A., Pavan, R., & Bolzonella, D. (2016). Influence of temperature and hydraulic retention on the production of volatile fatty acids during anaerobic fermentation of cow manure and maize silage. *Bioresource Technology*, 223, 59-64.
- Choudhari, S., Cerrone, F., Woods, T., Joyce, R., Flaherty, V., Connor, G., & Babu, R. (2015). Pervaporation separation of butyric acid from aqueous and anaerobic digestion (AD) solutions using PEBA based composite membranes. *J Ind Eng Chem*, 23, 163-170.
- Demirel, B., & Yenigun, O. (2004). Anaerobic Acidogenesis of Dairy Wastewater: The Effects of Variations in Hydraulic Retention Time with No pH Control. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 79(7), 755 - 760.
- Eryildiz, B. L., & Taherzadeh, M. (2020). Effect of pH, substrate loading, oxygen, and methanogens inhibitors on volatile fatty acid (VFA) production from citrus waste by anaerobic digestion. *Bioresource Technology*, 302, 122800.
- Farouk, R., Li, L., Wang, Y., Li, Y., & Melak, S. (2020). Influence of pretreatment and pH on the enhancement of hydrogen and volatile fatty acids production from food waste in the semi-continuously running reactor. *International Journal of Hydrogen Energy*, 45(6), 3729-3738.

- Fortela, D., Hernandez, R., French, W., Zappi, M., Revellame, E., Holmes, E., & Mondala, A. (2016). Extent of inhibition and utilization of volatile fatty acids as carbon sources for activated sludge microbial consortia dedicated for biodiesel production. *Renewable Energy*, 96, 11-19.
- Garnica, M., & Perea, J. (2019). *Potencial anaerobico de aguas rojas de sacrificio bovino para la produccion de biogas y recuperacion de nitrogeno y fosforo*. Bucaramanga, Colombia.
- Gomez, I. (2019). *Codigestión Anaeróbica de Aguas de Lavado de Vísceras Blancas y Estiércol Bovino Provenientes de una Planta de Beneficio en un Bioreactor Tubular*. Bucaramanga, Colombia.
- Gruhn, M., Fringon, J., & Guiot, S. (2016). Acidogenic fermentation of *Scenedesmus* sp.-AMDD: Comparison of Volatile fatty acids yields between mesophilic and thermophilic conditions. *Bioresource Technology*, 200, 624-630.
- Jankea, L., Leite, A., Batista, K., Weinricha, S., Sträuberc, H., Nikolausz, N., & Stinnera, W. (2016). Optimization of hydrolysis and volatile fatty acids production from sugarcane filter cake: Effects of urea supplementation and sodium hydroxide pretreatment. *Bioresource Technology*, 199, 235-244.
- Jankowska, E., Chwialkowska, J., Stodolny, M., & Oleskowicz-Popiel, P. (2017). Volatile fatty acids production during mixed culture fermentation – The impact of substrate complexity and pH. *Chemical Engineering Journal*, 326, 901-910.
- Jenkins, T. (1993). Lipid Metabolism In the Rumen. *Journal of dairy science*, 76(12), 3851-3863.
- Jensen, P., Sullivan, T., Carney, T., & Badstone, D. (2014). Analysis of the potential to recover energy and nutrient resources from cattle slaughterhouses in Australia by employing anaerobic digestion. *Applied Energy*, 136, 23-31.
- Jiang, J., Zhang, Y., Li, K., Wang, Q., Gong, C., & Li, M. (2013). Volatile fatty acids production from food waste: Effects of pH, temperature, and organic loading rate. *Bioresour Technol*(143), 525-530.

