

**Co-digestión Anaeróbica del Lactosuero y Estiércol Bovino: Una Alternativa de Gestión de  
Residuo Para el Sector Lácteo en Colombia**

**Zuleima Rondón Gómez**

**Katherin Paola Sanabria Díaz**

**Trabajo de Grado Para Optar el Título de Ingeniero Químico**

**Directores**

**Humberto Escalante Hernández**

**Ingeniero Químico, PhD**

**Liliana Del Pilar Castro Molano**

**Ingeniera Química, PhD**

**Jaime Jaimes Estévez**

**Ingeniero Químico**

**Universidad Industrial de Santander**

**Facultad de Ingenierías Físicoquímicas**

**Escuela de Ingeniería Química**

**Bucaramanga**

**2017**

*A Dios por ser mi fortaleza, alegría, guía y apoyo en cada etapa de mi vida.*

*A mis padres: Víctor Hugo Rondón y Gloria Gómez. Seres que han ganado mi respeto, mi motivación y me han hecho crecer como persona y profesional brindándome apoyo y amor incondicional.*

*A mi querida hermana Daniela Rondón, por ser mi consejera y amiga al estar en los momentos difíciles a mi lado.*

.

*A mi querido sobrino fiel peludo Zeus, por ser mi compañero de trasnocho.*

*A todos mis amigos que de una forma u otra me acompañaron y tuve la fortuna de conocer y compartir buenas experiencias.*

**Zuleima Rondón**

*A ella que es mi mamá, papá y mejor amiga para toda la vida. Estoy hablando de ti Merceditas.*

*A mis hermanos Duvan y Omar por ser mi hogar, mi tranquilidad y felicidad.*

*A Don Ramiro, Doña Ana lucia, María Elena, Toño y Felso por ser los mejores maestros de vida.*

*A Fitoplacton por ser mi amigo fiel.*

*A toda aquella persona que me inspiro a enamorarme de esto y con ello me ayudo a cumplir este sueño.*

*Con mucho amor esto es para ustedes y para mí.*

***Katherin Sanabria***

### **Agradecimientos**

Primero a Dios, por permitirnos alcanzar esta meta y este sueño.

A Jaime Jaimes Estévez, por su compromiso, sus enseñanzas, su actitud positiva y su valiosa amistad.

A la profesora Liliana Castro por brindarnos la oportunidad de entrar al grupo de investigación.

Al grupo de Digestión Anaeróbica por ser el mejor equipo de trabajo.

A la empresa Lácteos Villa Aurora por su participación y colaboración para el desarrollo de este trabajo.

Al grupo de investigación en tecnologías de valorización de residuos y fuentes agrícolas e industriales para la sustentabilidad energética INTERFASE.

A los colaboradores, Laura Mantilla, Joaquín Orozco, Guillermo Acero, Don Eduardo y Don Wilson.

**Tabla de contenido**

|  | pág. |
|--|------|
| Introducción   | 16   |
| 2. Metodología   | 22   |
| 2.1 Primera etapa: Recolección y caracterización de los sustratos e inóculo  | 22   |
| 2.2 Segunda etapa: Determinación de la fracción de LS, RIS y temperatura más favorable para la CODA de la mezcla LS:EB               | 24   |
| 2.2.1 Determinación del potencial de biometanización y del contenido de ácidos grasos volátiles                                      | 24   |
| 2.2.2. Estudio de la influencia de la fracción de lactosuero, relación inóculo-sustrato y temperatura, sobre la producción de metano | 25   |
| 2.2.3 Validación de las condiciones más favorables   | 27   |
| 2.3 Tercera etapa: Monitoreo del reactor tubular en estado discontinuo y semi-continuo   | 28   |
| 2.3.1 Proceso de CODA en Discontinuo   | 28   |
| 2.3.2 Proceso de CODA en Semicontinuo  | 29   |
| 2.3.2.1 Variabilidad de la AME en la dirección axial del reactor   | 29   |
| 2.4 Análisis fisicoquímicos  | 29   |
| 3. Resultados  | 30   |
| 3.1 Primera etapa: Caracterización de los sustratos e inóculo  | 30   |
| 3.2 Segunda etapa: Condiciones más favorables de fracción de lactosuero, RIS y temperatura, para la producción de metano             | 31   |

|  |    |
|--|----|
| 3.2.1 Determinación del potencial de biometanización   | 31 |
| 3.2.2 Condiciones más favorables de fracción de lactosuero, RIS y temperatura para la producción de metano | 34 |
| 3.2.3 Validación de PBM de la mezcla más favorables  | 36 |
| 3.3 Tercera etapa: Monitoreo del reactor tubular en estado Discontinuo y ´Semi-continuo                    | 40 |
| 3.3.1 Proceso de CODA en Discontinuo   | 40 |
| 3.3.2 Proceso de CODA en Semi-continuo   | 40 |
| 3.3.2.1 Actividad metanogénica específicas a lo largo de la dirección axial del reactor                    | 42 |
| 4. Conclusiones  | 45 |
| Referencias Bibliográficas   | 46 |
| Apéndices  | 54 |

**Lista de figuras**

|   | Pág. |
|---|------|
| Figura 1. Reactor tubular para CODA de lactosuero   | 28   |
| Figura 2. PBM de la CODA de las mezclas LS:EB en los rangos psicrófilico, mesófilico y termófilico. 2a) Rango psicrófilico, 2b) Rango mesófilico, 2c) Rango termófilico | 33   |
| Figura 3. Producción de metano acumulado para la mezcla más favorables  | 36   |
| Figura 4. Sólidos volátiles vs tiempo   | 39   |
| Figura 5. DQO <sub>soluble</sub> vs tiempo  | 39   |
| Figura 6. DQO vs tiempo   | 39   |
| Figura 7. AGV's / AT vs tiempo  | 39   |
| Figura 8. AGV's vs tiempo   | 39   |
| Figura 9. PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> , NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> vs tiempo  | 39   |
| Figura 10. Separación de fases a lo largo del reactor. 10a Ácidos grasos volátiles y 10b pH a lo largo del reactor  | 43   |
| Figura 11. Producción de metano a partir de la mezcla LS:EB en el proceso de CODA. 11a sólidos volátiles. 11b Actividad Metanogénica Especifica                         | 44   |

**Lista de tablas**

|   | pág. |
|---|------|
| Tabla 1. Estado del arte Digestión Anaeróbica del Lactosuero                              | 17   |
| Tabla 2. Diseño experimental en los diferentes rangos de temperatura                      | 26   |
| Tabla 3. Caracterización de la CODA de la mezcla LS:EB variando la fLS, RIS y temperatura | 31   |
| Tabla 4. Ajuste del modelo cinético de primer orden                                       | 37   |
| Tabla 5. Monitoreo de la caracterización del proceso de la CODA en Semi-continuo          | 41   |

**Lista de apéndices**

|   | pág. |
|---|------|
| Apéndice A. Estado del arte de los tipos de reactores en la DA en el LS   | 54   |
| Apéndice B. Procedimiento simplificado de metodología para la determinación de la actividad metanogénica específica | 55   |
| Apéndice C. Caracterización del sustrato , co-sustrato e inóculo utilizadas   | 58   |
| Apéndice D. Determinación del $PBM_{teórico}$ por medio de la ecuación de Buswell                                   | 59   |
| Apéndice E. Ensayo de PBM   | 62   |
| Apéndice F. Método de desplazamiento alcalino   | 67   |
| Apéndice G. Superficies de respuesta de PBM y AGV's   | 69   |

**Lista de abreviaturas**

AGV: Ácidos grasos volátiles

AD: Agua destilada

AT: Alcalinidad total

AME: Actividad metanogénica específica

DA: Digestión anaeróbica

DQO: Demanda química de oxígeno

EB: Estiércol bovino

EBF: Estiércol bovino fresco

LEB: Lodo estiércol bovino

LS: Lactosuero

PBM: Potencial bioquímico de metanización

SV: Sólidos volátiles

TRH: tiempo de retención hidráulica

## RESUMEN

**TÍTULO:** CO-DIGESTION ANAEROBICA DE LACTOSUERO CON ESTIERCOL BOVINO: UNA ALTERNATIVA DE GESTION DE RESIDUO PARA EL SECTOR LACTEO EN COLOMBIA \*.

**AUTORES:** ZULEIMA RONDÓN GÓMEZ\*\*; KATHERIN PAOLA SANABRIA DÍAZ\*\*

**PALABRAS CLAVE:** DIGESTIÓN ANAERÓBICA, ESTIÉRCOL BOVINO, LACTOSUERO, REACTOR TUBULAR.

**DESCRIPCIÓN:** El lactosuero (LS) es el principal residuo generado durante la fabricación del queso. En este estudio, se investigó la implementación de la Co-digestión Anaeróbica (CODA) de la mezcla LS y estiércol bovino (EB) como tecnología para aprovechar el alto contenido de materia orgánica de estos sustratos, generando un biogás y un digerido. El LS tiene la capacidad de degradarse rápidamente provocando una alta producción de ácidos grasos volátiles (AGV's), lo que inhibe el proceso. Se implementó el EB como co-sustrato, disminuyendo la acumulación de AGV's y asegurando la estabilidad del proceso. Durante la experimentación se evaluó el potencial de biometanización (PBM) de las diferentes mezclas de LS: EB variando la relación inóculo/sustrato (RIS), temperatura y fracción de LS (fLS) empleado. Las condiciones obtenidas fueron: una mezcla de 70% v/v de LS y 30% v/v de EB, RIS de 2,2 kg SV<sub>inóculo</sub>/kg SV<sub>sustrato</sub> y una temperatura de operación de 35 °C, generando unos AGV's de 98,26 g/L y un PBM de 0,6 m<sup>3</sup>CH<sub>4</sub>/kgSV<sub>adicionado</sub>. Se validó el PBM utilizando estiércol bovino estabilizado (EBE) como inóculo y una carga orgánica de 0,5 gSV/L día. Se obtuvo una degradación de la materia orgánica de 96%, alcanzando una producción de biogás de 0,52 m<sup>3</sup> biogás/kg SV. Finalmente, se implementó la puesta en marcha de un reactor tubular a 25 °C en estado batch de una mezcla de 70% v/v de LS y 30 % v/v, con una carga orgánica de 0,5 gSV/L día y una RIS de 2,2 kg SV<sub>inóculo</sub>/kg SV<sub>sustrato</sub>. Se midió la producción diaria de metano.

---

\* Trabajo de grado.

\*\* Facultad de Ingenierías Físicoquímicas. Escuela de Ingeniería Química. Directores: Liliana del Pilar Castro Molano, Ingeniera Química PhD, Humberto Escalante Hernández, Ingeniero Químico PhD, Jaime Jaimes Estévez, Ingeniero Químico.

**ABSTRACT**

**TITLE:** ANAEROBIC CO-DIGESTION TO THE CHEESE WHEY AND BOVINE MANURE: AN ALTERNATIVE OF RESIDUE MANAGEMENT FOR THE LACTIC SECTOR IN COLOMBIA. \*

**AUTHORS:** ZULEIMA RONDÓN GÓMEZ\*\* ; KATHERIN PAOLA SANABRIA DÍAZ\*\*

**KEYWORDS:** ANAEROBIC DIGESTION, BOVINE MANURE, CHEESE WHEY, TUBULAR REACTOR.

**DESCRIPTION:** The cheese whey (CW) is the main waste generated during cheese production. In this research, the implementation of Anaerobic Co-digestion (ACOD) of the CW and bovine manure (BM) was studied as a technology to take advantage of the high organic matter content of these substrates, generating a biogás and a digested material. The CW has the ability to degrade rapidly, causing a high production of volatile fatty acids (VFA) that results in the inhibition of the process. Bovine manure (BM) was implemented as co-substrate, decreasing the accumulation of VFA's and ensuring the stability of the process. During the experiment, the biochemical methane potential (BMP) from the different CW/BM mixtures by varying the inoculum substrate relation (ISR), temperature and CW fraction (CWf) employed were calculated. The most favorable conditions of operation were determined by using a factorial design  $2^3$  + center point + axial points of the Statgraphics program. The optimal conditions were: a mixture of 70% of CW and 30% of BM, ISR of 2,2 kg VS<sub>inoculum</sub>/kg VS<sub>substrate</sub> and a temperature of 35 ° C, generating VFA's of 98,26 g L and a BMP Of 0,6 m<sup>3</sup>CH<sub>4</sub>/kgVS. The validation of the BMP was using stabilized bovine manure (SBM) as an inoculum and an organic load of 0,5 gSV/L day. A degradation of the organic matter of 96% was obtained, reaching a biogás production of 0,52 m<sup>3</sup>biogás/kgVS. Finally, a tubular reactor was implemented at 25 ° C in the batch state for a mixture of 70% CW and 30% BM, with an organic load of 0,5 gVS/L day and a ISR of 2,2 KgVS<sub>inoculum</sub>/kgVS<sub>substrate</sub>. The daily production of methane was measured.

---

\* Bachelor Thesis.

\*\* Facultad de Ingenierías Físicoquímicas. Escuela de Ingeniería Química. Directors: Liliana del Pilar Castro Molano, Chemical Engineer PhD, Humberto Escalante Hernández, Chemical Engineer PhD, Jaime Jaimes Estévez, Chemical Engineer.

## Introducción

En Latinoamérica el 70% está representada por países con un PIB menor a los 200.000 millones de USD (CEPALSTAT, 2016). Estas naciones centran sus actividades en el sector agropecuario. En el caso Colombiano, el país enfoca su economía en el sector agrícola, principalmente, en la producción de materias primas (ANDI, 2016). En Colombia el sector lácteo representa el 2% del PIB Nacional (Ministerio de cultura y desarrollo rural, 2016), representados en la producción de aproximadamente 6.440 millones de litros de leche anuales (DANE, 2016). El 8% de la leche producida es destinada para la elaboración de quesos (Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, 2010). Este proceso es considerado de bajo rendimiento, debido a que, para la fabricación de 1 kilogramo de queso, son necesarios 10 litros de leche y se generan 9 litros de un residuo comúnmente llamado Lactosuero (LS) (Kosikowski, 1979). En consecuencia, anualmente se producen alrededor de 460 millones de litros de LS.

La digestión anaeróbica (DA) es una alternativa prometedora para dar un valor agregado al lactosuero, mejorar la producción de biogás y rendimiento de metano. Este proceso brinda grandes beneficios como i) el reciclaje de nutrientes (producción de fertilizante a partir del digerido) ii) reducción de gases de efecto invernadero iii) estabilización de la materia orgánica iv) efectos sinérgicos de los microorganismos (Hagos, *et al.*, 2016). En la tabla 1 se presenta una revisión bibliográfica de la DA del LS reportada en la literatura. Sin embargo, la DA del lactosuero presenta problemas de inhibición debido a la acumulación de nitrógeno amoniacal y ácidos grasos volátiles (AGV's) con valores mayores a 46,7mg/l y 4800 mg/L, respectivamente (Escalante, *et al.*, 2017).

Una alternativa para mejorar la estabilidad de la digestión anaeróbica es la adición de dos o más sustratos a la mezcla, proceso comúnmente llamado Co-digestión anaeróbica (CODA) (Rodríguez, 2014).

