

**OBTENCIÓN DE BIOGÁS A PARTIR DE GALLINAZA PRODUCIDA EN LA
GRANJA BELLAVISTA-HORIZONTES A SERVICIO DE INCUBADORA
SANTANDER S.A.**

ANDREA XIMENA SIERRA RÍOS.

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER.
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE QUÍMICA
MAESTRÍA EN QUÍMICA AMBIENTAL
BUCARAMANGA
2013**

**OBTENCIÓN DE BIOGÁS A PARTIR DE GALLINAZA PRODUCIDA EN LA
GRANJA BELLAVISTA-HORIZONTES A SERVICIO DE INCUBADORA
SANTANDER S.A.**

ANDREA XIMENA SIERRA RÍOS.

**Trabajo de aplicación para optar al título de:
Magister en Química Ambiental**

DIRECTOR

**Humberto Escalante Hernández
Ing. químico, M. Sc., PhD.**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER.
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE QUÍMICA
MAESTRÍA EN QUÍMICA AMBIENTAL
BUCARAMANGA**

2013

*A Dios por ser mi roca fuerte
y mi refugio, a quien le debo lo que tengo y lo que soy, mi padre, mi amigo y mi
guía.*

*A mi esposo Nelson, por su apoyo incondicional y reconfortable compañía.
Gracias a sus consejos un día decidí emprender un nuevo proyecto de vida y soñó
conmigo lo que hoy es una realidad.*

*Mi hermosa hija Sara Sofía, quien ha compartido desde el vientre esta experiencia
grata y se ha convertido en mi fuente de energía, hoy me enorgullezco de tenerte
y poder disfrutar a tu lado los frutos de una ardua siega.*

*A mis padres Jaime y Rosalba, porque gracias a su educación, esfuerzo y
principios inculcados, hoy puedo decir que soy una mujer de éxito en todas las
áreas de mi vida.*

*Mi hermanita Laura, por su colaboración, apoyo en todo lo que emprendo, y su
amistad que es más valiosa que todas las riquezas juntas.*

A todos ellos mil gracias.

Andrea

AGRADECIMIENTOS

Expreso mis más sinceros agradecimientos a:

A mi director de proyecto el ingeniero Humberto Escalante, por su paciencia, su tiempo y todo lo que durante este trayecto me enseñó, con profesionalismo y calidad humana.

A la Doctora Liliana Castro, por sus aportes, su guía y asesoría incondicional.

A los estudiantes de ingeniería química que trabajaron activamente durante el proyecto, Luis, Tatiana, José, Gustavo, Laura y Deisy, Laura Duarte con sus ayuditas con el inglés. Y mis compañeros de trabajo Sergio y Fabián por su tiempo y su disposición a la hora de trabajar.

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN.....	17
1. MARCO TEÓRICO	19
1.1 PRODUCCIÓN AVÍCOLA EN COLOMBIA Y SANTANDER	19
1.2 DIGESTIÓN ANAEROBIA (DA)	19
1.2.1 Beneficios de la Digestión Anaerobia.	21
1.2.2 Etapas de la DA.....	22
1.3 INÓCULOS PARA DA.	24
1.3.1 Parámetros para la selección de un inóculo apropiado para DA.	26
1.3.1.1 La Actividad Hidrolítica (AH)	26
1.3.1.2 La Actividad Metanogénica específica (AME)	27
1.4 PARÁMETROS OPERACIONALES DE LA DA	27
1.4.1 Evolución de los Azúcares Reductores Totales (ART)	27
1.4.2 Evolución de los Ácidos Grasos Volátiles (AGV).....	27
1.4.3 Evolución de la Alcalinidad Total (AT).....	28
1.4.4 Potencial de Biometanización	28
1.5 SUSTRATO PARA DA.....	29
1.5.1 Gallinaza como Sustrato para DA.....	30
2. DESARROLLO EXPERIMENTAL	32
2.1 MATERIALES Y MÉTODOS.....	32
2.1.1 Sustrato	32
2.1.2 Inóculos para digerir la GJ	34
2.1.3 Determinación de la actividad hidrolítica (AH).....	35
2.1.4 Determinación de la actividad metanogénica (AME)	36
2.1.5 Selección de la mejor relación inóculo sustrato (RIS) para digestión anaerobia de gallinaza.	37
2.1.6 Propuesta: biogás de gallina para energía de cocinador de mortalidad de la granja Bellavista-horizonte.	40
3 RESULTADOS Y ANÁLISIS.....	43
3.1 CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DEL SUSTRATO.....	43

3.2 CARACTERIZACIÓN FISICOQUÍMICA DEL INÓCULO.....	44
3.3. ACTIVIDAD HIDROLÍTICA DE LOS INÓCULOS UTILIZANDO CELULOSA COMO SUSTRATO.....	45
3.4 ACTIVIDAD METANOGÉNICA ESPECÍFICA PARA: LEC, LPTAR Y EB	47
3.5 SELECCIÓN DE LA MEJOR RIS PARA DIGESTIÓN ANAEROBIA DE GALLINAZA Y ESTIÉRCOL BOVINO.	48
3.6 PROPUESTA: BIOGÁS DE GALLINA PARA ENERGÍA DE COCINADOR DE MORTALIDAD DE LA GRANJA BELLAVISTA-HORIZONTES.	56
4. CONCLUSIONES	62
5. RECOMENDACIONES	63
BIBLIOGRAFÍA.....	64
ANEXOS	72

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
FIGURA 1. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL PARA EL DESARROLLO DE DA CON GJ	32
FIGURA 2. MÉTODO DE DESPLAZAMIENTO ALCALINO	37
FIGURA 3. PRODUCCIÓN DE ART PARA CADA INÓCULO USANDO CELULOSA COMO SUSTRATO.....	46
FIGURA 4. PRODUCCIÓN DE BIOGÁS PARA EB, LEC, LPTAR UTILIZANDO ÁCIDO ACÉTICO COMO SUSTRATO	47
FIGURA 5. CONSUMO DE ART DURANTE LA DA DE GJ Y EB	49
FIGURA 6. AGV DURANTE LA DA DE GJ A DIFERENTES RIS	50
FIGURA 7. COMPORTAMIENTO DEL PH DURANTE LA DIGESTIÓN ANAEROBIA DE GJ Y EB.	51
FIGURA 8. ALCALINIDAD TOTAL DURANTE LA DA DE GJ Y EB	52
FIGURA 9. PRODUCCIÓN DE BIOGÁS PARA DIGESTIÓN ANAEROBIA DE GJ Y EB. RIS 0,5, 1 Y 1,5	53
FIGURA 10. SV Y PRODUCCIÓN DE BIOGÁS DURANTE LA DA DE GJ Y EB	55
FIGURA 11. PORCENTAJE DE REMOCIÓN DE SÓLIDOS DURANTE LA DA	56
FIGURA 12. ESQUEMA DE BIODIGESTOR Y SUS DIMENSIONES	60

LISTA DE TABLAS

	Pág.
TABLA 1. VENTAJAS DE LA DIGESTIÓN ANAERÓBICA.....	21
TABLA 2. PRINCIPALES REACCIONES QUÍMICAS QUE OCURREN EN LA DIGESTIÓN ANAEROBIA	23
TABLA 3. RENDIMIENTO TEÓRICO DE METANO DE VARIOS TIPOS DE MATERIA ORGÁNICA..	24
TABLA 4. RELACIÓN C: N DE ESTIÉRCOLES.....	25
TABLA 5. PORCENTAJES DE CARBONO Y NITRÓGENO DE VARIOS SUSTRATOS.....	26
TABLA 6. COMPOSICIÓN ELEMENTAL DE LA GALLINAZA DE JAULA.....	29
TABLA 7. CARACTERÍSTICAS FISCOQUÍMICAS DE GALLINAZA DE JAULA.	30
TABLA 8. CARACTERIZACIÓN DE LOS DIFERENTES TIPOS DE GALLINAZA.	31
TABLA 9. CONDICIONES DE OPERACIÓN PARA LA DA PARA RIS DE 0,5 - 1 Y 1,5.	38
TABLA 10. VARIABLES DE RESPUESTA DE LA DA DE GJ	40
TABLA 11. CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS DEL COCINADOR DE MORTALIDAD GRANJA BELLAVISTA.....	42
TABLA 12. CARACTERIZACIÓN FISCOQUÍMICA DE LA GALLINAZA.....	43
TABLA 13. CARACTERIZACIÓN FISCOQUÍMICA DE LOS INÓCULOS	44
TABLA 14. ACTIVIDAD HIDROLÍTICA DE EB, LEC, LPTAR	46
TABLA 15. ACTIVIDAD METANOGÉNICA ESPECÍFICA PARA LOS INÓCULOS: EB, LEC, LPTAR	48
TABLA 16. RENDIMIENTOS PARA LAS RIS 0,5- 1- 1,5.....	54
TABLA 17. DIMENSIONAMIENTO DE BATERÍA DE SEIS BIODIGESTORES TIPO BATCH	59

LISTA DE IMÁGENES

	Pág.
IMAGEN 1. GALLINAZA DE JAULA	33
IMAGEN 2. LODO ESTIÉRCOL DE CERDO	34
IMAGEN 3. ESTIÉRCOL BOVINO.....	35
IMAGEN 4. LODO PTAR	35
IMAGEN 5. MONTAJE DE BIODIGESTORES PARA DIGESTIÓN ANAEROBIA.....	39
IMAGEN 6. DISPOSICIÓN FINAL DE LA MORTALIDAD DE LA GRANJA BELLAVISTA POR MEDIO DEL COCINADOR.	41

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
ANEXO. A. PROTOCOLO DE TOMA DE MUESTRA DE GALLINAZA DE JAULA (GJ)	72
ANEXO. B. PROTOCOLO DE TOMA DE MUESTRA DE INÓCULOS	73
ANEXO. C. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD HIDROLÍTICA	75
ANEXO. D. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES TOTALES (ART)	77
ANEXO. E. DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS TOTALES FIJOS Y VOLÁTILES EN MUESTRAS SÓLIDAS Y SEMISÓLIDAS	78
ANEXO. F EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD METANOGENICA.....	80
ANEXO. G MEDIO DE CULTIVO - ACTIVIDAD HIDROLÍTICA	82
ANEXO. H. MEDIO DE CULTIVO ACTIVIDAD METANOGENICA	83
ANEXO. I. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS VOLÁTILES (AGV), ALCALINIDAD TOTAL (AT).....	86
ANEXO. J. CARACTERIZACIÓN ELEMENTAL DE LA GALLINAZA.....	88
ANEXO. K. CARACTERIZACIÓN ELEMENTAL DEL ESTIÉRCOL BOVINO.....	89
ANEXO. L. REGISTRO FOTOGRÁFICO	90

TITULO: OBTENCIÓN DE BIOGÁS A PARTIR DE GALLINAZA PRODUCIDA EN LA GRANJA BELLAVISTA-HORIZONTES A SERVICIO DE INCUBADORA SANTANDER S.A.*

AUTOR: Andrea Ximena Sierra Rios**

PALABRAS CLAVES: Gallinaza de jaula, biogás, digestión anaerobia, estiércol bovino.

DESCRIPCIÓN:

Los altos costos por la adquisición de energía y/o combustibles fósiles en la industria, ha incrementado el interés de producción y uso de biocombustibles a partir de fuentes renovables. La gallinaza como biomasa residual es altamente empleada en procesos de digestión anaerobia. La caracterización fisicoquímica y elemental de este sustrato mostró que contenía 28,73% de C, 2,23% de N y 31,78% de O, una relación carbono/nitrógeno de 12,9 y una producción teórica de metano de 0,43 CH₄/g – SV. Este bioproceso se limita debido a las altas concentraciones de amonio presentes en la gallinaza. La investigación se centró en la identificación de un consorcio microbiano con alta actividad hidrolítica y metanogénica; el desarrollo de la producción de metano con las mejores condiciones de operación a un volumen de 250 mL y el planteamiento básico ingenieril para el aprovechamiento del biogás producido en el proceso de digestión anaerobia.

Como resultados se identificó que el estiércol bovino presenta un consorcio microbiano capaz de degradar la gallinaza de jaula. La máxima producción de metano (0,14 m³ de biogás/g SSV, en operación batch) se obtuvo cuando el proceso se llevo a cabo con una relación inóculo sustrato de 1,5. Finalmente, teniendo como referencia las necesidades energéticas de la granja en el proceso de disposición final de la mortalidad (372,87 kWh/día) se determinó que se requiere de 6 reactores con un volumen total de 283,29 m³ para la biodigestión de 4367,55 kg/día de gallinaza de la granja Bellavista-Horizontes.

* Trabajo para optar al título de Magister en Química Ambiental

** Facultad de Ciencias. Escuela de Química. Director Humberto Escalante Ing. Químico Ph . D.

TITLE: OBTAINING OF BIOGAS FROM POULTRY MANURE PRODUCED IN THE FARM BELLAVISTA - HORIZONTES TO SERVICE OF INCUBADORA SANTANDER S.A.*

AUTHOR: Andrea Ximena Sierra Rios**

KEYWORDS: Cage poultry manure, biogas, anaerobic digestion, bovine manure.

DESCRIPTION:

The high costs for the acquisition of energy and / or fossil fuels in industry, has increased the interest in the production and use of biofuels from renewable sources. The poultry manure as residual biomass is highly used in anaerobic digestion processes. The physicochemical and elemental characterization of this substrate showed that contained 28,73% of C, 2,23% of N and 31,78% of O, a relation carbon / nitrogen of 12,9 and theoretical methane production of 0,43 CH₄ / g - SSV. This bioprocess is limited due to high ammonia concentrations present in the poultry manure. The research focused on the identification of a microbial consortium with high hydrolytic and methanogenic activity, the development of methane production with the best operating conditions to a volume of 250 mL and the engineering basic approach for the use of the biogas produced in the anaerobic digestion process.

As results were identified that cattle manure presents a microbial consortium capable of degrading cage poultry manure. The maximum production of methane (0, 14 m³ biogas / g SSV in batch operation) was obtained when the process was carried out with a relation inoculum substrate of 1,5. Finally, taking the energetic needs of the farm as a reference in the process of final disposition of the mortality (372,87 kWh/day), was determined that it requires 6 reactors with a total volume of 283,29 m³ for the biodigestion of 4367,55 kg / day of poultry manure from the farm Bellavista -Horizontes.

* Job Application for the degree of Master of Environmental Chemistry

** Faculty of Sciences. School of Chemistry. Director Humberto Escalante Ing. Químico Ph . D.

NOMENCLATURA

AGV: Ácidos Grasos Volátiles (mg/L)

AH: actividad hidrolítica

AME: actividad metanogénica

ART: Azúcares Reductores Totales (g/L)

AT: Alcalinidad Total (mg/L)

CoDA: Codigestión anaerobia

DA: Digestión anaerobia

EB: Estiércol Bovino

GJ: Gallinaza de jaula

GLP: Gas Licuado de Petróleo

LEC: Lodo Estiércol de Cerdo

LPTAR: Lodo de planta de tratamiento de aguas residuales

LR: Líquido ruminal.