- Jobling, B., Thai, S., Fritz, T., Steves, S., Dindale, R., & Guwy, A. (2014). An improved titration model reducing over estimation of total volatile fatty acids in anaerobic digestion of energy crop, animal slurry and food waste. *Water research*, *61*, 162-170.
- Khan, M., Ngo, H., Guo, W., Chang, S., Nguyen, D., Varjani, S., . . . Cheng, C. (2019). Selective production of volatile fatty acids at different pH in an anaerobic membrane bioreactor. *Bioresource Technology*, *283*, 120-128.
- Kumar Khanal, S. (2008). *Anaerobic Biotechnology for Bioenergy Production: principles and applications*. Primera ed. Ames, Iowa: Office.
- Lagoa-Costa, B., Kennes, D., & Veiga, M. (2020). Cheese whey fermentation into volatile fatty acids in an anaerobic sequencing batch reactor. *Bioresource Technology*, *308*, 123-226.
- Lee, D.-J., Lee, S.-Y., Bae, J.-S., Kang, J.-G., Kim, K.-H., Rhee, S.-S., . . . Seo, D.-C. (2015). Effect of Volatile Fatty Acid Concentration on Anaerobic Degradation Rate from Field Anaerobic Digestion Facilities Treating Food Waste Leachate in South Korea. *Hindawi Publishing Corporation, Journal of Chemistry*, *2015*, 0-9.
- Lee, S., May, A., Yeoh, H., & Ngoh, G. (2014). A review of the production and applications of waste-derived volatile fatty acids. *Chemical Engineering Journal*, *235*, 83-99.
- Li, L., Peng, X., Wang, X., & Wu, D. (2018). Anaerobic digestion of food waste: A review focusing on process stability. *Bioresource Technology*, *248*, 20-28.
- Lim, S., Kim, B., Jeong, C., Choi, J., Ahn, Y., & Chang, H. (2008). Anaerobic organic acid production of food waste in once-a-day feeding and drawing-off bioreactor. *Bioresource Technology*, *99*, 7866-7874.
- Luste, S., & Luostarinen, S. (2010). Anaerobic co-digestion of meat-processing by-products and sewage sludge – Effect of hygienization and organic loading rate. *Bioresource Technology*, *101*, 2657-2664.
- Ma, H., Chen, X., Liu, H., Liu, H., & Fu, B. (2016). Improved volatile fatty acids anaerobic production from waste activated sludge by pH regulation: Alkaline or neutral pH? *Waste Management*, *48*, 397-403.

- Mesquita, P., Afonso, R., Aquino, S., & Leite, G. (2013). EVALUACIÓN DEL POTENCIAL ACIDOGÉNICO PARA PRODUCCIÓN DE ÁCIDOS GRASOS VOLÁTILES (AGV) A PARTIR DE LIXIVIADOS DE LOS RESIDUOS SÓLIDOS ORGÁNICOS, COMO PLATAFORMA DE BIOREFINERÍA. *Engenharia Sanitaria e Ambiental*, 18, 295-302.
- Neves, L., Gonzalo, E., Olivera, R., & Alves, M. (2008). Influence of composition on the biomethanation potential of restaurant waste at mesophilic temperatures. *Waste Management*, 28, 965-972.
- Oktem, Y., Ince, O., Donnelly, T., Sallis, P., & Ince, B. (2006). Determination of optimum operating conditions of an acidification reactor treating a chemical synthesis-based pharmaceutical wastewater. *Process Biochemistry*, 41, 2258-2263.
- Rice, E., Baird, R., & Eaton, A. (2017). *Standard methods for the examination of water and wastewater, 23rd edition*. USA: American Public Health Association.
- Saddoud, A., & Sayadi, S. (2007). Application of acidogenic fixed-bed reactor prior to anaerobic membrane bioreactor for sustainable slaughterhouse wastewater treatment. *Journal of Hazardous Materials*, 149, 700-706.
- Scoma, A., Betin, L., & Fava, F. (2013). Effect of hydraulic retention time on biohydrogen and volatile fatty acids production during acidogenic digestion of dephenolized olive mill wastewaters. *Biomass and energy*, 48, 51-58.
- Shen, D., Yin, J., Yu, X., Wang, M., Long, Y., Jiali, S., & Chen, T. (2017). Acidogenic fermentation characteristics of different types of protein-rich substrates in food waste to produce volatile fatty acids. *Bioresource Technology*, 227, 125-132.
- Shen, D., Yin, J., Yu, X., Wang, M., Long, Y., Shentu, J., & Chen, T. (2017). Acidogenic fermentation characteristics of different types of protein-rich substrates in food waste to produce volatile fatty acids. *Chemical Engineering Journal*, 227, 125-132.
- Shin, S. H. (2002). Enhanced acidogenic fermentation of food waste in a continuous-flow reactor. *Waste Management & Research*, 20, 110-118.