Tabla 1.  
*Estado del arte Digestión Anaeróbica del Lactosuero*

| <b>Conversión materia orgánica</b> | <b>Demanda Química de oxígeno [<math>\frac{g DQO}{l}</math>]</b> | <b>Rendimiento de metano</b>                         | <b>Referencia</b>                     |
|------------------------------------|--|--|---------------------------------------|
| 83 %                               | 65-140   | 0,51-0,6 lCH <sub>4</sub> /gSV <sub>adicionado</sub> | (Escalante, <i>et al.</i> , in press) |
| 56,2% - 69,9%                      | 57,5   | 1-3,8 lCH <sub>4</sub> /kgSV <sub>adicionado</sub>   | (Rico, <i>et al.</i> , 2015)          |
| 183,05%                            | 93,21  | 0,9 lCH <sub>4</sub> /l                              | (Dareioti & Kornaros, 2015)           |
| 76,8%                              | 74,9   | 2,2 lCH <sub>4</sub> /l                              | (Gelegenis, <i>et al.</i> , 2007)     |
| 70%                                | 74,4%  | 219 lCH <sub>4</sub> / kg                            | (Riggio, <i>et al.</i> , 2015)        |
| 79%-83%                            | 68,6 g DQO/l   | 0,31 lCH <sub>4</sub> / gDQO                         | (Saddoud, <i>et al.</i> , 2007)       |

La CODA es una tecnología que brinda beneficios como: (i) mejoras en la producción de biogás y rendimiento del metano, (ii) dilución de sustancias inhibitoras, (iii) equilibrio de nutrientes (v) reducción de la emisión de gases de efecto invernadero a la atmósfera, (vi) efectos sinérgicos de los microorganismos, (vii) aumento de la carga de materia orgánica biodegradable y (viii) ventajas económicas derivadas del hecho de compartir aparatos y costos. En la CODA se deben establecer buenas sinergias entre los sustratos para aumentar la producción de biogás en comparación con la DA de estos sustratos. Autores como Cavinato, *et al.*, (2010) y Shah, *et al.*, (2015) afirman que la CODA puede aumentar la producción de biogás de 25% a 400% sobre la DA de los mismos sustratos. Sin embargo, este es un proceso desafiante debido a los problemas de estabilidad y optimización.

### **VARIABLES DE OPERACIÓN DE LA CO-DIGESTIÓN DEL LACTOSUERO**

La CODA se ve afectada por el pH, la temperatura (T), composición química de sustratos, relación inóculo/sustrato (RIS) y biodegradabilidad de los sustratos.

#### **Influencia del pH en la co-digestión**

El pH es un indicador de estabilidad del proceso. Un pH entre 6,5 y 8,2 se considera una prioridad para obtener una eficiente digestión metanogénica (Mara & Horan, 2003). El lactosuero presenta dificultades por su bajo contenido de alcalinidad total (AT) (750 mg CaCO<sub>3</sub>/l), lo que conduce a una caída en el pH y acumulación de AGV's, generando rápida acidificación, agotando la capacidad de amortiguación del proceso (Ergüder, *et al.*, 2011) (Kalyuzhnyia, *et al.*, 1997).

#### **Temperatura**

La temperatura afecta el crecimiento de los microorganismos y la velocidad de reacción (Ortega, 2006). En el rango psicrófilico (> 25°C) se obtiene bajos rendimientos de DA (Hall & Howe, 2012). En rangos mesófilicos (25- 40°C) las bacterias metanogénicas están en mejores condiciones para crecer y desarrollarse, y la velocidad de reacción de la hidrólisis y la acidogénesis es más rápida, con una temperatura óptima de operación de 37°C (Escalante, *et al.*, 2017). En los rangos termófilicos (45-70°C) se puede observar una cinética más rápida, sin embargo, se presenta inhibición en la producción de biogás, aumento de toxicidad y acidificación (Mao, *et al.*, 2015). Para el lactosuero, la temperatura óptima para su fermentación es 24°C a 34°C (Mawson, 1994) . El proceso de DA ha sido estudiado a diferentes temperaturas a escala laboratorio alcanzando producciones de biogás en *batch* entre 0,18-0,50 m<sup>3</sup>/ kg SV<sub>adicionado</sub> a 36 °C (Razaviarani, *et al.*, 2013), 0,14-0,47 m<sup>3</sup>/ kg SV<sub>adicionado</sub> a 30 °C (Deepanraj, *et al.*, 2015) y 0,020 - 0,260 m<sup>3</sup>/ kg SV<sub>adicionado</sub> de 15 a 25 °C (Kafle & Chen, 2016). En cuanto a la CODA de la mezcla lactosuero y estiércol bovino (EB) se reporta una producción de biogás de 0,409 m<sup>3</sup>/ kg SV<sub>adicionado</sub> a 25°C

(Escalante, *et al.*, 2017) y de la mezcla residuos orgánico y gallinaza se reporta una producción de biogás de 0,32-0,64 m<sup>3</sup>/kg SV<sub>adicionado</sub> (Callaghan, *et al.*, 2002).

### **Composición química de los sustratos**

En la CODA se requieren sustratos con fuente de carbono que pueda generar un alto rendimiento al proceso. El LS posee cerca del 55% de los nutrientes de la leche (Rico, *et al.*, 2015) y tiene una elevada carga orgánica correspondiente a 45-65 g SV/kg y 68-94 g DQO/l (Riggio, *et al.*, 2015). Entre los co-sustratos más utilizados para la CODA del LS se destaca el estiércol bovino (EB). El EB ayuda a regular el pH del sistema y mitiga la inhibición del proceso debido a la acumulación de los AGV's. El EB tiene una alcalinidad (1850 mg CaCO<sub>3</sub>/l) mayor respecto a la reportada para el LS (750 mg CaCO<sub>3</sub>/l) lo cual se traduce en alta capacidad buffer, brindando estabilidad al proceso (Escalante, *et al.*, 2017).

### **Relación inóculo sustrato (RIS)**

La RIS es un parámetro fundamental en el proceso de la DA. Este factor determina los rendimientos de producción de biogás y de degradación de materia orgánica (Garfí, *et al.*, 2016).

### **Biodegradabilidad**

El LS es un sustrato con alta biodegradabilidad dado su alto contenido de lactosa, proteínas y lípidos (Hernández, 2015). No obstante, esta alta biodegradabilidad causa un exceso de consumo de oxígeno si se elimina directamente en cuerpos de agua (Kalyuzhnyia, *et al.*, 1997) (Mawson, 1994). Para resolver esta situación se requieren tratamientos biológicos como los son los procesos anaeróbicos particularmente la CODA, que ofrece una excelente solución tanto en términos de ahorro de energía (Fernández, *et al.*, 2015) (Ergüder, *et al.*, 2011). El EB tiene una biodegradabilidad anaeróbica de aproximadamente el 45%, haciendo exitoso el proceso de digestión (Rico, *et al.*, 2015).

### **Potencial de biometanización**

El potencial de biometanización (PBM) permite determinar los rendimientos de metano y la capacidad de biodegradación de los sustratos. El PBM se determina a partir del volumen total de metano durante el tiempo de digestión por la cantidad de sustrato inicial agregado ( $\text{m}^3 \text{CH}_4 / \text{kg SV}_{\text{adicionado}}$ ) en condiciones estándar de temperatura y presión (Labatut, *et al.*, 2011).

### **Tipos de reactores**

El diseño del reactor tiene gran influencia en la estabilidad de la DA del LS (ver Apéndice A). Generalmente son usados reactores tipo CSTR y UASB, presentando problemas de rápida acidificación y sedimentación de lodos en el fondo del reactor, y altos requerimientos energéticos. En este sentido, el uso de los Biodigestores de bajo costo (BDG) se considera una tecnología factible para el proceso de la DA, puesto que se caracterizan por ser económicos, tener fácil implementación y manejo (Garfí, *et al.*, 2016).

Como resultado de la CODA en un BDG se tiene un gas combustible llamado biogás y lodo efluente conocido como digerido. El biogás, es una mezcla de metano ( $\text{CH}_4$ ) entre 40 y 70 %, dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) entre 30 y 60%, ácido sulfhídrico ( $\text{H}_2\text{S}$ ) de 0,1% a 1% y nitrógeno (N) entre 0,5% y 3% (Ramírez Sánchez, 2016). 1  $\text{m}^3$  de biogás producido en un BDG (70%  $\text{CH}_4$  y 30%  $\text{CO}_2$ ) es equivalente a 6,8 kWh de electricidad, 0,6  $\text{m}^3$  de gas natural, 0,8 litros de gasolina, 0,3 kg de carbón, 1,3 litros de alcohol combustible o 1,5 kg de madera (CIEMAT, 2017). En relación con lo anterior, el biogás es considerado como una fuente limpia, eficiente y renovable, generando la posibilidad de reducir otras fuentes de energía como la leña, estiércol seco, etc (Rajendran, *et al.*, 2012) y siendo una solución al 5% y 88,1% de la población rural que no goza del servicio de energía eléctrica y gas natural, respectivamente (DANE, 2016), esto debido al difícil acceso y posibles riesgos geográficos, haciendo inviable su instalación (Castro, *et al.*, 2017).

Por lo tanto, se genera la necesidad de nuevas alternativas de abastecimiento de energía a lo largo del territorio colombiano.

Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue evaluar el proceso de la co-digestión anaeróbica de la mezcla lactosuero-estiércol en los diferentes rangos de temperaturas presentes en el territorio colombiano, posteriormente se monitorio a escala laboratorio en un reactor tubular las condiciones más favorables de temperatura, fracción de lactosuero y relación inóculo/sustrato determinadas experimentalmente en este estudio.

## 2. Metodología

El diseño metodológico se orientó a la evaluación de la CODA de la mezcla lactosuero/Estiércol bovino (LS: EB). Esta investigación se desarrolló en tres etapas: En la primera etapa se realizó la recolección y caracterización del sustrato, co-sustrato e inóculo. En la siguiente etapa se evaluó el potencial de biometanización (PBM) de diferentes mezclas de LS: EB variando la RIS, temperatura y la fracción de lactosuero (fLS) y se determinaron las condiciones más favorables de operación.

Finalmente, con las condiciones obtenidas en la etapa anterior, se realizó la puesta en marcha y operación en semi-continuo de la CODA en un reactor tubular a escala laboratorio.

### 2.1 Primera etapa: Recolección y caracterización de los sustratos e inóculo

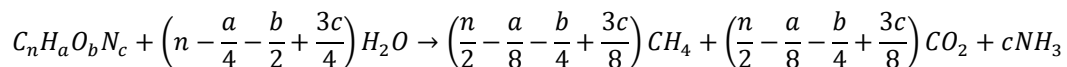
El lactosuero fue suministrado por la microempresa láctea Villa Aurora, ubicada en el departamento de Santander, Colombia (Lat: N 7°8' 19, 2'' Long W 73°7' 31, 298''). El proceso productivo de esta empresa es la elaboración de quesos. La industria láctea Villa Aurora produce entre 1.360litros/mes y 1.520 litros/mes de LS. El LS se recolectó a temperatura ambiente en botellas plásticas de 1 L. Las muestras se recolectaron semanalmente durante 4 meses. Las muestras fueron refrigeradas a  $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$  y transportadas al laboratorio de biotecnología de la Escuela de Ingeniería Química de la Universidad Industrial de Santander (UIS).

El estiércol bovino se recolectó en la finca Marcella, ubicada en Girón, Santander a 9 km de la zona urbana, a una altitud de 959 m.s.n.m. (Lat. N 7°01 '0,07' Long. 'W 73°08' 13,3''). La finca Marcella cuenta con tres cabezas de ganado bovino de raza Normando que producen entre 34 – 51

kg/mes de excreta bovina. El EB fue recolectado y almacenado en un tanque sellado a temperatura ambiente.

Como inóculo se utilizó estiércol bovino estabilizado (EBE). El inóculo fue preparado a partir de EB y agua en una relación 1:3 (v/v). Posteriormente se incubó a  $37 \pm 2^\circ\text{C}$  en un reactor CSTR con agitación constante, para reducir el contenido de materia orgánica residual (Sólidos Volátiles). Para conocer la capacidad del EBE como inóculo, se determinó su actividad metanogénica específica (AME) siguiendo el protocolo propuesto por Astals *et al.*, (2015) (Apéndice B).

Tanto el LS, EB, como el inóculo fueron caracterizados en términos de sólidos volátiles (SV), AGV's, AT, pH, azúcares reductores totales (ART), demanda química de oxígeno total (DQO) y soluble (DQO<sub>s</sub>),  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{PO}_4^{3-}$  (Ver Apéndice C). La fórmula empírica de los sustratos se obtuvo a partir de la composición elemental (C, H, O, N). El potencial de biometanización teórico ( $\text{PBM}_{\text{teórico}}$ ) del LS y EB fue determinado por medio de la ecuación Buswell (Ecuación 1) (Ver Apéndice D).



$$BPM_{\text{teórico}} = \frac{22,4\left(\frac{n}{2} + \frac{a}{8} - \frac{b}{4} - \frac{3c}{8}\right)}{12n+a+16b+14c} \left(\frac{LCH_4}{kgSV}\right) \quad (\text{Ecuación 1})$$

## **2.2 Segunda etapa: Determinación de la fracción de LS, RIS y temperatura más favorable para la CODA de la mezcla LS: EB**

**2.2.1 Determinación del potencial de biometanización y del contenido de ácidos grasos volátiles.** El PBM es un parámetro que permite evaluar la viabilidad de la CODA para una mezcla de sustratos. El ensayo de PBM se llevó a cabo en botellas de vidrio de 100 ml (volumen de operación de 60 ml), por triplicado, según el protocolo sugerido por Angelidaki, *et al.*, (2009) (Ver Apéndice E). Las muestras fueron gaseadas con N<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> (80/20% v/v), selladas con un tapón de butilo y agrafes de aluminio, y almacenadas a las temperaturas establecidas en la siguiente sección.

Con el objetivo de evaluar la producción de metano por actividad endógena del inóculo, se realizó un experimento blanco (Solo inóculo) para cada una de las temperaturas de operación a evaluar. El metano producido durante el ensayo de PBM se cuantificó mediante el desplazamiento volumétrico de una solución alcalina (0,5 N) (Díaz-Báez, *et al.*, 2002) (Ver Apéndice F). El volumen desplazado de metano se normalizó y se expresó en términos de producción específica de metano (PEM) como m<sup>3</sup>CH<sub>4</sub>/ kgSV<sub>adicionado</sub>. El porcentaje de remoción de materia orgánica se cuantificó mediante la concentración inicial y final de SV. La estabilidad del proceso de digestión anaeróbica se cuantificó mediante la concentración de AGV y el pH al inicio y al final del diseño experimental.

**2.2.2 Estudio de la influencia de la fracción de lactosuero, relación inóculo-sustrato y temperatura, sobre la producción de metano.** La influencia de la fLS, RIS y T sobre el PBM y el contenido final de AGV's observada en la tabla 2, se evaluó utilizando un diseño factorial  $2^3 +$  punto central + puntos axiales, y se analizó empleando la metodología de superficie de respuesta. El contenido de materia orgánica respecto al sustrato principal fue establecido con el fin de observar el efecto de concentraciones bajas 0,3 (v/v) y altas 0,9 (v/v) de fLS. Con base al máximo valor recomendado para el PBM por Angelidaki, *et al.*, (2009) y con el fin de estudiar el efecto de altos contenidos de inóculo, los niveles para la RIS fueron establecidos entre 1 y 2 ( $\text{kg SV}_{\text{inóculo}}/\text{kg SV}_{\text{sustrato}}$ ). Respecto a las temperaturas, los niveles alto y bajo fueron fijados como 15 y 35 °C con el objeto de estudiar el proceso de digestión a condiciones psicrófilas y mesófilas, respectivamente. Las condiciones más favorables de proporción de LS, RIS y temperatura para la CODA de la mezcla LS: EB se determinaron mediante la optimización múltiple del PBM y del contenido de AGV's de las 17 muestras definidas en el diseño experimental. Esto con el fin de alcanzar la mayor producción de metano (representado en el PBM), minimizando el contenido de ácidos grasos volátiles, previniendo riesgos de inhibición.