PBM: Potencial de Biometanización ($\text{m}^3 \text{CH}_4/\text{kg SV}$)

RIS: Relación inóculo/sustrato (SV de inóculo/g SV de sustrato)

ST: Sólidos totales (mg/L)

SV: Sólidos volátiles (mg/

INTRODUCCIÓN

Bellavista –Horizontes, es una granja avícola al servicio de Incubadora Santander, cuya actividad comercial es la producción de huevo de mesa. Los procesos industriales actuales de la granja Bellavista requieren de un suministro promedio mensual de 58,977 kWh de energía eléctrica, 776 galones de ACPM mensuales, 136 galones de gasolina corriente al mes y 137 cilindros/mes de gas propano, que tienen un costo anual aproximado de \$163'895.458, por lo cual la empresa busca una alternativa viable desde el punto de vista económico y ambiental, para la disminución de costos por la adquisición de energía y/o combustibles fósiles.

La granja Bellavista - Horizontes, genera en promedio 127,5 m³/día de gallinaza (este valor es estimado por medio del *software Poultry Management System* versión 5.0). Un ave en producción a las 18 semanas debe consumir 85 g de alimento y va aumentando 5 gramos por semana hasta alcanzar los 115-120 gramos. El 33 % del alimento consumido por un ave, es asimilado para su desarrollo y el 67 % se convierte en residuo. Por lo tanto, durante la etapa de producción se produce en promedio 0,0804 kg de gallinaza en masa seca/día/ave [HENDRIX, 2005].

El uso de los combustibles fósiles y la generación energética produce contaminantes físicos y químicos, que generan un impacto negativo en el medio ambiente, como es la producción de gases efecto invernadero. El agotamiento de los combustibles fósiles ha incrementado el interés de producción y uso de biocombustibles a partir de fuentes renovables [LEON *et al.*, 2010]. En las últimas décadas se ha avanzado en la investigación de tecnologías para el aprovechamiento energético de la biomasa. La biomasa está constituida por carbono, hidrógeno y oxígeno, estructura molecular responsable de su contenido energético.

Con respecto a la gallinaza producida en el municipio de Lebrija (Santander), partiendo de los datos de producción reportados por el anuario estadístico del Ministerio de Agricultura, Sanguino y Téllez realizaron un estudio teórico para evaluar el aprovechamiento energético de este residuo, mediante digestión anaerobia (DA) y se concluyó que la generación de energía podría llegar a los 4,6 MJ/kg, para lograr el nivel energético de la combustión y la gasificación a una escala de 9,7 MJ/kg de residuo [SANGUINO, *et al.* 2009].

Por lo anterior, se deduce que la gallinaza podría ser transformada con fines energéticos, y en este trabajo de aplicación se planteó como objeto de estudio, evaluar la producción de biogás a partir de gallinaza de jaula (GJ) como sustrato mediante digestión anaerobia (DA). Dado que en el proceso de DA juega un papel importante el inóculo se planteó evaluar para este fin, los consorcios microbianos presentes en el estiércol bovino (EB), lodo estiércol de cerdo (LEC) y lodo de una planta de tratamiento de aguas residuales (LPTAR). De esta forma el resultado de este trabajo de aplicación fue producir biogás a partir de GJ, identificar el inóculo más eficaz para metabolizar la gallinaza y definir las mejores condiciones de operación. Adicionalmente se planteó una propuesta de proyección del dimensionamiento de la unidad de operación requerida para digerir la producción de gallinaza/día de la Incubadora Santander.

1. MARCO TEÓRICO

1.1 PRODUCCIÓN AVÍCOLA EN COLOMBIA Y SANTANDER

En Colombia, la población promedio de aves entre ponedoras y de engorde es de 140'641.808 cabezas, las cuales generan una cantidad de biomasa (gallinaza-pollinaza) de 3'436.204 ton/año, encontrándose Santander como una de las regiones de mayor concentración de cabezas/año [ESCALANTE *et al.* 2010].

La producción nacional de productos y subproductos avícolas oscila en 400.000 t/año, con un costo promedio de 28 y 45 millones de dólares, generados principalmente en cinco regiones de Colombia [FENAVI - FONAV, 2007].

Adicionalmente la gallinaza se considera un combustible atractivo para la aplicación de tecnologías termoquímicas debido a su alto porcentaje de humedad, valores que oscilan entre 56,40 y 75,31%. [ESCALANTE, H. 2010].

1.2 DIGESTIÓN ANAEROBIA (DA)

La digestión anaerobia (DA) es un proceso que utiliza microorganismos para descomponer la materia orgánica, y de esta forma estabilizarla, cuando se trata de un residuo. Este proceso se lleva a cabo en ausencia total de oxígeno. El producto principal de la DA es un biogás, compuesto principalmente por metano y dióxido de carbono. Al estar enmarcado en el ciclo anaerobio del carbono, es posible, transformar la biomasa en compuestos volátiles como el CO₂, NH₃, H₂S, N₂, CH₄ y otros gases menores. Adicionalmente, se obtiene un subproducto, compuesto de restos de materia orgánica degradada y parte de la biomasa producida de este subproducto puede ser estabilizado, para convertirlo en un nutriente para suelos estériles. [FERNÁNDEZ *et al.*, 2009]. La DA está considerada como un proceso con

bajo impacto ambiental, dado que reduce las emisiones de efecto invernadero, no requiere de adicionar compuestos químicos y su operación es sencilla, lo cual permite reducir costos [WARD *et al.*, 2008].

En las últimas décadas la DA ha tenido auge en el tratamiento de diferentes tipos de residuos como la planta acuática *cattail* [HU, Z. 2006] el sisal (MSHANDETE *et al.* 2005), el maíz (RAPOSO *et al.* 2006), suero de leche (KAVACIK *et al.*, 2010), la cebada y el arroz [DINUCCIO *et al.* 2010].

En los estudios de empresas de aceite de palma, existen teorías de DA las cuales son eficaces para tratar los residuos de lodos anaerobios de ésta industria, utilizando inóculos como el estiércol bovino, cerdo y lodo PTAR, siendo estos últimos los más afines debido a sus alto rendimiento de metano. [LAM M, *et al.*2011]

En 1985, los ministerios Daneses de Energía, Medio Ambiente y Agricultura pusieron en marcha un programa de desarrollo con el fin de mostrar el potencial de las plantas de biogás basadas en el estiércol. En Dinamarca hasta el año 2001 operaban 22 plantas de biogás, tratando una cantidad anual de estiércol y otra biomasa como residuos sólidos domésticos e industriales orgánicos de aproximadamente 1,5 millones de toneladas por año, produciendo un biogás equivalente a 39'000.000 m³ de metano por año. Este biogás es usado para la producción combinada de calor y generación de energía en motores. [ANGELIDAKI, *et al.* 2003].

Dentro de los residuos empleados en Dinamarca para la producción de metano por DA, los desechos industriales como el aceite de pescado produjeron entre 0,60 - 0,80 m³/kg de SV, seguido de residuos estomacales/intestinales de cerdos y ganado y residuos domésticos con una producción entre 0,40 – 0,50 m³/kg de SV. Desechos como los residuos de jardín, los residuos industriales como la vinaza y la paja de trigo o grano no alimenticio tienen los menores rangos de producción de metano

que van desde 0,10 a 0,20 m³/kg de SV. Para el caso del residuo de estudio se tiene que la gallinaza contiene 160 kg/t de sólidos volátiles y una producción de metano de 0,30 m³/kg de SV. [ANGELIDAKI, I. *et al.* 2003].

1.2.1 Beneficios de la Digestión Anaerobia.

En la Tabla 1 se presentan algunas ventajas que tiene el proceso de DA.

Tabla 1. Ventajas de la digestión anaeróbica.

Factor	Ventajas de la digestión anaeróbica
Variabilidad en la composición orgánica	Homogenización de la composición, más intensa cuanto mayor es el tiempo de retención
Malos olores y compuestos orgánicos volátiles	Eliminación de ácidos grasos volátiles (AGV) y otros compuestos fácilmente degradables. La materia orgánica resultante es lenta y difícilmente degradable; los purines digeridos no presentan olor desagradable y son un producto más estable. En procesos térmicos posteriores se evitan problemas de volatilización de compuestos orgánicos.
Reducción de materia orgánica y total mineralización	Reducción de sólidos totales y volátiles. Reducción de materia orgánica degradable y mantenimiento de las concentraciones de nutrientes. Transformación de nitrógeno orgánico a amoniacal. Es caso de separar la fase acuosa, el producto resultante presentará menor volumen, manteniendo la misma riqueza fertilizante
Distribución de partículas y fracción soluble	Homogenización en la distribución de partículas, lo cual favorece el diseño y aplicación de procesos posteriores de secado. Hidrólisis de partículas de pequeño tamaño y coloidales, y reducción de orgánicos solubles, con lo cual se facilita la separación entre fases solubles y en suspensión
Consistencia	Consistencia pastosa de la relación sólida de los purines digeridos, lo cual favorece su manipulación y paletización
Alcalinidad	Disminución muy significativa de la relación de alcalinidad. Aporte de alcalinidad para favorecer un proceso posterior de nitrificación, total o parcial. A su vez, y debido a la reducción de materia orgánica, el consumo energético en este proceso serán inferior al de la nitrificación de la fracción líquida de purines.

Fuente: [MONCAYO; G. 2011].

1.2.2 Etapas de la DA.

La DA se lleva a cabo en cuatro etapas: a) la hidrólisis de proteínas, y grandes moléculas, b) la acidogénesis de monómeros para producir ácidos grasos (acetato, propionato, butirato, valerato), c) la acetogénesis, para producir acetato, y d) la metanogénesis, que comprende la producción del metano.

Hidrólisis: en esta etapa la materia orgánica es metabolizada por los microorganismos. Esta materia es descompuesta por la acción de un grupo de bacterias hidrolíticas anaeróbicas que hidrolizan las moléculas solubles en agua, tales como grasas, proteínas, carbohidratos y las transforman en polímeros más simples. Durante la hidrólisis se inicia la producción de CO₂.

Acidogénesis: en esta fase se convierten los productos intermedios en ácido acético, hidrógeno y dióxido de carbono. En esta primera etapa no hay una reducción significativa de la DQO del sustrato, puesto que las cadenas orgánicas más complejas se transforman en cadenas más cortas, sin consumo o reducción de la materia orgánica presente. [MONCAYO; G. 2011].

En la fase hidrolítica-acidogénica ocurre la despolimerización, solubilización y conversión de la materia orgánica en un lixiviado (efluente) rico en ácidos grasos volátiles [KHANAL; S.2008]. Estas reacciones son llevadas a cabo por bacterias anaerobias facultativas cuyos géneros más frecuentes son los miembros de la familia *Enterobacteriaceae*, además de los géneros: *Bacillus*, *Peptostreptococcus*, *Propionibacterium*, *Bacteroides*, *Micrococcus*, *Ruminococcus albus*, *Clostridium*, *Acetovibrio*, *Bacteroides* [ARCOS; L. et al. 2004]. Durante esta fase, las condiciones favorables para el crecimiento de los consorcios microbianos son tiempos de operación entre dos y quince días, pH en un intervalo de 5 a 6,5, elevadas cargas orgánicas y mayores velocidades de agitación. [RUEDA; M. et al, 2011].

Acetogénesis: esta etapa la llevan a cabo las bacterias acetogénicas y realizan la degradación de los ácidos orgánicos donde los alcoholes, ácidos grasos y compuestos aromáticos se degradan produciendo ácido acético, llevándolos al grupo acético CH₃-COOH y liberando como productos hidrógeno y dióxido de carbono que son los sustratos de las bacterias metanogénicas. Esta reacción es endoexergética pues demanda energía para ser realizada.

Metanogénesis: En la fase metanogénica el efluente acidificado se convierte por acción de las bacterias metanogénicas en CH₄. Las más importantes son las bacterias que transforman los ácidos propanoico y acético, denominadas bacterias metanogénicas acetoclásticas. El otro grupo de bacterias metanogénicas, las hidrogenófilas, consumen el hidrógeno generado en la primera parte de la reacción y lo convierten en biogás. [MONCAYO; G. 2011]. Estas últimas bacterias son fundamentales para el equilibrio de las condiciones ambientales de la reacción, puesto que una acumulación de hidrógeno alteraría la biodigestión de la materia orgánica, se caracterizan por tener un metabolismo lento y producen metano a condiciones de pH en un intervalo entre 7 y 8,5 [PARAWIRA; R. *et al.* 2008].

Durante la DA cada grupo de microorganismos son productores de diferentes tipos de enzimas, para llevar a cabo la transformación del sustrato (residuo) mediante una serie de reacciones químicas, como las que se presentan en la Tabla 2.

Tabla 2. Principales reacciones químicas que ocurren en la digestión anaerobia

Reacción	Ecuación
Fermentación de Glucosa a acetato	Glucosa + 4H ₂ O → CH ₃ COO ⁻ + 4H ⁺ + 4H ₂
Fermentación de la Glucosa a Butirato	Glucosa + 2H ₂ O → C ₄ H ₇ O ₂ + 2HCO ₃ ⁻ + 3H ⁺ + 2H ₂
Fermentación del Butirato a Acetato e H ₂	Butirato + 2H ₂ O → 2CH ₃ COO ⁻ + H ⁺ + H ₂
Fermentación del Propionato a Acetato	Propionato + 3H ₂ → CH ₃ COO ⁻ + HCO ₃ ⁻ + H ⁺ + H ₂
Acetogénesis a partir del H ₂ y CO ₂	4H ₂ + HCO ₃ ⁻ + H ⁺ → CH ₃ COO ⁻ + 2H ₂ O

Metanogénesis a partir del CO ₂ y H ₂	$4\text{H}_2 + \text{HCO}_3^- + \text{H}^+ \rightarrow \text{CH}_4 + 3\text{H}_2\text{O}$
Metanogénesis a partir del Acetato	$\text{Acetato} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_4 + \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$

Fuente: [DÍAZ-BÁEZ. *et al.*, 2002].

Las características fisicoquímicas del sustrato influyen directamente en el rendimiento del proceso de DA (Tabla 3). Por ejemplo, los lípidos y el etanol tienen un mayor rendimiento de CH₄ (70 y 75%) frente a otras formas de materia orgánica [ANGELIDAKI, I. *et al.* 2003].

Tabla 3. Rendimiento teórico de metano de varios tipos de materia orgánica

Tipo De Sustrato	Composición	DQO/SV (G DQO / G SV)	Rendimiento CH ₄ (TPE 1 / G SV) ^B	Rendimiento CH ₄ (TPE 1 / G DQO) ^B	Metano (%)
Carbohidratos	(C ₆ H ₁₀ O ₅) _n	1,19	0,415	0,35	50
Proteínas	C ₅ H ₇ NO ₂	1,42	0,496	0,35	50
Lípidos	C ₅₇ H ₁₀₄ O ₆	2,90	1,014	0,35	70
Etanol	C ₂ H ₆ O	2,09	0,730	0,35	75
Acetato	C ₂ H ₄ O ₂	1,07	0,373	0,35	50
Propionato	C ₃ H ₆ O ₂	1,51	0,530	0,35	58

Fuente: [ANGELIDAKI, I. *et al.* 2003].