- Yap, S., Astals, S., Lu, Y., Peces, M., Jensen, P., Batstone, D., & Tait, S. (2018). Humic acid inhibition of hydrolysis and methanogenesis with different anaerobic inocula. *Waste Management*, *80*, 130-136.
- Yarıntepe, D., Ayman, N., & Ince, O. (2017). Volatile fatty acid production dynamics during the acidification of pretreated olive mill wastewater. *Bioresource Technology*.
- Yu, G., He, P., Shao, L., & He, P. (2008). Toward understanding the mechanism of improving the production of volatile fatty acids from activated sludge at pH 10.0. *water research*, *42*, 4637-4644.
- Yu, X., Yin, J., Shen, D., Shentu, J., Long, Y., & Chen, T. (2018). Improvement of acidogenic fermentation for volatile fatty acid production from protein-rich substrate in food waste. *Waste Management*, *74*, 177-184.
- Yua, Q., Sparling, R., & Oleszkiewicz, J. (2011). VFA generation from waste activated sludge: Effect of temperature and mixing. *Chemosphere*, *82*(4), 603-607.
- Zhao, J., Wang, D., Liu, Y., Hao, H., Guo, G., Yang, Q., & Li, X. (2018). Novel stepwise pH control strategy to improve short chain fatty acid production from sludge anaerobic fermentation. *Bioresource Technology*, *249*, 431-438.
- Zhou, M., Yan, B., Wong, J., & Zhang, Y. (2018). Enhanced volatile fatty acids production from anaerobic fermentation of food waste: A mini-review focusing on acidogenic metabolic pathways. *Bioresource*, *248*, 68-78.

Apéndices

Apéndice A. Sólidos totales y sólidos volátiles

Definición

Los sólidos totales incluyen todos los sólidos contenidos en una muestra, tanto suspendidos como disueltos. Los sólidos volátiles representan el peso perdido por ignición de la muestra calcinada a 550°C; son los sólidos que se volatilizan durante la calcinación.

Procedimiento

1. Llevar al horno tres crisoles por cada muestra y dejarlos durante dos horas a 103-105°C. dejarlos enfriar en el desecador y pesarlos (A).
2. Depositar en cada crisol una cantidad de muestra específica bien homogenizada (B).
3. Llevarlos al horno a 103-105°C durante 15-24 horas hasta que la muestra esté seca. Dejar enfriar en el desecador y pesarlos (C).
4. Llevar los crisoles a una mufla a 550°C durante 1 hora. Apagar la mufla.
5. Dejar y dejar que baje la temperatura. Sacar los crisoles y enfriar en el desecador
6. Pesar los crisoles (D).

Cálculos

$$ST \left[\frac{gST}{kg \text{ muestra}} \right] = \frac{(C - A) * 1000}{(B - A)}$$

$$SV \left[\frac{gSV}{kg \text{ muestra}} \right] = \frac{(C - D) * 1000}{(B - A)}$$

Apéndice B. Demanda química de oxígeno

Definición

La demanda química de oxígeno es una medida de la cantidad de oxígeno necesario para la oxidación total de la materia orgánica presente en la muestra.

Procedimiento

1. Usar tubos de ensayo de 16 x 100 mm con tapa rosca. Enjuagarlos previamente con ácido sulfúrico al 20% para prevenir contaminación.
2. Agregar a cada tubo de ensayo 2.5 ml de muestra, adicionar 1,5ml de solución digestora y 3.5 ml de solución catalítica. Preparar un blanco remplazando la muestra con agua destilada. Analizar las muestras por triplicado.
3. Cerrar herméticamente los tubos, agitarlos con cuidado (reacción exotérmica) y llevarlos al termoreactor durante 2 horas a 150°C.
4. Sacar los tubos de ensayo, agitar y dejar enfriar.
5. Medir la absorbancia de las muestras contra el blanco en el espectrofotómetro a 600 nm para DQO altas y 420 nm para DQO bajas.