Con la finalidad de implementar la metodología de superficie de respuesta (MSR) para determinar las condiciones más favorables de fracción de lactosuero, RIS y temperatura para la producción de metano, los datos experimentales para PBM y AGV's fueron ajustados a la expresión de segundo orden presentada en la ecuación (2) y (3) respectivamente.

$$\text{PBM} = \alpha_0 + \alpha_1 * \text{LS} + \alpha_2 * \text{RIS} + \alpha_3 * \text{T} + \alpha_4 * \text{LS}^2 + \alpha_5 * \text{LS} * \text{RIS} + \alpha_6 * \text{LS} * \text{T} + \alpha_6 * \text{LS} * \text{T} + \alpha_7 * \text{RIS}^2 + \alpha_8 * \text{RIS} * \text{T} + \alpha_9 * \text{T}^2 \quad (\text{Ecuación 2})$$

$$\text{AGV's} = \alpha_0 + \alpha_1 * \text{LS} + \alpha_2 * \text{RIS} + \alpha_3 * \text{T} + \alpha_4 * \text{LS}^2 + \alpha_5 * \text{LS} * \text{RIS} + \alpha_6 * \text{LS} * \text{T} + \alpha_6 * \text{LS} * \text{T} + \alpha_7 * \text{RIS}^2 + \alpha_8 * \text{RIS} * \text{T} + \alpha_9 * \text{T}^2 \quad (\text{Ecuación 3})$$

Tabla 2.

*Diseño experimental en los diferentes rangos de temperatura.*

| Temperatura de crecimiento | # de muestra | Condiciones |     |           | AGV's [mg/L] | PBM [m <sup>3</sup> CH <sub>4</sub> /kg SV] |
|----------------------------|--------------|-------------|-----|-----------|--------------|---|
|                            |              | T           | RIS | fLS [v/v] |              |   |
| Psicrofílico               | 1            | 8           | 1,5 | 0,6       | 1150         | 0,12  |
|                            | 2            | 15          | 2   | 0,9       | 3400         | 0,45  |
|                            | 3            | 15          | 1   | 0,9       | 4750         | 0,16  |
|                            | 4            | 15          | 2   | 0,3       | 200          | 0,2   |
|                            | 5            | 15          | 1   | 0,3       | 150          | 0,19  |
| Mesofílico                 | 6            | 25          | 2,3 | 0,6       | 350          | 0,18  |
|                            | 7            | 25          | 1,5 | 0,1       | 100          | 0,14  |
|                            | 8            | 25          | 1,5 | 1         | 2400         | 0,4   |
|                            | 9            | 25          | 0,7 | 0,6       | 3450         | 0,07  |
|                            | 10           | 25          | 1,5 | 0,6       | 250          | 0,51  |
|                            | 11           | 25          | 1,5 | 0,6       | 250          | 0,45  |
|                            | 12           | 25          | 1,5 | 0,6       | 150          | 0,44  |
|                            | 13           | 35          | 1   | 0,3       | 300          | 0,33  |
|                            | 14           | 35          | 2   | 0,3       | 300          | 0,3   |
|                            | 15           | 35          | 2   | 0,9       | 300          | 0,6   |
|                            | 16           | 35          | 1   | 0,9       | 3050         | 0,02  |
| Termofílico                | 17           | 42          | 1,5 | 0,6       | 300          | 0,51  |

Donde  $\alpha_i$  son los parámetros obtenidos por el modelo. Estos parámetros fueron determinados utilizando el software Statgraphics Centurion XVII.

**2.2.3 Validación de las condiciones más favorables.** Para validar las condiciones de operación, se desarrolló un ensayo de PBM, considerando los resultados obtenidos en la sección 2.2.2. Se midió la producción de CH<sub>4</sub> acumulada de la mezcla LS: EB por el método de desplazamiento alcalino. La curva de producción de metano acumulada fue ajustada al modelo cinético de primer orden (Ecuación 4) (Díaz-Báez, *et al.*, 2002). Los parámetros se determinaron mediante la herramienta *curve fitting* del *software* de Matlab®

$$B(t) = B_o * (1 - e^{-kt}) \quad (\text{Ecuación 4})$$

$$B_o: PBM \left[ \frac{L CH_4}{g SV_{adic.}} \right] \quad t: tiempo [días]$$

$$k: constante de velocidad de desintegración de primer orden [días^{-1}]$$

Adicionalmente, este ensayo fue sometido a un seguimiento en términos de SV, AGV's, AT, ART, pH, DQO, DQO<sub>s</sub>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup> y PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> para observar el comportamiento a través del tiempo de estas variables. El aporte energético de la mezcla LS: EB se calculó de acuerdo con la ecuación 5, teniendo en cuenta el PBM determinado en la experimentación.

$$P_{EE} = \rho_{LS} * SV_{LS} * PBM * \alpha_E \quad (\text{Ecuación 5})$$

$$P_{EE} \left[ \frac{kWh}{m^3 LS} \right]: Potencial energético eléctrico \quad PBM \left[ \frac{m^3 CH_4}{g SV_{adic.}} \right]$$

$$SV_{LS} \left[ \frac{g SV}{kg LS} \right]: Concentración de SV del LS \quad \rho_{LS} = 1000 \left[ \frac{kg}{m^3} \right]: densidad del LS$$

$$\alpha_E = 1,9 \left[ \frac{kWh}{m^3 CH_4} \right]: Factor de conversión$$

### 2.3 Tercera etapa: Monitoreo del reactor tubular en estado discontinuo y semi-continuo

El proceso de CODA de la mezcla LS: EB se llevó a cabo en un reactor tubular a escala laboratorio a  $25^{\circ}\text{C} \pm 2$  (temperatura promedio de Bucaramanga, Colombia). Se utilizó un reactor de cloruro de polivinilo con relación longitud/diámetro de 9 (Martí-Herrero & Cipriano, 2012) (longitud de 1 m, diámetro de 0,11 m), volumen total de 9 L y volumen de operación de 4,3 L. El reactor tiene entrada de sustrato (E), salida de digerido (S), puntos de muestreo, P1 Y P2 y salida de biogás (SB) (Figura 1).

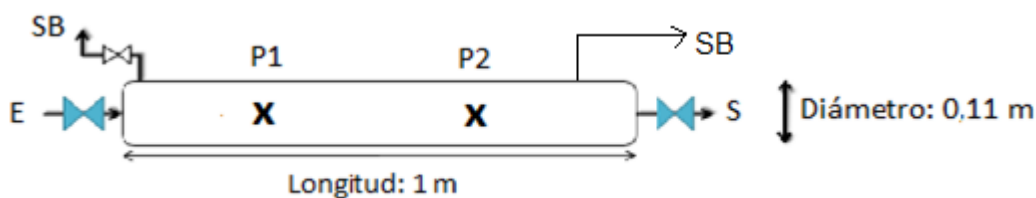


Figura 1. Reactor tubular para CODA de lactosuero.

**2.3.1 Proceso de CODA en Discontinuo.** Para adaptar el inóculo se operó el reactor en *batch*, durante 30 días a  $25^{\circ}\text{C}$ , utilizando la RIS y la fLS de la etapa anterior. Los primeros 20 días se cargó una tasa de carga orgánica (TCO) de  $0,5 \text{ kg SV}_{\text{sustratos}}/\text{m}^3_{\text{digestor}} \cdot \text{día}$ , hasta llegar a la RIS deseada. Para monitorear la estabilidad del reactor, cada 5 días se tomaron 60 ml de muestra para determinar: AGV's, AT, pH, ART, SV, DQO y DQO<sub>s</sub>. Cada dos días se midió el biogás en el reactor. La producción de biogás fue medida en el reactor a presión constante, por el método del desplazamiento en solución saturada de cloruro de sodio (Angelidaki, *et al.*, 2011).

**2.3.2 Proceso de CODA en Semi-continuo.** Estabilizada la CODA en operación *batch*, se procedió a la alimentación semi-continua. Se cargó dos veces por día el reactor con la mezcla LS: EB más favorables a partir de la etapa anterior. Se conservó la TCO en  $0,5 \text{ kgDQO}_{\text{sustratos}}/\text{m}^3\text{digestor}^*\text{día}$ . Cada 7 días se evaluó la degradación de materia orgánica, retirando 10 ml de muestra de los puntos E, P1, P2 y S y determinando SV, DQO,  $\text{DQO}_s$  y biogás.

**2.3.2.1 Variabilidad de la AME en la dirección axial del reactor.** Se monitoreo la AME a lo largo del reactor tubular con el fin de determinar la estabilidad del proceso, cada 7 días se tomaron alícuotas de 10 ml de muestra de los puntos E, P1, P2 y S (Figura 1) y se cuantificaron: AGV's, pH y AT. Una vez por semana se determinó la AME de cada punto de muestreo.

## 2.4 Análisis fisicoquímicos

Los AGV's y la AT se determinaron por titulación de acuerdo con el protocolo propuesto por (Purser, y otros, 2014). La materia orgánica se determinó mediante la cuantificación de del DQO y  $\text{DQO}_s$ , los SV y sólidos totales (ST) por el método gravimétrico SM 2450E y colorimétrico SM 5220D respectivamente (APHA, 2005). Los ART se cuantificaron mediante el método colorimétrico del ácido dinitrosalicílico (Cruz & Soler, 2014). El contenido de  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{PO}_4^{3-}$  se determinaron según los métodos 4500- $\text{NH}_3$  y 4500-PE respectivamente (APHA, 2005).

Finalmente se calculó el pH a partir del método de potenciométrico SM 4500B (APHA, 2005).

### 3. Resultados

#### 3.1 Primera etapa: Caracterización de los sustratos e inóculo

En el Apéndice C, se presenta la caracterización del sustrato, co-sustrato e inóculo utilizados. En este se evidencia que el LS posee un alto contenido de materia orgánica disponible para su biodegradación en un proceso anaeróbico (55,1 g SV/kg y 51,3 g DQO/L). Los altos niveles de  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{PO}_4^{3-}$  en el LS, indican que tiene un alto potencial para la recuperación de nutrientes. La materia orgánica fácilmente biodegradable, representada en la concentración de AGV's (4800 mg/l), permite concluir que el LS tiene alta capacidad para producir metano. Sin embargo, la falta de alcalinidad del LS (750 mg  $\text{CaCO}_3/\text{L}$ ), y su pH ácido, pueden representar problemas de acidificación durante el proceso de DA (Brown, Güttler, & Shilton, 2016). A demás, la relación C/N del LS es menor al rango óptimo 15-20 reportado por Garfí *et al.*, (2016). Lo anterior hace más evidente el uso de un co-sustrato que mejore las condiciones del proceso.

Respecto al EB, los resultados obtenidos muestran que tiene pH y AT favorable para el proceso de la CODA. En este sentido, se puede inferir que el EB reduce los problemas de inhibición del LS por acidificación, mejorando la estabilidad del proceso. De igual manera, el EBE utilizado como inóculo es ideal ya que posee menor cantidad de SV y DQO que el LS y EB, lo que asegura la reducción de la producción endógena de metano, favoreciendo el consumo de nutrientes de los sustratos. Al implementar el EB para la CODA se mejora el equilibrio nutricional del LS, lo cual se interpreta como el aprovechamiento sinérgico de las mezclas, compensando las carencias de

cada sustrato, donde tanto el LS como el EB son de fácil acceso para los productores de las áreas rurales.

### 3.2 Segunda etapa: Condiciones más favorables de fracción de lactosuero, RIS y temperatura, para la producción de metano.

**3.2.1 Determinación del potencial de biometanización.** Colombia, por sus diferentes pisos térmicos, presenta rangos de temperaturas psicrófilos, mesófilos y termófilos durante todo el periodo de año. El PBM tiene una relación directa con la temperatura, afectando la velocidad de crecimiento de los microorganismos y por ende el rendimiento del proceso de DA. En la Tabla 3 se presentan el PBM de las 17 mezclas del diseño central compuesto.

Los máximos rendimiento de metano para los rangos psicrófilo, mesófilo y termófilos fueron de 0,45, 0,6 y 0,51 m<sup>3</sup>CH<sub>4</sub>/kg SV<sub>adicionado</sub> respectivamente. Estos comportamientos son representados en las figuras 2a, 2b y 2c. Se observa que cada una de las mezclas se estabilizan en un periodo tiempo diferente, además, la mezcla 15 alcanza el mayor valor de PBM, esto debido a su capacidad buffer de 0,2 y el rango rangos mesófilo de operación, condiciones óptimas reportadas por Raposo, *et al.*, (2012).

Tabla 3.

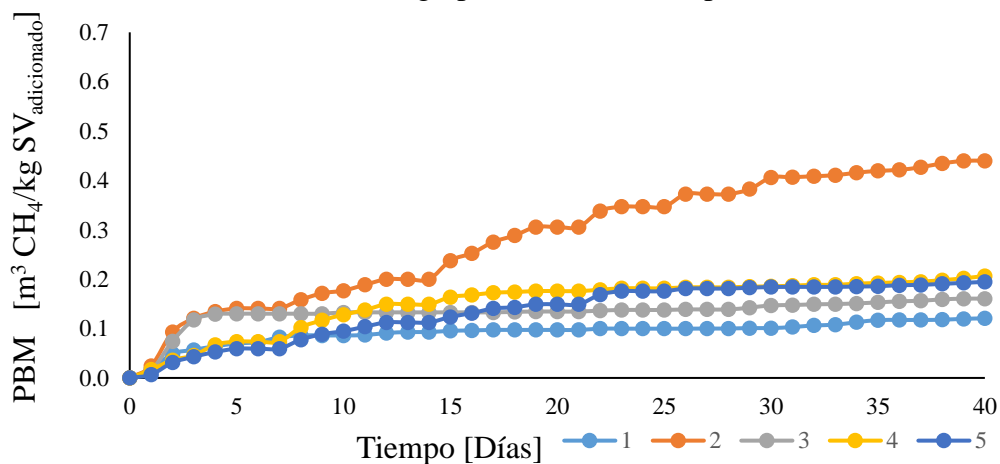
*Caracterización de la CODA de la mezcla LS: EB variando la fLS, RIS y temperatura.*

