

**EVALUACIÓN DEL POTENCIAL DE PRODUCCIÓN DE BIOGÁS A PARTIR DE
AGUAS RESIDUALES PROVENIENTES DE LA INDUSTRIA PALMERA
MEDIANTE DIGESTIÓN ANAEROBIA**

DIANA MILENA HERRERA SORACÁ

DIANA ANDREA NIÑO BONILLA

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE INGENIERÍAS FÍSICO-QUÍMICAS
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
BUCARAMANGA**

2012

**EVALUACIÓN DEL POTENCIAL DE PRODUCCIÓN DE BIOGÁS A PARTIR DE
AGUAS RESIDUALES PROVENIENTES DE LA INDUSTRIA PALMERA
MEDIANTE DIGESTIÓN ANAEROBIA**

DIANA MILENA HERRERA SORACÁ

DIANA ANDREA NIÑO BONILLA

**Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de Ingeniero
Químico**

Directora

DEBORA ALCIDA NABARLATZ

Ingeniera Química, Ph.D.

Codirectora

LIGIA PATRICIA ARENAS BELTRÁN

Ingeniera Química, M.Sc.

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER

FACULTAD DE INGENIERÍAS FÍSICO-QUÍMICAS

ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA

BUCARAMANGA

2012

Con todo mi amor y cariño dedico este proyecto

*A Dios que siempre ha estado a mi lado dándome sabiduría y tranquilidad en
todo momento para poder alcanzar mis metas.*

*A mi mami Ligia por todo su apoyo incondicional, por sus consejos que me
hicieron fuerte, por su amor, dedicación y por hacer de mí la persona que soy.*

A mi papi Raimundo por creer en mí y apoyarme siempre.

A mi hermano Diego por su compañía y apoyo incondicional.

*A mi novio Carlos Julio por su comprensión, colaboración, apoyo incondicional,
por su compañía, enseñanzas, consejos y por todo el amor y cariño que me ha
brindado.*

A toda mi familia que de una u otra manera contribuyeron para este logro.

*Y por último a mis amigos que fueron testigos de todos mis esfuerzos por conseguir
mi meta.*

Diana Andrea

A Dios por mis capacidades y fortalezas

A mis padres Abraham y Ana por el apoyo incondicional

A mis hermanos Cristian y Deisy por recordarme la importancia de la familia

Y a quienes estuvieron conmigo en todo momento.

Porque lo único imposible es ponerle límites a nuestros sueños.

Diana Milena

AGRADECIMIENTOS

Expresamos nuestros más sinceros agradecimientos a:

Los profesores de la Escuela de Ingeniería Química quienes con sus conocimientos nos enseñaron los fundamentos ingenieriles.

A la Doctora Debora Nabarlatz e Ingeniera Ligia Patricia Arenas por guiarnos, y brindarnos su apoyo incondicional en el desarrollo de la investigación.

A la Doctora Yajaira Combariza y al CEIAM (Centro de Estudios e Investigaciones Ambientales), por su colaboración durante el desarrollo del proyecto.

A las responsables del Laboratorio de Aguas del CEIAM, Janeth Quintero y Patricia Pico por su ayuda, confianza y enseñanzas.

A la Doctora Liliana Castro por sus aportes y colaboración.

Al Laboratorio de Procesos de la Escuela de Ingeniería Química por su apoyo cuando necesitábamos implementos.

TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	18
1. MARCO TEÓRICO	20
1.1 DIGESTIÓN ANAEROBIA.....	21
1.1.1 Hidrólisis	22
1.1.2 Acidogénesis.....	22
1.1.3 Acetogénesis.....	22
1.1.4 Metanogénesis	22
1.2 INÓCULOS UTILIZADOS EN DIGESTIÓN ANAEROBIA	23
1.3 FACTORES AMBIENTALES QUE AFECTAN LA DIGESTIÓN ANAEROBIA	24
1.3.1 Tipo de sustrato.....	24
1.3.2 pH	24
1.3.3 Temperatura.....	24
2. DESARROLLO EXPERIMENTAL	26
2.1 COMPONENTES.....	26
2.1.1 Sustrato.....	26
2.1.2 Inóculos.....	27
2.2 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD METANOGENICA ESPECÍFICA.....	27
2.3 INFLUENCIA DEL pH	28
2.4 INFLUENCIA DE LA RELACIÓN INÓCULO/SUSTRATO	29
3. RESULTADOS Y ANÁLISIS.....	31
3.1 CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DEL SUSTRATO.....	31
3.2 CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE LOS INÓCULOS.....	31
3.3 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD METANOGENICA ESPECÍFICA.....	32
3.4 INFLUENCIA DEL PH EN LA PRODUCCIÓN DE BIOGÁS.....	33
3.5 INFLUENCIA DE LA RELACIÓN INÓCULO/SUSTRATO	34
4. CONCLUSIONES	42
5. RECOMENDACIONES	43
BIBLIOGRAFÍA.....	44

ANEXOS.....	48
--------------------	-----------

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Proceso de extracción de aceite de palma	21
Figura 2. Etapas del proceso microbiológico	23
Figura 3. Diagrama de la metodología experimental.....	26
Figura 4. Método de desplazamiento alcalino	28
Figura 5. Cinéticas de producción de CH ₄ (mL) para cada inóculo a Concentración= 1,5 g SSV/L pH= 7 T= 37±2°C	32
Figura 6. Cinética de producción de CH ₄ (mL) para los inóculos a pH=7 y pH inicial=4,8.....	33
Figura 7. Cinéticas de producción de metano a diferentes RIS T=37±2°C pH inicial=4,8.....	35
Figura 8. Comportamiento del pH T= 37±2°C pH inicial= 4,8.....	36
Figura 9. Concentración de AGV, Alk y relación AGV/Alk T= 37±2°C pH inicial= 4,8	37
Figura 10. Evolución de SV en comparación con el volumen de CH ₄ acumulado T= 37±2°C.....	39
Figura 11. Porcentaje de remoción DQO en comparación con el volumen de CH ₄ acumulado T=37+2°C pH inicial=4,8	40

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Cantidades agregadas para cada RIS.....	29
Tabla 2. Caracterización fisicoquímica del sustrato.....	31
Tabla 3. Caracterización fisicoquímica de los inóculos	32
Tabla 4. Evaluación AME	32
Tabla 5. Qp y volumen acumulado de metano para las diferentes RIS estudiadas	34
Tabla 6. % Remoción SV.....	38

LISTA DE ANEXOS

Anexo A. Medio de cultivo AME.....	48
Anexo B. Preparación de Soluciones.....	49
Anexo C. Métodos Analíticos	51
Anexo D. Ecuaciones utilizadas para la determinación de Q_p y $Y_{p/s}$	57
Anexo E. Registro Fotográfico	58

LISTA DE NOMENCLATURA

AGV = Ácidos Grasos Volátiles (mg/L)

Alk = Alcalinidad (mg CaCO_3 /L)

AME = Actividad Metanogénica Específica (g DQO- CH_4 /g SSV* día)

DBO₅ = Demanda Bioquímica de Oxígeno (mg/L)

DQO = Demanda Química de Oxígeno (mg/L)

LP = Lodo Palmera

PP = Lodo PTAR/Porcícola 50/50 v/v

Q_p = Productividad volumétrica de producto (mL CH_4 /día)

RIS = Relación Inóculo/Sustrato

SST = Sólidos Suspendidos Totales (mg/L)

SSV = Sólidos Suspendidos Volátiles (mg/L)

ST = Sólidos Totales (mg/L)

SV = Sólidos Volátiles (mg/L)

Y_{p/s} = Rendimiento de producto en sustrato ($\text{m}^3 \text{CH}_4$ / kg de SV)

RESUMEN

TÍTULO: EVALUACIÓN DEL POTENCIAL DE PRODUCCIÓN DE BIOGÁS A PARTIR DE AGUAS RESIDUALES PROVENIENTES DE LA INDUSTRIA PALMERA MEDIANTE DIGESTIÓN ANAEROBIA.*

AUTOR: DIANA MILENA HERRERA SORACÁ, DIANA ANDREA NIÑO BONILLA. **

PALABRAS CLAVES: Aceite de palma, efluente, biogás, inóculo, sustrato, bioproceso, microorganismos, batch.

CONTENIDO: El impacto ambiental generado por el uso de combustibles fósiles incentiva a la sociedad a buscar nuevas fuentes de energía renovable, siendo el biodiesel un biocombustible con gran potencial para desplazar al petróleo. Debido a esto ha aumentado el consumo de aceite de palma puesto que es la materia prima indispensable para la generación de éste, como consecuencia del proceso se generan efluentes con alto contenido de contaminación para el medio ambiente y las características fisicoquímicas lo hacen propicio para la producción de energías renovables como el biogás, el cual está constituido por metano y dióxido de carbono. En esta investigación se evaluó la producción de metano a partir de agua residual de una empresa Colombiana productora de aceite de palma. Con el efluente se realizaron experimentos para evaluar la influencia de pH y la relación inóculo/sustrato utilizando dos inóculos a una temperatura de incubación de $37 \pm 2^\circ\text{C}$, un volumen de reacción de 300 mL y reactor tipo batch. A partir de los resultados se encontró que no es conveniente manipular el pH debido a que la producción de metano no aumenta en forma significativa; la relación inóculo/sustrato más adecuada para este bioproceso es de 2 g SV de inóculo/ g SV de sustrato, demostrándose que existe una relación lineal creciente entre la producción de metano y la cantidad de microorganismos agregados al sistema. En comparación con la literatura el rendimiento de producción de metano fue menor al reportado por diferentes investigadores.

* Proyecto de Grado

** Facultad de Ingenierías Físico-Químicas. Escuela de Ingeniería Química. Directora Debora Nabarlatz Ing. Química Ph.D. Codirectora Ligia Patricia Arenas Beltrán Ing. Química M.Sc.

ABSTRACT

TITLE: EVALUATION OF LANDFILL GAS PRODUCTION POTENTIAL FROM SEWAGE ARISING FROM THE PALM INDUSTRY THROUGH ANAEROBIC DIGESTION*

AUTHOR: DIANA MILENA SORACÁ HERRERA, DIANA ANDREA BONILLA CHILD. **

KEYWORDS: Palm oil, effluent, biogas, inoculum, substrate, bioprocess, microorganisms, batch.