1.3 INÓCULOS PARA DA.

El estiércol bovino y el estiércol de cerdo son inóculos que se caracterizan por su alta producción de biogás y adaptabilidad a diferentes sustratos [KAPARAJU & RINTALA, 2005; LEHTOMÄKI, *et al.*, 2007.] Por otra parte, el lodo de planta de tratamiento de aguas residuales (LPTAR) también ha sido utilizado en DA y ofrece rendimientos de 0,40m³ CH₄/kg SV. [SANDOVAL, *et al.*, 2009].

Los inóculos más estudiados son el lodo anaerobio proveniente de plantas de tratamiento primario de aguas residuales (lodo PTAR) y el líquido ruminal [CARDONA A, *et al.* 2004]. Sin embargo, en países como China y México se han

utilizado inóculos obtenidos a partir de otras fuentes como lixiviados de vertedero, estiércol de cerdo o vaca, compostaje, cultivos puros de microorganismos aislados de diferentes ambientes. [MORENO G. 2002].

Una alternativa para incrementar el rendimiento de un proceso de DA, cuando el residuo presenta características fisicoquímicas que dificultan su degradabilidad, es utilizar una mezcla de inóculos procedentes de diversas fuentes. Por ejemplo, la DA del bagazo de fique presentó rendimientos en la producción de biogás de alrededor de 0,4 m³ biogás/kg ST, cuando se utilizó como inóculo una mezcla de líquido ruminal y lodo estiércol de cerdo [QUINTERO *et al.* 2011].

En general las excretas de origen animal presentan menor relación C/N que otras fuentes de biomasa (Tabla 4). La biomasa residual del sector avícola posee una relación de C/N entre 9,12 y 13,04 % p/p; una relación de C/N por el orden de 16/1 se considera óptima para la producción de biogás. Por consiguiente la biomasa residual avícola se puede aprovechar energéticamente mediante un bioproceso. [ESCALANTE, H. 2010].

Tabla 4. Relación C: N de estiércoles

Relación C:N de estiércoles			
Conejo	23	Estiércol vaca	16, 6-25
Cuyes	17	Gallinaza	12
Estiércol búfalos	11	Patos	27,4
Estiércol caballo	20	Restos de pollo	28,6
Estiércol cerdo	25	Rumen de vaca	15-30
Estiércol oveja	15-30	Sangre de vaca	15-30

Fuente: [MONCAYO; G. 2011].

Tabla 5. Porcentajes de carbono y nitrógeno de varios sustratos

SUSTRATO	C%	N%	C:N
Estiércol ganado vacuno	7,3	0,62	25:1
Estiércol cerdos	7,9	0,62	14:1
Estiércol ovejas	16	0,56	30:1
Gallinaza	70	3,8	12:1
Pasto	47	0,65	
Paja de trigo (seco)	46	0,54	87:1
Paja de arroz (seco)	43	0,65	68:1
Tallos de maíz	41	0,76	54:1
Hojas secas	42	1,00	40:1

Fuente: [MONCAYO; G. 2011].

1.3.1 Parámetros para la selección de un inóculo apropiado para DA.

La selección de un inóculo apropiado para la degradación metabólica de un sustrato hacia metano depende principalmente de su actividad hidrolítica y metanogénica [SOLERA R. *et al*, 2002].

1.3.1.1 La Actividad Hidrolítica (AH): indica la habilidad inherente de una población microbiana para degradar fuentes de carbono (celulosa, almidón, etc.); se cuantifica como la velocidad específica de consumo de sustrato [VALDEZ I. *et al*, 2009].

De acuerdo con la literatura los consorcios microbianos con mayor AH son líquidos ruminales y lodos activos anaerobios con valores de 0,07 y 0,26 mg/mL, respectivamente [HU Z, *et al*. 2004].

El rendimiento de la etapa hidrolítica de la DA puede ser expresado por la cinética de consumo de azúcares reductores totales (ART). La concentración inicial de ART

favorece el arranque del proceso y promueve el buen funcionamiento del reactor durante el proceso de DA. [MADIGAN, *et al.* 2006]

1.3.1.2 La Actividad Metanogénica específica (AME): es la capacidad de la biomasa microbiana para transformar la materia orgánica en metano; se expresa como la masa de sustrato, en términos de Demanda Química de Oxígeno (DQO) que es convertida a metano, por unidad de biomasa y por unidad de tiempo (gDQO-CH₄/g sólidos Suspendidos Volátiles (SSV * día). [DÍAZ S. *et al.*, 2002]. Dentro de los inóculos con alta AME se encuentran el estiércol de cerdo (0,04 gDQO-CH₄/g SSV día) y los lodos de plantas de tratamiento de aguas residuales (0,19 gDQO-CH₄/g SSV día) [FAJARDO M. 1997].

Las bacterias que actúan en esta etapa de la DA convierten el ácido acético en dióxido de carbono y metano, se desarrollan muy lentamente e influyen apreciablemente en el pH y en la mayoría del metano producido. [CASTILLO, *et al.* 2007].

1.4 PARÁMETROS OPERACIONALES DE LA DA

1.4.1 Evolución de los Azúcares Reductores Totales (ART): El rendimiento de la etapa hidrolítica de la DA puede ser expresado por la cinética de consumo de ART. La alta concentración inicial de ART favorece el arranque del proceso y promueve el buen funcionamiento del reactor durante el proceso de DA. Los ART son compuestos solubles que son fácilmente metabolizados por los microorganismos, permitiendo llevar a cabo las etapas de la DA. [MADIGAN, *et al.* 2006].

1.4.2 Evolución de los Ácidos Grasos Volátiles (AGV): Los ácidos grasos volátiles son el resultado de la fase de acidogénesis y son principalmente ácido acético, propiónico y butírico. [PANDEY *et al.* 2011].

La inhibición de los microorganismos metanogénicos debido a la toxicidad, a cambios en los factores ambientales, o a las condiciones de limitación de nutrientes provoca la acumulación de AGV principalmente acetato, además de hidrógeno, ocasionando a su vez una disminución de los valores de pH. El efecto negativo causado por la acumulación de AGV se puede mitigar manteniendo el pH dentro del rango óptimo. [WANG *et al.* 1999]. Los valores de AGV reportados en estudios previos son menores de 6000 mg/L de AGV, valores mayores a esta concentración presentan un efecto inhibitorio en la DA. [APPELS *et al.*, 2008].

El rango apropiado de AGV/AT para la DA reportado en la literatura se encuentra entre 0,1 – 0,4 sin riesgo de acidificación en el bioreactor [RAPOSO *et al.*, 2011].

1.4.3 Evolución de la Alcalinidad Total (AT): Es la capacidad del sistema para soportar y amortiguar la presencia de ácidos sin disminuir su pH. Esto ocurre por el efecto buffer debido a la presencia de iones hidroxilo (OH^-), Carbonato ($\text{CO}_3^{=}$) y bicarbonato (H_2CO_3^-). Valores típicos de alcalinidad para estos procesos están entre 1500 y 7500 mg CaCO_3/L .

1.4.4 Potencial de Biometanización: EL biogás está conformado principalmente por metano y dióxido de carbono, al igual que otros gases en menor proporción tales como, amoníaco, hidrogeno, nitrógeno y sulfuro de hidrogeno. El metano es el compuesto de interés por ser una fuente de energía. La cantidad de biogás producido dependen de la capacidad de biodegradabilidad y oxidación del sustrato, es decir, de su potencial de biometanización. Entre mayor sea la capacidad de degradación del sustrato y poco oxidable, mayor será la cantidad de metano producido. [ANGELIDAKI, *et al.* 2011].

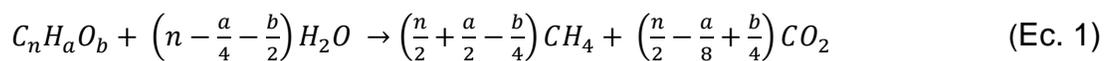
El PBM determina el máximo rendimiento de metano y la capacidad de biodegradabilidad de un sustrato. El PBM puede describirse como el volumen de metano acumulado (medido en condiciones estándar de presión y temperatura) por

la cantidad de sustrato adicionado en termino de SV. ($m^3 \text{ CH}_4/\text{kg SV}$) . [ANGELIDAKI, *et al.* 2011].

1.5 SUSTRATO PARA DA

La materia prima para la producción de metano mediante digestión anaerobia puede ser obtenida de diversas fuentes potenciales tales como residuos sólidos orgánicos, desechos de frutas y vegetales, grasas, madera y aserrín, maleza terrestre o biomasa marina. Cada tipo de materia prima posee sus características particulares por lo cual se hace esencial conocer, cuantificar y controlar las características del sustrato a biodegradar para poder realizar una medición del potencial de biometanización.

Los sólidos totales (ST) y Sólidos volátiles (SV) son básicos debido a que varían durante el proceso convirtiéndose en indicadores indirectos de la cantidad de metano producido. La composición elemental (C, N, H, O y S) permite determinar la formula empírica del sustrato (Ecuación 1-2) y así realizar aproximaciones teóricas de la cantidad de metano producible.[RAPOSO, *et al.* 2011; ANGELIDAKI, *et al.* 2011].



$$B_o, th = \frac{\left(\frac{n}{2} - \frac{a}{8} - \frac{b}{4}\right)}{12n + a + 16b} 22.4 \left(STP / + \frac{CH_4}{g-Vs}\right) \quad (\text{Ec. 2})$$

Tabla 6. Composición elemental de la gallinaza de jaula.

Elemento	% p/p
C	28,73
H	4,31%
O	31,78%
N	2,23%

Fuente: El Autor.

Aplicando la ecuación 1, la fórmula empírica para la gallinaza es: $C_{24}H_{42}O_{20}$. Por lo tanto el metano teórico producido según la ecuación 2 es equivalente a 0,43 L $CH_4/g-SV$.

1.5.1 Gallinaza como Sustrato para DA.

La composición química de la gallinaza es extremadamente variada y depende del tipo de ave, del tipo de cama, de la alimentación de las aves y otros factores. Uno de los nutrientes que varían en la composición de la gallinaza es la proteína cruda, la cual afecta el contenido bacteriano del sustrato y por ende el proceso de degradación del ácido úrico para ser convertido en amoníaco.

El contenido de humedad de la gallinaza de aves criadas en jaula generalmente tienen valores mucho mayores que las aves criadas en piso, pero puede variar ampliamente de acuerdo al sistema de producción, el tipo de alimento, la edad del ave y la temperatura ambiente. [ESTRADA M, 2005].

Tabla 7. Características fisicoquímicas de gallinaza de jaula.

Tipo	Humedad %	Nitrógeno %	Ácido fosfórico %	Potasio%
fresca	70-80	1,1 - 1,6	0,9 – 1,4	0,4 – 0,6
acumulada unos meses	50-60	1,4 - 2,1	1,1 – 1,7	0,7 – 1
almacenada en foso profundo	12-25	2,5 – 3,5	2 – 3	1,4 – 2
Desecada industrialmente.	7-15	3,6 – 5,5	3,1 – 4,5	1,5 – 2,4

Fuente: [CASTELLÓ. *et al* 2000]

En la Tabla 8 se registran estudios realizados en la Corporación Lasallista de Antioquia, donde la gallinaza de jaula fresca tiene un contenido de humedad superior a la gallinaza que se va acumulando o va iniciando por si sola un proceso de digestión, pese a esto los porcentajes de nitrógeno, ácido fosfórico y potasio registrados son menores y se van incrementando al estar en reposo.

Tabla 8. Caracterización de los diferentes tipos de gallinaza.

Parámetros	Gallinaza De Jaula	Gallinaza De Piso	Pollinaza
pH	9,0	8,0	9,5
conductividad (ms/cm)	6,9	1,6	4,1
humedad	57,8	34,8	25,8
cenizas	23,7	14	39
potasio	1,9	0,89	2,1
carbono orgánico	19,8	24,4	23
materia orgánica	34,1	42,1	39,6
nitrógeno	3,2	2,02	2,3
relación C/N	6,2	12,1	10
fósforo (p ₂ O ₅)	7,39	3,6	4,6

Fuente: [PELÁEZ. *et al*, 1999]

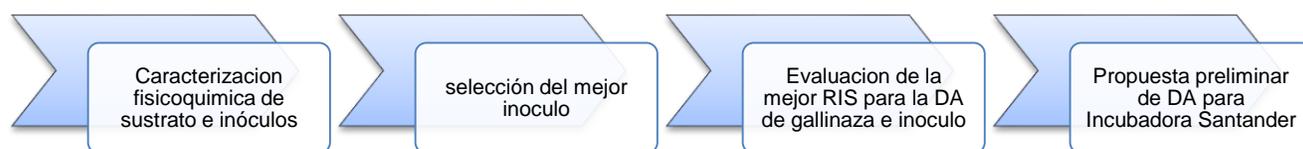
Las aves de jaula están inhibidas de movimiento, y esto hace que las características de la gallinaza cambien, adicionalmente a esto la gallinaza de jaula no tiene material de enmienda dentro del galpón (cascarillas de arroz) y es retirada del galpón diariamente, lo que no le permite tener un tiempo de residencia donde se inicien por si solos los procesos de estabilización. Lo anterior, se corrobora con los datos de la Tabla 8, siendo los porcentajes de humedad y nitrógeno de la gallinaza de jaula más altos que la gallinaza de piso y la Pollinaza, factores que afectan el pH y la relación C/N.

2. DESARROLLO EXPERIMENTAL

Se desarrollaron cuatro etapas experimentales asociadas a los objetivos específicos de este trabajo de aplicación. En la primera etapa se establecieron mediante caracterización, las propiedades fisicoquímicas del sustrato y tres tipos posibles de inóculo. En la segunda etapa, se evaluó la actividad hidrolítica (AH) y la actividad metanogénica (AME) de los inóculos, con el fin de definir el más idóneo para un proceso de digestión anaerobia (DA). Para la tercera etapa se valoraron distintas relaciones inóculo/sustrato (RIS) en montajes de biodigestores, para determinar la de mejores rendimientos de producción de biogás. En la etapa final, se sintetizan las fases anteriores, en una propuesta preliminar de DA para Incubadora Santander.

El resumen del desarrollo experimental se presenta en la Figura 1.

Figura 1. Metodología experimental para el desarrollo de DA con GJ



Fuente: El Autor

2.1 MATERIALES Y MÉTODOS

2.1.1 Sustrato

Para el proceso de digestión anaerobia, se empleó gallinaza de jaula (GJ) como sustrato. La muestra de GJ, fue recolectada en la granja avícola Bellavista Horizontes, localizada en el municipio de Piedecuesta, mesa de los Santos-Santander. El protocolo de toma de muestra de GJ se presenta en el anexo A. [SANDOVAL, *et al.* 2009].