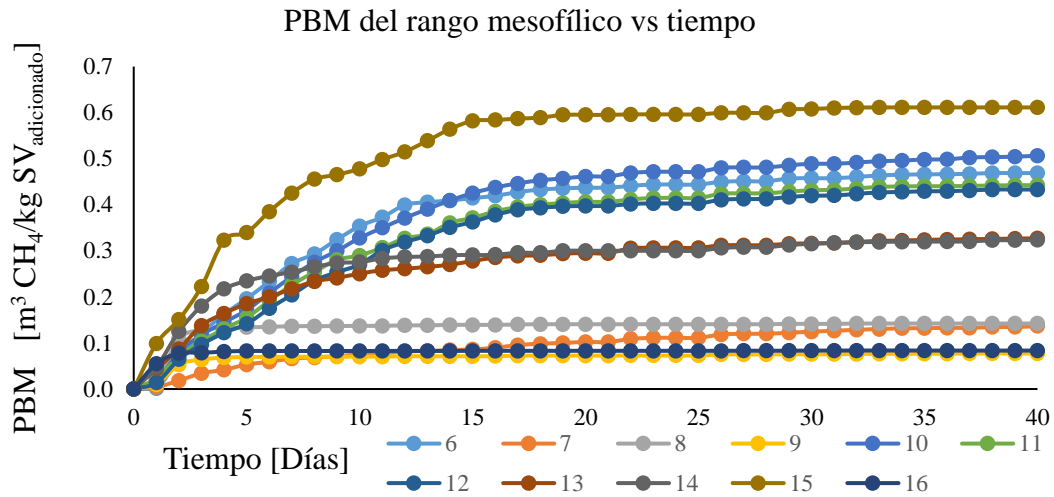
| Rangos     | Condiciones |    |     |           | NH <sub>4</sub><br>[mg/l] | PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup><br>[mg/l] | AT [mg<br>CaCO <sub>3</sub> /l] | AGV's<br>[mg/l] | ART<br>[mg/l] | DQO<br>[%] | SV<br>[%] | PBM [m <sup>3</sup><br>CH <sub>4</sub> /kg<br>SV] |
|------------|-------------|----|-----|-----------|---------------------------|---|---------------------------------|-----------------|---------------|------------|-----------|---|
|            | #           | T  | RIS | fLS [v/v] |                           |   |                                 |                 |               |            |           |   |
| Psicrófilo | 1           | 8  | 1,5 | 0,6       | 197,5                     | 75                                      | 2350                            | 1150            | 0             | 97,7       | 3,06      | 0,12  |
|            | 2           | 15 | 2   | 0,9       | 272,9                     | 250                                     | 2050                            | 3400            | 0             | 16,07      | 47,89     | 0,45  |
|            | 3           | 15 | 1   | 0,9       | 310                       | 450                                     | 3150                            | 4750            | 0             | 96,77      | 16,27     | 0,16  |

| Rangos      | Condiciones |    |     |           | NH <sub>4</sub><br>[mg/l] | PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup><br>[mg/l] | AT [mg<br>CaCO <sub>3</sub> /l] | AGV's<br>[mg/l] | ART<br>[mg/l] | DQO<br>[%] | SV<br>[%] | PBM [m <sup>3</sup><br>CH <sub>4</sub> /kg<br>SV] |
|-------------|-------------|----|-----|-----------|---------------------------|---|---------------------------------|-----------------|---------------|------------|-----------|---|
|             | #           | T  | RIS | FLS [v/v] |                           |   |                                 |                 |               |            |           |   |
|             |             | 4  | 15  | 2         |                           |   |                                 |                 |               |            |           |   |
|             | 5           | 15 | 1   | 0,3       | 323,75                    | 100                                     | 1700                            | 150             | 13,4          | 96,61      | 1,47      | 0,19  |
|             | 6           | 25 | 2,3 | 0,6       | 337,5                     | 200                                     | 1550                            | 350             | 18,5          | 24,39      | 3,02      | 0,18  |
|             | 7           | 25 | 1,5 | 0,1       | 332,5                     | 175                                     | 1600                            | 100             | 0             | 96,01      | 57,53     | 0,14  |
|             | 8           | 25 | 1,5 | 1         | 296,25                    | 450                                     | 2300                            | 2400            | 0             | 27,85      | 34,59     | 0,4   |
|             | 9           | 25 | 0,7 | 0,6       | 451,25                    | 300                                     | 3350                            | 3450            | 0             | 52,01      | 20,01     | 0,07  |
| Mesofílico  | 10          | 25 | 1,5 | 0,6       | 310                       | 275                                     | 1600                            | 250             | 14,9          | 59,01      | 5,89      | 0,51  |
|             | 11          | 25 | 1,5 | 0,6       | 313,75                    | 75                                      | 2000                            | 250             | 20,5          | 59,01      | 10,66     | 0,45  |
|             | 12          | 25 | 1,5 | 0,6       | 257,5                     | 275                                     | 1450                            | 150             | 10,9          | 58,01      | 22,35     | 0,44  |
|             | 13          | 35 | 1   | 0,3       | 301,25                    | 150                                     | 1950                            | 300             | 33,1          | 9,38       | 64,31     | 0,33  |
|             | 14          | 35 | 2   | 0,3       | 293,75                    | 50                                      | 1550                            | 300             | 0             | 97,43      | 88,06     | 0,3   |
|             | 15          | 35 | 2   | 0,9       | 312,5                     | 100                                     | 1500                            | 300             | 0             | 96,24      | 80,32     | 0,6   |
|             | 16          | 35 | 1   | 0,9       | 411,25                    | 275                                     | 2850                            | 3050            | 0             | 30,76      | 30,75     | 0,02  |
| Termofílico | 17          | 42 | 1,5 | 0,6       | 342,5                     | 175                                     | 1700                            | 300             | 0             | 97,21      | 36,35     | 0,51  |

(a)

PBM del rango psicofílico vs tiempo





(c)

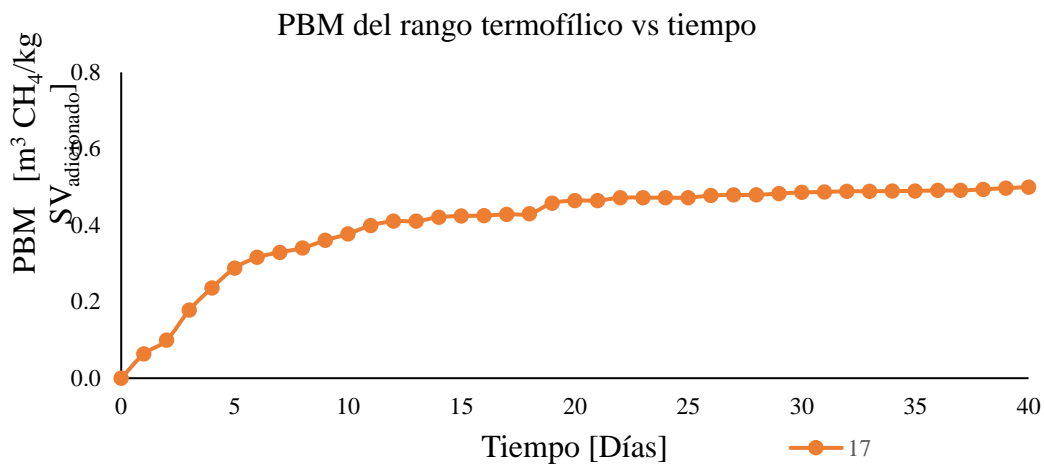


Figura 2. PBM de la CODA de las mezclas LS:EB en los rangos psicofílico, mesofílico y termofílico. 2a) Rango psicofílico, 2b) Rango mesofílico, 2c) Rango termofílico.

Elevadas concentraciones de amonio inhiben las arqueas metanogénicas (Gerard, 2003)(Lansing, *et al.*, 2008). Estos resultados muestran una concentración de amonio que no supera los 1500 mg de NH<sub>4</sub>-N/l, indicando la no inhibición de las arqueas metanogénicas. Existe alto contenido de fósforo y nitrógeno en la mayoría de las mezclas estudiadas, minerales de gran importancia en la producción de fertilizantes. Los valores de estos minerales son comparables con

los reportados por Lansing, *et al.*, (2008) de 15,4 mg/l y 82,2 mg/l de  $\text{PO}_4^{3-}$  y  $\text{NH}_4$  respectivamente. Respecto a la estabilidad del proceso, en función del contenido de AGV's, es posible mencionar que las concentraciones de las mezclas estudiadas varían entre 150 y 4750 mg/l. Las mezclas 2, 3, 9 y 16 presentan una alta tendencia a la inhibición, debido a que tiene valores de AGV's cercanos a los 5000 mg/l, valor reportado como inhibitorio por Xu, *et al.*, (2014). Se confirma que el PBM alcanzado por cada una de las mezclas está relacionado con el consumo de materia orgánica, la literatura reporta valores de PBM de 0,48-0,60  $\text{m}^3 \text{CH}_4/\text{kgSV}_{\text{adicionado}}$  para el LS (Escalante, *et al.*, in press) y 0,409  $\text{m}^3 \text{Biogás}/\text{kgSV}_{\text{adicionado}}$  para una mezcla de 65% LS y 35% EB (Escalante, *et al.*, 2017).

**3.2.2 Condiciones más favorables de fracción de lactosuero, RIS y temperatura para la producción de metano.** Los PBM y la concentración de AGV's, fueron ajustados a la expresión de segundo orden presentada en la ecuación 2 y 3. Los coeficientes de regresión estimados fueron simplificados teniendo en cuenta la probabilidad significativa de cada coeficiente. Por lo tanto, las expresiones de segundo orden tanto para el PBM y la concentración de Agus fueron:

$$\text{PBM} = -0,553 + 0,437 \cdot \text{RIS} + 0,025 \cdot \text{T} - 0,797 \cdot \text{LS}^2 + 0,671 \cdot \text{LS} \cdot \text{RIS} - 0,254 \cdot \text{RIS}^2 \quad (\text{Ecuación 6})$$

$$\text{AGV} = 2618,12 + 6798,12 \cdot \text{LS} - 6272,49 \cdot \text{RIS} + 48,747 \cdot \text{T} + 6345,22 \cdot \text{LS}^2 - 3458,33 \cdot \text{LS} \cdot \text{RIS} - 210,417 \cdot \text{LS} \cdot \text{T} + 2626,76 \cdot \text{RIS}^2 \quad (\text{Ecuación 7})$$

Las expresiones para el PBM y los AGV's explicaron el comportamiento de los datos experimentales en un 92,19% y 95,64% respectivamente, permitiendo obtener las representaciones gráficas mostradas en el Apéndice G. Adicionalmente, al determinar sus valores críticos fue posible inferir que relaciones inóculo/sustrato entre 1 y 2, fLS entre 0,3 (v/v) y 0,9 (v/v) y T entre 15 y 35°C favorecen la obtención de un mayor PBM bajo las condiciones de experimentación

evaluadas en este trabajo. El estudio de estas mezclas permite obtener una expresión para predecir el rendimiento de producción de metano de acuerdo con las condiciones de temperatura a las que se quiera realizar un proceso de digestión junto con la disponibilidad de sustrato y co-sustrato con la que se cuente.

En el Apéndice G se representan las isotermas del PBM en función de la RIS y la fLS. El PBM reportado corresponde al promedio de tres mediciones. En estas superficies se puede observar que las variables con mayor efecto sobre el PBM son la temperatura, la RIS, y los factores cuadráticos de la fLS y de la RIS, respectivamente. También, se puede observar que las variables con mayor efecto sobre la concentración de AGV's son en orden respectivo, la RIS, la fLS, y la T.

Para encontrar las mejores condiciones de T, RIS y fLS se realizó una optimización de múltiples respuestas, maximizando la producción de PBM y manteniendo las concentraciones más bajas respecto al contenido de AGV's. Lo anterior con el ánimo de obtener el mayor PBM posible, reduciendo los riesgos de inhibición (menor concentración de AGV's al final del proceso de digestión). En este sentido, se obtuvo una mezcla con las condiciones más favorables para la CODA de la mezcla LS: EB. Estas condiciones fueron temperatura de 34,4 °C, RIS de 2,2 y fLS de 0,70 (v/v). La deseabilidad alcanzada bajo estas condiciones fue de 1. Con estos valores de operación, se espera obtener un PBM de 0,6 m<sup>3</sup> CH<sub>4</sub>/kg SV<sub>adicionado</sub> con un valor reducido de AGV's de 98260 mg/L.

**3.2.3 Validación de PBM de la mezcla más favorable.** Mediante el ensayo de biodegradabilidad, se logró determinar un PBM de  $0,52 \text{ m}^3\text{CH}_4/\text{kg SV}_{\text{adicionado}}$  para la mezcla más favorable obtenida a través de la optimización de múltiples respuestas. En la figura 3, se puede observar una estabilización de la producción de metano en los últimos 10 días. La literatura reporta valores de  $0,409 \text{ m}^3\text{CH}_4/\text{kg SV}_{\text{adicionado}}$  para una mezcla 65% (v/v) LS 35% (v/v) EB (Escalante, *et al.*, 2017),  $0,48 \text{ m}^3\text{CH}_4/\text{kg SV}_{\text{adicionado}}$ , para el LS a  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  (Escalante, *et al.*, in press) y  $0,42 \text{ m}^3\text{CH}_4/\text{kg SV}_{\text{adicionado}}$  en una mono-digestión anaeróbica de LS (Labatut, *et al.*, 2011). Asimismo, se puede concluir que el PBM de la CODA de la mezcla LS: EB, bajo condiciones más favorables en el diseño experimental permitió mejoras en el proceso mostrando efectos sinérgicos significativos, sustentados en el aumento de la producción de biogás, respecto a los estudios hechos de digestión anaeróbica de LS reportada por otros autores. En la tabla 4 se evidencia el ajuste del modelo cinético de primer orden de los valores de la producción de metano acumulado.

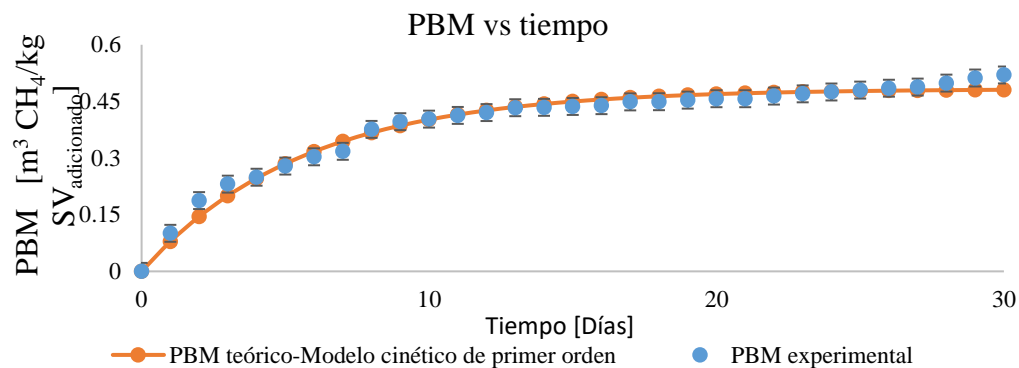


Figura 3. Producción de metano acumulado para la mezcla más favorable.

Tabla 4.  
Ajuste del modelo cinético de primer orden

| <i>Condiciones más favorables de operación (Modelo cinético de primer orden)</i> |                             |  |   |             |
|--|-----------------------------|--|---|-------------|
| $k[días^{-1}]$   | $B_0 = (m^3CH_4/kgSV_{ad})$ | <i>Rendimiento entre metano acumulado y experimental %</i> | <i>Factor de correlación <math>R^2</math></i> | <i>RMSE</i> |
| 0,1781   | 0,4831                      | 7,1  | 0,9808  | 0,01756     |

Por otra parte, la aplicación de los procesos anaeróbicos a la estabilización de la mezcla LS: EB, tiene como ventaja la valorización energética. De acuerdo con los resultados del PBM y teniendo en cuenta una composición de metano entre 40% y 70% en el biogás producido, un  $m^3$  de  $CH_4$  equivale entre 3,88 y 9,71 kWh, la mezcla LS: EB analizada tiene un potencial energético eléctrico, en kWh/kg de  $DQO_{eliminada}$  de LS: EB entre 1,47 y 3,69.