The environmental impact caused by fossil fuel use encourages society to look for new sources of renewable energy, being biodiesel a biofuel with great potential to displace oil. Because of this, the palm oil consumption has increased since it is the raw material necessary to generate it. Following this process, effluents with high content of pollution to the environment are generated and the physicochemical characteristics make it suitable for the production of renewable energy such as biogas, which consists of methane and carbon dioxide. This research evaluated the production of methane from wastewater from a Colombian company producing palm oil. Some experiments were conducted with the effluent to evaluate the influence of pH, and inoculum / substrate using two inocula to an incubation temperature of 37 ± 2 ° C, a reaction volume of 300 mL and batch type reactor. From the results, it was found that it is not convenient to manipulate the pH because of the methane production is not increased significantly, the most suitable inoculum / substrate relationship for this bioprocess is 2 g inoculum SV / SV g of substrate, demonstrating a positive linear relationship between the production of methane and the amount of microorganisms added to the system. In comparison with the literature, the production yield of methane was lower than that reported by different researches.

*Grade Work

**Physical Chemical Engineering Faculty. Chemical Engineering School. Director: Debora Nabarlatz, Chemical Engineer Ph.D. Codirector: Ligia Patricia Arenas Beltrán, Chemical Engineer M.Sc.

INTRODUCCIÓN

El impacto ambiental generado por el uso de combustibles fósiles incentiva a la sociedad a buscar nuevas fuentes de energía renovable, siendo el biodiesel un biocombustible con gran potencial para desplazar al petróleo. Debido a esto ha aumentado el consumo de aceite de palma puesto que es la materia prima indispensable para la generación de éste en países como Colombia, haciendo que la problemática ambiental crezca como consecuencia de su producción y utilización.

En la actualidad en Colombia hay destinadas 360000 hectáreas para siembra de palma de aceite en 73 municipios distribuidos en 4 zonas productivas: Norte, Central, Oriental y Occidental [1].

En el proceso de producción de aceite de palma se generan 0,7 toneladas de agua residual por tonelada de fruto procesado, lo cual está ocasionando problemas de contaminación, uso inadecuado del suelo y grandes tiempos de retención en el lugar dispuesto para verter estos residuos [2]. La composición fisicoquímica de este desecho indica que tiene alto contenido de carga orgánica y por lo tanto puede ser utilizado como sustrato en la producción de biogás mediante digestión anaerobia [3].

La caracterización fisicoquímica del agua residual indica que ocasiona graves problemas de contaminación. Con el propósito de disminuir el impacto ambiental ocasionado y a su vez generar un producto de alto contenido energético, este trabajo busca verificar si es posible reducir dicha carga orgánica mediante digestión anaerobia, a su vez maximizando la producción de biogás.

La digestión anaerobia se lleva a cabo en 4 etapas: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis. Las variables fisicoquímicas temperatura, pH y

relación inóculo/sustrato (RIS), influyen de forma significativa sobre el metabolismo de estos microorganismos anaerobios.

En este contexto se plantea como objetivo de esta investigación evaluar la producción de metano mediante digestión anaerobia utilizando como sustrato agua residual de la industria palmera.

Para esto se realizó una caracterización físico-química a los inóculos Lodo Palmera (LP), una mezcla 50/50 v/v de Lodo PTAR / Estiércol Porcícola (PP) y al sustrato. Se planteó determinar la actividad metanógena específica (AME) para los inóculos LP y PP con el fin de verificar si estos tenían presencia de microorganismos metanogénicos. También se determinó la influencia de variables de operación como pH y RIS bajo una temperatura estable en el proceso de digestión anaerobia.

1. MARCO TEÓRICO

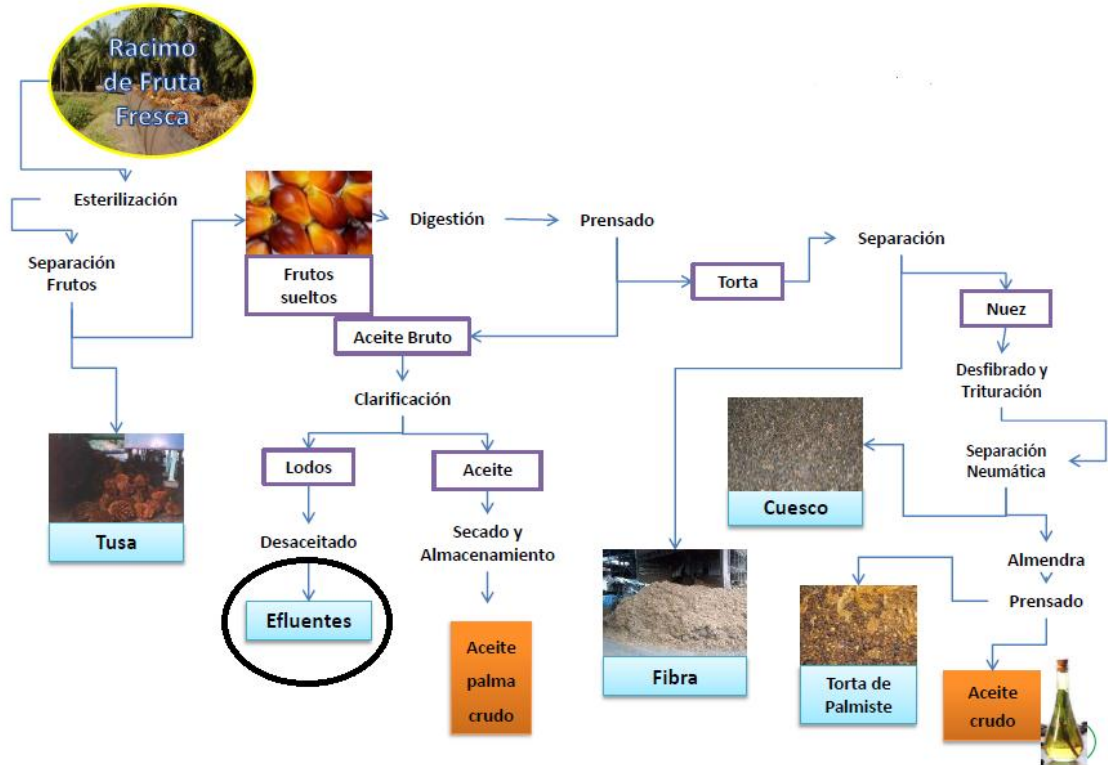
El cultivo de palma africana en Colombia comienza desde 1945 cuando la United Fruit Company estableció una plantación en la zona bananera del departamento del Magdalena. El cultivo ha mantenido un crecimiento progresivo y sostenible hasta llegar a tener una gran extensión de tierra aprovechada para este fin equivalente a 360000 hectáreas a 2010.

Colombia es el primer productor de palma de aceite en América Latina y el cuarto en el mundo. Tiene como fortaleza un gremio que cuenta con sólidas instituciones, ya que desde 1962 fue creada la Federación Nacional de Cultivadores de Palma de Aceite [1].

El proceso de producción de aceite de palma consiste en esterilizar los frutos, desgranarlos, macerarlos, extraer el aceite de la pulpa, clarificarlo y recuperar las almendras del bagazo resultante; como consecuencia del proceso se generan efluentes con alto contenido de contaminación para el medio ambiente [3]. (Ver Figura 1). Los efluentes son suspensiones coloidales que contienen 95-96% de H₂O, 0,6-0,7% de aceite, 4-5% de sólidos totales de los cuales 2-4% son sólidos suspendidos, pH 3,4-5,2 y gran demanda química y biológica de oxígeno (DQO y DBO); estos desechos provienen del proceso utilizado para la extracción del aceite [3].

Las características fisicoquímicas del efluente lo hacen propicio para la producción de energías renovables como el biogás, el cual está constituido por metano y dióxido de carbono.

Figura 1. Proceso de extracción de aceite de palma



Fuente. Federación Nacional de Cultivadores de Palma de Aceite [1].

1.1 DIGESTIÓN ANAEROBIA

Es un proceso en el cual la materia orgánica es convertida en metano, dióxido de carbono e hidrógeno, en ausencia de oxígeno y como consecuencia de la acción combinada de diferentes poblaciones bacterianas. La formación de metano y dióxido de carbono corresponde a la última etapa de una serie de reacciones en las cuales los compuestos orgánicos son degradados completamente [3].

La digestión anaerobia se produce en ambientes naturales como pantanos, en los sedimentos de lagos y mares, en las zonas anóxicas del suelo, en fuentes de aguas termales sulfurosas y en el tracto digestivo de los rumiantes. Bajo condiciones anaerobias los diferentes grupos bacterianos interactúan unos con

otros y constituyen una comunidad microbiana, la cual tiene una estructura definida y a la que cada población contribuye para su mantenimiento [4].

La digestión anaerobia está conformada por las siguientes etapas:

1.1.1 Hidrólisis

En esta etapa se transforman macromoléculas complejas en compuestos simples y solubles, tales como aminoácidos, azúcares, ácidos grasos de cadena larga y glicerina, por la acción de enzimas extracelulares excretadas por bacterias fermentativas [5]. Las bacterias que llevan a cabo estas reacciones son bacterias anaerobias facultativas y los géneros mas frecuentes que llevan a cabo esta reacción son los miembros de la familia *Enterobacteriaceae*, además de los géneros: *Bacillus*, *Peptostreptococcus*, *Propionibacterium*, *Bacteroides*, *Micrococcus* y *Clostridium* [3].

1.1.2 Acidogénesis

Los productos solubles generados por las bacterias fermentativas en la etapa hidrolítica del proceso son convertidos en una mezcla de ácidos grasos volátiles tales como ácido propiónico y butírico, además de hidrógeno y dióxido de carbono [5].

1.1.3 Acetogénesis

Los productos de fermentación como el ácido propiónico y butírico deben ser oxidados a acetato, dióxido de carbono e hidrógeno. Esta oxidación es llevada a cabo por un grupo denominado organismos acetogénicos productores obligados de hidrógeno [4].