Una vez recolectada, la muestra de GJ se conservó en recipientes herméticos para su posterior traslado a las instalaciones del laboratorio de la Escuela de Ingeniería química de la UIS, para la caracterización físicoquímica. Las variables evaluadas fueron: pH, concentración de Sólidos Totales (ST), concentración de Sólidos Volátiles (SV), alcalinidad (ALC), concentración de Ácidos Grasos Volátiles (AGV) y relación de carbono/nitrógeno (C/N). Los análisis físicoquímicos realizados a la GJ fueron de acuerdo con los procedimientos establecidos por Van Soest y los *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater*. [APHA. 1998]. De forma paralela La GJ fue caracterizada en el laboratorio de consultas industriales de la UIS y laboratorio Dr. Calderón. El análisis incluyó la determinación de la humedad, cenizas, fósforo, calcio, cobre, magnesio, potasio, sodio, hierro, cinc, magnesio, azufre, pérdidas por volatilización, manganeso, boro. Adicionalmente al sustrato se le realizó un Análisis Elemental, para determinar el contenido de Carbono Total, Hidrógeno, Oxígeno Total y Nitrógeno Total.

Imagen 1. Gallinaza de jaula



Fuente: El Autor

2.1.2 Inóculos para digerir la GJ

Como inóculos en el proceso de digestión para la bioproducción de metano a partir de la gallinaza se estudiaron tres consorcios, el lodo estiércol de cerdo (LEC), el estiércol bovino (EB) y el lodo de un sistema de tratamiento de aguas residuales domésticas (LPTAR). El LEC se obtuvo de la granja porcícola Vista Hermosa ubicada en la vereda Rayitos en el municipio de Lebrija. Dado que las muestras de LEC no fueron recolectadas de una laguna de estabilización, como es usual para este tipo de estudios, sus características corresponden más a aguas residuales provenientes de porquerizas. El EB fue recolectado en los establos del frigorífico Vijagual, Rionegro-Santander y el LPTAR se extrajo del sistema de tratamiento de aguas residuales domésticas del alojamiento principal de la granja Bellavista, que corresponde a las aguas residuales generados por 30 personas aproximadamente.

El protocolo de toma de muestra de inóculos se describe en el anexo B. Luego del muestreo el LEC, el EB y el LPTAR se sometieron a caracterización. Las variables estimadas fueron: pH, densidad, humedad, concentración de sólidos totales (ST), concentración de sólidos volátiles (SV), alcalinidad (ALC), concentración de ácidos grasos volátiles (AGV), sólidos suspendidos totales (SST) y sólidos suspendidos volátiles (SSV). [BULLOCK, *et al.* 1999]. [DÍAZ S, *et al.* 2002].

Imagen 2. Lodo estiércol de cerdo



Fuente: El Autor

Imagen 3. Estiércol bovino



Fuente: El Autor

Imagen 4. Lodo PTAR



Fuente: El Autor

2.1.3 Determinación de la actividad hidrolítica (AH)

Para evaluar la actividad hidrolítica de los consorcios microbianos presentes en cada tipo de inóculo, se analizó la capacidad para hidrolizar celulosa de los mismos [HU *et al*, 2006]. Los ensayos de AH se realizaron, para cada tipo de inóculo, en biodigestores de 50 mL de capacidad. Se inoculó un volumen equivalente a 1,5 g/L de sólidos suspendidos volátiles (SSV), y se aforó con medio mineral de Balch [DÍAZ S. *et al*, 2002], hasta completar un volumen de operación de 35 mL. El medio Balch

se preparó siguiendo el protocolo registrado en el anexo G. Los experimentos se realizaron por duplicado durante 24 horas a una temperatura de incubación de 39 ± 2 °C.

En el ensayo de la actividad hidrolítica se usaron 16 g/L de celulosa (papel filtro cuantitativo *Schleicher & Schuell*, 589/1, 110 mm), agregados a los biodigestores a manera de sustrato modelo. Para determinar la concentración de azúcares reductores presentes tras la hidrólisis de la celulosa, se implementó espectrofotometría, según el método colorimétrico de Ácido Di-nitro.salicílico (DNS) descrito en el anexo D.

El montaje de experimentos consistió en 16 biodigestores para cada inóculo. Cada 3 horas y durante 24 horas se tomaron muestras destructivas de dos biodigestores, para la medición de azúcares por duplicado. Se tomaron de cada biodigestor 5 ml de muestra y se centrifugaron a 10000 rpm durante 15 minutos. El sobrenadante se recogió y se mantuvo a 4°C para su análisis posterior. La producción de ART durante la hidrólisis de la celulosa fue cuantificada a través de un espectrofotómetro GENESYS 20 thermo spectronics a 540 nm según el método del DNS [MILLER, 1959]. La actividad hidrolítica de cada sustrato se determinó usando la velocidad máxima inicial de ART en términos de g DQO glucosa/ g SSV*día.

2.1.4 Determinación de la actividad metanogénica (AME)

Los ensayos para la evaluación de la AME (anexo F) se realizaron para cada tipo de inóculo, en biodigestores de 50 ml de capacidad; que posteriormente fueron inoculados con un volumen equivalente a 1,5 g/L de SSV y aforados con medio mineral Balch (anexo H) hasta un volumen de operación de 35 mL. El medio además contenía 2,5 mL de ácido acético (100 g/L) como sustrato modelo. Los experimentos se realizaron por triplicado durante 3 días a $39 \pm$ °C. El volumen de metano se

cuantificó por el método de desplazamiento alcalino [ANGELIDAKI, 2009]. Para la determinación de la AME se usó la ecuación 3.:

$$AME = \frac{P}{FC * V * SSV} \quad (\text{Ec. 3})$$

Donde:

AME = Actividad metanogénica específica (g DQO/ g SSV* día)

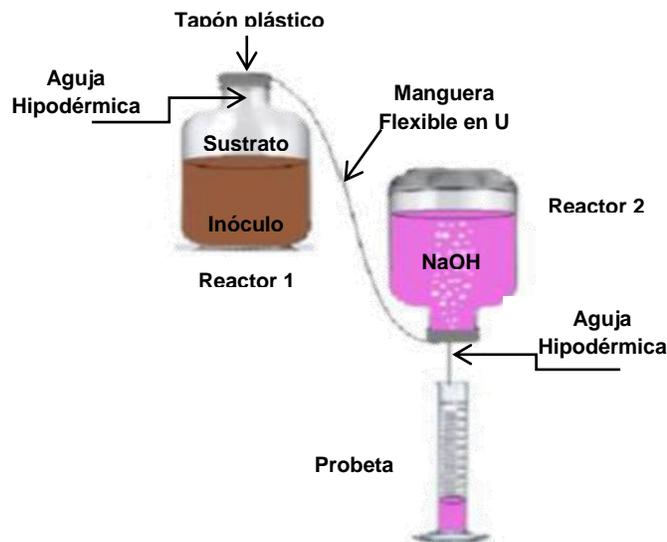
P = Máxima pendiente de la cinética de producción de metano para cada experimento (mL/d)

FC = Factor de conversión de g DQO (430 mL CH₄ húmedo/ g DQO a 39°C)

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

SSV = Concentración de sólidos suspendidos volátiles en el inóculo (g/L)

Figura 2. Método de desplazamiento alcalino



Fuente: El Autor

2.1.5 Selección de la mejor relación inóculo sustrato (RIS) para digestión anaerobia de gallinaza.

La relación inóculo sustrato (RIS) se expresa en función del contenido de sólidos volátiles en el inóculo por la concentración de sólidos volátiles adicionados en el

sustrato. En la DA la RIS es un parámetro esencial a nivel operacional, ya que especifica el potencial de biometanización de cualquier residuo [CHEN T, *et al*, 1996]. En este sentido la determinación de la mejor RIS se constituye como un parámetro de operación obligatorio.

Para determinar la mejor RIS, una vez seleccionado el mejor inóculo, se configuró experimentalmente, en discontinuo la digestión anaerobia de la GJ. Se utilizaron como biodigestores, botellas de vidrio de 500 mL gaseadas con N₂ para garantizar condiciones de anaerobiosis. La influencia de la RIS como variable, se evaluó mediante pruebas, en un periodo de 8 días. A los biodigestores se adicionó una cantidad determinada de GJ (sustrato) y EB (inóculo) y se sellaron con tapones de butilo y agrafes de aluminio. A partir de un volumen de operación fijo de 350 mL, se variaron las cantidades de GJ y EB expresadas en g SV, para obtener RIS de 0,5, 1 y 1,5. Se seleccionó este rango específico de RIS, partiendo de trabajos de investigación en DA, que sugerían intervalos similares para que la evaluación abarcara los niveles de experimentación bajo, medio y alto [CASTRO, 2010, RAPOSO *et al*, 2006.] La Tabla 9 resume las condiciones de operación del montaje experimental para la selección de la RIS para la DA de GJ y EB.

Tabla 9. Condiciones de operación para la DA para RIS de 0,5 - 1 y 1,5.

Parámetro	RIS 0,5	RIS 1	RIS 1,5
Cantidad de sustrato GJ (118 g SV/L)	240 g	156 g	139 g
Cantidad Inóculo EB (85,82 g SV/L)	128 mL	203 mL	221 mL
Temperatura	39°C		
Volumen de Operación	350 mL		
Volumen del Reactor	500 mL		
Agitación	Intermitente		

Fuente: El Autor

Los experimentos se realizaron por duplicado. Se realizó paralelamente bajo las mismas condiciones de operación, un experimento blanco, con una cantidad fija de inóculo y volumen de operación completado con agua destilada con el fin de monitorear el comportamiento del sistema sin la adición de gallinaza. Al volumen final de biogás producido por el sustrato se restó el volumen de metano producido por el blanco.

Imagen 5. Montaje de biodigestores para digestión anaerobia



Fuente: El Autor

La evolución y estabilidad del proceso de la DA se monitoreó cuantificando las variables: ART, AGV, AGV/AT, pH y volumen de CH₄ producido. En la Tabla 10 se presentan las variables de respuesta del proceso, la periodicidad de medición y el método usado para la cuantificación.

Tabla 10. Variables de respuesta de la DA de GJ

Variable monitoreada	Unidad	Periodicidad	Método
Azúcares reductores totales (ART)	mg/mL	Cada 2 días	Colorimétrico usando ácido 3-5 dinitrosalicílico (DNS) Anexo D
Ácidos grasos volátiles (AGV)	mg/L	Cada 2 días	Titulación Anexo I
Alcalinidad total (AT)	mgCaCO ₃ /L	Cada 2 días	Titulación Anexo I
Sólidos volátiles SV	g/L	Cada 2 días	Gravimétrico Anexo E
pH		Cada 2 días	Potenciométrico/NTC 5167
Volumen de metano	mL	Diario	Desplazamiento alcalino

Fuente: El Autor

2.1.6 Propuesta: biogás de gallina para energía de cocinador de mortalidad de la granja Bellavista-horizonte.

Esta etapa se enfocó en evaluar la cantidad de gallinaza que se requiere digerir para suplir el requerimiento energético del cocinador de mortalidad de la granja. La propuesta preliminar de escalado del proceso de digestión anaerobia de gallinaza, se estructuró con base en tres ejes conceptuales primarios. La necesidad energética a suplir, el dimensionamiento de equipo y la localización de la unidad de operación dentro de las instalaciones de la granja Bellavista.

La etapa de disposición final de la mortalidad, consiste en la deshidratación de las aves muertas hasta convertirlas en harina de gallina (Harigally). Se utiliza para tal fin un cocinador o deshidratador de la mortalidad. Una vez los cadáveres son retirados del galpón son llevados al cocinador para dar inicio al proceso. Se alimenta el tanque de cocción con aproximadamente 250-300 aves con un peso aproximado de 1800 g/ave y se da arranque al equipo. El ave está compuesta por 80% de agua y 20% de sólidos entre fibra, proteínas, grasa. La función del cocinador es retirar ese 80% de agua de las aves a través de la cocción mediante la exposición directa de la llama del quemador industrial a la parte inferior del tanque, llevando el proceso a temperaturas de evaporación superiores a 100°C durante un tiempo de 4 horas aproximadamente.

Imagen 6. Disposición final de la mortalidad de la granja Bellavista por medio del cocinador.



Fuente: El Autor

En la Tabla 11 se presentan las características térmicas del cocinador de mortalidad

Tabla 11. Características técnicas del cocinador de mortalidad granja Bellavista

CARACTERÍSTICA	DESCRIPCIÓN
Longitud total	3,30 metros
Ancho total	1,56 metros
Alto total	2,40 metros
Material	acero inoxidable 304 espesor ¼"
Capacidad	500 aves
Tipo de secado	deshidratador con agitadores
Calentamiento	quemadores tipo industrial
Combustible	gas propano(GLP) g 20
Velocidad de giro	30 rpm
Potencia	550 kw
Flujo	55 m ³ /h
Tensión de alimentación	440 v
Evacuación de gases de cocción	chimenea - tiro natural
Evacuación de gases de combustión	chimenea - tiro natural
Diámetro chimenea gases de cocción	20 cm
Diámetro chimenea gases de combustión (2 unds)	15 cm
Tipo de quemador	on –off / ref rs 44 – 1 riello
Tipo de giro	variador de velocidad
Control de temperatura	tipo p.i.d

Fuente: El Autor.

3 RESULTADOS Y ANÁLISIS.

3.1 CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DEL SUSTRATO

La Tabla 12 presenta la caracterización fisicoquímica de la GJ.

Tabla 12. Caracterización fisicoquímica de la gallinaza

Parámetro	Unidades	Valor
ALCALINIDAD	CaCO ₃	4050
AGV	mg/L	6720
pH	-----	7,86
Humedad	%	77,7
Cenizas	%	7,28
Carbono Orgánico Oxidable total	%	28,73
Nitrógeno	%	2,23
Densidad	g/mL	1,048
Sólidos Totales (g/L)	g/L	145,47
Sólidos Volátiles (g/L)	g/L	118

(Ver anexo J, caracterización elemental de la gallinaza de jaula)

Fuente: El Autor

Con las características fisicoquímicas de la gallinaza, es posible determinar su potencial como sustrato para DA. El uso de la GJ está justificado por el porcentaje de carbono orgánico oxidable total reportado en la tabla 12. Los niveles de humedad alto indican potencial para el desarrollo de consorcios microbianos. Los SV y ST indican un contenido importante de materia orgánica disponible. La producción de biogás en un proceso de DA es bastante sensible a la inhibición cuando algunos parámetros como la relación carbono/nitrógeno o el pH no están dentro de rangos específicos de operación. En este sentido, relaciones C/N inadecuadas pueden

generar un aumento de las concentraciones de nitrógeno amoniacal libre o de ácidos grasos volátiles; que son inhibidores potenciales [PARKIN, 1983]. La GJ caracterizada presenta una relación C/N de 12,9 bastante baja. Por consiguiente la selección del inóculo se debe tener en cuenta este valor, para intentar equilibrarlo en rangos que permitan amortiguar este efecto. Por otro lado el pH de 7,86 de la GJ está dentro del rango de operación en el que se desarrolla la DA, que según lo reportado en literatura es 7,2 -8,0 [RAPOSO et al, 2006].

3.2 CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DEL INÓCULO

La Tabla 13 presenta la caracterización fisicoquímica de los inóculos estudiados.