Apéndice C. Alcalinidad total y ácidos grasos volátiles

Definición

La alcalinidad es una medida de la capacidad de una muestra de neutralizar los ácidos. Los ácidos grasos volátiles son ácidos orgánicos producto de la fermentación de carbohidratos, lípidos y proteínas por bacterias acidogénicas durante la digestión anaeróbica.

Procedimiento

1. Centrifugar entre 7 y 20 ml de muestra a 5000 rpm por 30 minutos en un tubo falcón de 50 ml.
2. Pasar el sobrenadante a un vaso de precipitado y medir el pH inicial
3. A 5 ml de la muestra, adicionar 25 ml de agua destilada, luego llevar a la plancha de agitación usando un agitador magnético en un vaso de 50 ml.
4. Medir nuevamente el pH. Si es mayor a 6.5 agregar HCl 0.1N hasta pH 6.5 para iniciar la titulación con HCl hasta llevarlos a pH 3.0. Anotar el valor del volumen utilizado (A).
5. Seguidamente la muestra se lleva a un balón de destilación, conectar el equipo y calentarlo con una estufa hasta ligera ebullición durante 2 minutos.
6. Retirar el balón del destilador y someterlo a un choque térmico con hielo.
7. Pasar la muestra a un vaso de precipitado y medir el pH y se adiciona NaOH 0.1N hasta llevar el pH 6.5. Anotar el volumen gastado (B).

Cálculos

Para hallar la concentración de AT y AGV, se despeja de la siguiente ecuación

$$V_1 * C_1 = V_2 * C_2$$

Alcalinidad total (AT): se expresa como carbonato de calcio (mg CaCO₃/L)

$$AT \left[\frac{\text{mg CaCo}_3}{L} \right] = \frac{A * N \text{ HCL}}{\text{Vol. muestra}} * 50000$$

Donde:

A: Volumen de HCl utilizado

N HCl: 0.1

Vol. muestra: 5 ml

50000: 50 mg CaCO₃/meq x 1000ml/L

Ácidos grasos volátiles (AGV): se expresa como ácido acético (mg ácido acético/L)

$$AGV \left[\frac{\text{mg Ac. Acetico}}{L} \right] = \frac{B * N \text{ NaOH}}{\text{Vol. muestra}} * 60000$$

Donde

B: Volumen de NaOH utilizado

N NaOH: 0,1

Vol. muestra: 5ml

60000: 60 mg Ac. Acético/meq x 1000 ml/L

Apéndice D. pH

Definición

El pH es una medida de la acidez o alcalinidad de una muestra y ésta depende de la concentración de iones de hidrógeno presentes.

Procedimiento

1. Calibración del pH-metro con soluciones tampón
2. Luego de calibrar el equipo, introducir el electrodo en la muestra y esperar que el valor aparezca en la pantalla y se estabilice.
3. Registrar el dato, sacar el electrodo, enjuagarlo con agua destilada y guardarlo en la solución correspondiente.

Apéndice E. Determinación de la actividad metanogénica específica.

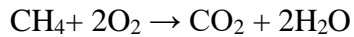
El procedimiento que se lleva a cabo para la determinación de la actividad metanogénica específica (Astals, 2015). Los experimentos se realizan por triplicado.