1.1.4 Metanogénesis

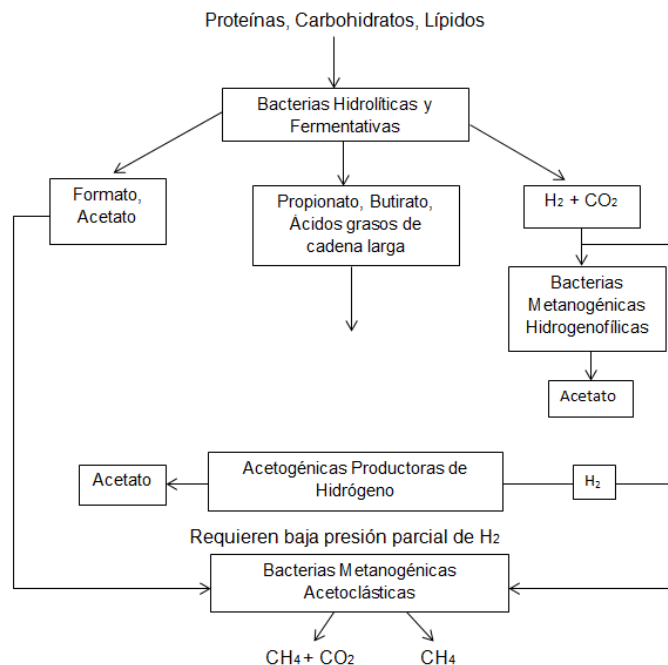
La producción de metano es la principal forma por medio de la cual las bacterias metanogénicas obtienen la energía necesaria para el crecimiento. En esta fase el dióxido de carbono actúa como aceptor de electrones y el hidrógeno es utilizado para reducirlo [4].

Esta etapa del proceso se realiza mediante dos vías: metanogénesis hidrogenofílica y metanogénesis acetoclástica.

La metanogénesis hidrogenofílica es realizada por bacterias que utilizan el hidrógeno producido del catabolismo de otras bacterias del sistema para la producción de metano. Esta vía contribuye con la generación de un 28% del metano en el proceso de tratamiento anaerobio [4].

La metanogénesis acetoclástica es un proceso catabólico que contribuye en la generación del 72% del total del metano producido. En esta vía el acetato es convertido a metano. Los grupos de microorganismos implicados se conocen como bacterias metanogénicas acetoclásticas.

Figura 2. Etapas del proceso microbiológico



Fuente. Bulock, 1989 [6]

1.2 INÓCULOS UTILIZADOS EN DIGESTIÓN ANAEROBIA

Para la conversión biológica de materiales presentes en la materia orgánica se pueden utilizar diferentes tipos de microorganismos anaerobios como inóculo.

Entre ellos se usan estiércol de vaca y cerdo, lodo anaerobio de plantas de tratamiento de aguas residuales (lodo PTAR), lodo anaerobio de la industria palmera y mezclas entre éstos.

Diversas investigaciones han demostrado que el estiércol de cerdo tiene facilidad de adaptación a diferentes sustratos y que sus mezclas pueden generar una mejor producción de metano; el lodo anaerobio proveniente de las lagunas facultativas de la industria palmera tiene afinidad al sustrato utilizado porque proviene de la propia industria (INDUPALMA S.A, San Alberto Colombia). El uso de lodo PTAR es interesante debido a sus altos rendimientos de metano [3, 7].

1.3 FACTORES AMBIENTALES QUE AFECTAN LA DIGESTIÓN ANAEROBIA

Los microorganismos anaerobios son susceptibles a cambios en las condiciones ambientales. Algunos de estos factores ambientales son el tipo de sustrato, el pH, la temperatura y presencia de sustancias tóxicas.

1.3.1 Tipo de sustrato

El tipo de sustrato determina la comunidad trófica que se desarrolla. En ecosistemas complejos como el de un digestor anaerobio, el tamaño de cada grupo de organismos deberá ser proporcional al flujo de su correspondiente sustrato en el sistema y la prevalencia de una u otra ruta metabólica está determinada por la adaptación entre la velocidad de producción y la capacidad de asimilación del mismo [8].

1.3.2 pH

El reactor debe operar en un intervalo de pH entre 6,8 y 7,5, porque la actividad de la población metanogénica es altamente vulnerable a los cambios de pH comparado con las demás poblaciones presentes en los lodos [4].

1.3.3 Temperatura

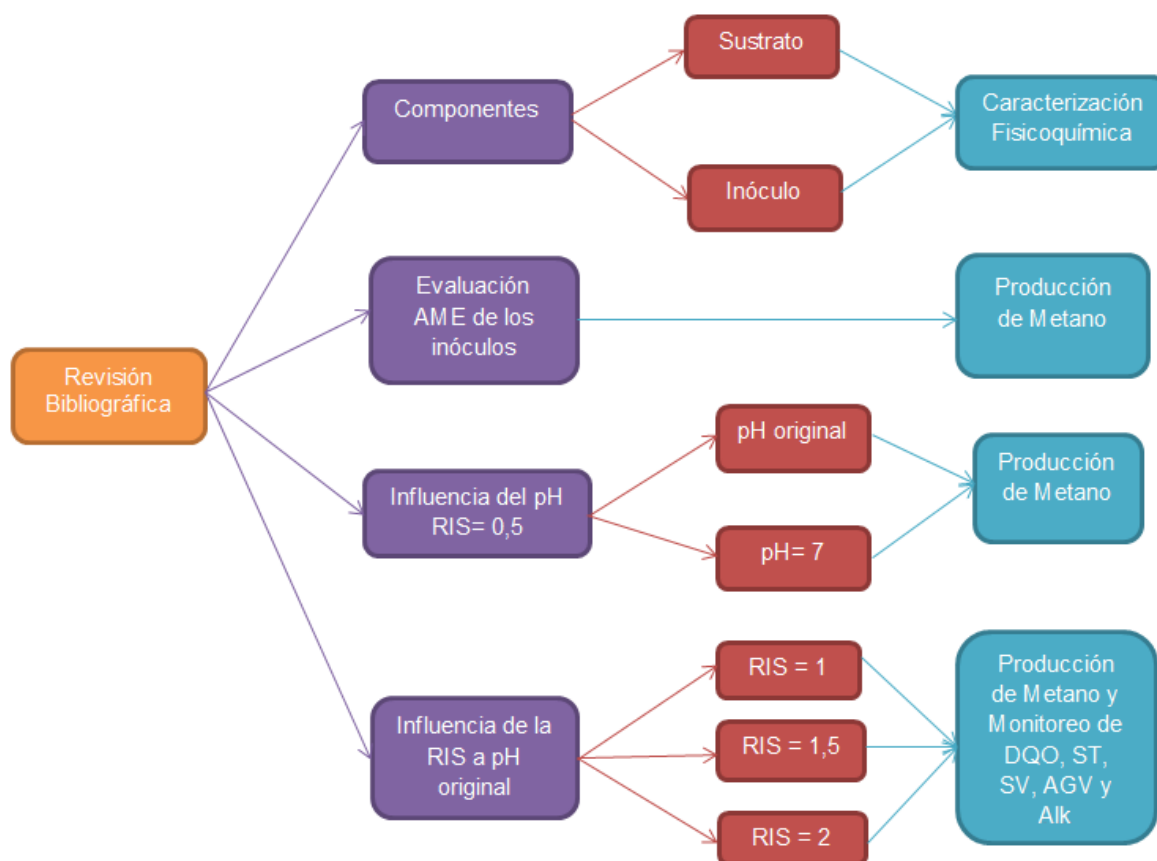
La mayoría de los digestores anaerobios operan entre 30-35°C, porque la formación de metano a 20°C es baja. En reactores operados a 25°C se ha observado un descenso del 50% en la actividad y crecimiento de las bacterias en

comparación cuando la temperatura es de 35°C. Por el contrario, el aumento en la temperatura permite incrementar la producción de metano. Comparativamente, los reactores que son operados en el intervalo termofílico (55-60°C) muestran el doble de la producción de metano que a 35°C, lo cual disminuye el tiempo de residencia y el volumen del reactor pero poseen desventajas como una mayor susceptibilidad a la concentración y tipo de sustrato y se requiere más energía para mantener el reactor a esta temperatura [4,8].

2. DESARROLLO EXPERIMENTAL

Un diagrama general de la metodología empleada se presenta en la figura 3.

Figura 3. Diagrama de la metodología experimental



2.1 COMPONENTES

2.1.1 Sustrato

El agua residual se recolectó de la empresa extractora de aceite de palma, Palmas del Cesar, ubicada en San Alberto, Colombia.

A la materia prima se le realizó una caracterización fisicoquímica, incluyendo pH, concentración de Sólidos Totales y Volátiles (ST, SV), Sólidos Suspendidos Totales y Volátiles (SST, SSV), Ácidos Grasos Volátiles (AGV), DQO, DBO₅, Fenoles, Grasas y Aceites.

2.1.2 Inóculos

De acuerdo con la revisión bibliográfica [7,9] se decidió utilizar una relación 50/50 v/v de PTAR/Porcícola (PP) conformado por el lodo anaerobio (PTAR) obtenido de la planta de tratamiento de aguas residuales (Floridablanca, Colombia) y Estiércol Porcícola (P) proporcionado por el Grupo de Investigación de Biomasa que pertenece a la Universidad Industrial de Santander. También se escogió lodo anaerobio de las lagunas facultativas de la industria palmera (LP) traído de la Empresa Indupalma S.A.

A los inóculos se les realizó la caracterización fisicoquímica incluyendo determinación de pH, concentración de ST, SV, SST, SSV, AGV y Alcalinidad (Alk).

2.2 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD METANOGENICA ESPECÍFICA

El test de AME se realizó para determinar la capacidad de cada inóculo para producir gas metano [4].

Los experimentos fueron realizados en botellas de 500 mL. Inicialmente se añadió el volumen de inóculo equivalente a una concentración de 1,5 g/L de SSV y se aforó con un medio mineral “balch” (Anexo A) hasta completar un volumen de operación de 300 mL. El montaje se realizó por triplicado durante 15 días a una temperatura de incubación de $37 \pm 2^\circ\text{C}$.

Para medir la producción de biogás en los reactores se conectó una manguera entre el biodigestor y una botella con solución NaOH 0,1 N. El biogás producido burbujea y el CO₂ contenido en este reacciona con el NaOH produciendo Na₂CO₃;

en consecuencia el volumen de NaOH desplazado es directamente proporcional al volumen de metano generado [4].