La implementación de la Co-digestión anaeróbica de la mezcla LS: EB en las PYMES y consecuentemente su integración energética, se ve limitada por el uso del EB, dado que el LS hace parte de la cadena de producción de la industria quesera. Por lo tanto, se propone su implantación en las granjas lecheras. Los pequeños productores de leche que surten las PYMES, al dedicarse a la cría de ganado, cuentan con el acceso al EB y el LS. Debido a que el LS puede ser transportado desde las PYMES hasta las granjas lecheras, de esta forma las PYMES tiene una alternativa para tratar el residuo y las granjas lecheras pueden aprovechar el biogás y la energía producida para mejorar su calidad de vida.

Con el ánimo de observar el comportamiento del proceso de digestión a través del tiempo, bajo las condiciones de T, fLS y RIS más favorables, se realizó un seguimiento en términos de SV, AGV's, AT, ART, pH,  $DQO$ ,  $DQO_s$ ,  $NH_4^+$  y  $PO_4^{3-}$ .

El contenido de materia orgánica (SV y DQO) y materia orgánica soluble (DQOs), como se pueden observar en las figuras 4, 5 y 6. En estas se puede observar que durante el ensayo de PBM, la mezcla de estudio presentó una degradabilidad progresiva de materia orgánica, alcanzando remociones de 76,02% y 70,82 % en función de SV y DQO, respectivamente.

Por otro lado, la figura 7 presenta la relación AGV's/AT, la cual demuestra que no hay riesgo de inhibición, debido a que está entre 0,1 y 0,8, valores que se encuentran dentro del rango reportado por la literatura para procesos de digestión (García & Lambis, 2013). En la figura 8, se presenta la concentración de los AGV's a través del tiempo, la curva registra que la concentración de ácido se mantuvo entre 300 y 420 mg/L. Estos valores se mantuvieron por debajo del rango límite (<5000 mg/L), lo cual se traduce en un consumo adecuado de materia orgánica soluble representado en el contenido de AGV's y de inhibición por acidificación en el proceso (Cirne, *et al.*, 2007).

Por otra parte, en la figura 9, se evidencia un comportamiento oscilatorio del  $\text{PO}_4^{3-}$  durante el tiempo de estudio, esta tendencia es similar a la reportada por Lansing, *et al.*, (2008) para un digester familiar. Lo anterior podría indicar que el comportamiento del fosfato durante el proceso de bioconversión puede ser afectado por la eficiencia y las condiciones de operación en los digestores tubulares.

En cuanto al amonio, es posible mencionar que es un indicador adicional de la estabilidad de la CODA y del buen funcionamiento del proceso. En ese caso, concentraciones inferiores a 200  $\text{NH}_4$  mg/l son beneficiosas para microorganismos anaeróbicos, aumentando el pH y mejorando el porcentaje de metano ( $\text{CH}_4$ ). No obstante, por encima de 1500 mg de  $\text{NH}_4$ /l, se puede inhibir la actividad de los microorganismos metanogénicas (Gerard, *et al.*, 2003). Durante este estudio, se puede afirmar que su contenido permaneció entre  $94,5 \pm 5$  y  $169,4 \pm 6$   $\text{NH}_4$  mg/l. Estos valores son

comparables con los de Castro, *et al.*, (2017), quienes reportaron valores de fosfato y amonio entre  $128 \pm 14$  mg/l y  $96 \pm 6$  mg/l respectivamente, para el proceso de DA de EB en un reactor de bajo costo.

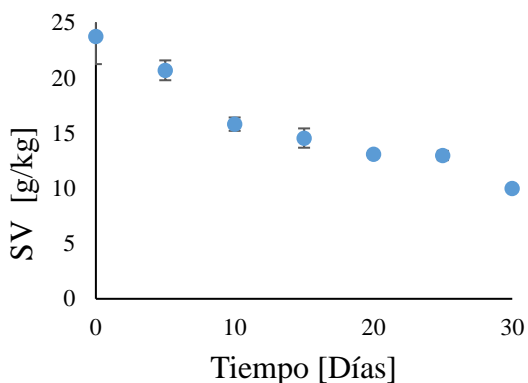


Figura 4. Sólidos volátiles vs tiempo.

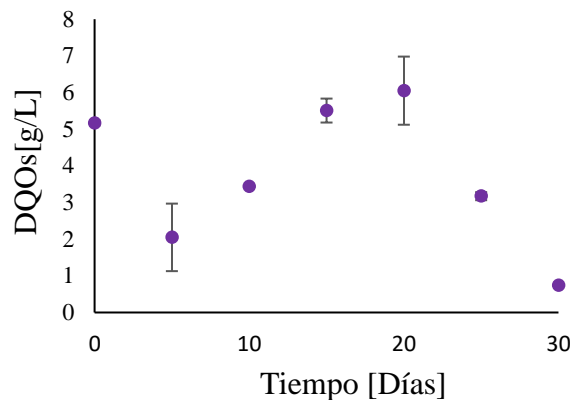


Figura 5. DQO<sub>soluble</sub> vs tiempo.

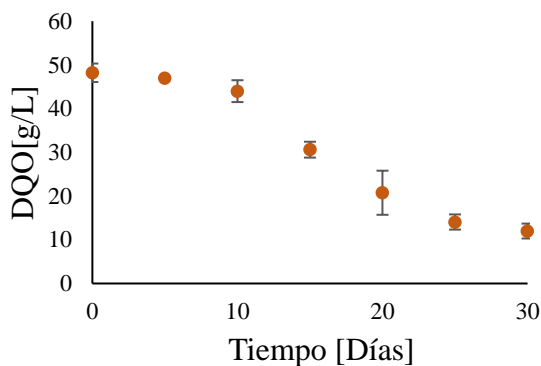


Figura 6. DQO vs tiempo.

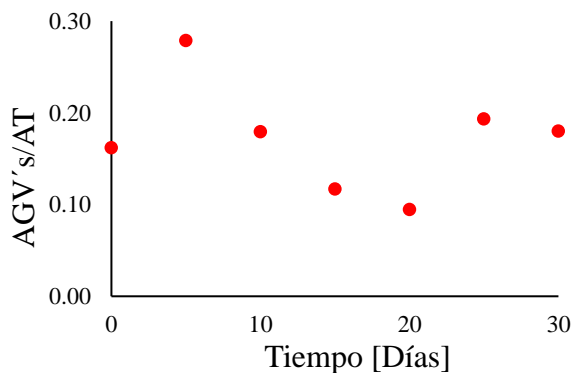


Figura 7. AGV's/AT vs tiempo.

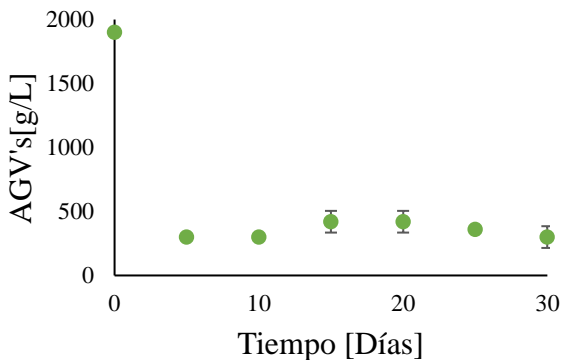


Figura 8. AGV's vs tiempo.

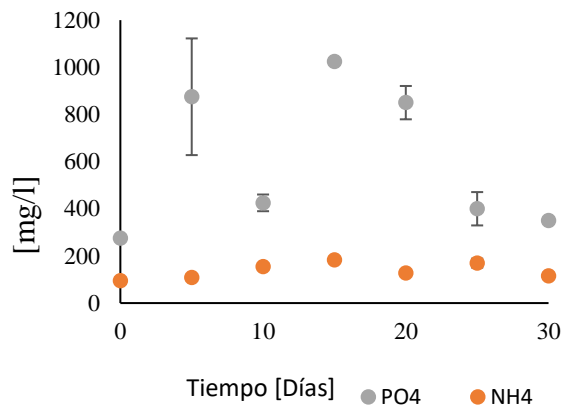


Figura 9. PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup> vs tiempo.

### 3.3 Tercera etapa: Monitoreo del reactor tubular en estado Discontinuo y Semi-continuo

**3.3.1 Proceso de CODA en Discontinuo.** El pH se mantuvo constante entre 7,46 y 7,95 (intervalo favorable para los procesos anaeróbicos según (Poh & Chong, 2009). Durante la fase de puesta en marcha, la capacidad buffer y la estabilidad del proceso en función de la conversión de materia orgánica fueron criterios importantes para probar el éxito de la aclimatación medio. El proceso alcanzó una conversión de 10,71% de solidos volátiles. Además, la producción de biogás a 25°C fue de 0,12 m<sup>3</sup> biogás / kgSV<sub>adicionado</sub>. Estudios previos de la CODA del LS y EB utilizando reactores UASB y CSTR a temperaturas de 35-37 °C, alcanzaron producciones de biogás entre 0,24 m<sup>3</sup> biogás /kgSV<sub>adicionado</sub> (Carlini, *et al.*, 2015) y 0,84 m<sup>3</sup> biogás/ kgSV<sub>adicionado</sub> (Fernández, *et al.*, 2015), respectivamente.

**3.3.2 Proceso de CODA en Semi-continuo.** En la etapa semi-continua se desarrolló con una TCO de 0,5 g SV/m<sup>3</sup><sub>digestor</sub> día durante 30 días, con un volumen de alimentación diaria y total de 33,39 ml y 4.303 ml, respectivamente. La caracterización del proceso semi-continuo es presentado en la tabla 5, la degradación de materia orgánica presentó una conversión de DQO y SV de 88,2% y 76,5% respectivamente, mostrando una estabilidad en el proceso, estos valores son similares a los reportados por la literatura en condiciones termofílicos (Fernández, *et al.*, 2015).

Se reporta un consumo de ART de 86,95% a lo largo de la dirección axial del reactor, lo que indica una elevada biodegradación (Castro, *et al.*, 2017) y una adecuada actividad enzimática por el consorcio microbiano que favorece el proceso (Angelidaki, *et al.*, 2011), favoreciendo el inicio del proceso semi-continuo. Los valores de concentración de AGV's, se mantienen dentro de los niveles óptimos (<1500 mg/L) para un proceso en alimentación semi-continua (Stolzenburg, *et al.*,

2015), garantizando que las arqueas metanogénicas lograron consumir los AGV's del medio, asegurando la estabilidad y funcionamiento del proceso (Escalante, *et al.*, 2017).

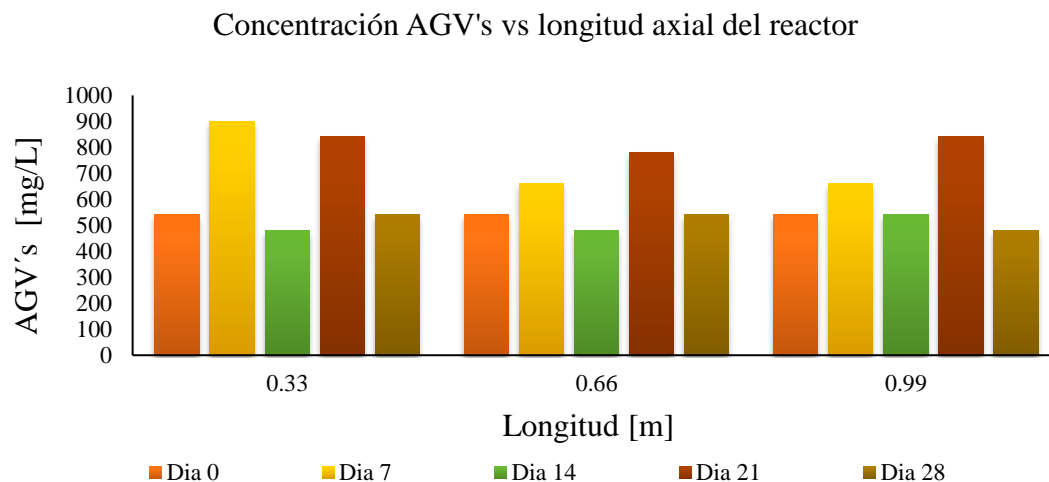
Tabla 5.  
*Monitoreo de la caracterización del proceso de la CODA en Semi-continuo.*

| Caracterización | Días |     |      |     |     |     |      |     |     |     |      |      |     |      |     |
|-----------------|------|-----|------|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|------|------|-----|------|-----|
|                 | 0    | 7   | 14   | 21  | 28  | 0   | 7    | 14  | 21  | 28  | 0    | 7    | 14  | 21   | 28  |
|                 | P1   |     |      |     |     | P2  |      |     |     |     | S    |      |     |      |     |
| SV[g/kg]        | 18,9 | 17  | 15,2 | 8,9 | 7,7 | 19  | 17   | 6,6 | 6,6 | 3,8 | 18,9 | 17,5 | 13  | 6    | 5,2 |
| DQO [g/L]       | 26,0 | 19  | 13,5 | 10  | 9,5 | 26  | 17,8 | 10  | 9,6 | 8,6 | 26   | 24,0 | 13  | 11   | 8,8 |
| ART[g/L]        | 0,4  | 0   | 0    | 0,3 | 0,3 | 0,4 | 0    | 0   | 0,3 | 0,3 | 0,4  | 840  | 0   | 0,31 | 0,3 |
| AGV's [mg/L]    | 540  | 900 | 480  | 840 | 540 | 540 | 660  | 480 | 780 | 540 | 540  | 660  | 540 | 840  | 480 |

La cinética de producción de biogás del proceso semi-continuo presenta un aumento del rendimiento desde el día 40 hasta el día 52, donde se mantiene constante la producción de biogás en 3.350 ml. En este estudio, el rendimiento de biogás fue de 0,35 m<sup>3</sup> biogás/ kg SV<sub>adicionado</sub>. Estos resultados demuestran que la eficiencia de la combinación del diseño del reactor y del uso de la mezcla (70% LS: 30%EB) permite alcanzar rendimientos considerables, a comparación con otros autores quienes alcanzaron producciones de biogás entre 0,401 y 0,409 m<sup>3</sup> biogás/kg SV<sub>adicionado</sub> para la CODA de una mezcla de 65% LS y 35 % EB a 25 °C, en un reactor tubular (Escalante, *et al.*, 2017).

**3.3.2.1 Actividad metanogénica específicas a lo largo de la dirección axial del reactor.** En la figura 10a, se observa una mínima variación de los AGV en dirección axial del reactor (Puntos de muestreo P1, P2 y S). Con una carga orgánica de 0,5 gSV/L, se iniciaron valores de AGV's de 540 mg/L en la entrada del reactor y a la salida la concentración disminuye en de 480 mg/L. Se evidencia que la carga alimentada fue muy baja, dando lugar a una mínima separación de las etapas de acidogénesis y de metanogénesis. Estos resultados se pueden verificar en la figura 10b donde se observa la estabilidad del pH a lo largo del reactor, manteniéndose en un rango de 6,5 a 8,2 (Mara & Horan, 2003). Así mismo, se evidencia que entre los días 21 y 28, el pH permanece constante en la salida del reactor con un valor de 7,6, este fenómeno infiere el inicio de las fases, asegurando la actividad de las bacterias metanogénicas.