1. El ensayo se realizó en botella de vidrio de 100 ml con un volumen de trabajo de 60 ml.
2. Agregue a cada botella una cantidad designada de inóculo (60 ml), 0.6 ml acetato de sodio como fuente de carbono. Además, preparar un blanco que contendrá la misma cantidad de inóculo y 0.6 ml de agua destilada.
3. Luego enjuagar con 99.99% de gas nitrógeno durante 30 segundos, después de lavar las botellas se sellan rápidamente con tapón de butilo y agrafes de aluminio.
4. Colocar las botellas en una incubadora a temperatura controlada ($37\pm 1^{\circ}\text{C}$).
5. Las pruebas se mezclaron mediante agitación manual antes de cada evento de muestreo.
6. Medir la producción de metano en aproximadamente 0.5, 1.0 y 1.5 días, después del comienzo del ensayo, la experimentación terminara cuando la producción diaria de metano este por debajo del 1% de la producción acumulada de metano durante tres días consecutivos.
7. La producción de metano se midió utilizando el método de desplazamiento alcalino.
8. Trace la producción acumulada de metano específico en base a DQO ($\text{g DQO} \cdot \text{SV-1 inóculo}$) en el curso de tiempo. Teniendo en cuenta que 350 ml de metano en condiciones estándar

(0°C, 1 bar) es 1 gramo de DQO, se demuestra con el siguiente balance estequiométrico (Kumar Khanal, 2008):

- Paso 1. Cálculo del equivalente de DQO de CH₄

Es necesario calcular el equivalente de DQO del metano considerando su oxidación completa, como se muestra en las siguientes ecuaciones:



$$16 \text{ g } \text{CH}_4 \rightarrow 64 \text{ g } \text{O}_2$$

$$16 \text{ g } \text{CH}_4 \rightarrow 64 \text{ g } \text{O}_2 \text{ (DQO)}$$

$$1 \text{ g } \text{CH}_4 \rightarrow 64/16 = 4 \text{ g DQO}$$

- Paso 2. Conversión de metano a volumen equivalente

Según la ley del gas ideal, 1 mol de cualquier gas en STP ocupa un volumen de 22.4 L

$$16 \text{ g } \text{CH}_4 \rightarrow 22.4 \text{ L } \text{CH}_4$$

$$1 \text{ g } \text{CH}_4 \rightarrow 22.4/16 = 1.4 \text{ L } \text{CH}_4$$

- Paso 3 Generación de metano por unidad de DQO

$$1 \text{ g } \text{CH}_4 \rightarrow 4 \text{ g DQO} \rightarrow 1.4 \text{ L } \text{CH}_4$$

$$1 \text{ g DQO} \rightarrow 1.4/4 = 0.35 \text{ L } \text{CH}_4 = 350 \text{ ml } \text{CH}_4$$

9. Determine la pendiente y la incertidumbre de la zona lineal.

Apéndice F. Determinación de la actividad hidrolítica específica.

El procedimiento que se lleva a cabo para la determinación de la actividad hidrolítica específica (Yap, y otros, 2018). Los experimentos se realizan por triplicado.

1. El ensayo se realizó en botella de vidrio de 100 ml con un volumen de trabajo de 60 ml.

2. Cada botella lleva una cantidad de inóculo y sustrato (celulosa) manteniendo una RIS de 5 en términos de SV. Cada muestra se analizó por triplicado, tres botellas para medir la producción de metano y tres botellas que contenían solo inóculo (blancos).

3. Luego enjuagar con 99.99% de gas nitrógeno durante 30 segundos, después de lavar las botellas se sellan rápidamente con tapón de butilo y agrafes de aluminio.

4. Además, se prepararon quince replicas para evaluar la concentración diaria de DQOs.

Para medir la DQOs se realizan los siguientes pasos:

- Centrifugar la muestra durante 30 minutos a 5000 rpm
- Pasar el sobrenadante por filtro de 0.45 μm
- Agregar a cada tubo de ensayo 2.5 ml de muestra, adicionar 1.5ml de solución digestora y 3.5 ml de solución catalítica. Preparar un blanco reemplazando la muestra con agua destilada. Analizar las muestras por triplicado.

- Cerrar herméticamente los tubos, agitarlos con cuidado (reacción exotérmica) y llevarlos al termo reactor durante 2 horas a 150°C.

- Sacar los tubos de ensayo, agitar y dejar enfriar.