Figura 4. Método de desplazamiento alcalino



Con la siguiente ecuación se calculó la actividad metanogénica específica

$$AME = \frac{P}{FC * V * SSV} \quad \text{Ecuación 1}$$

Dónde:

AME= Actividad Metanogénica Específica (g DQO-CH₄/g SSV* día)

P= Máxima pendiente de la cinética de producción de metano para cada experimento (mL/día)

FC= Factor de conversión (424 mL CH₄ húmedo/g DQO a 37°C)

V= Volumen del inóculo utilizado en el ensayo (L)

SSV= Sólidos Suspendidos Volátiles en el inóculo (g/L)

2.3 INFLUENCIA DEL pH

Para medir la influencia del pH en el proceso se evaluó la producción de metano a partir de agua residual de la industria palmera en botellas de 500 mL con una RIS

de 0,5 g SV de inóculo/ g SV de sustrato a dos pH diferentes: 4,8 y 7. El pH más bajo corresponde al pH original del agua residual y el pH 7 se obtuvo neutralizando con solución NaOH 5 N cada dos días, la cantidad agregada se introdujo a cada reactor mediante una jeringa y en condiciones anaerobias. Se evaluó la producción de metano durante 30 días a una temperatura de $37\pm 2^{\circ}\text{C}$.

Como variable de respuesta se midió el volumen de metano producido mediante el método de desplazamiento alcalino [4]. Los experimentos fueron realizados por triplicado. Para obtener el volumen final de metano producido por el sustrato se restó el volumen de metano producido por el blanco. Los blancos se prepararon agregando la cantidad de inóculo utilizada en el experimento y completando el volumen de operación con agua destilada. El volumen de operación fue de 300 mL. El rendimiento acumulado de producto ($Y_{p/s}$) durante el tiempo de retención, es expresado en m^3 de CH_4 / kg SV de agua residual.

2.4 INFLUENCIA DE LA RELACIÓN INÓCULO/SUSTRATO

Para evaluar la influencia de la relación Inóculo/Sustrato (RIS) se realizaron experimentos con tres niveles de relaciones. El volumen de operación fue de 300 mL y la concentración de inóculo se varió como se indica a continuación:

Tabla 1. Cantidades agregadas para cada RIS

RIS (g SV de Inóculo / g SV de Sustrato)	PP 50/50 v/v (mL inóculo/ mL sustrato)	LP (g inóculo/ mL sustrato)
1	58 / 242	8,8 / 300
1,5	79 / 221	13,2 / 300
2	98 / 202	17,6 / 300

Los experimentos se realizaron por triplicado. Para obtener el volumen final de metano producido por el sustrato se restó el volumen de metano producido por el blanco. Los blancos se prepararon agregando la cantidad de inóculo utilizada en cada RIS y completando el volumen de operación con agua destilada. Se utilizaron biodigestores de 500 mL, utilizando una temperatura de incubación de $37\pm 2^{\circ}\text{C}$, durante un período de 20 días.

Los parámetros que se monitorearon fueron: concentración de: AGV, SV, DQO y pH. Esto se realizó con muestra destructiva cada cuatro días. El volumen de metano se midió mediante el método de desplazamiento alcalino [4].

La selección de la mejor RIS se realizó con el máximo rendimiento acumulado ($Y_{p/s}$), expresado en $\text{m}^3 \text{CH}_4 / \text{kg}$ de SV de agua residual. Este se calculó dividiendo el metano acumulado durante el tiempo de digestión a condiciones estándar de presión y temperatura por la cantidad de sustrato (g SV) adicionado [10], y se determinó la productividad acumulada (Q_p) expresada en $\text{mL CH}_4 / \text{día}$.

3. RESULTADOS Y ANÁLISIS

3.1 CARACTERIZACIÓN FISICOQUÍMICA DEL SUSTRATO

En la tabla 2 se presenta la caracterización del agua residual proveniente de la planta extractora de aceite Palmas del Cesar. Como puede observarse presento un alto contenido de sólidos y DQO que la hacen un residuo propicio para la producción de biogás. Este tipo de desecho tiene un pH ácido (4,8) y por ello es conveniente evaluar si la digestión anaerobia produce metano debido a que las investigaciones reportan un pH óptimo entre 6,8–7,2 [4]. Los valores de los parámetros medidos se encuentran dentro del rango reportado por diferentes autores [9, 11, 12].

Tabla 2. Caracterización fisicoquímica del sustrato

AGUA RESIDUAL DE PALMAS DEL CESAR	
Parámetros	Valor
pH	4,8
ST (mg/L)	48000 ± 492,5
SV (mg/L)	10100±92,5
SST (mg/L)	34000±175
SSV (mg/L)	6200±25
AGV (mg/L)	6700±9,34
DQO (mg/L)	72800 ± 2,57
DBO ₅ (mg/L)	24000±10%
Grasas y Aceites (mg/L)	90±10%
Fenoles (mg/L)	4±10%

3.2 CARACTERIZACIÓN FISICOQUÍMICA DE LOS INÓCULOS

En la tabla 3 se muestra la caracterización de los inóculos. El lodo PP presenta un pH mayor a 7 aportando al sistema un aumento en esta propiedad, lo que significa que probablemente favorece la digestión anaerobia. En cambio el lodo LP tiene un aspecto semisólido por consiguiente no se le realizó AGV, Alk y presenta un pH ácido.

El lodo PP presenta gran cantidad de Bacterias Metanogénicas Acetoclásticas que son las encargadas de generar 2/3 del metano producido, es decir es la principal vía de degradación anaeróbica de la materia orgánica [5, 13].

Tabla 3. Caracterización fisicoquímica de los inóculos

Parámetros	PP	LP
pH	7,6	6,3
ST	65400±535 (mg/L)	29,2±0,57 (%p/p)
SV	28700±275 (mg/L)	23,5±0,43 (%p/p)
SST	74000±300 (mg/L)	90600±68,4 (mg/L)
SSV	32200±950 (mg/L)	27000±89,7 (mg/L)
AGV	1200±16,5 (mg/L)	N.A
Alk	3400±25,6 (mg/L)	N.A

3.3 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD METANOGENICA ESPECIFICA

Figura 5. Cinéticas de producción de CH₄ (mL) para cada inóculo a Concentración= 1,5 g SSV/L
pH= 7 T= 37±2°C

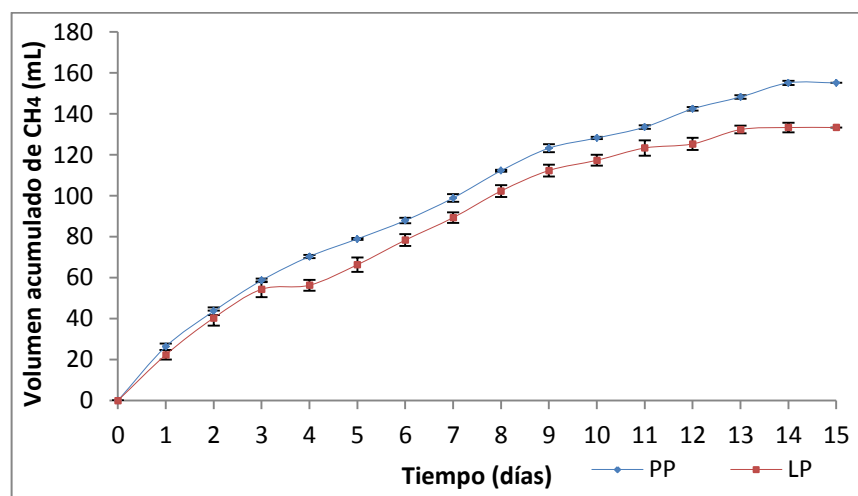


Tabla 4. Evaluación AME

Inóculo	AME (g DQO-CH ₄ /g SSV*día)
PP	0,113
LP	0,086

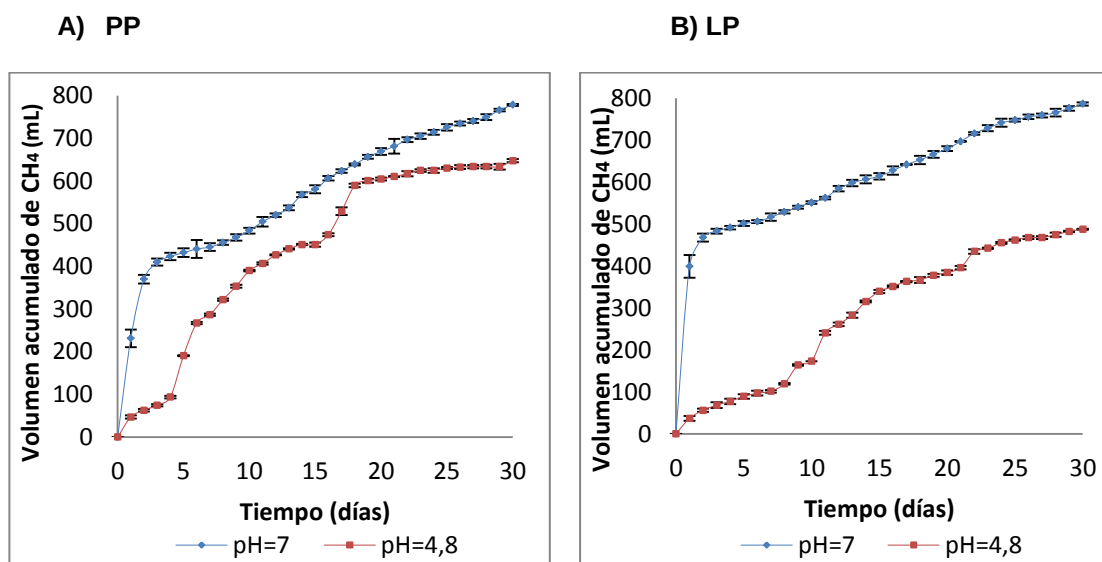
A partir de la figura 5 se obtuvo la máxima pendiente para cada inóculo, este valor se necesito para utilizarlo en la ecuación 1 y obtener el resultado de AME. De acuerdo con los resultados obtenidos en la tabla 4, el inóculo PP presentó 0,113 (g DQO/g SSV*día) siendo el mejor resultado, esto demuestra que contiene una mayor cantidad de microorganismos metanogénicos en comparación con LP. Los valores se encuentran dentro del rango encontrado por [14] quien realizó medición de parámetros para diferentes clases de inóculos reportando un rango 0,02-0,2 (g DQO/g SSV*día).