(a)



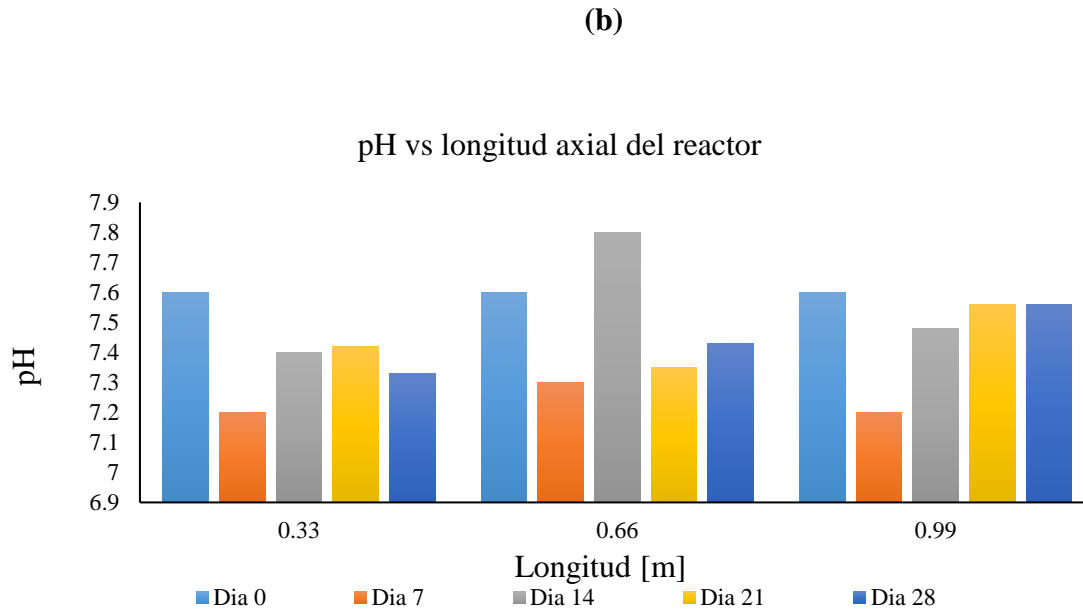
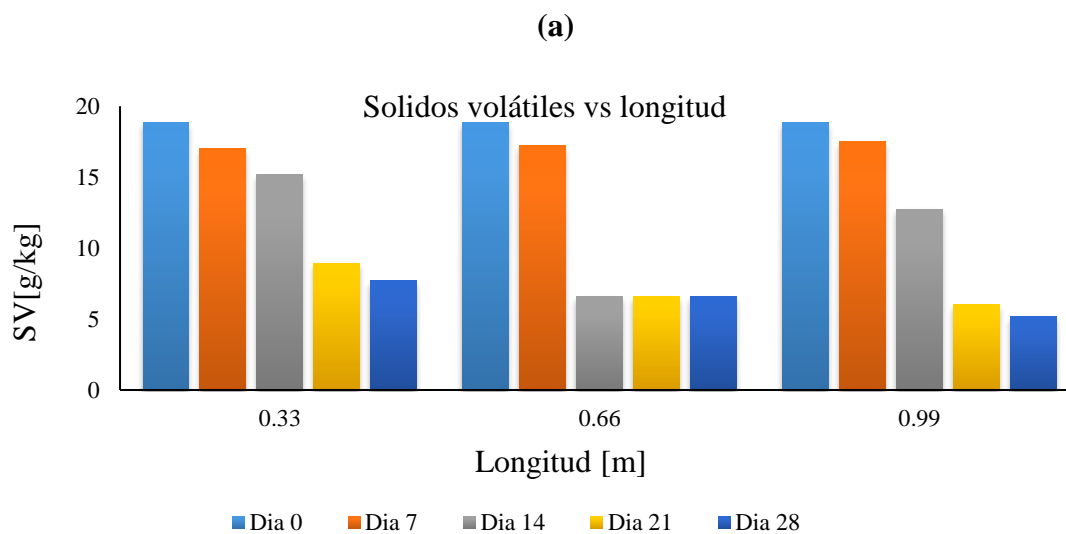
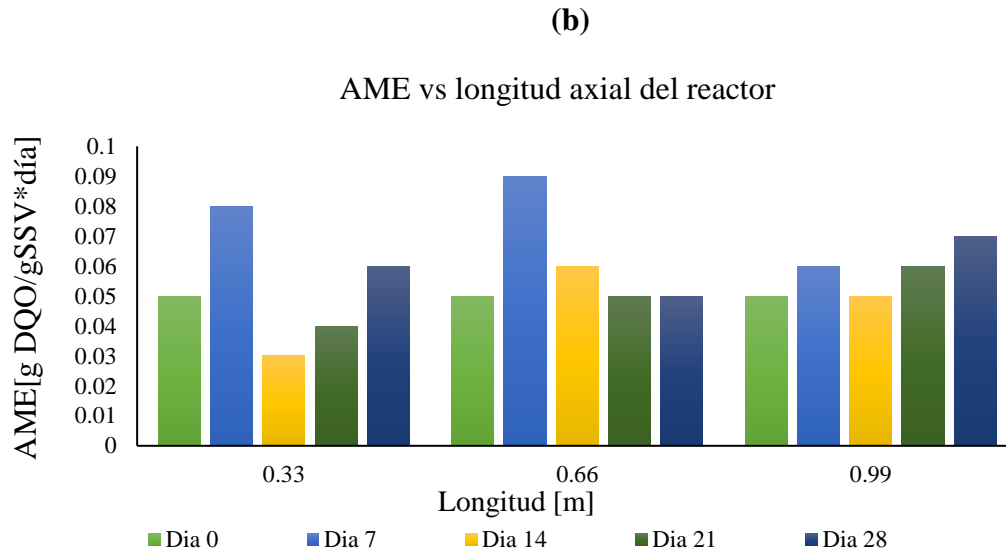


Figura 10. Separación de fases a lo largo del reactor. 10a Ácidos grasos volátiles y 10b pH a lo largo del reactor.

Desde el punto de vista microbiológico se evaluó la AME a lo largo del reactor, para determinar la capacidad de las arqueas metanogénicas acetoclásticas (Anzola, *et al.*, 2008). La eficiente degradación semanal de la materia orgánica a lo largo del reactor es representada en la figura 11a. Las variaciones de la AME a lo largo del reactor representadas en la figura 11b fueron entre 0,03-0,08 gDQO/g SV \*día, garantizando las buenas condiciones operativas del proceso.





*Figura 11.* Producción de metano a partir de la mezcla LS: EB en el proceso de CODA. 11a solidos volátiles. 11b Actividad Metanogénica Especifica.

Al Utilizar un reactor tubular, se permite una distribución efectiva de los microorganismos. De acuerdo con lo anterior, este tipo de reactor podría permitir la separación de las fases acidogénica y metanogénica, esto se evidencia en el comportamiento de la AME de la semana 4, donde se alcanza una estabilidad en los puntos de muestreo P1, P2 y S.

#### 4. Conclusiones

Los máximos rendimientos de metano, para la co-digestión de lactosuero y estiércol bovino, en los rangos psicrófilico, mesófilico y termófilicos son de 0,45, 0,6 y 0,51 m<sup>3</sup>CH<sub>4</sub>/kg SV<sub>adicionado</sub> respectivamente. Por consiguiente, se puede garantizar que la co-digestión anaeróbica de la mezcla lactosuero y estiércol bovino puede realizarse en diferentes condiciones climáticas de Colombia.

La viabilidad de la co-digestión anaeróbica del lactosuero y el estiércol bovino se identificó durante el arranque del proceso donde se obtuvo una producción de biogás a temperatura ambiente de 0,12 m<sup>3</sup> biogás / kg VS<sub>adicionado</sub>. y luego en el estado semi-continuo donde la conversión de sólidos volátiles alcanzo 88,2% y la producción de biogás fue de 0,35 m<sup>3</sup> biogás / kg VS<sub>adicionado</sub>.

Se evidencio la estabilidad, del proceso semi-continuo de digestión anaeróbica, dado que el pH se mantuvo entre 6,5 a 7,5, permitiendo generar un potencial de biogás entre el rango de 1,47 y 3,69 kWh/kg de DQO<sub>eliminada</sub>.

### Referencias Bibliográficas

- ANDI. (2016). *Colombia: Balance 2016 y perspectivas 2017*. Obtenido de [www.andi.com.co/SitEco/Documents/ANDI-Balance%202016-Perspectivas%202017.pdf](http://www.andi.com.co/SitEco/Documents/ANDI-Balance%202016-Perspectivas%202017.pdf)
- Angelidaki, I., Alves, M., Bolzonella, D., Borzacconi, L., Campos, J., Guwy, A., & Van Lier, J. (2009). Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: a proposed protocol for batch assays. *Water science and technology*, 59(5), 927-934.
- Angelidaki, I., Karakashev, D., Batstone, D. J., Plugge, C. M., & Stams, A. J. (2011). Biomethanation and its potencial. En *Methods in Enzymology*, 494(6) (págs. 327-351).
- Anzola Rojas, M. D., Oliveira Netto, A., & Zaiat, M. (2008). Actividad metanógena en un reactor anaerobio-aerobio aplicado al tratamiento de agua residual doméstica. *Interciencia*, 33(4).
- APHA. (2005). *Standard methods for the examination of water and waste water APHA*. Washington: APHA.
- Astals, S., Batstone, D., Tait, S., & Jensen, P. (2015). Development and validation of a rapid test for anaerobic inhibition and toxicity. *Water Research*, 208-215.
- Brown, N., Güttler, J., & Shilton, A. (2016). Overcoming the challenges of full scale anaerobic co-digestion of casein whey. *Renowable energy*, 96, 425-432.
- Callaghan, F. J., Wase, D. A., Thayanithy, K., & Forster, C. F. (2002). Continuous co-digestion of cattle slurry with fruit and vegetable wastes and chicken manure. *Biomass & Bioenergy*, 22(1), 71-77.

- Carlini, M., Castellucci, S., & Moneti, M. (2015). Biogas production from poultry manure and cheese whey wastewater under mesophilic conditions in batch reactor. *Energy Procedia*, 82, 811-818.
- Castro, L., Escalante, H., Jaimes-Estévez, J., Díaz, L. J., Vecino, K., Rojas, G., & Mantilla, L. (2017). Low cost digester monitoring under realistic conditions: Rural use of biogas and digestate quality. *Bioresource Technology*, 239, 311-317.
- Cavinato, C., Cavinato, F., Bolzonella, D., & Pavan, P. (2010). Thermophilic anaerobic co-digestion of cattle manure with agro-wastes and energy crops: comparison of pilot and full scale experiences. *Bioresource technology*, 101(2), 545-550.
- CEPALSTAT. (2016). *Base de datos y publicaciones estadísticas*. Obtenido de [http://estadisticas.cepal.org/cepalstat/WEB\\_CEPALSTAT/Portada.asp](http://estadisticas.cepal.org/cepalstat/WEB_CEPALSTAT/Portada.asp)
- CIEMAT. (2017). *La biomasa como fuente de energía y productos para la agricultura y la industria*. Recuperado el 13 de Junio de 2017
- Cirne, D. G., Paloumet, X., Björnsson, L., Alves, M. M., & Mattiasson, B. (2007). Anaerobic digestion of lipid-rich waste—effects of lipid concentration. *Renewable energy*, 32(6), 965-975.
- Cruz, L. M., & Soler, R. A. (2014). *Manual de métodos generales para determinación de carbohidratos*.
- DANE. (2016). *Boletín técnico - Encuesta nacional agropecuaria ENA 2015*. Bogotá: Departamento administrativo nacional de estadística.

- DANE. (2016). *Encuesta Nacional de Calidad de Vida -ECV- 2016*. Obtenido de <https://www.dane.gov.co/index.php/estadisticas-por-tema/salud/calidad-de-vida-ecv/encuesta-nacional-de-calidad-de-vida-ecv-2016>
- Dareioti, M. A., & Kornaros, M. (2015). Anaerobic mesophilic co-digestion of ensiled sorghum, cheese whey and liquid cow manure in a two-stage CSTR system: Effect of hydraulic retention time. *Bioresource technology*, *175*, 553-562.
- Deepanraj, B., Sivasubramanian, V., & Jayaraj, S. (2015). Kinetic study on the effect of temperature on biogas production using a lab scale batch reactor. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *121*, 100-104.
- Díaz-Báez, M. C., Espitia Vargas, S. E., & Molina Pérez, F. M. (2002). Digestión Anaerobia: Una aproximación a la tecnología. *Universidad Nacional de Colombia*.
- Ergüder, T. H., Tezel, U., Güven, E., & Demirer, G. N. (2011). Anaerobic biotransformation and methane generation potential of cheese whey in batch and UASB reactors. *Waste Management*, *21*(7), 643-650.
- Escalante, H., Castro, L., Besson, V., & Jaimes-Estévez, J. (2017). Feasibility of the anaerobic digestion of Cheese Whey in a plug flow reactor (PFR) under local conditions. *Ingeniería, Investigación y Tecnología*, 265-277.
- Escalante, H., Castro, L., Amaya, M., Jaimes, L., & Jaimes-Estévez, J. (in press). Anaerobic digestion of cheese whey: Energetic and nutritional potential for the dairy sector in developing countries. 1-13.

- Fernández, C., Cuetos, M. J., Martínez, E. J., & Gómez, X. (2015). Thermophilic anaerobic digestion of cheese whey Coupling H<sub>2</sub> and CH<sub>4</sub> production. *Biomass and Bioenergy*, *81*, 52-62.
- García, N., & Lambis, L. (2013). *Estudio preliminar de la producción de biogás mediante codigestión de gallinaza de jaula con melaza, lodo residual y aceite de oliva como co-sustratos*. Bucaramanga: Universidad Industrial de Santander.
- Garfí, M., Martí-Herrero, J., Garwood, A., & Ferrer, I. (2016). Household anaerobic digesters for biogas production in Latin America: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, *60*, 599-614.
- Gelegenis, J., Georgakakis, D., Angelidaki, I., & Mavris, V. (2007). Optimization of biogas production by co-digesting whey with diluted poultry manure. *Renewable Energy*, *32*(13), 2147-2160.
- Gerard, M. H. (2003). *The microbiology of anaerobic digesters*. John Wiley & Sons.
- Göblös, S., Portörő, P., Bordás, D., Kálmán, M., & Kiss, I. (2008). Comparison of the effectiveness of two-phase and single-phase anaerobic sequencing batch reactors during dairy wastewater treatment. *Renewable Energy*, *33*(5), 960-965.
- Hagos, K., Zong, J., Li, D., Liu, C., & Lu, X. (2016). Anaerobic co-digestion process for biogas production: Progress, challenges and perspectives. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, *76*, 1485-1496.
- Hakansson, H., Frostell, B., & Norman, J. (1977). Anaerobic treatment of Whey and Whey permeate in Submerged Filters. *Inst. Vatten-Luftvardsforsl.*

- Hall, G. M., & Howe, J. (2012). Energy from waste and the food processing industry. *Process Safety and Environmental Protection* 90(3), 203-212.
- Hernández, F. M. (2015). *Producción de biogás con suero de queso: Tratamiento y generación de energía renovable a partir del lactosuero*. Francisco M. Hernández.
- Kafle, G. K., & Chen, L. (2016). Comparison on batch anaerobic digestion of five different livestock manures and prediction of biochemical methane potential (BMP) using different statistical models. *Waste Management*, 48., 492-502.
- Kalyuzhnyia, S. V., Martinez, E. P., & Martinez, J. R. (1997). Anaerobic treatment of high-strength cheese-whey wastewaters in laboratory and pilot UASB-reactors. *Bioresource Technology*, 60 (1), 59-65.
- Kosikowski, F. V. (1979). Whey utilization and whey products 1. *Journal Dairy Science*, 62 (7), 1149-1160.
- Labatut, R. A., Angenent, L. T., & Scott, N. R. (2011). Biochemical methane potential and biodegradability of complex organic substrates. *Bioresource Technology*, 102(3), 2255-2264.
- Lansing, S., Botero, R. B., & Martin, J. F. (2008). Waste treatment and biogas quality in small-scale agricultural digesters. *Bioresource Technology*, 99(13), 5881-5890.
- Lansing, S., Viquez, J., Martínez, H., Botero, R., & Martine, J. (2008). Quantifying electricity generation and waste transformations in a low-cost, plug-flow anaerobic digestion system. *Ecological Engineering*, 34 (4), 34, 332-348.