- Medir la absorbancia de las muestras contra el blanco en el espectrofotómetro a 600 nm para DQO altas y 420 nm para DQO bajas.
5. Medir al inicio la DQOs del blanco.
 6. Colocar las botellas en una incubadora a temperatura controlada ($37\pm 1^\circ\text{C}$).
 7. Las pruebas se mezclaron mediante agitación manual antes de cada evento de muestreo.
 8. Medir la producción de metano diaria durante hasta que alcance la fase estacionaria.
 9. La producción de metano se midió utilizando el método de desplazamiento alcalino.
 10. Luego graficar la degradación de celulosa, producción de metano y g DQOs AHE versus el tiempo.

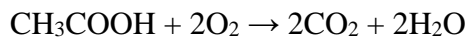
Apéndice G. Determinación del factor de conversión equivalente de DQO para cada AGV.

El calculo que se lleva a cabo para la determinación de la actividad metanogénica específica (Lim, y otros, 2008).

Procedimiento

Los factores de conversión se derivan de las reacciones de oxidación completas de los VFA individuales en CO₂ y H₂O, como se muestra en las siguientes ecuaciones.

- Equivalente de DQO del ácido acético.

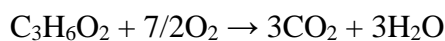


$$60,052 \text{ g} \quad 64\text{g}$$

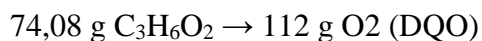


$$1\text{g CH}_3\text{COOH} \rightarrow 64/60,052 = 1,066 \text{ g DQO}$$

- Equivalente de DQO del ácido propiónico.

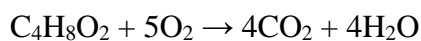


$$74,08 \text{ g} \quad 112 \text{ g}$$

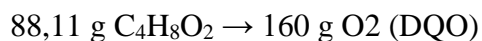


$$1\text{g C}_3\text{H}_6\text{O}_2 \rightarrow 112/74,08 = 1,512 \text{ g DQO}$$

- Equivalente de DQO del ácido isobutirico.

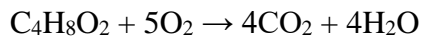


$$88,11 \text{ g} \quad 160 \text{ g}$$

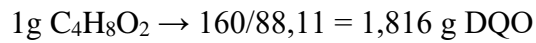
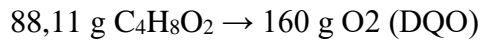


$$1\text{g C}_4\text{H}_8\text{O}_2 \rightarrow 160/88,11 = 1,816 \text{ g DQO}$$

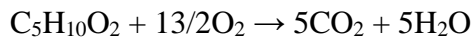
- Equivalente de DQO del ácido butírico.



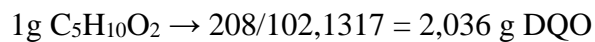
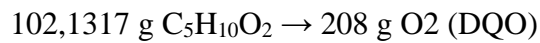
88,11 g 160 g



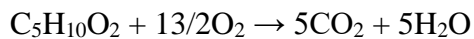
- Equivalente de DQO del ácido isovalérico.



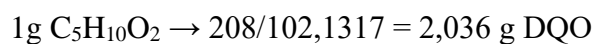
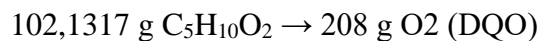
102,1317 g 208 g



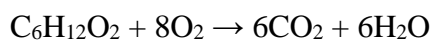
- Equivalente de DQO del ácido valérico.



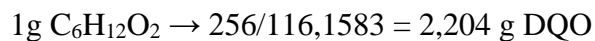
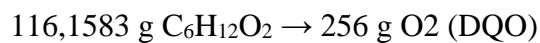
102,1317 g 208 g



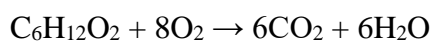
- Equivalente de DQO del ácido icocaproico.



116,1583 g 256 g



- Equivalente de DQO del ácido caproico.



116,1583 g 256 g

116,1583 g $C_6H_{12}O_2 \rightarrow 256$ g O_2 (DQO)

1g $C_6H_{12}O_2 \rightarrow 256/116,1583 = 2,204$ g DQO