3.4 INFLUENCIA DEL PH EN LA PRODUCCIÓN DE BIOGÁS

En la figura 6 se muestran las cinéticas de producción de metano para los diferentes inóculos usando agua residual como sustrato. El volumen acumulado de metano a pH 7 fue de 778 mL y a pH 4,8 de 647 mL para PP. Utilizando LP como inóculo se obtuvieron volúmenes de metano acumulado de 487 mL a pH 4,8 y 786 mL a pH 7.

Figura 6. Cinética de producción de CH₄ (mL) para los inóculos a pH=7 y pH inicial=4,8

RIS: 0,5 T= 37±2°C



En la figura 6 se observa que a pH 7 hubo mayor producción de metano al comienzo de la prueba en ambos casos, esto se debe a que los microorganismos

se comportan mejor en comparación con pH 4,8. Estudios realizados han demostrado que a pH neutro la producción de metano aumenta porque favorece el crecimiento de los microorganismos y a la vez evita la acumulación de AGV, lo cual afecta la estabilidad del sistema [8,15].

Teniendo en cuenta que la producción final de metano a pH 7 y 4,8 no presentó una diferencia significativa entre los dos inóculos, se decidió seguir trabajando con ambos inóculos en las siguientes pruebas.

En el caso B se presenta una mayor diferencia en la producción de metano, esto se debe a que después de inocular los biodigestores el pH del sistema (cuando no se neutraliza) no aumenta porque el inóculo es ácido en comparación al utilizado en el caso A, que presenta una menor diferencia en la producción de metano. Como consecuencia se decidió continuar la siguiente experimentación con cada inóculo a pH 4,8, lo cual evita la neutralización continua del proceso.

3.5 INFLUENCIA DE LA RELACIÓN INÓCULO/SUSTRATO

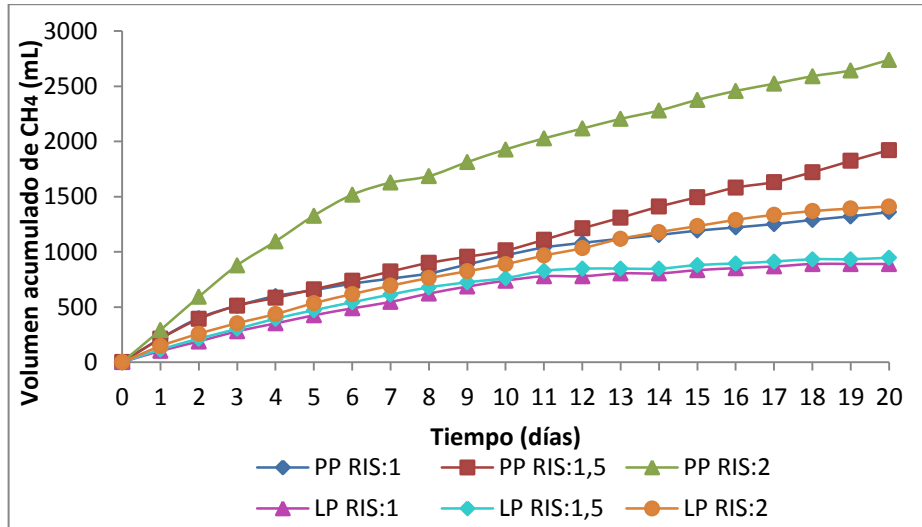
El experimento se realizó en reactores tipo batch, por esto se hizo necesario evaluar parámetros que afectan directamente al bioproceso como el pH y la acumulación de AGV debido a que pueden ocasionar acidificación dentro del reactor. También se evaluó la cantidad de inóculo y de sustrato a agregar en cada reactor con el fin de no presentar saturación por exceso de sustrato; esta relación se mide en g de SV de inóculo/ g de SV de sustrato.

Tabla 5. Qp y volumen acumulado de metano para las diferentes RIS estudiadas

RIS	Volumen acumulado de metano (mL)		Qp (mL CH ₄ /día)	
	PP	LP	PP	LP
1	1360±30	890±40	68±1,5	44,5±2
1,5	1922±28	947±17,5	96,1±1,4	47,4±0,88
2	2740±40	1411±9	137±2	70,5±0,45

En la siguiente figura no se incluyen barras de error debido a que al principio el error es del 5% hasta el día siete y luego disminuye.

Figura 7. Cinéticas de producción de metano a diferentes RIS $T=37\pm 2^{\circ}\text{C}$ pH inicial=4,8



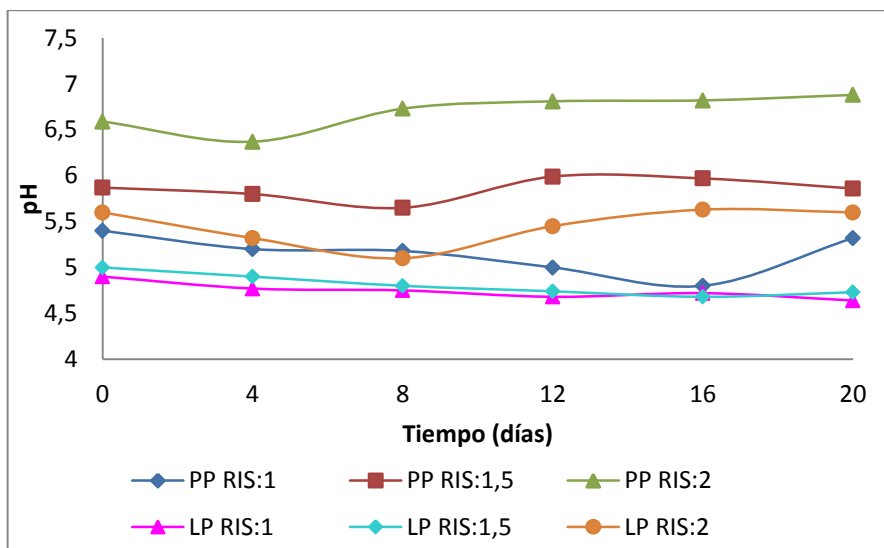
En la figura 7 se muestran las cinéticas de producción de metano para cada RIS con el respectivo inóculo (PP y LP). En la tabla 5 se presenta el volumen acumulado de metano y Q_p para cada inóculo y RIS. En consecuencia la mayor producción de metano fue para la RIS 2 con el inóculo PP; esto demuestra que a mayor carga orgánica de inóculo agregado al reactor aumenta la producción de metano y por ende Q_p .

Con respecto a los $Y_{p/s}$ el mejor corresponde a la RIS 2 con el inóculo PP con un valor de $0,343 \text{ m}^3 \text{ CH}_4/\text{kg SV}$. Este valor fue inferior en comparación con el estudio de esta relación inóculo/sustrato empleando pulpa de fique como sustrato y como inóculo una mezcla de líquido ruminal y estiércol porcícola, alcanzando un rendimiento de $0,446 \text{ m}^3 \text{ CH}_4/\text{kg SV}$ [5].

Se ha encontrado en la literatura que existe una relación lineal creciente entre los rendimientos de biogás y la relación inóculo/sustrato [16,17]. Estudios recientes sobre el efecto de la RIS en digestión anaerobia a partir de algas demostraron que

los rendimientos disminuyeron de $0,140 \text{ m}^3 \text{ CH}_4/\text{kg SV}$ a $0,094 \text{ m}^3 \text{ CH}_4/\text{kg SV}$ cuando la RIS disminuyó de 2 a 0,5. [18].

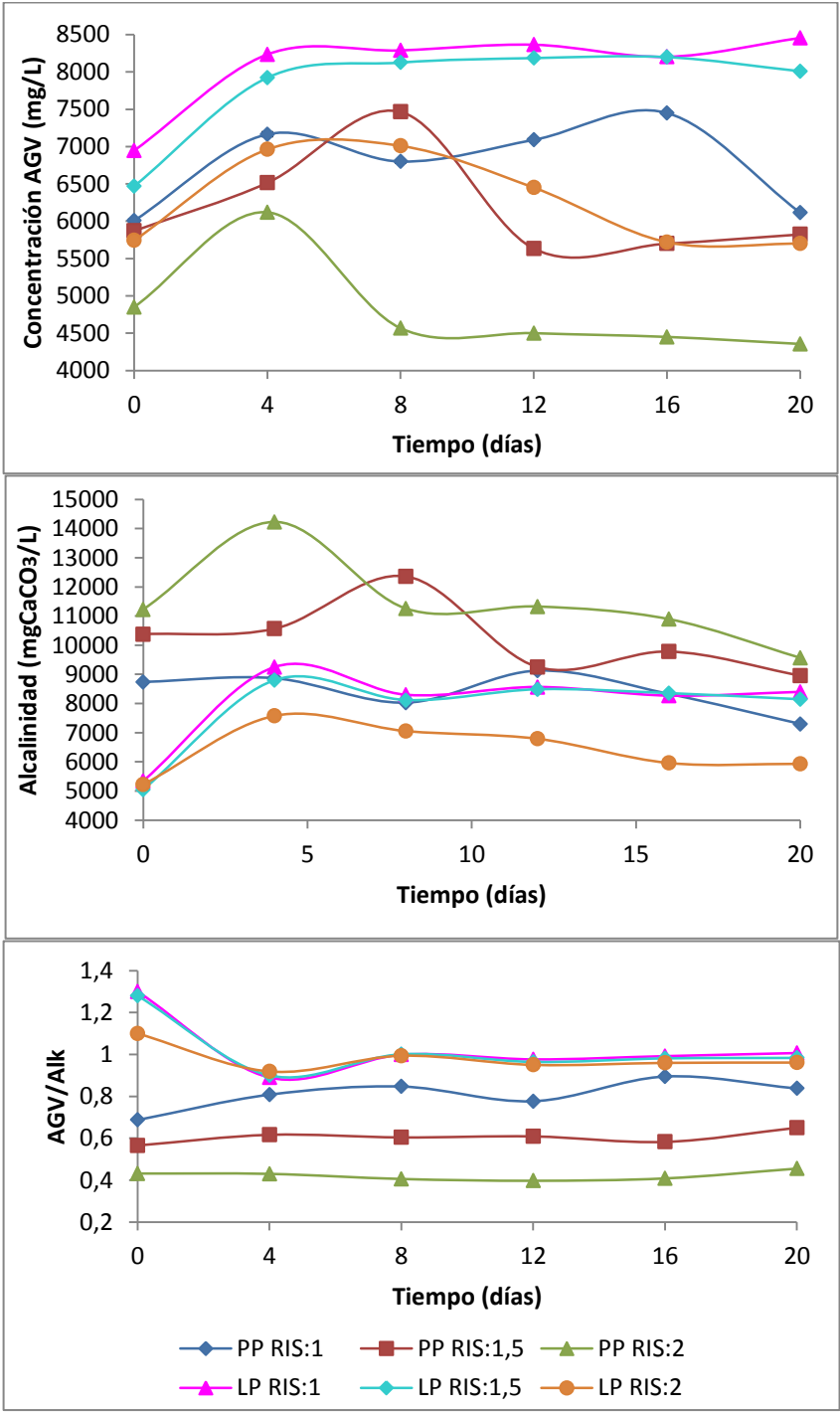
Figura 8. Comportamiento del pH $T = 37 \pm 2^\circ\text{C}$ pH inicial= 4,8



El pH es una de las variables más importantes en el proceso de producción de metano porque los microorganismos dependen de esta condición para desarrollar su actividad metabólica [21]. En la figura 8 se aprecia la evolución del pH en los diferentes biodigestores a diferente RIS. Los valores bajos durante la experimentación fueron para los reactores inoculados con LP, lo cual se debe a que el pH inicial del inóculo era menor. Los valores de pH mayores corresponden a los experimentos inoculados con PP.