- Mao, C., Feng, Y., Wang, X., & Ren, G. (2015). Review on research achievements of biogas from anaerobic digestion. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 45, 540-555.
- Mara, D., & Horan, N. J. (2003). Handbook of water and wastewater microbiology. *Academic press*.
- Martí-Herrero, J., & Cipriano, J. (2012). Design methodology for low cost tubular digesters. *Bioresource Technology*, 108,, 21-27.
- Mawson, A. (1994). Bioconversions for whey utilization and waste abatement. *Bioresource Technology*, 47, 195-203.
- Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. (2010). *Boletín de análisis por producto*. Dirección de Política Sectorial - Grupo Análisis Sectorial. Recuperado el 3 de Julio de 2017, de chrome-extension://oemmnndcbldboiebfnladdacbdm/adm/http://bibliotecadigital.agronet.gov.co/bitstream/11348/5498/1/leche%20bueno.pdf
- Ministerio de cultura y desarrollo rural. (2016). *Implementación política para mejorar la competitividad del sector lácteo nacional*. Gobierno de Colombia.
- Mockaitis, G., Ratusznei, S. M., Rodrigues, J. A., Zaiat, M., & Foresti, E. (2006). Anaerobic whey treatment by a stirred sequencing batch reactor (ASBR): effects of organic loading and supplemented alkalinity. *Journal of environmental management*, 79(2), 198-206.
- Ortega, N. M. (2006). Phosphorus Precipitation in Anaerobic Digestion Process. Universal publishers.

- Poh, P. E., & Chong, M. F. (2009). Development of anaerobic digestion methods for palm oil mill effluent (POME) treatment. *Bioresource technology*, *100*(1), 1-9.
- Purser, B. J., Thai, S. M., Fritz, T., Esteves, S. R., Dinsdale, R. M., & Guwy, A. J. (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.
- Rajendran, K., Aslanzadeh, S., & Taherzadeh, M. J. (2012). Household biogas digesters—A review. *Energies* *5*(8), 2911-2942.
- Ramírez Sánchez, G. C. (2016). *Valoración de la producción de biogás durante un proceso de digestión anaerobia con contenido ruminal de origen bovino bajo condiciones de tiempo, carga y temperatura diferenciales.*
- Raposo, F., De la Rubia, M. A., Fernández-Cegri, V., & Borja, R. (2012). Anaerobic digestion of solid organic substrates in batch mode: an overview relating to methane yields and experimental procedures. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, *16*(1), 861-877.
- Razaviarani, V., Buchanan, I. D., Malik, S., & Katalambula, H. (2013). Pilot-scale anaerobic co-digestion of municipal wastewater sludge with restaurant grease trap waste. *Journal of environmental management*, *123*, 26-33.
- Rico, C., Muñoz, N., & Rico, J. L. (2015). Anaerobic co-digestion of cheese whey and the screened liquid fraction of dairy manure in a single continuously stirred tank reactor process: Limits in co-substrate ratios and organic loading rate. *Bioresource Technology*, *189*, 327-333.

- Riggio, V. A., Comino, E., & Rosso, M. (2015). Above ground part of common reed to enhance anaerobic co-digestion of farm biomasses: Potential, monitoring and efficiency. *Ecological Engineering*, 79, 35-41.
- Rodríguez, C. F. (2014). SUBPRODUCTOS DE LA INDUSTRIA QUESERA Y FORMAS DE APROVECHAMIENTO. En *Obtención de Biogás e hidrógeno* (págs. 10-15). Doctoral dissertation, Universidad de León.
- Saddoud, A., Hassairi, I., & Sayadi, S. (2007). Anaerobic membrane reactor with phase separation for the treatment of cheese whey. *Bioresource technology*, 98(11), 2102-2108.
- Shah, F. A., Mahmood, Q., Rashid, N., Pervez, A., Raja, I. A., & Shah, M. M. (2015). Co-digestion, pretreatment and digester design for enhanced methanogenesis. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 42, 627-642.
- Stolzenburg, P., Capdevielle, A., Teychené, S., & Biscans, B. (2015). Struvite precipitation with MgO as a precursor: Application to waste water treatment. *Chemical Engineering Science*, 133, 9-15.
- Xu, Z. Z. (2014). In situ volatile fatty acids influence biogas generation from kitchen wastes by anaerobic digestion. *Bioresource Technology*, 163, 186-192.
- Yan, J. Q., Lo, K. V., & Liao, P. H. (1990). Anaerobic digestion of cheese whey using an upflow anaerobic sludge blanket reactor. *Biomass*, 21(4), 257-271.
- Yang, K., Yu, Y., & Hwang, S. (2003). Selective optimization in thermophilic acidogenesis of cheese-whey wastewater to acetic and butyric acids: partial acidification and methanation. *Water Research*, 37(10), 2467-2477.

## Apéndices

## Apéndice A

Estado del arte de los tipos de reactores en la DA en el LS.

| Tipo de reactor  | T [°C] | Sustrato | Carga orgánica<br>[ $\frac{g DQO}{l d}$ ] | Rendimiento<br>[ $\frac{LCH_4}{Kg DQO}$ ] | Conversión materia orgánica (%) | Referencia                        |
|------------------|--------|----------|---|---|---------------------------------|-----------------------------------|
| AF               | 22     | LS       | 1,9                                       | -----                                     | 97                              | (Hakansson, <i>et al.</i> , 1977) |
| ASBR             | 32     | LS       | $6 * 10^{-4}$<br>– $4.8 * 10^{-3}$        | -----                                     | 90                              | (Mockaitis, <i>et al.</i> , 2006) |
| UASB             | 35     | LS       | 4,5 – 38,1                                | 9,6                                       | 98                              | (Yan, <i>et al.</i> , 1990)       |
| CSTR             | 36     | LS       | 1   | 350                                       | 94,6                            | (Yang, <i>et al.</i> , 2003)      |
| CSTR             | 36     | LS       | 0,6 – 2,1                                 | 110                                       | 78 – 90                         | (Castro, <i>et al.</i> , 2017)    |
| Campana flotante | 35     | LS – EC  | -----                                     | -----                                     | 82                              | (Ramírez, <i>et al.</i> , 2016)   |
| ASBR             | 50     | LS       | 1,6 – 12,8                                | 122 – 197                                 | 80                              | (Göblös, <i>et al.</i> , 2008)    |
| ASBR             | 55     | LS       | 1,5                                       | 314,5                                     | 87                              | (Fernández, <i>et al.</i> , 2015) |
| PFR              | 25     | LS-EB    | 2,0                                       | 328,44                                    | 81                              | (Escalante, <i>et al.</i> , 2017) |

## Apéndices B

Procedimiento simplificado de metodología para la determinación de la actividad metanogénica específica sugerido por Astals, *et al.*, (2015)

### Equipos

1. Botella de vidrio de 120 o 160 ml, agrafe de aluminio y tapón de butilo (por muestra).
2. Balanza de precisión capaz de ponderar 310 g con un error de  $\pm 0.01$  g
3. 1 micropipeta
4. Incubadora con temperatura controlada a  $35 \pm 1$  ° C.
5. Solución de NaOH 0,5N

### Sólidos volátiles

6. Crisoles
7. Probeta de 25 ml
8. Horno ajustado a 103 ° C
9. Mufla ajustada a 550 ° C.
10. Desecador con gel de sílice.

### Reactivos y materiales

1. Agua destilada.
  2. Solución madre de acetato de sodio (200 g de acetato L-1). Disuelva 69,47 g de acetato de sodio anhidro en un matraz volumétrico de 0,25 l. Mezcle bien con un agitador magnético.
  3. Dilución de inóculo.
1. Determine la concentración de SV del inóculo y dilúyalo para alcanzar una concentración sólidos volátiles de 10 g VS L-1 aproximadamente. Se recomienda que anaeróbico

4. Acondicionamiento del inóculo. El inóculo debe almacenarse en una incubadora de control de temperatura a 35 ° C durante 20 - 30 horas antes de comenzar el experimento.
2. Determine la concentración de SV del inóculo acondicionado, ya que esto es el valor que se utilizará para los cálculos específicos de actividad metanogénica.

### **Procedimiento**

1. Agregue, por volumen de adición o ponderación, la cantidad requerida de agua destilada hasta alcanzar los 10 g SV/ L del inóculo.
2. Pese  $99.0 \pm 0.1$  g de inóculo diluido (10 g VS L<sup>-1</sup>) en una botella de 100ml.
3. Agregue 1 ml de la solución madre de acetato de sodio.
4. Agite y mida el pH del contenido de la botella.
5. Enjuague el espacio superior de la botella con gas inerte (por ejemplo, 99,99% de N<sub>2</sub>, 80/20% de N<sub>2</sub> / CO<sub>2</sub>, 99,99% de He).
6. Selle las botellas con un tapón de butilo y agrafes de aluminio.
7. Coloque las botellas en la incubadora de temperatura controlada en condiciones mesófilas. (35 ± 1°C)
8. Mida la producción de metano en aproximadamente 0.5, 1.0 y 1.5 días, después del comienzo del ensayo. Aunque el tiempo sugerido es aplicable para la mayoría de los procesos de digestión, el tiempo de medición se puede acortar (0,25, 0,5 y 1 día) para muestras muy activas o extendidos (1, 2 y 3 días) para muestras poco activas.

9. Trace la producción acumulada de metano específico en base a DQO ( $\text{g DQO}/\text{SV}_{\text{inóculo}}$ ) en el curso de tiempo. Recuerde que 350 ml de metano en condiciones estándar ( $0^\circ \text{C}$ , 1 bar) es 1 gramo de DQO.
10. Determine la pendiente y la incertidumbre de la zona lineal.

## Apéndice C

Caracterización del sustrato, co-sustrato e inóculo utilizados:

| Variables                     | Unidades                                | Sustratos   |   |            |
|-------------------------------|---|---|---|------------|
|                               |   | LS  | EB  | Inóculo    |
| AGV's                         | [mg/L]                                  | 4800 ± 169,71                                     | 720±84,85   | 350±70,71  |
| AT                            | [mg CaCO <sub>3</sub> /L]               | 1850±70,71  | 16400± 70,71                                      | 1500±0,00  |
| ART                           | [mg/L]                                  | 1855±895,31                                       | 1030±70,30  | 77,9±48,12 |
| DQO                           | [g/L]                                   | 51,03±0,76  | 59,41±2,52  | 11,21±0,39 |
| DQO <sub>s</sub>              | [g/L]                                   | 33,4±1,25   | 4,84±1,64   | 0,62±0,41  |
| NH <sub>4</sub>               | [mg/L]                                  | 41,5±3,54   | 12±1,41   | 254,5±3,54 |
| SV                            | [g/kg]                                  | 55,1±3,25   | 132,47± 1,09                                      | 12,29±0,02 |
| pH                            | -----                                   | 4,1   | 7,84  | 7,86±      |
| PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup> | [mg/L]                                  | 1438,58±85,36                                     | 325   | 265,5±7,07 |
| C/N                           | -----                                   | 11,9  | 23,9  | -----      |
| C                             | %p/p                                    | 38,36   | 39,89   | -----      |
| H                             | %p/p                                    | 5,02  | 4,78  | -----      |
| O                             | %p/p                                    | 38,94   | 33,5  | -----      |
| N                             | %p/p                                    | 3,21  | 1,44  | -----      |
| Formula empírica              | -----                                   | C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub> N | C <sub>32</sub> H <sub>47</sub> O <sub>20</sub> N | -----      |
| PBM teórico                   | [m <sup>3</sup> CH <sub>4</sub> /kg SV] | 0,391   | 0,483   | -----      |

**Apéndice D**Determinación del PBM<sub>teórico</sub> por medio de la ecuación Buswell

Análisis experimental

| Variables | Sustrato   |            |
|-----------|------------|------------|
|           | LS [% p/p] | EB [% p/p] |
| C         | 38,36      | 39,89      |
| H         | 5,02       | 4,78       |
| O         | 38,94      | 33,5       |
| N         | 3,21       | 1,44       |

**Calculo del PBM<sub>teórico</sub> del estiércol bovino**

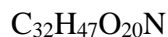
- Calculo de la formula empírica:

$$C: \frac{39,89 \% P/P}{79,61} * 100 = 50,107 \quad C: \frac{50,107}{12 \text{ g/mol}} = 4,176 \text{ mol} \quad \frac{4,176 \text{ mol}}{0,129 \text{ mol}} = 32,372 = 32$$

$$H: \frac{4,78 \% P/P}{79,61} * 100 = 6,004 \quad H: \frac{6,004}{1 \text{ g/mol}} = 6,004 \text{ mol} \quad \frac{6,004 \text{ mol}}{0,129 \text{ mol}} = 46,543 = 47$$

$$O: \frac{33,50 \% P/P}{79,61} * 100 = 42,080 \quad O: \frac{42,080}{16 \text{ g/mol}} = 2,63 \text{ mol} \quad \frac{2,63 \text{ mol}}{0,129 \text{ mol}} = 20,388 = 20$$

$$N: \frac{1,44 \% P/P}{79,61} * 100 = 1,809 \quad N: \frac{1,809}{14 \text{ g/mol}} = 0,129 \text{ mol} \quad \frac{0,129 \text{ mol}}{0,129 \text{ mol}} = 1$$



- Calculo del PBM<sub>teórico</sub> con la fórmula de Buswell:

$$C_n H_a O_b N_c + \left( n - \frac{a}{4} - \frac{b}{2} + \frac{3c}{4} \right) H_2O$$

$$\rightarrow \left( \frac{n}{2} - \frac{a}{8} - \frac{b}{4} + \frac{3c}{8} \right) CH_4 + \left( \frac{n}{2} - \frac{a}{8} - \frac{b}{4} + \frac{3c}{8} \right) CO_2 + cNH_3$$

$$BPM_{teórico} = \frac{22,4 \left( \frac{n}{2} - \frac{a}{8} - \frac{b}{4} + \frac{3c}{8} \right)}{12n + a + 16b + 14c} \left( \frac{m^3 CH_4}{kgSV} \right)$$

Donde;

$n$  = números de moles de carbono

$a$  = números de moles de hidrogeno

$b$  = números de moles de oxígeno

$c$  = números de moles de nitrogeno

22.4 = volumen ocupado por un gas ideal a condiciones estandar de temperatura y presión(l)

12 g/mol = peso molecular del carbono

1 g/mol = peso molecular de hidrógeno

16 g/mol = pesomolecualr de oxígeno

14 g/mol = pesomolecualr de nitrogeno

$$BPM_{teórico} = 0,483 \left( \frac{m^3 CH_4}{kgSV} \right)$$

**Calculo del PBM<sub>Teórico</sub> del lactosuero**

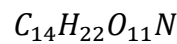
- Calculo de la formula empírica:

$$C: \frac{38,36 \% P/P}{85,53} * 100 = 44,849 \quad C: \frac{44,849}{12 \text{ g/mol}} = 3,737 \text{ mol} \quad \frac{3,737 \text{ mol}}{0,268 \text{ mol}} = 13,944 = 14$$

$$H: \frac{5,02 \% P/P}{85,53} * 100 = 5,869 \quad H: \frac{5,869}{1 \text{ g/mol}} = 5,869 \text{ mol} \quad \frac{5,869 \text{ mol}}{0,268 \text{ mol}} = 21,899 = 22$$

$$O: \frac{38,94 \% P/P}{85,53} * 100 = 45,528 \quad O: \frac{45,528}{16 \text{ g/mol}} = 2,846 \text{ mol} \quad \frac{2,846 \text{ mol}}{0,268 \text{ mol}} = 10,619 = 11$$

$$N: \frac{3,21 \% P/P}{85,53} * 100 = 3,753 \quad N: \frac{3,753}{14 \text{ g/mol}} = 0,268 \text{ mol} \quad \frac{0,268 \text{ mol}}{0,268 \text{ mol}} = 1$$



- Calculo del PBM<sub>teórico</sub> con la fórmula de Buswell:

$$C_n H_a O_b N_c + \left( n - \frac{a}{4} - \frac{b}{2} + \frac{3c}{4} \right) H_2O$$

$$\rightarrow \left( \frac{n}{2} - \frac{a}{8} - \frac{b}{4} + \frac{3c}{8} \right) CH_4 + \left( \frac{n}{2} - \frac{a}{8} - \frac{b}{4} + \frac{3c}{8} \right) CO_2 + cNH_3$$

$$BPM_{teórico} = \frac{22,4 \left( \frac{n}{2} + \frac{a}{8} - \frac{b}{4} - \frac{3c}{8} \right)}{12n + a + 16b + 14c} \left( \frac{m^3 CH_4}{kgSV} \right)$$

$$BPM_{teórico} = 0,391 \left( \frac{m^3 CH_4}{kgSV} \right)$$

## Apéndice E

Protocolo de Angelidaki, *et al.*, (2009) para realizar ensayo de PBM, este protocolo es adaptado al libro de protocolos del laboratorio de biotecnología de la Universidad Industrial de Santander.