Tabla 13. Caracterización fisicoquímica de los inóculos

Parámetro	Unidades	EB*	LPTAR	LEC
Alcalinidad	mg CaCO ₃ /L	8400	2100	1150
pH	-----	8,45	7,0	7,4
AGV	mg/L	8640	2280	2520
Humedad	(%)	86,20	80	77
Densidad	(g/mL)	1,0246	0,906	1,04105
Sólidos Totales	(g/L)	114,55	79,52	68,19
Sólidos Volátiles	(g/L)	85,80	52,97	57,09

(* Ver anexo K. Caracterización elemental del estiércol bovino)

Fuente: El Autor

Los inóculos evaluados presentan pH adecuados para procesos de DA, ya que se encuentran dentro del rango 6,5 – 8 [RAPOSO *et al* 2011; MATA-ALVAREZ 2000, KUMAR, 2008]. Además porcentajes de humedad que posibilitarían el medio fluido idóneo para la actividad microbiana. Los altos valores reportados en sólidos volátiles y totales son alentadores ya que constituyen una medida aproximada de la carga

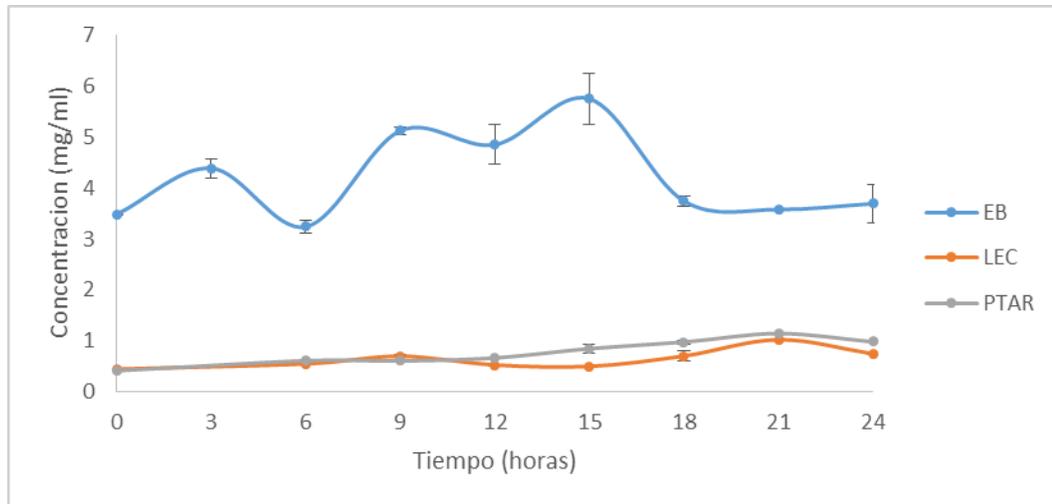
microbiana presente en los inóculos [BULOCK *et al*, 1989]. Las concentraciones de AGV se mantienen para el LPTAR y el LEC bajo el límite de inhibición de 8000 mg/L, una ventaja a la hora de evitar inhibición en la DA. [CIRNE *et al*, 2007]. El EB compensa sus altas concentraciones de AGV, con una alcalinidad elevada.

3.3. ACTIVIDAD HIDROLÍTICA DE LOS INÓCULOS UTILIZANDO CELULOSA COMO SUSTRATO

En la Figura 3, se presenta la cinética de producción de azúcares reductores para cada uno de los inóculos evaluados, usando celulosa como fuente de carbono. La gráfica corresponde al monitoreo que durante 24 horas se le realizó a la actividad hidrolítica de los consorcios microbianos. Se observa que la concentración de azúcares de arranque para el EB es de 3,5 mg/ mL y para el LEC y PTAR se mueve en el rango de 0,44 - 0,4 mg/mL. La variación de concentración de un tipo de inóculo a otro, se debe principalmente a que provienen de matrices diferentes y por tanto vienen con características nativas distintas.

Durante las primera horas, hay una baja actividad hidrolítica en los consorcios bacterianos, hecho evidenciado en que no se registran aumentos significativos en la concentración de azúcares reductores durante las primeras 9 horas. La baja producción durante las primeras horas puede asociarse a un proceso de adaptación de las bacterias hidrolíticas, presentes en el consorcio microbiano; una tendencia similar se reporta en investigaciones anteriores [CASTRO *et al*, 2010]. Alrededor de las 15 y 21 horas se registra un aumento en la producción de azúcares. Obteniendo concentraciones máximas de 5,75 mg/mL, 1,01 mg/mL, y 1,14 mg/mL; para EB; LEC Y PTAR, respectivamente. Valores más bajos fueron reportados por otros autores para el mismo tipo de inóculos [QUINTERO, *et al* 2011; CASTRO *et al* 2010], dicho contraste puede estar asociado a diferencias en las características específicas del consorcio o la fuente de donde se extrajo cada tipo de inóculo.

Figura 3. Producción de ART para cada inóculo usando celulosa como sustrato.



Fuente: El Autor

A partir de las velocidades de producción de azúcares reductores se obtiene la actividad hidrolítica para cada tipo de inóculo, en el anexo C se especifica el método de cálculo. Los resultados de la AH se reportan en Tabla 14.

Tabla 14. Actividad hidrolítica de EB, LEC, LPTAR

Inóculo	AH (mg /ml hora)
EB	0,6711
LEC	0,1071
LPTAR	0,0614

Fuente: El Autor

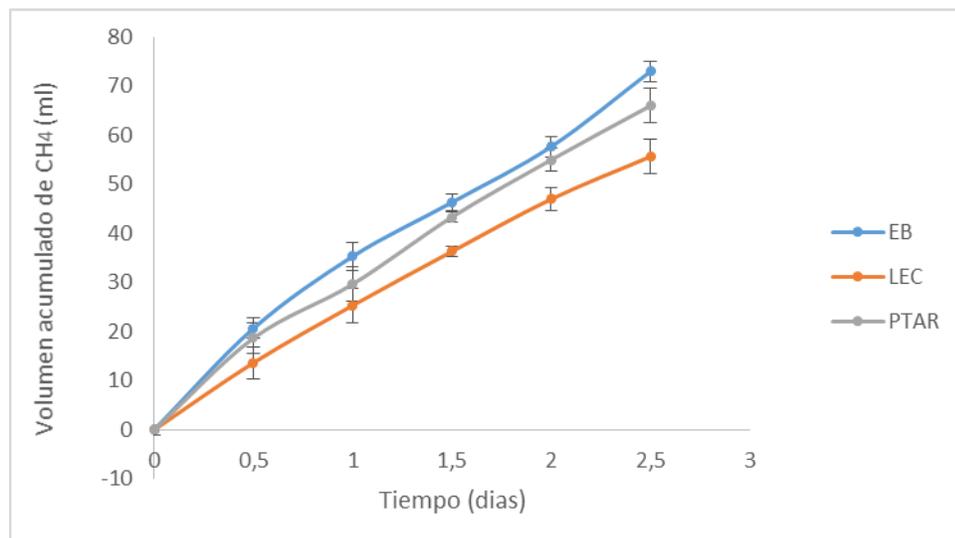
El primer parámetro considerado para seleccionar el mejor tipo de inóculo es la actividad hidrolítica, a partir de los resultados el inóculo con el consorcio hidrolítico que presenta mayor actividad es el estiércol bovino. Lo que indica que los microorganismos de este inóculo, presentan el potencial para degradar

carbohidratos complejos como la celulosa a azúcares más pequeños y por ende, pueden llegar a actuar de forma análoga con la materia orgánica presente en la GJ.

3.4 ACTIVIDAD METANOGENICA ESPECIFICA PARA: LEC, LPTAR Y EB

La Figura 4 reporta, la producción acumulada de biogás registrada durante 72 horas para los tipos de inóculos evaluados. La gráfica presenta tendencias crecientes donde el EB describe la mejor capacidad de transformación de sustrato con un volumen acumulado de 88,33 mL de biogás al final del monitoreo, lo que representa un aumento del 39% de la producción con respecto al lodo PTAR. El comportamiento de la curva de EB puede atribuirse a altas concentraciones de sólidos volátiles y totales en la muestra de estiércol bovino usada para la evaluación, dichas concentraciones son una medida de la cantidad de materia orgánica y microbiana disponible en el inóculo [BULLOCK *et al*, 1989].

Figura 4. Producción de biogás para EB, LEC, LPTAR utilizando ácido acético como sustrato



Fuente: El Autor

Utilizando las cinéticas anteriores se calculó la actividad metanogénica específica AME para cada inóculo como se indica en el aparte 2.1.4. Los valores de AME se registran en la Tabla 15.

Tabla 15. Actividad metanogénica específica para los inóculos: EB, LEC, LPTAR

INÓCULO	AME (g DQO/ g SSV día)
EB	0,741
LEC	0,244
LPTAR	0,663

Fuente: El Autor

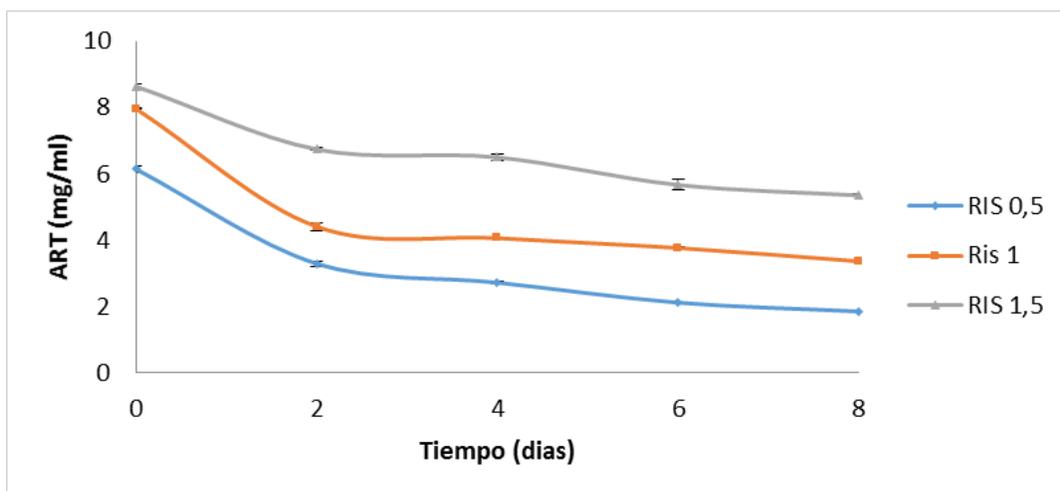
Los mejores resultados en la actividad metanogénica se registran para el EB evaluado. En este sentido, el inóculo refleja que la población de su consorcio encargada de la metanogénesis, presenta una excelente capacidad para transformar de manera efectiva los ácidos grasos volátiles (AGV) en acetato y luego en metano [KUMAR, 2008].

La evaluación de la actividad hidrolítica y metanogénica arrojó, que de los tres inóculos, el EB tiene un mejor desempeño para la DA; ya que su consorcio microbiano demostró tener la sinergia necesaria para una producción de biogás funcional. Seleccionado el inóculo, las siguientes etapas de este trabajo se realizaron usando únicamente el EB.

3.5 SELECCIÓN DE LA MEJOR RIS PARA DIGESTIÓN ANAEROBIA DE GALLINAZA Y ESTIÉRCOL BOVINO.

En la Figura 5, se exhibe el consumo de los azúcares reductores totales para distintas RIS, durante la DA de gallinaza y estiércol bovino, a una temperatura de incubación de 39°C, sin agitación.

Figura 5. Consumo de ART durante la DA de GJ y EB



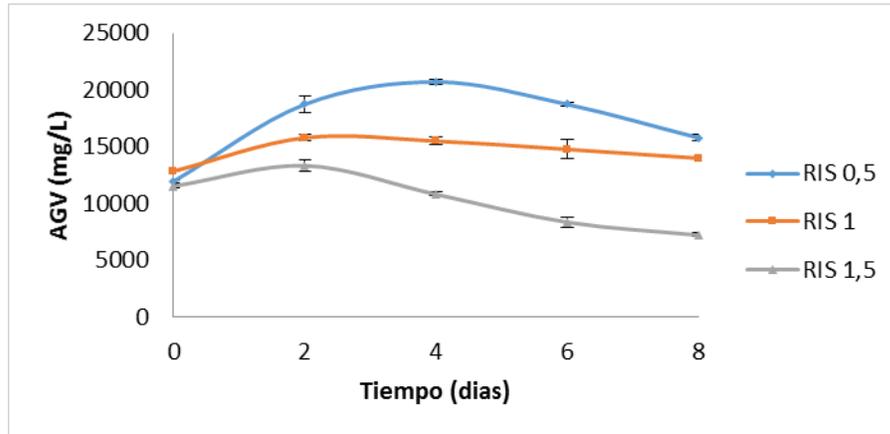
Fuente: El Autor.

Las gráficas presentan la tendencia decreciente que corrobora el consumo de los ART con el tiempo, propia de la DA [BATSTONE *et al*, 2002.] Se puede observar que la concentración de azúcares reductores en el arranque aumenta con la RIS.

El porcentaje de consumo de azúcares para las tres RIS oscila entre 38% y 69%. Se observa que durante los dos primeros días, la velocidad de consumo es significativamente mayor, durante el resto de días la concentración tiende a estabilizarse en el tiempo. Dicho comportamiento permite afirmar que para las tres RIS hay estabilidad en la etapa hidrolítica [MANDIGAN *et al*, 2006].

En la Figura 6, se evidencia el comportamiento de los ácidos grasos volátiles (AGV) en el tiempo. Para cada RIS.

Figura 6. AGV durante la DA de GJ a diferentes RIS



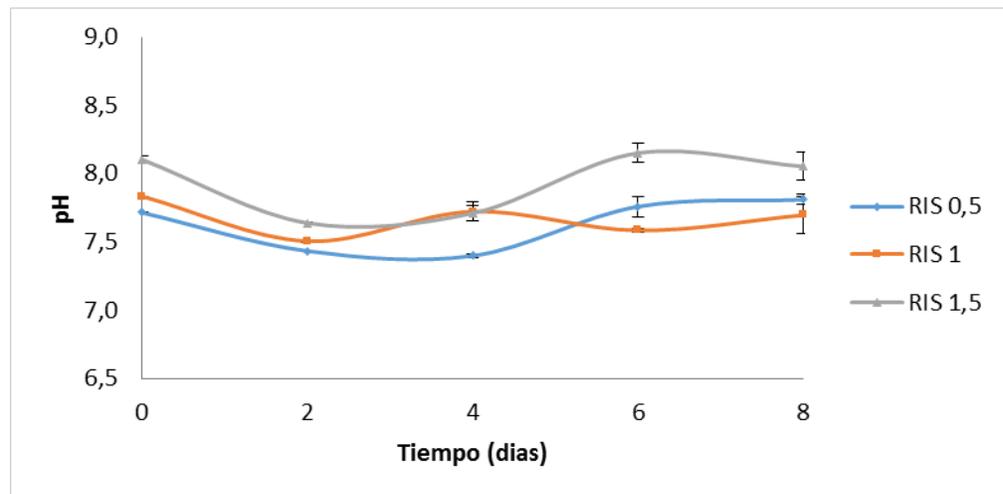
Fuente: El Autor

La concentración de AGV tiende a aumentar durante los primeros días, presentando un pico de concentración máxima, para luego disminuir, una tendencia esperada en DA [CIRNE *et al*, 2007]. Los picos se registran para la RIS 1 y 1,5 alrededor del día 2, mientras para la RIS 5 se presenta hasta el día 4. En DA el consumo de AGV, está directamente relacionado con la producción de acetato [WANG *et al*, 1999]. Sin embargo, altas concentraciones de AGV, pueden conducir a la inhibición del proceso. En este sentido, la disposición de las curvas permite observar que a mayor RIS las concentraciones globales de AGV disminuyen, lo que favorece la DA. Los rangos de concentración de AGV para las tres RIS oscilan entre 5000 y 20000 mg/L.