Durante toda la prueba el pH con el inóculo PP a RIS 2 se mantuvo en el rango apropiado, demostrando que a pH neutro o cercano a neutro la producción de metano aumenta, coincidiendo con el rango de pH 6,8-7,2 reportado por diferentes investigadores [3, 19] para una mayor producción de metano mediante digestión anaerobia.

Figura 9. Concentración de AGV, Alk y relación AGV/Alk T= 37±2°C pH inicial= 4,8



No se incluyen barras de error debido a que es de ±4%

En la figura 9 se presenta el comportamiento de la concentración de AGV, Alk y relación AGV/Alk durante el tiempo de la prueba. Como puede observarse los experimentos con LP a RIS 1 y 1,5 presentaron acidificación, debido a que la concentración de AGV se encuentra en un rango de 8000 – 8500 mg/L con la consecuente disminución en la producción de metano. De acuerdo a la literatura valores superiores a 8000 mg/L de AGV inhiben la producción de metano y causan acidificación en el reactor [5].

La estabilidad del pH en la experimentación con el inóculo PP a RIS 1,5 y 2 puede ser atribuida a la capacidad buffer del sistema [20], la cual está dada por la alcalinidad, encontrándose entre 10000 – 15000 mgCaCO₃/L para la RIS 2 con el inóculo PP. Esto demuestra la habilidad de los microorganismos para ejercer un efecto tampón sobre el bioproceso [21].

El rango de la relación AGV/Alk debe estar entre 0,1–0,4. Este rango es adecuado para este tipo de sistemas y para que el proceso opere sin riesgo de acidificación o inhibición [10,19, 21, 22]. La relación AGV/Alk presentó un valor cercano a 0,4 para P/P RIS 2, siendo los menores de todo el proceso. Valores de AGV/Alk menores a 0,4 permiten que el sistema funcione y por encima de 0,8 hacen que ocurra una falla en el proceso y disminuya la producción de metano. Esto se evidencia en la baja producción de metano de LP, debido que la relación AGV/Alk se encuentra entre 0,8-1,4.

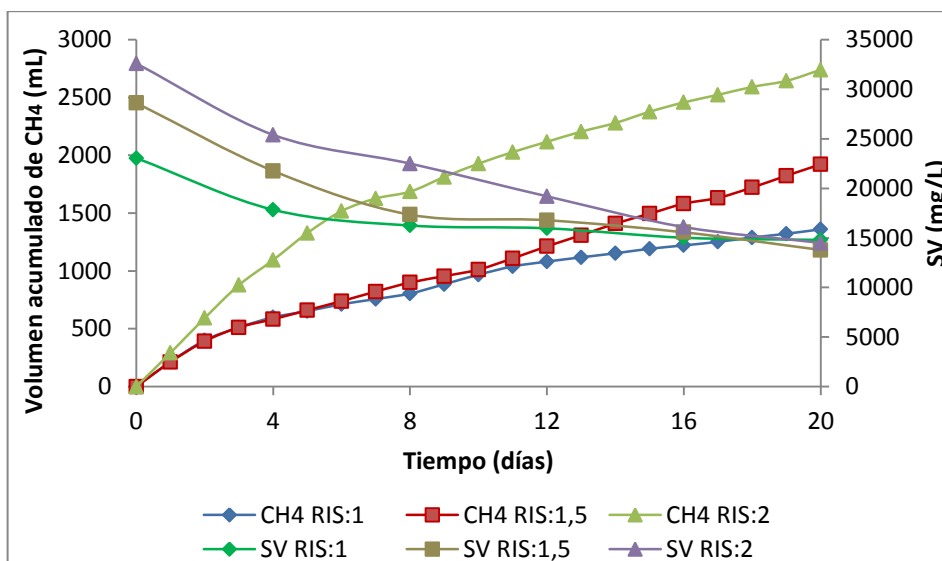
Tabla 6. % Remoción SV

	% Remoción SV	
RIS	PP	LP
1	35,81	13,42
1,5	51,82	31,70
2	55,52	44,60

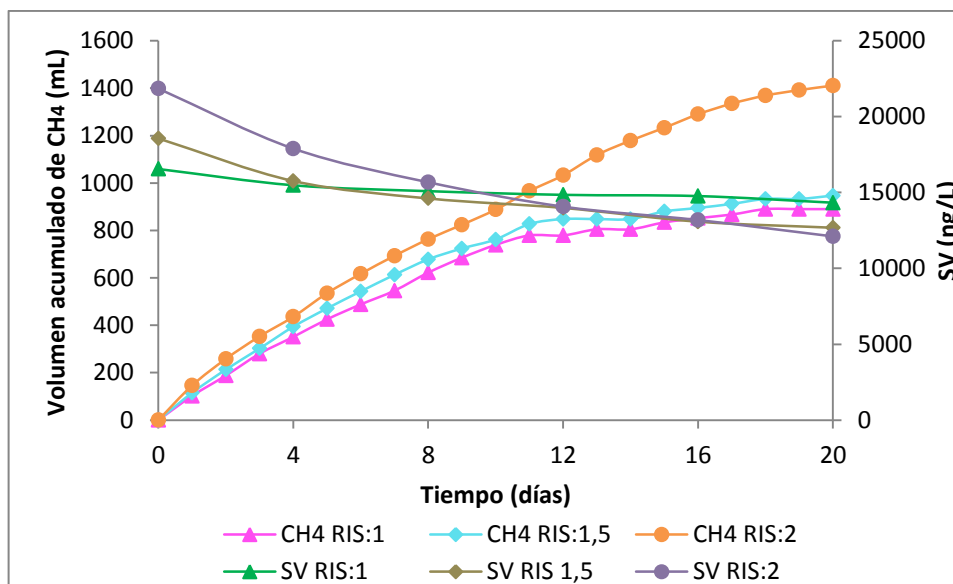
Figura 10. Evolución de SV en comparación con el volumen de CH₄ acumulado T= 37±2°C

pH inicial= 4,8

A) PP



B) LP



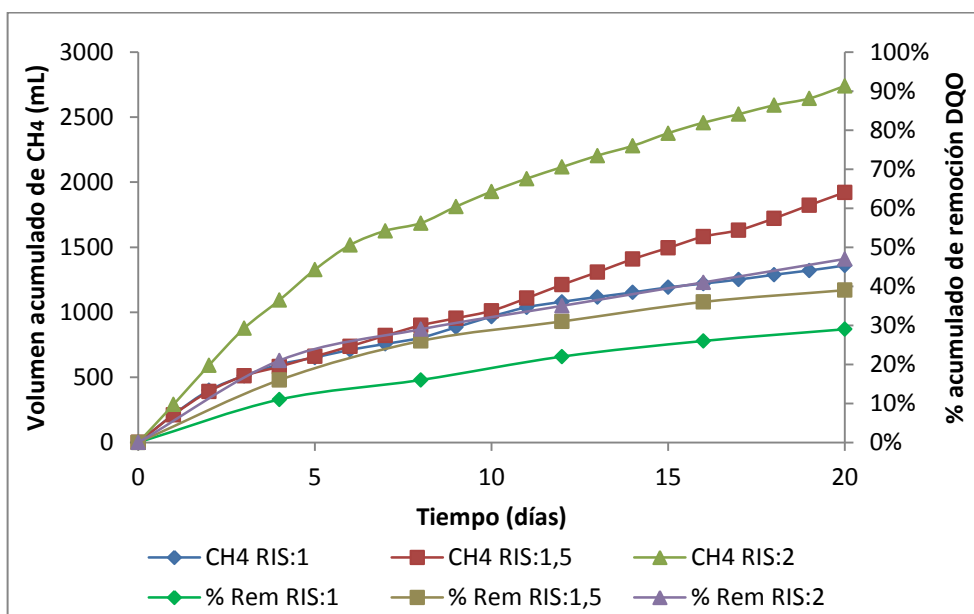
No se incluyen barrar de error debido a que es de ±5%

Como puede observarse en la figura 10 a medida que baja la concentración de SV, aumenta la producción acumulada de metano. Esto se debe a que con el transcurso del tiempo de operación la materia orgánica se degrada, siendo utilizada por los microorganismos para producir metano.