### Definición

El Potencial de biometanización (PBM) se define como la capacidad de biodegradabilidad anaeróbica de un sustrato, expresada como rendimiento  $Y_{p/s}$ . Esta medida se puede describir en términos generales como volumen de metano acumulado, medido en condiciones estándar de temperatura y presión (STP), por la cantidad de sustrato en términos de materia orgánica. En la tabla 2 se muestran las diferentes formas de expresar el PBM.

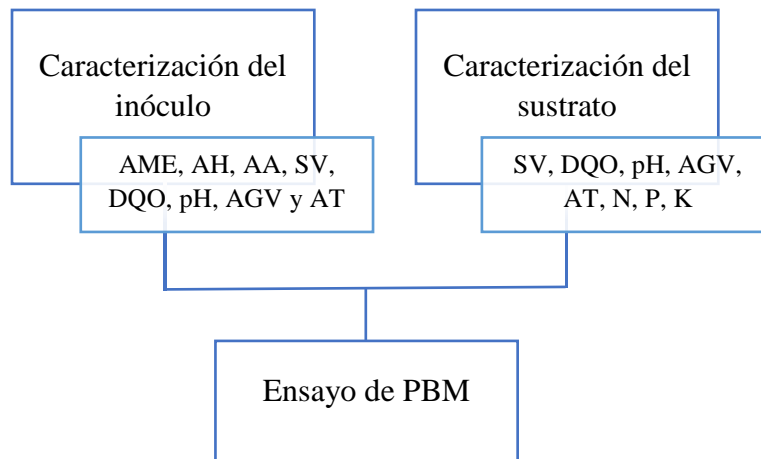
Unidades reportadas para PBM

| Unidades                               | Referencia                      |
|--|---------------------------------|
| $\frac{m^3 CH_4}{kg SV_{adicionado}}$  | (Labatut, <i>et al.</i> , 2011) |
| $\frac{m^3 CH_4}{kg DQO_{adicionado}}$ | (Ergüder, <i>et al.</i> , 2011) |
| $\frac{m^3 CH_4}{kg DQO_{removido}}$   | (Van de Berg & Kennedy, 1992)   |
| $\frac{m^3 CH_4}{kg SV_{removido}}$    | (Raposo, <i>et al.</i> , 2011)  |

## Metodología

La determinación del PBM requiere conocer la caracterización fisicoquímica del sustrato y del inóculo (Angelidaki I. , y otros, 2009). En la Figura se presenta un esquema general de la metodología.

Figura. Metodología para la determinación del PBM



### 1. Caracterización del inóculo

1.1. Se selecciona un inóculo fresco procedente de un reactor anaeróbico activo y se pre-incuba a temperatura mesofílica ( $37 \pm 2$  °C) por un periodo de 2 a 5 días.

1.2. La actividad metanogénica específica (AME) debe ser determinada (ver Protocolo AME). Para realizar el ensayo de PBM es recomendable que el valor de AME del inóculo sea mayor o igual a 0,1 g DQO-CH<sub>4</sub>/ g SSV \*día (Angelidaki I. , y otros, 2009) o de 0,08 a 1,12 g DQO-CH<sub>4</sub>/ g SV \*día (Astals, Batstone, Tait, & Jensen, Development and validation of a rapid test for anaerobic inhibition and toxicity, 2015).

1.3. Es necesario evaluar la actividad hidrolítica (AH) y la actividad acidogénica (AA) del inóculo con el fin de conocer la capacidad del mismo para llevar a cabo las principales etapas de la bioquímica de la digestión anaeróbica (Ver Protocolos AH y AA).

1.4. Como medida de la materia orgánica presente en el inóculo se deben realizar las pruebas necesarias para determinar el contenido de sólidos volátiles (SV) y la demanda química de oxígeno (DQO). Adicionalmente, para garantizar la estabilidad en el proceso de digestión anaeróbica, el pH, el contenido de ácidos grasos volátiles (AGV) y la alcalinidad total (AT) deben conocerse como parte de la caracterización del inóculo (Ver protocolos SV, DQO, pH y AGV).

## **2. Caracterización del sustrato**

La caracterización del sustrato se basa principalmente en conocer el contenido de materia orgánica presente en términos de SV y DQO. Además, se debe determinar el pH, contenido de AGV, AT, contenido de nitrógeno y fósforo. Para eso se emplean los mismos protocolos mencionados en la caracterización del inóculo.

## **3. Ensayo de PBM**

3.1. Los reactores a emplear en este experimento deben ser botellas de vidrio con un volumen mayor o igual a 100 ml, considerando un volumen de trabajo de 65 ml.

3.2. Seleccione la relación inóculo/ sustrato en términos de SV (RIS) a utilizar en el ensayo. Tenga en cuenta que este parámetro debe ser mayor a 1 con el fin de que la cantidad de inóculo sea suficiente para evitar la acumulación de AGV e inhibición del proceso de DA. En el caso de sustratos ácidos, considere valores de RIS más altos [23].

3.3. Calcule la cantidad de inóculo a adicionar teniendo en cuenta la RIS seleccionada, los SV del inóculo, del sustrato y el volumen de trabajo.

3.4. Es necesario el montaje de blancos para evaluar el metabolismo endógeno del inóculo y el montaje de controles para determinar la producción de metano de un sustrato químicamente definido que represente el mayor componente del sustrato a evaluar.

3.5. Realice por lo menos 3 réplicas por cada uno de los experimentos a evaluar.

3.6. Cargue los reactores con las mezclas\* inóculo/sustrato a evaluar, selle los reactores utilizando tapones de butilo y agrafes de aluminio. Purgue con nitrógeno durante 2 a 3 minutos para garantizar las condiciones de anaerobiosis y posteriormente saque los gases de cada reactor utilizando una aguja.

(\*) Si el pH de la mezcla es inferior a 6, es necesario aumentarlo a un valor neutro.

#### **4. Medición del biogás**

Para el seguimiento del PBM se debe hacer cuantificación diaria de la producción de metano (Ver protocolo de desplazamiento alcalino).

La correcta medición del biogás es determinante en la confiabilidad de los resultados obtenidos, por esto se recomienda:

- Garantizar la altura mínima de NaOH en la columna para que pueda llevarse a cabo la correcta absorción reactiva de CO<sub>2</sub>.
- Evitar grandes variaciones en la altura de la columna para disminuir la influencia de la presión hidrostática en las mediciones.
- Conocer la temperatura ambiente al momento de medir el biogás para normalizar el volumen medido a condiciones estándar.

## 5. Reporte de resultados

Dentro de la presentación de resultados se debe incluir la caracterización del inóculo y del sustrato (AME, SV, DQO, pH, AGV), y las condiciones del ensayo (Temperatura, RIS, Volumen de trabajo).

En cuanto a la producción de metano, deben presentarse los resultados para cada mezcla, el blanco y el control, reportando el promedio de las mediciones y la desviación entre réplicas. Así mismo, es importante resaltar las condiciones STP empleadas en la corrección de las mediciones de metano. Se sugiere utilizar las condiciones estándar definidas por el *National Bureau of Standards*, correspondientes a 25 °C y 100 kPa [61].

Finalmente como un referente máximo para el sustrato estudiado es posible calcular el PBM teórico utilizando la ecuación de Buswell. Es importante resaltar que esta ecuación considera que todo el contenido de materia orgánica presente en el sustrato es biodegradable y se convierte en CH<sub>4</sub>, lo cual no es cierto en condiciones reales debido a que el sustrato puede contener materia orgánica no biodegradable y pueden formarse otros subproductos además del metano. En este sentido, el PBM teórico es una sobre-estimación de la producción del gas a partir de un sustrato conocido.

## Apéndice F

Método de desplazamiento alcalino

### Materiales

Una manguera larga con regulador de flujo y agujas hipodérmicas en cada extremo.

Una manguera corta con aguja en un solo extremo.

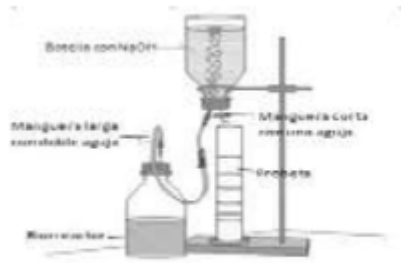
Una botella de vidrio con 500 mL de NaOH con fenolftaleína y pH mayor a 12.

Un soporte metálico para la botella y una probeta.

### Procedimiento

1. La botella con NaOH se sujeta al soporte con la tapa hacia abajo. En el tapón de butilo que tiene la botella, introducir la aguja de la manguera corta. Debajo de esta manguera, ubicar la probeta.
2. Introducir una aguja de la manguera larga en el tapón de la botella con NaOH, asegurándose previamente que el regulador de flujo esté cerrando el paso del aire. La aguja del otro extremo se introduce en el tapón del biorreactor.
3. Deslizar el regulador de flujo de la manguera larga, para permitir el paso del biogás del biorreactor hacia la botella con solución alcalina.
4. El CO<sub>2</sub> del biogás reacciona con el NaOH y queda atrapado en la solución. El CH<sub>4</sub> no reacciona con la solución y pasa hasta la parte superior de la botella, desplazando un volumen equivalente de solución alcalina, la cual sale por la manguera corta hasta la probeta. Se apunta el volumen desplazado en mL.

*Esquema del montaje de medición del volumen de metano.*



### Cálculos

A fin de comparar la producción de biogás y por tanto el redimiendo, es necesario llevar el volumen de biogás a condiciones normalizadas -VNTP-, con la siguiente ecuación:

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

En donde:

VNTP = Volumen de gas en condiciones normales de temperatura y presión (mL)

V = Volumen de gas generado (mL)

P<sub>o</sub> = Presión estándar 1013,25 (mbar)

T<sub>o</sub> = Temperatura estándar 273,15 (K)

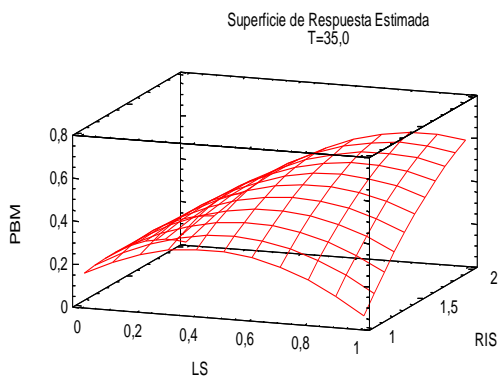
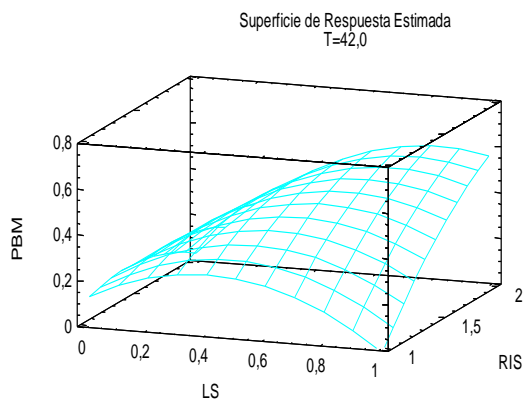
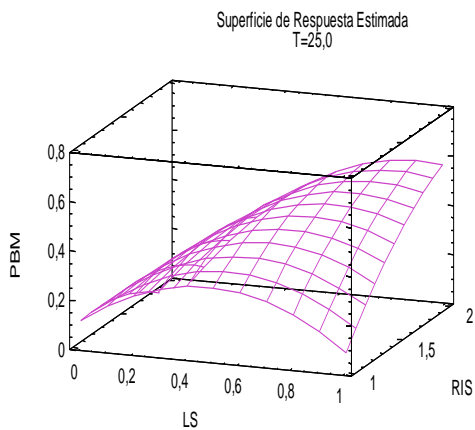
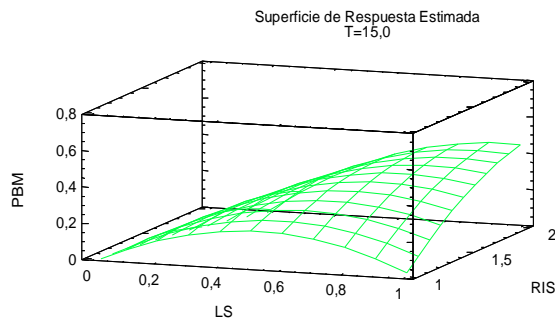
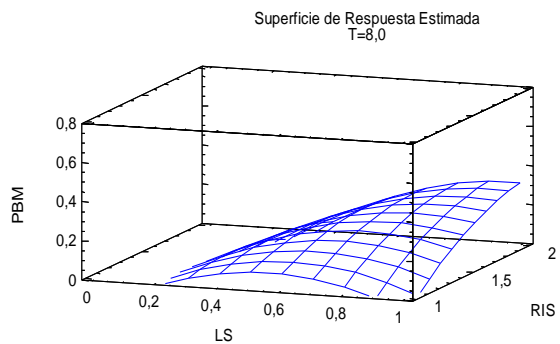
P<sub>atm</sub> = Presión atmosférica

P<sub>v</sub> = Presión de vapor del agua (mbar)

T = Temperatura al momento de medir (K)

Apéndice G

PBM de la CODA de la mezcla LS:EB variando la RIS y fLS a temperatura constante.



AGV's de la CODA de la mezcla LS:EB variando la RIS y fLS a temperatura constante.