La literatura reporta peligro de inhibición para concentraciones mayores de 8000 mg/L [CASTILLO *et al*, 2007]. Las elevadas concentraciones de AGV reflejadas en estos resultados, pueden deberse a una baja relación C/N en el sistema. Sin embargo, la alcalinidad reportada para el proceso también presentó valores bastante elevados, lo cual permite amortiguar el efecto inhibitorio de los ácidos sobre el consorcio para una DA estable. Los resultados obtenidos en este estudio son bastante concordantes con los reportados en estudios anteriores. [XIE *et al* 2010; GELEGENIS *et al*. 2007].

La Figura 7 reporta la variación del pH durante el proceso de DA de GJ y el EB, para las distintas RIS.

Figura 7. Comportamiento del pH durante la digestión anaerobia de GJ y EB.

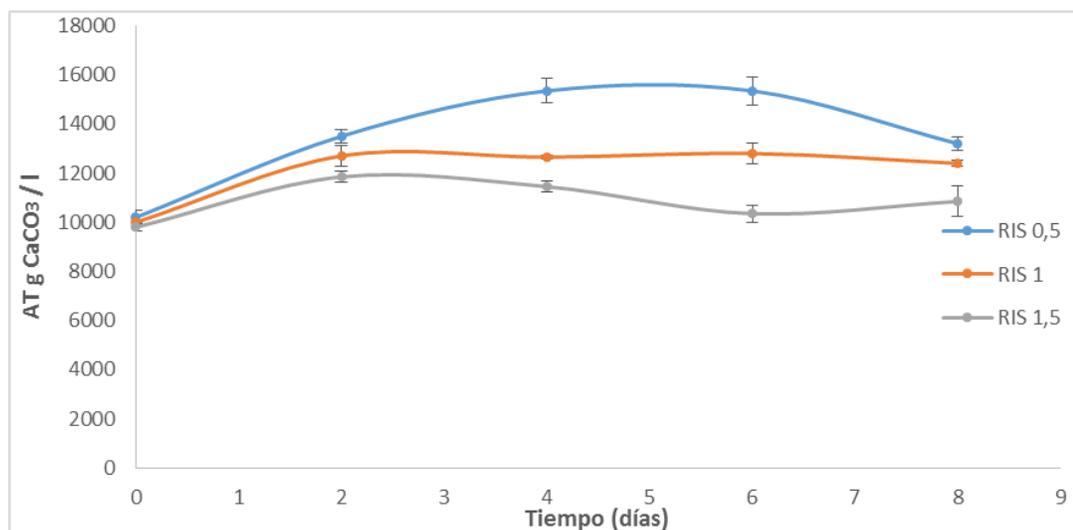


Fuente: El Autor

La evolución del pH, para las diferentes RIS, presentó un comportamiento bastante similar. El pH tiende a disminuir en el arranque de la DA debido a la formación de AGV. Sin embargo, después de cuatro días se incrementa gradualmente hasta estabilizarse. Para las tres RIS, el pH del proceso se mantiene en el intervalo de operación aceptable para la actividad microbiana [YADVOKA *et al.* 2004]. En general, se puede observar que la DA de la GJ con EB, a distintas RIS, es un proceso con estabilidad de pH, lo que favorece la no mortalidad de los grupos tróficos presentes en el inóculo.

La Figura número 8. Expone el comportamiento de la alcalinidad Total del sistema, durante la digestión anaerobia, para las distintas RIS.

Figura 8. Alcalinidad total durante la DA de GJ y EB

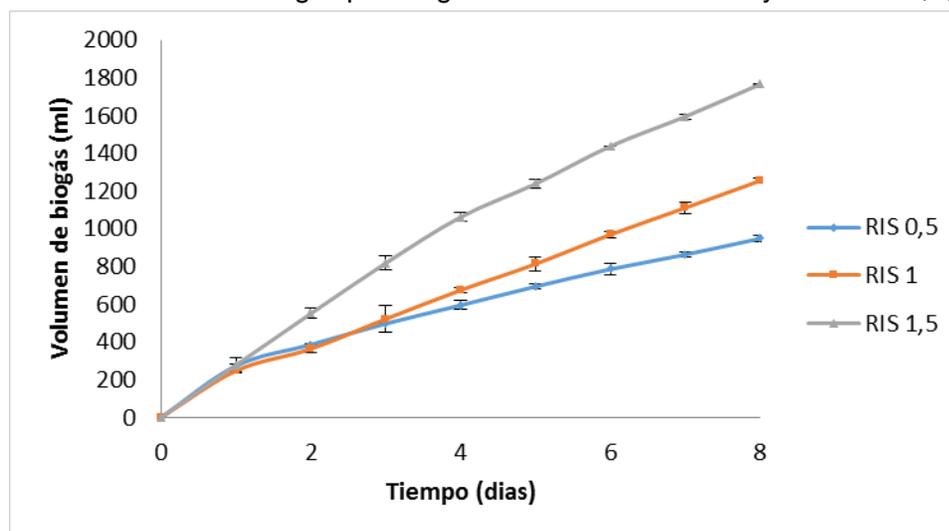


Fuente: El Autor

Es recomendable que en el proceso de DA, la relación AGV/AT se mantenga en un rango 0,1-0,8 mg CaCO₃/L. Para las tres RIS. La alcalinidad del proceso osciló entre 10000 y 15000 mg CaCO₃/L; estos valores son altos dado que los AGV alcanzaron niveles también elevados, las relaciones AGV/AT se desarrollaron en un orden de 0,6 a 1,4 mg CaCO₃/L. Para el caso de la gallinaza, este comportamiento puede estar asociado a sus altos contenidos de amonio. Sin embargo como lo menciona Angelidaki (2003), en las DA de gallinaza se pueden presentar interacciones entre la producción de AGV y pH que conducen a un estado de equilibrio [ANGELIDAKI *et al*, 2003; CHEN T. *et al*. 1996; SANDERS *et al*. 2002]. Al observar el completo de la evolución de AGV, pH y producción de biogás, se puede concluir que el proceso de DA de la gallinaza, aún con rangos inhibitorios para la variable AGV/AT, presentó un comportamiento de equilibrio, en la producción final de biogás.

Con la Figura 9 se expone la producción de CH₄ para la digestión anaerobia de gallinaza y estiércol bovino para las distintas RIS.

Figura 9. Producción de biogás para digestión anaerobia de GJ y EB. RIS 0,5, 1 y 1,5



Fuente: El Autor

Las curvas ascendentes denotan una producción regular de biogás durante el proceso de DA. Para las tres RIS se reporta un arranque de producción similar, demarcándose diferencias significativas a partir del segundo día. Los máximos de producción para la RIS de 0,5, 1 y 1,5 fueron: 948,41 mL, 1254,51 mL y 1765,49 mL respectivamente. Los resultados apuntan a que una disminución en el valor de la RIS, se traduce en una disminución del rendimiento de producción de biogás; es decir a menor carga orgánica adicionada, menores volúmenes de biogás obtenidos al final de la DA. Este comportamiento es coherente con los resultados reportados por Raposo *et al* (2006) para la digestión anaerobia de distintos sustratos sólidos orgánicos.

La Tabla 16 resume para cada RIS el volumen acumulado y el rendimiento (Y_p/s) expresado como volumen de metano obtenido por peso de sólidos volátiles del sustrato.

Tabla 16. Rendimientos para las RIS 0,5- 1- 1,5

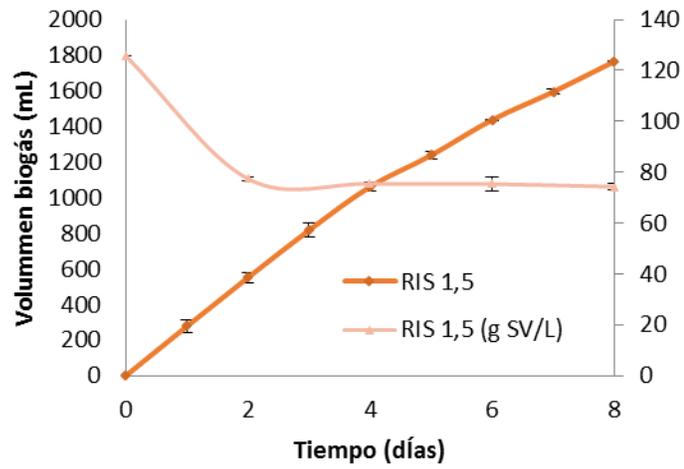
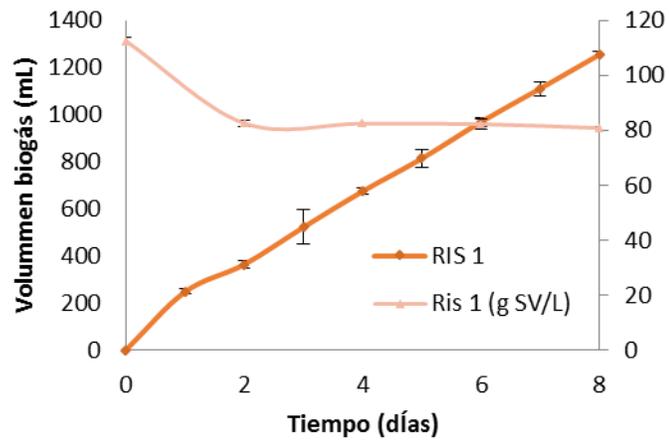
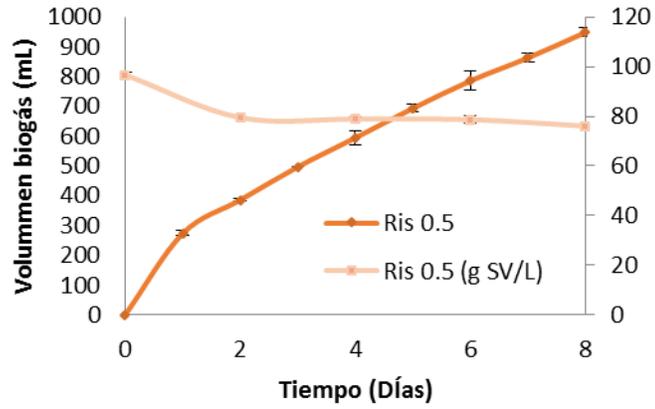
RIS	Volumen acumulado (ml)	$Y_{P/S}$ (m ³ biogás/kg sv sustrato)
0,5	948,41	0,04
1	1254,51	0,08
1,5	1765,49	0,14

Fuente: El Autor

Se observa que la RIS de 0,5 presenta el rendimiento más bajo, lo cual no favorece la DA de la GJ. Sin embargo la RIS de 1,5 presenta un rendimiento de 0,14 m³ biogás/kg SV. Se obtuvieron rendimientos menores que los reportados por Castro (2012) para un proceso de DA de bagazo de fique para RIS cercanas a las de este estudio.

La Figura 10 describe el proceso de DA a partir del comportamiento de los sólidos volátiles (SV) confrontados al volumen de biogás acumulado. Para las tres RIS se observa la disminución de los SV conforme se produce el biogás. Una tendencia típica en procesos de DA [CASTRO 2010]. Considerando que los SV son una medida de la materia orgánica disponible para remoción.

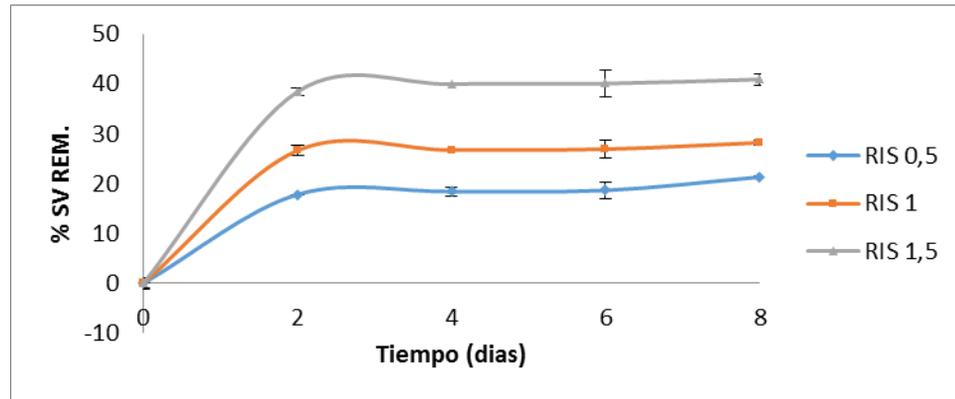
Figura 10. SV y producción de biogás durante la DA de GJ y EB



Fuente: El Autor

Una medida que cuantifica la eficiencia de los procesos de DA, es el porcentaje de sólidos removidos durante el proceso, como lo detalla para las tres RIS evaluadas, la Figura 11.

Figura 11. Porcentaje de remoción de sólidos durante la DA



Fuente: El Autor

Los porcentajes de remoción para la DA de GJ y EB en las tres RIS evaluadas oscilan entre 17,8% y 40,9 %, porcentajes que resultan prometedores considerando el tiempo de operación del proceso.

EL monitoreo de las variables de respuesta del proceso de DA usando GJ como sustrato y EB como inóculo, arrojó para las distintas RIS, resultados esperados para este tipo de procesos. Para seleccionar la RIS se consideraron: la estabilidad en las variables de respuesta, las producciones de biogás y el enfoque del trabajo de aplicación. En este sentido, se seleccionó la RIS de 1,5 ya que reportó los mejores resultados de producción de biogás, los mejores porcentajes de remoción de sólidos y presentó el rendimiento más alto entre las RIS evaluadas.

3.6 PROPUESTA: BIOGÁS DE GALLINA PARA ENERGÍA DE COCINADOR DE MORTALIDAD DE LA GRANJA BELLAVISTA-HORIZONTES.

- **Requerimientos energéticos de la granja bellavista**

La granja Bellavista-Horizontes consume anualmente 212 cilindros de GLP, lo que equivale a 134234,72 kW/h al año. Es decir un consumo diario de alrededor de 373 kWh.

- **Dimensionamiento de la unidad de operación para DA**

A nivel de este estudio, la unidad de operación a estructurar fue un biodigestor en operación batch. En lo operacional, estos reactores se cargan una sola vez en forma total y la descarga se efectúa una vez que ha dejado de producir gas combustible [DE OLIVEIRA, 2003].

Los biodigestores consisten en tanques herméticos con una salida de gas conectada a un gasómetro flotante, donde se almacena el biogás. El volumen del tanque se calculó en función de tiempo de retención y el volumen de carga. El tiempo de retención es el tiempo transcurrido entre la carga y la descarga del sistema [MARTI 2008]; está relacionado con la velocidad de degradación. En la DA, la velocidad de degradación del sustrato por parte de los consorcios microbianos, está relacionada con la temperatura. La DA de la GJ de este estudio, se realizó a escala laboratorio a 39°C; sin embargo este diseño preliminar se plantea a temperatura ambiente. Por lo anterior, se tuvo en cuenta las recomendaciones de MARTI (2008) quien considera un tiempo de retención cercano a los 25 días.