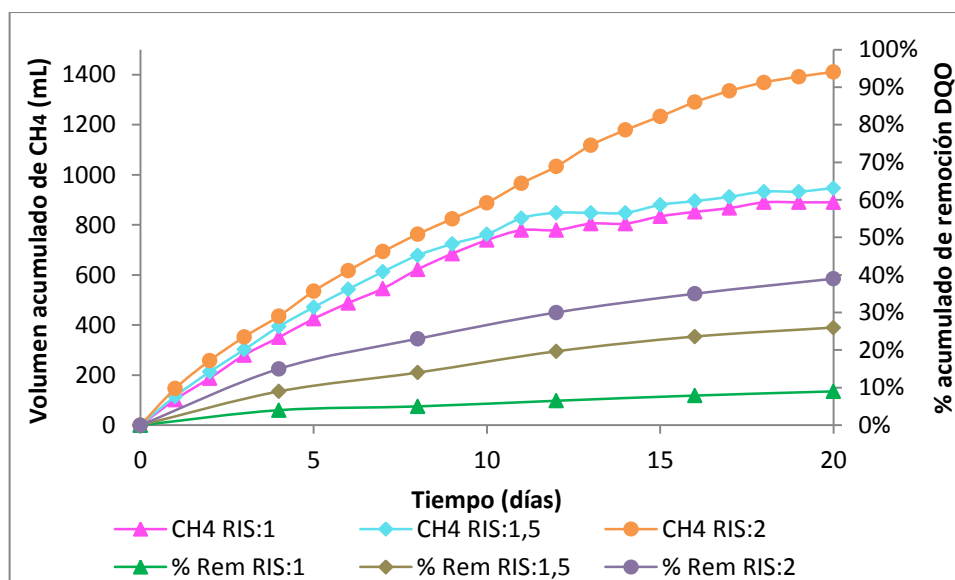
A partir de los datos obtenidos se calculó el porcentaje de remoción de SV cuyos valores se reportan en la tabla 6. Como se observa se encuentra en un rango de 13,42% - 55,52% correspondiendo a LP RIS 1 y PP RIS 2 respectivamente. Esto a su vez concuerda con los resultados de producción de metano. El porcentaje de remoción de SV para PP RIS 2 fue mayor al reportado por [23] quien realizó un estudio de la influencia de los sólidos en un proceso de digestión anaerobia utilizando como sustrato residuos domésticos, hallando un valor de 49,7%.

Figura 11. Porcentaje de remoción DQO en comparación con el volumen de CH₄ acumulado
T=37+2°C pH inicial=4,8

A) PP



B) LP



No se incluyen barras de error debido a que es de $\pm 1\%$

En la figura 11 se presenta como evoluciona el porcentaje acumulado de remoción de DQO durante el tiempo de la prueba, variando entre 9% para LP RIS 1 y 47% para PP RIS 2. Estos valores se encuentran en el rango de 27-83% reportado por [9].

Se observa que a medida que aumenta la producción acumulada de metano también se incrementa el porcentaje de remoción de DQO existiendo una relación directa entre estos factores.

A medida que la RIS aumenta se garantiza una mayor producción de metano y por ende una mejor remoción de SV y DQO, esto se debe a que a mayor RIS, mayor concentración de microorganismos que degradan la materia orgánica, favorecido a su vez un mayor pH durante el periodo de la prueba.

4. CONCLUSIONES

- La mezcla de lodo PTAR-Estírcol Porcícola 50/50 v/v indica que es un inóculo adecuado para la degradación de sustratos como el agua residual proveniente de la industria palmera, ya que posee una eficiente actividad metanogénica específica y tiene buena adaptación a este tipo de sustrato.
- La relación inóculo/sustrato adecuada para este proceso es de 2 g SV de inóculo/ g SV de sustrato, debido a que esta relación presentó mayor producción de metano y la degradación de la materia orgánica se evidenció en mayor proporción.
- Esta investigación muestra que es viable la producción de metano a partir de agua residual de la industria palmera. Con esto se demuestra que es posible resolver problemas de contaminación, uso inadecuado del suelo y la posibilidad de implementar un proceso generador de energía mediante digestión anaerobia a partir de agua residual de la industria palmera.

5. RECOMENDACIONES

- Si se desea aumentar los rendimientos en la producción de metano, es recomendable evaluar la separación de las etapas hidrolítica y acidogénica de las etapas acetogénica y metanogénica, debido a que de esta manera se puede favorecer la efectividad de los microorganismos que actúan en cada una de ellas.
- Evaluar la posibilidad de co-digestión con otro sustrato que permita el aumento del pH.
- Para mejorar la producción de metano se aconseja estudiar otros inóculos y sus mezclas, como estiércol porcícola, lodo palmera-lodo PTAR, y lodo palmera- estiércol porcícola.
- Evaluar el proceso de digestión anaerobia a escala semipiloto.

BIBLIOGRAFÍA

- 1.Federación Nacional de Cultivadores de Palma de Aceite. " La Palma de Aceite". Octubre de 2011. Internet. <<http://www.fedepalma.org/palma.htm>>.
- 2.TABATABAEI M. Rahim R. Abdullah N. Wright A. Shirai Y, Importance of the methanogenic archaea populations in anaerobic wastewater treatments. En: Process Biochemistry, 2010, Vol 45, p.1214-1225.
- 3.LAM M. Lee K. Renewable and Sustainable Bioenergies Production from Palm Oil Mill Effluent (POME): Win-win Strategies Toward Better Environmental Protection. En: Biotechnology Advances, 2011, Vol. 29, p. 124–141.
- 4.DÍAZ-BÁEZ M, Espitia S, Molina F, Digestión Anaerobia: Una aproximación a la tecnología. Primera Edición. Editorial Universidad Nacional de Colombia UNIBIBLOS, Colombia, 2002, p. 53-97.
- 5.QUINTERO Mabel. Estudio de Consorcios Microbianos para la Producción de Biogás a partir de Residuos de Fique. Trabajo de Investigación. Universidad Industrial de Santander, Colombia, 2011, p. 24-64.
- 6.BULOCK J. Kristlansen B, Basic Biotechnology. En: Hawakes, Anaerobic Digestion. Academic Press, First Edition. London, United Kingdom, 1989, p. 337-358.
- 7.SANDOVAL C. Vergara M. Carreño M. Castillo E, Microbiological Characterization and Specific Methanogenic Activity of Anaerobe Sludges Used in Urban Solid Waste Treatment. En: Waste Management, 2009, Vol. 29, p. 704-711.
- 8.CHEN Y. Cheng J. Creamer K, Inhibition of Anaerobic Digestion Process. En: Bioresource Technology, 2008, Vol 99, p. 4044–4064.

- 9.CHAN Y. Chong M. Law C, Biological Treatment of Anaerobically Digested Palm Oil Mill Effluent (POME) using a Lab-Scale Sequencing Batch Reactor(SBR). En: Journal of Environmental Management, 2010, Vol 91, p. 1738-1746.
- 10.RAPOSO F. Banks C. Siegert I. Borja R, Influence of inoculum to substrate ratio on the biochemical methane potential of maize in batch tests. En: Process Biochemistry, 2006, Vol 41, p. 1444-1450.
- 11.MUSTAPHA S. Ashhubi B. Rashid M. Azni I, Start-up Strategy of a Thermophilic Upflow Anaerobic Filter for Treating Palm Oil Mill Effluent. En: Institution of Chemical Engineers, 2003, Vol 81.
- 12.POH P. Chong M, Development of Anaerobic Digestion Methods for Palm Oil Mill Effluent (POME) Treatment. En: Bioresource Technology, 2009, Vol 100, p. 1-9.
- 13.CASTRO Liliana del Pilar. Proceso Integral para la digestion anaerobia del bagazo de fique. Trabajo de investigación. Universidad Industrial de Santander, Colombia, 2011, p. 58-87.
- 14.FIELD J, Medición de parámetros. En: Curso de arranque y operación de reactores anaerobios con flujo ascendente y manto de lodos (UASB). Universidad del Valle, Cali.
- 15.POH P. Chong M, Biomethanation of Palm Oil Mill Effluent (POME) with a thermophilic mixed culture cultivated using POME as a substrate. En: Chemical Engineering Journal, 2010, Vol 164, p. 146-154.
- 16.LIU G. Zhang R. El-Mashad H. Dong R. Effect of feed to inoculum ratios on biogás yields of food and Green wastes. En: Bioresource Technology, 2009, Vol.100, p.5103-5108.

- 17.SILVA-LOPES W. Duarte V. Prasad S, Influence of inoculum on performance of anaerobic reactors for treating municipal solid waste. En: Bioresource Technology, 2004, Vol 94, p. 261-266.
- 18.ZENG S. Yuan X. Shi X. Qiu Y, Effect of inoculum/substrate ratio on methane yield and orthophosphate release from anaerobic digestion of Microcystis. En: Journal of Hazardous Materials, 2010, Vol 178, p.89-93.
- 19.DE LA RUBIA M. Raposo F. Rincón B. Borja R, Evaluation of the hydrolytic-acidogenic digestion process of sunflower oil cake. En: Bioresource Technology, 2009, Vol 100, p.4133-4138.
- 20.CHEN T, Effects of pH and substrate: inoculum ratio on batch methane fermentation. En: Bioresource Technology, 1996, Vol 56, p. 179-186.
- 21.CHAIPRAPAT S. Laklam T, Enhancing digestion efficiency of POME in anaerobic sequencing batch reactor with ozonation pretreatment and cycle time reduction. En: Bioresource Technology, 2011, Vol 102, p. 4061-4068.
- 22.DINSDALE R. Premier G. Hawkes D, Two-stage anerobic co-digestion of waste activated sludge and fruit/vegetable waste using inclined tubular digesters. En: Bioresource Technology, 2000, Vol 72, p. 159-168.
- 23.FORSTER-CARNEIRO T. Pérez M. Romero L, Influences of total solid and inoculum on performance of anaerobic reactors treating food waste. En: Bioresource Technology, 2008, Vol 99, p. 6994-7002.
- 24.CHOU K. Norli I. Anees A, Evaluation of the effect of temperature, NaOH concentration and time on solubilization of palm oil mill effluent (POME) using response surface methodology (RSM). En: Bioresource Technology, 2010, Vol 101, p. 8616-8622.
- 25.EATON A. Clesceri L. Rice E, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Centennial, 2005, p. 2.24-2.59.

26.FOO K. Hameed B, Insight into the applications of palm oil mill effluent: A renewable utilization of the industrial agricultural waste. En: Renewable and Sustainable Energy Reviews, 2010, Vol 14, p. 1445-1452.

27.SINGH R. Embrandiri A. Ibrahim M. Esa N, Management of biomass residues generated from palm oil mill: Vermicomposting a sustainable option. En: Resources, Conservation and Recycling, 2011, Vol 55, p. 423-434.

ANEXOS

Anexo A. Medio de cultivo AME

Para 1000 mL:

Solución mineral de Balch sin sulfuros	50 mL
Solución oligoelementos sin sulfuros	10 mL
K ₂ HPO ₄	0,3 g
Solución de rezarsurina (0,1%)	1 mL
Extracto de Levadura	0,1 g
Peptona Tripcasa	0,1 g

Se completa el volumen a 1 L se ajusta el pH a 7 con NaOH 1 N, agregar 10% en volumen de agua destilada adicional, hervir hasta llegar al volumen de 1L y enfriar bajo atmósfera de N₂.

Dosificar bajo corriente de nitrógeno:

- 1) Se gasea el frasco donde se va a servir con N₂ y se agrega el medio.
- 2) Servir 250 mL en botellas de 500 mL.
- 3) Hacer el intercambio gaseoso de fase N₂/CO₂ (80%-20%) por 1 minuto.
- 4) Se debe retirar primero la aguja con la cual se está gaseando para que no haya una sobre presión y luego la aguja de desalojo.
- 5) Llevar a autoclave durante 15 minutos a 121°C y 15 psi.
- 6) Antes de utilizarlo agregar:

Na ₂ S (2%)	6 mL
Solución diluida de vitaminas de Balch	6 mL
Solución de Ácido Acético 100 g/L	18 mL

Anexo B. Preparación de Soluciones

B1) Solución mineral de Balch

Para 1000 mL

KH_2PO_4	6 g
NH_4Cl	5,0 g
$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	2,1 g
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,16 g
NaCl	12,0 g

Diluir en 1 L de agua destilada, preparada en anaerobiosis, almacenada y refrigerada.

B2) Solución de oligoelementos

Para 1000 mL

Ácido Nitrilotriacético**	1,5 g
$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	2,5 g
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0,6 g
NaCl	1,0 g
$\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0,1 g
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,1 g
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,1 g
ZnCl_2	0,1 g
$\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,01 g
AlCl_3	0,01 g
H_3BO_3	0,01 g
$\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,01 g

** Se disuelven 1,5 g de nitrotriacético con KOH 10 N o 1 N hasta pH 6,5.

La solución se prepara en condiciones de anaerobiosis. Después de adicionar todo, ajustar el pH a 7 con KOH 1 N y se almacena en el refrigerador a 4°C

B3) Solución diluida de vitaminas de Balch

Para 1000 mL

Biotina (vitamina H)	2,0 mg
Ácido p – aminobenzoico (PABA)	5,0 mg
Cianocobalamina	0,1 mg
Tiamina HCl (vitamina B ₁)	5,0 mg
D.L. Pantotenato de Ca	5,0 mg
Ácido nicotínico	5,0 mg
Piridoxina – HCl (vitamina B ₆)	10,0 mg
Ácido Fólico	2,0 mg
Riboflavina (vitamina B ₂)	5,0 mg
Ácido lipoíco (thioico)	5,0 mg

Esterilizar por filtración de membrana de 0,22 µm en anaerobiosis. Almacenar protegido de la luz en refrigerador a 4°C. Se preparan en frascos de 60 mL estériles y con cambio de fase de N₂/CO₂.

Anexo C. Métodos Analíticos

C1) Determinación de la concentración de AGV y Alk

Materiales:

- Vaso de precipitado de 100 mL
- Probeta de 25 mL
- Centrífuga
- pH metro
- Agitador magnético
- Plancha de calentamiento
- 2 Buretas
- Soporte de plancha
- Pinzas con nuez
- Solución de NaOH al 0,1 N
- Solución de HCl al 0,1 N

Procedimiento:

1. Tomar una muestra aproximadamente de 40 mL cada tres días durante el proceso de digestión, en tubos de ensayo de 50 mL.
2. Centrifugar las muestras por 15 minutos a 10000 g.
3. Llevar el sobrenadante a frascos plásticos, medir pH y registrar el valor.
4. Medir 5 mL del sobrenadante y llevarlo a un vaso de precipitado de 100 mL.
5. Medir en una probeta 25 mL de agua destilada y agregarla al sobrenadante medido anteriormente.
6. Titular con una solución previamente preparada de HCl 0,1 N hasta alcanzar un pH de 4,5 y registrar volumen (V1), manteniendo agitación continua.
7. Continuar titulando con la solución previamente preparada de HCl 0,1 N hasta alcanzar un pH de 3, registrar volumen (V2).

8. Llevar la muestra a un balón esmerilado, adaptarlo al condensador.
9. Calentar hasta ebullición y mantener por 2 minutos.
10. Titular con una solución previamente preparada de NaOH 0,1 N hasta alcanzar un pH de 6,5 y registrar el volumen (V3).

Cálculos:

$$Alk = \frac{V1(mL) * N_{HCl} * 60000}{Volumen\ de\ la\ muestra(mL)} \left[\frac{mg\ CaCO_3}{L} \right]$$

$$AGV = \frac{V2\ (mL) * N_{NaOH} * 50000}{Volumen\ de\ la\ muestra\ (mL)} \left[\frac{mg}{L} \right]$$

C2) Medición de la cantidad de biogás producido mediante el método de desplazamiento alcalino

Materiales:

- Biodigestor anaerobio
- Fenolftaleína
- Mangueras y agujas
- Recipiente colector

Procedimiento:

Cada reactor se conecta con la botella de desplazamiento alcalino por medio de una red de mangueras de plástico y agujas (esquema). El biogás producido en el reactor burbujea en la solución NaOH 0,1 N con fenolftaleína como indicador, en el cual el CO₂ es absorbido y el volumen de gas metano desplaza un volumen igual de la solución alcalina. El volumen de la solución recolectado en el recipiente es equivalente al volumen de metano generado por el sistema.



C3) Determinación de la concentración de ST y SV

Materiales:

- Placas de porcelana
- Horno de secado para operar a 105°C
- Mufla para operar a 550°C
- Balanza analítica
- Desecador

Procedimiento:

1. Calentar la placa limpia en el horno de secado durante una hora y conservar la placa en el desecador hasta que se necesite.
2. Pesar inmediatamente antes de usar.
3. Elija un volumen de muestra entre 20 - 50 mL y transfíralo a la placa pesada previamente.
4. Llévela al horno de secado (105°C) durante 12 horas.
5. Enfriar la placa en un desecador para equilibrar la temperatura, dejarla durante 1 hora y posteriormente pesar.
6. Llevar la placa a la mufla (550°C) durante una hora.
7. Enfriar la placa en un desecador durante una hora y después pesar.

Cálculos:

$$ST = \frac{(A - B) * 1000}{vol. muestra (mL)} \left[\frac{mg}{L} \right]$$

$$SV = \frac{(C - B) * 1000}{vol. muestra (mL)} \left[\frac{mg}{L} \right]$$

Donde:

A= peso residuo seco + placa (mg)

B= peso de la placa (mg)

C= peso residuo + placa después de incineración (mg)

C4) Determinación de la concentración de SST y SSV

Materiales:

- Filtros
- Vidrio de reloj
- Planchetas de aluminio
- Flautas de filtración
- Horno de secado para operar a 105°C
- Mufla para operar a 550°C
- Balanza analítica
- Desecador

Procedimiento:

1. Inserte el filtro en el aparato de filtrado, hacer vacío y lavar el filtro con agua destilada.
2. Continúe succionando el agua hasta que el filtro se encuentre seco.
3. Retire el filtro del sistema de filtrado y colóquelo en un vidrio de reloj.
4. Llevarlo al horno de secado (105°C) durante una hora.
5. Enfriar en el desecador por una hora.
6. Pesar sólo el filtro.
7. Colocar el filtro en el sistema de filtrado e inicie la succión de la muestra (2 mL).

8. Llevar al horno de secado (105°C) durante 12 horas.
9. Enfriar en el desecador durante una hora y posteriormente pesar.
10. Pasar el filtro a la plancha de aluminio
11. Llevar a la mufla (550°C) durante una hora.
12. Enfriar en el desecador durante una hora y pesar inmediatamente.

Cálculos:

$$SST = \frac{(A - B) * 1000}{vol. muestra (mL)} \left[\frac{mg}{L} \right]$$

$$SSV = \frac{(C - B) * 1000}{vol. muestra (mL)} \left[\frac{mg}{L} \right]$$

Donde:

A= peso residuo seco + filtro (mg)

B= peso del filtro (mg)

C= peso residuo + filtro después de incineración (mg)

C5) Determinación de la concentración de DQO

Reactivos:

- Solución digestora de alta

Para 1000 mL

- 1) Se miden 500 mL de agua destilada
- 2) Se adiciona 10,2160 g $K_2Cr_2O_7$, 33,3 g $HgSO_4$ y 167 mL H_2SO_4
- 3) Se agita y se afora a 1000 mL

- Solución catalizadora

Para 1000 mL

- 1) Se pesan 10,1200 g de Ag_2SO_4 y se agregan a 500 mL de H_2SO_4 , se deja durante toda la noche.
- 2) Al día siguiente se debe aforar 1000 mL con H_2SO_4 .

Materiales:

- Tubos de ensayo
- Termoreactor
- Espectrofotómetro

Procedimiento:

1. Para los blancos agregar a los tubos de ensayo 2,5 mL de agua destilada, 1,5 mL de solución digestora de alta y 3,5 mL de solución catalizadora.
2. Para las muestras agregar 2,5 mL de muestra, 1,5 mL de solución digestora de alta y 3,5 mL de solución catalizadora.
3. Tape los tubos de ensayo muy bien y homogenícelos.
4. Las muestras se hacen por duplicado.
5. Colocar los tubos dentro del reactor.
6. Prenda el reactor y contabilice dos horas a partir del momento en que la temperatura alcance 105°C.
7. Transcurrido el tiempo, llevar los tubos al espectrofotómetro para realizar la lectura.

Cálculos:

$$DQO = \frac{y - 0,0015}{0,0003} \left[\frac{mg}{L} \right]$$

Dónde:

y = lectura que arroja el espectrofotómetro (nm).

Anexo D. Ecuaciones utilizadas para la determinación de Q_p y $Y_{p/s}$

Parámetros Cinéticos	Ecuación	Unidades
Q_p acumulada	$\frac{\Delta P}{\Delta t}$	mL CH ₄ /día
$Y_{p/s}$ acumulado	$\frac{\Delta P}{\Delta S}$	m ³ CH ₄ /kg de SV

Dónde:

Q_p acumulada : Productividad Volumétrica acumulada

$Y_{p/s}$ acumulado : Rendimiento de producto en sustrato acumulado

P : Producto formado

t : tiempo de reacción

S : concentración de sustrato en g SV

Anexo E. Registro Fotográfico



Agua residual



Montaje experimentos



Incubación experimentos



AGV



Medición de CH_4 por el método de desplazamiento alcalino.