En cuanto a la geometría y dimensionamiento del biorreactor se tomó como base las recomendaciones de MARTI (2008), para estructurar un tanque cilíndrico con una relación óptima de altura (H) a diámetro (D) de 7 [MARTI 2008]. A esta escala operacional es necesario agitar de forma intermitente y a baja velocidad, la masa reaccionante, para garantizar la homogenización de sustrato/inóculo/producto durante el proceso. Para este fin, la literatura recomienda en promedio 40 RPM.

[CRISTANCHO. 2005]. Sin embargo, dado que el rendimiento de la DA no fue muy elevado, y que aún no se ha evaluado el proceso en continuo, la variable agitación no se consideró dentro de los requerimientos de diseño.

Según Amon (2007) la producción de 10 kW/h de energía por DA, se obtiene por 1 m³ de metano [AMON,2007]. Adicionalmente Castro (2010) reportó que en promedio el biogás obtenido por DA contiene 65% de metano [CASTRO, 2010].

Por consiguiente, La capacidad de los biodigestores se estimó a partir de una base de cálculo, sobre los requerimientos energéticos del cocinador de mortalidad que consume 212 cilindros de GLP al año; que equivaldrían a un consumo diario de 372,87 kWh, que se suplirían con una producción de 196,24 m³ de metano al día.

Para calcular las cantidades de GJ y EB, el volumen del biodigestor y sus dimensiones se siguieron los siguientes pasos:

Con la eficiencia reportada en los resultados experimentales para una RIS de 1,5 la concentración del metano en el biogás y el requerimiento energético se calcula la cantidad en m³ de metano necesario para suplir la necesidad.

Con la cantidad de metano y el rendimiento, calculo la cantidad en kg de sólidos volátiles de la GJ necesarios para alcanzar dicho volumen. Con los sólidos volátiles de la GJ, se calcula la cantidad en litros necesaria de sustrato y con la RIS 1,5 se calcula la cantidad en volumen de inóculo. Con la suma de estos volúmenes obtenemos el volumen de carga (Vc), que representa la carga volumétrica necesaria de inóculo con sustrato, para suplir los requerimientos energéticos para un día. El volumen total de carga (Vt) se calculó usando la expresión reportada por Guevara (1996), expresada como ecuación 4:

$$Vt = Vc * Tr \text{ [m}^3\text{]} \quad (\text{ec.4})$$

Donde T_r es el tiempo de retención de 25 días. El volumen de se dividió en seis con el objetivo de plantear una batería de 6 biodigestores. La literatura recomienda un sobredimensionamiento de 1/3 para captación del gas. Por lo que el volumen de cada biodigestor se calculó a partir de:

$$V_r = V_t/6 + V_t/18 \text{ [m}^3\text{]} \text{ (ec. 5)}$$

Usando la relación L/D de 7 y la ecuación 6 que corresponde al volumen de un cilindro puedo establecer la longitud y diámetro de cada uno de los 6 biodigestores.

$$V_c = \frac{\pi D^2 L}{4} \text{ [m}^3\text{]} \text{ (ec.6)}$$

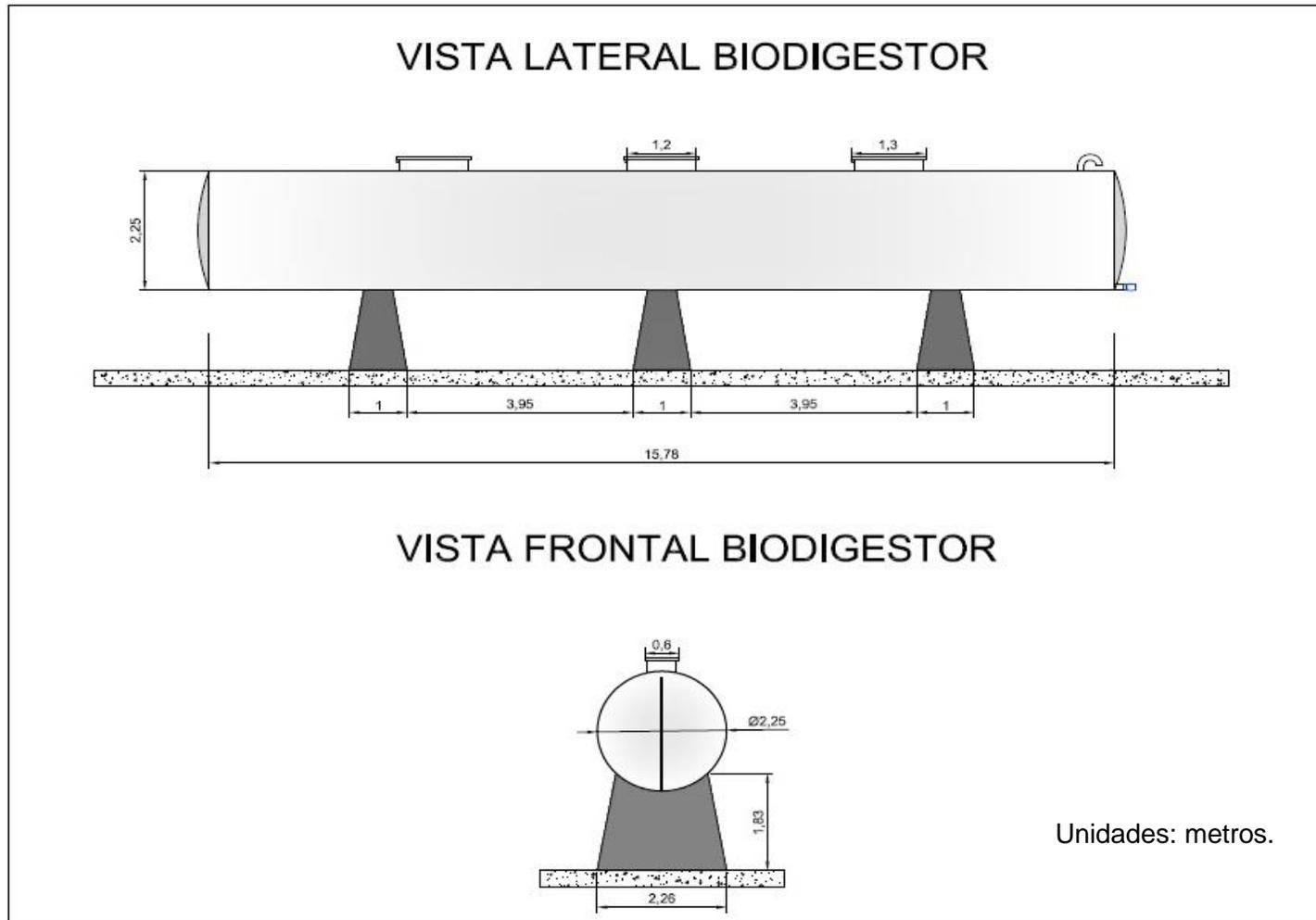
La Figura 12 muestra las dimensiones de cada biodigestor que conforma la batería. Seguido por la Tabla 17 con los valores numéricos obtenidos durante el dimensionamiento.

Tabla 17. Dimensionamiento de batería de seis biodigestores tipo batch

Requerimientos de los biodigestores.	
Necesidad energética	37,29 m ³
Volumen metano requerido	37,29 m ³
Volumen de gallinaza necesaria	4,17 m ³
Volumen de inóculo requerido	7,16 m ³
Volumen de carga (Vc)	11,33 m ³
Volumen total de carga (Vt)	283,29 m ³
Volumen de biodigestores (Vr)	62,95 m ³
Diámetro de biodigestores	2,25 m
Longitud de biodigestores	15,79m

Fuente: El Autor

Figura 12. Esquema de biodigestor y sus dimensiones



Fuente: El Autor

Es válido mencionar en este punto, que como producto adicional de la DA se obtiene un residuo de materia orgánica estabilizado. Teniendo en cuenta que tanto el inóculo como el sustrato son estiércoles de animales, y que por ende poseen elevadas concentraciones de patógenos, es recomendable adicionar cal a los residuos. Para su posterior uso en la recuperación de suelos infértiles.

A partir del dimensionamiento y la propuesta preliminar de aprovechamiento de la gallinaza., se puede deducir que es factible la configuración de diseños que satisfagan necesidades energéticas específicas de la granja Bellavista-Horizontes.

4. CONCLUSIONES

Es posible obtener un aprovechamiento energético para la gallinaza de jaula de la granja Bellavista-Horizontes (Mesa de los Santos-Piedecuesta), mediante el proceso de digestión anaerobia y producir biogás.

El estudio comparativo de la actividad hidrolítica (AH) y actividad metanogénica específica (AME), realizado al lodo estiércol de cerdo (LEC), lodo de planta de tratamiento de aguas residuales (LPTAR) y estiércol bovino (EB), permitió seleccionar a este último como el consorcio microbiano con mayor potencial para digerir la gallinaza de jaula (GJ). Los valores de 0,6711 mg/ml hora para la AH y de 0,741 g DQO/ g SSV día, para la AME del EB, corroboran que en este consorcio posee las características requeridas para la digestión anaerobia.

La digestión anaerobia de la gallinaza de jaula (GJ) a 39°C y utilizando una relación inóculo /sustrato (RIS) de 1,5 ofrece una producción de biogás de 0,14 m³ de biogás/ kg SV de sustrato adicionado; la cual equivale a un rendimiento de remoción de los sólidos de la gallinaza, equivalente al 40%. Teniendo en cuenta la producción teórica de biogás (a partir de la formula empírica de la GJ) se observa que durante el proceso aún quedo materia orgánica por digerir; sin embargo esta condición puede deberse al elevado contenido de amonio presente en el residuo.

Tomando como referencia las necesidades energéticas de la granja Bellavista, en el equipo de cocción de la mortalidad, correspondientes a 372,87 kW/h/día, se estableció que mediante el diseño de una batería de seis biodigestores, con un volumen total de 283,29 m³ y bajo operación batch, es posible llegar a producir ésta energía digiriendo 4367,55 kg/día de gallinaza.

5. RECOMENDACIONES

Estudiar la codigestión de la gallinaza de jaula, como alternativa para incrementar el rendimiento del proceso de digestión anaerobia. Para este fin se recomienda codigestar la gallinaza con otro residuo, que permita elevar la relación C/N, dado que la gallinaza posee elevado contenido de amonio. Para este fin se recomiendan residuos agroindustriales como la melaza, las aguas grasas del proceso de producción de aceite comestible (de girasol, ajonjolí, soya, etc), glicerol residual, etc.

Evaluar la digestión anaerobia de la gallinaza en operación continua, con agitación y a temperatura ambiente; como alternativa tecnológica de menor costo de operación.

Evaluar la codigestión de gallinaza (con algún de los residuos arriba recomendados) en operación continua, con agitación, temperatura ambiente; como alternativa industrial para la estabilización de la gallinaza de jaula.

BIBLIOGRAFÍA

AMON T; AMON B, KRIVORUCHKO V; MACHMULLER A; HOPFNER-SIXT K; BODIROZA V; HRBEK R; FRIEDEL J; POTSCH E; WAGENTRISTL H; SCHREINER M; ZOLLITSCH W. “*Methane production through anaerobic digestion of various energy crops grown in sustainable crop rotations*”. Bioresour. Technol. 2007, 3204-3212.

ANGELIDAKI I., ALVES M., BOLZONELLA D., BORZACCONI L., CAMPOS J., GUWY A., KALYUZHNYI S., JENICEK P., VAN LIER J. “*Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic waste and energy crops: a proposed protocol for batch assays*”. Water Scri. Technol., 59, 2009, 927-934.

ANGELIDAKI I. ELLEGAARD L. “*Codigestion of Manure and Organic Wastes In Centralized Biogas Plants*”. 2003, 109, 2-6.

ANGELIDAKI I, KARAKASHEV D, BATSTONE D.J, PLUGGE C.M, STAMS A.J. “*Biomethanation and Its Potential. En: Methods in Enzymology*”. 2011, 494, 327-351.

APPELS L., BAEYENS J., DEGREVE J., J DEWIL, R. “*Principles and potential of the digestion of waste activated sludge*”. Progress in energy and combustion science, 34. 2008, 755-781.

ARCOS L., OSSA F., DIAZ T. “*Criopreservacion de aislados nativos de la bacteria ruminal*” Fibrobacter succinogenes., Corpoica, 2004, 5.

BATSTONE, D. J., AND JENSEN, P. D. “*Anaerobic processes. In “Treatise on Water Science,”* (K. Hanaki, ed.), London, Chapter 2010, 97.

BULOCK J., KRISTLANSEN B. HAWAKES F., HAWAKES D. "*Anaerobic Digestion*". Academic Press, First Edition. London, United Kingdom, 1989, 337-358

CARDONA A., SANCHEZ O., RAMIREZ J., ALZATE L. "*Biodegradation of organic solid wastes from market places.*" Revista Colombiana de Biotecnología. 2 , 2004, 78-89 .

CASTELLÓ. "*La gallinaza. En: Selecciones Avícolas*". España. 5-35.

CASTILLO, E. VERGARA, M. CRISTANCHO, D. ARENAS, L. MARTINEZ, A. HERNANDEZ, M. LUNA, H. CASTILLOS, J. SANDOVAL, C. "*Digestión anaerobia una alternativa para el tratamiento de residuos sólidos urbanos*". 2007, 13-21.

CASTRO L., QUINTERO M., VELÁSQUEZ A., ORTIZ C., GUZMÁN C., ESCALANTE H. "*Influence of Particle size and temperature on methane production from fiques bagasse*". 2010. 12th world congress on anaerobic digestion .Mexico.

CIRNE D.G, PALOUMET X, BJORNSSON L, ALVES M.M, MATTIASSON B. "*Anaerobic digestion of lipid-rich waste - Effects of lipid concentration*". Renewable Energy 32, 2007, 965–975

CHEN, T. HASHIMOTO,A. "*Effects of ph and substrate: inoculum ratio on batch methane fermertation*". Bioresource Technology 56, 1996, 179-186.

CRISTANCHO D. "*Estudio del efecto del tiempo de retención hidráulico, la temperatura y el contenido en carga orgánica en el proceso de digestión anaerobia en dos fases de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos*". Trabajo de grado UIS. Escuela de ingeniería química, 2005, 15-36.

DE OLIVEIRA H. "*Mathematical tool to size rural digesters*". .60, 646 -663. 2003. Scientia Agricola.

DÍAZ-BÁEZ, M., ESPITIA, S., MOLINA, F., “*Digestión Anaerobia: Una aproximación a la tecnología*”. 2002, Universidad Nacional de Colombia Editorial, Bogotá, DC, Colombia

DINUCCIO E.; BALSARI P.; GIOELLI F.; MENARDO S. “*Evaluation of the biogas productivity potential of some Italian agro-industrial biomasses*”. Bioresource Technol., 101, 2010, 3780-3783.

ESCALANTE HERNÁNDEZ H, ORDUZ PRADA J, ZAPATA LESMES H, CARDONA RUIZ M, DUARTE ORTEGA M. “*Atlas del potencial energético de la biomasa residual en Colombia*”. Unidad de planeación minero energética, UPME, Instituto de Hidrología, meteorología y estudios ambientales, IDEAM, Departamento Administrativo de ciencia, tecnología e innovación, Colciencias y Universidad Industrial de Santander, UIS. 2010, 94, 140.

ESTRADA PAREJA., M. “*Manejo y procesamiento de la gallinaza*”. Revista lasallista de investigación. Vol. 2, numero 001. Corporación Universitaria Lasallista, Antioquia, Colombia. 2005, 43-48. ISSN: 1794-4449.

FAJARDO ORTIZ M. “*Producción de inóculos para reactores anaerobios*”. División de ciencias biológicas y de la salud. Universidad Autónoma Metropolitana. 1997, México: s.n.

FENAVI-FONAV. “*Guía Ambiental para el Subsector avícola: Primera actualización*”. Ministerio de Ambiente y Desarrollo Territorial, 2007, 106.

FERNANDEZ J.M.; PLAZA C.; GARCIA-GIL J.C.; POLO A. “*Biochemical properties and barley yield in a semiarid Mediterranean soil amended with two kinds of sewage sludge*”. Appl soil Ecol., 42, 2009, 18-24.

GELEGENIS J., GEORGAKAKIS D., ANGELIDAKI I., CHRISTOPOULOU N., GOUMENAKI. M. “*Optimization of biogas production from olive - oilmill wastewater, by codigesting with diluted. poultry-manure*”. 84, 646-663, 2007. *Applies Energy*.

GUEVARA A. “*Fundamentos básicos para el diseño de biodigestores anaeróbicos rurales*”. 51-60, 1996. Centro Panamericano de Ingeniería sanitaria y ciencias del ambiente. Perú.

HENDRIX H. “*Principales factores de variación de la ingesta: influencia del nivel energético, de la presentación del pienso y de los programas de iluminación sobre los resultados productivos de las ponedoras*”. 2005, XIX congreso latinoamericano de avicultura. 3,12.

HU Z.; YU H. “*Anaerobic digestion of cattail by rumen cultures*”. *Waste managment.*, 26, 2006, 1222 – 1228 .

HU Z., WANG G., YU H. “*Anaerobic degradation of cellulose by rumen microorganisms at various pH values*”. 2004, *Biochemical Engineering Journal*. 21, 59-62.

KAPARAJU P.; RINTALA J.. “*Anaerobic co-digestion of potato tuber and its industrial by-products with pig manure*”. *Resour conserve recy.* 43, 2005, 175-188.

KAVACIK B, TOPALOGLU B. “*Biogas production from co-digestion of a mixture of cheese whey and dairy manure*”.. *Biomass and bioenergy* 2010, 34, 1-8.

KHANAL S. “*Anaerobic Biotechnology for bioenergy production*”. Principles and applications. S.I: Blackwell, 2008. ISB: 978-0-813-82346-1.

KUMAR S. “*Anaerobic Biotechnology for bioenergy production. Principles and Applications*”. Editorial Blackwell Publishing, Estados Unidos. 2008, 29-63

LEHTOMÄKI A.; HUTTUNEN S.; RINTALA J.A. “*Laboratory investigations on co-digestion of energy crops and crop residues with cow manure for methane production: Effect of crop to manure ratio*”. *Resour conserve recy.*, 51, 2007, 591-609.

LAM M., LEE K. “*Renewable and sustainable Bioenergies production from palm oil mill effluent (Pome)*”. *Win-win strategies toward better environmental protection en biotechnology advances*, 29, 2011, 124-141.

LEON A, NÚÑEZ SUÁREZ E, “*Combustibles fósiles; análisis, impactos y alternativas, estudio para el caso colombiano*. 2010, 92-97, Bucaramanga, Tesis (economía), Universidad Industrial de Santander, Facultad de ciencias humanas.

MADIGAN, M. MARTINKO, J. PARKER, J, BROCK. “*Biología de los microorganismos*”. Pearson Prentice Hall., 10, 2006, 151-168.

MARTÍ HERREO, J. “*Guía de diseño y manual de instalación de biodigestores familiares*”. *Biodigestores de polietileno tubular de bajo costo para trópico, valle y altiplano*. GTZ PROAGRO, Bolivia 2008.39 -50.

MATA-ALVAREZ J,; MACÉ S,; Llabrés P. “*Anaerobic digestion of organic solid wastes. An overview of research achievements and perspectives*”. *Bioresource Technology*. 74, 2000, 3-16.

MONCAYO G. “*Dimensionamiento, diseño y construcción de biodigestores y plantas de biogás*”. *Aqualimpia Beratende Ingenieure*. 2011, 53-185.

MORENO, G. BUITRÓN. “*Influencia del Origen del Inoculo en la Prueba de Biodegradabilidad Anaerobia*”. XIII Congreso Nacional de la Federación Mexicana de Ingeniería Sanitaria y Ciencias Ambientales, Guanajuato, México. 2002, 21-28.

MSHANDETE A.; BJÖRNSSON L.; KIVAIISI A.; RUBINDAMAYUGI ST.; MATTIASSON B. “*Enhancement of anaerobic batch digestion of sisal pulp waste by mesophilic aerobic pre-treatment*”. Water Research. 39, 2005, 1569-1575.

PANDEY P., NDEGWA., P SOUPIR., M. ALLDREDGE., R PITTIS,M. “*Efficacies of inoculo on the startup of anaerobic reactors treating dairy manure under stirred and unstirred conditions*”.Biomass and bioenergy” 35, 2011, 2705-2720.

PARKIN G., SPEECE R., YANG C. “*Response of methane fermentation systems to industrial toxicants*”. 55, 44-55. 1983. Journal Water Pollut Control federation.

PARAWIRA R., READ J., MATTIASON B., BJÖRNSSON L. “*Energy production from agricultural residues: High methane yields in pilot-scale two-stage anaerobic digestion*”. 33, 44-50. 2008. Biomass and Bionergy,

PELÁEZ CARLOS. “*Gallinaza: materia prima en proceso de compostación*”. En: Revista Avicultores. Colombia. 53, 1999; 18 – 32.

QUINTERO M., CASTRO L., ORTIZ C., GUZMAN C., ESCALANTE H. “*Enhancement of starting up anaerobic digestión of lignocellulosic substrate:fiques bagase as an example*”.2011.34,45.

RAPOSO F.; BANKS C.J.; SIEGERT I.; HEAVEN S.; BORJA R. “*Influence of inoculum to substrate ratio on the biochemical methane potencial of maize in batch tests*”. Process biochem. 41, 2006, 444-1450.

RAPOSO F, DE LA RUBIA M.A, FERNÁNDEZ-CEGRÍ V, BORJA R. “*Anaerobic digestion of solid organic substrates in batch mode: An overview relating to methane yields and experimental procedures*”. En: Renewable and Sustainable Energy Reviews. 2011, 16, 861–877.

RUEDA PELAYO M., SANABRIA JEREZ N. *“Producción de biogás a partir del bagazo de fique en un bioproceso configurado en dos fases”*. 19. Bucaramanga, Tesis, Universidad Industrial de Santander, Escuela de Ingeniería Química

SANDERS WTM., VEEKENS AHM., ZEEMAN G., LIER VAN JB. *“Analysis and optimization of the AD process of OFMSW. In: Mata-Alvarez J (Ed) Biomethanization of the Organic Fraction of Municipal Solid Wastes.”* 63-89. 2002. IWA publishing, London.

SANDOVAL C.J.; VERGARA M.; CARREÑO M.; CASTILLO E.F. *“Microbiological characterization and specific methanogenic activity of anaerobe sludges used in urban solid waste treatment”*. Waste Manage, 29,2009, 704-711.

SANGUINO BARAJAS, P; TÉLLEZ ANAYA, N; ESCALANTE HERNANDEZ, H; VASQUEZ CARDOZO C. *“Aprovechamiento energético de la biomasa residual del sector avícola”*. 2009. Ión, 22.

SOLERA R., ROMERO L., SALES D. *“The evolution of biomass in a two-phase anaerobic treatment process during start-up”*. Chemical and Biochemical Engineering Quarterly, 2002, 16, 5-29.

VALDEZ-VAZQUEZ I., POGGI-VARALDO H. *“Hydrogen production by fermentative consortia”*. Renewable & Sustainable Energy Reviews. 2009, 13, 1000-1013.

WANG, H. OGAWA, Y. KATO. *“Degradation of volatile fatty acids in highly efficient anaerobic digestion”*. Biomass and Bioenergy”. 16, 1999, 407-416.

WARD A. J.; HOBBS P. J; HOLLIMAN P. J; JONES D.L. *“Optimisation of the anaerobic digestion of agricultural resources”*. Bioresource Technol.99, 2008, 7928-7940.

XIE S., WUB G, LAWLOR P.G. , FROST J.P. , ZHAN X. “*Methane production from anaerobic co-digestion of the separated solid fraction of pig manure with dried grass silage*”. En: Bioresource Technology. 2010; 104: 289–297.

YADVOKA., SANTOSH., SREEKRISHAN T., KOHLI S., RANA V. “*Enhancement of biogas production from solid substrates using different techniques—a review.*” 95, 1-10. 2004. Bioresource Technology..

YETILMEZSOY K. SAKAR; S. “*Development of empirical models for performance evaluation of UASB reactors treating poultry manure wastewater under different operational conditions*”. 23, 2007.

ANEXOS

Anexo. A. Protocolo de toma de muestra de gallinaza de jaula (GJ)

Materiales

- Nevera de icopor
- Pimpinas
- Espátula
- Pala
- Tiras reactivas de pH
- Guantes de látex
- Tapa bocas
- Bolsa plástica con cierre
- Cinta de enmascarar
- Marcadores permanentes



Ilustración 1 Toma de Muestra de GJ

Procedimiento

1. Dirigirse a la planta de abonos ubicada en las mismas instalaciones de la granja, y escoger la pila de gallinaza que provenga de galpones de levante y producción en los cuales aún no se haya incorporado el aserrín utilizado para su posterior compostaje.
2. Realizar un pequeño hueco con ayuda de una pala en el centro de la pila de manera que se tomen muestras de la parte más profunda de la misma.
3. Con la espátula tomar las muestras de gallinaza hasta llenar la totalidad de las bolsas, sin dejar espacios de aire, medir pH y cerrar inmediatamente.
4. Rotular las bolsas con las muestras con nombre del lugar, día y fecha de la toma de muestra y trasladarlas hasta el laboratorio en las cabas.
5. Una vez las muestras llegan al laboratorio, se envasan en las pimpinas donde se conservan totalmente selladas para que inicie el proceso de fermentación. Hasta ser utilizadas.

Anexo. B. Protocolo de toma de muestra de inóculos

Lodo Estiércol De Cerdo

Materiales:

- Pimpinas
- Toma muestra para lodos anaerobios
- Tapa bocas
- Guantes de látex
- Guantes de nitrilo



Ilustración 2 Toma de muestra LEC

Procedimiento:

1. Introducir el equipo para la toma muestra hasta el fondo de la pileta
2. Una vez determinado un punto adecuado, se recolecta la muestra y se saca a la superficie el toma muestra.
3. Llenar las pimpinas con el LEC recolectado en el toma muestra y cerrar inmediatamente.
4. Trasladar las muestras al laboratorio para su posterior uso en la experimentación.

Estiércol Bovino

Materiales

- Pimpinas
- Pala
- Guantes de látex
- Guantes de nitrilo
- Cinta



Ilustración 3. Toma de muestra EB

Procedimiento

1. Seleccionar el estiércol (lodo líquido) de los bovinos.
2. Ingresar al estiercolero y con ayuda de una pala cavar hasta tomar el estiércol del centro de la pila.
3. Llenar la totalidad de los recipientes con la muestra, cerrar inmediatamente y reforzar con cinta.

Lodo sistema de tratamiento de aguas residuales.

Materiales

- Pimpinas
- Recojedor de cabo largo
- Guantes de látex
- Guantes de nitrilo
- Tapa bocas
- Gafas de seguridad
- Cinta



Ilustración 4. Toma de muestra LPTAR.

Procedimiento

1. Retirar las tapas del tanque séptico y dejar airear por algunos minutos
2. Ingresar el recogedor hasta el fondo de forma que solo se retire el lodo del fondo del tanque
3. Llenar la totalidad de los recipientes con la muestra, cerrar inmediatamente y reforzar con cinta
4. Cerrar herméticamente los tanques.

Anexo. C. Evaluación de la actividad hidrolítica

Objetivo: Determinar la capacidad del inóculo para hidrolizar compuestos de alto peso molecular como la celulosa.

Durante la digestión anaerobia, la etapa de hidrólisis es a menudo un paso limitante del proceso. Esta etapa puede definirse como la transformación de moléculas de elevado tamaño molecular a sus componentes más sencillos para luego ingresar a las células y ser metabolizadas.

La determinación de la actividad hidrolítica de la biomasa anaerobia con un sustrato específico es importante para el control de las condiciones del proceso. En sí la actividad indica la habilidad inherente de una población para degradar a la sustancia evaluada, esta es generalmente medida como la velocidad específica de consumo de sustrato referida a la biomasa o la población microbiana evaluada: Por ejemplo si la concentración de sustrato fuera la variable monitoreada, la actividad coincidiría con la pendiente de la curva de utilización de sustrato, es decir con la masa de sustrato consumido por unidad de biomasa por unidad de tiempo. La fase hidrolítica es llevada a cabo por enzimas extracelulares excretadas por las bacterias hidrolíticas o fermentativas.

Materiales y Reactivos:

- Medio de cultivo para test de AME
- Papel filtro.

Procedimiento

Disolver el papel filtro recortado en un mismo tamaño de partícula en el medio de cultivo para AME sin agregarle acetato de sodio. Agregar 250 mL de medio de cultivo para test de AME.

- Inocular una cantidad de lodo tal que dentro de la botella se encuentre con una concentración de 1,5g SSV/L de biomasa.
- Realizar una botella blanco, que tendrá todo lo anterior descrito a excepción de la celulosa.
- Tomar muestra diariamente del líquido de le fermentación
- Centrifugar y separar los sobrenadantes
- Medir la concentración de azúcares reductores totales en los sobrenadantes según el protocolo del método del ácido dinitrosalicílico DNS.

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

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

REACTIVO DNS

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

PROCEDIMIENTO

- Agregar 4 mL de reactivo a 2mL de muestra y 2 mL de agua destilada usando tubos tapa rosca.
- Dejar en baño con agua en ebullición durante 5 minutos.
- Detener la reacción en un baño de hielo.
- Agregar 4 mL de agua destilada, y dejar reposando durante 15 minutos.

Leer densidad óptica a 540 nm contra un blanco obtenido en el procedimiento anterior pero agregando agua destilada en lugar de muestra.

CONSTRUCCIÓN DE LA CURVA ESTÁNDAR DE GLUCOSA

Se preparan las muestras de glucosa con concentraciones conocidas, se aplica el método DNS y se lee su absorbancia en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 540 nm. Con los datos obtenidos se traza un gráfico lineal de la concentración de glucosa (azúcar reductor) como una función de absorción, y así se determina la ecuación que relaciona las dos cantidades

Anexo. E. Determinación de sólidos totales fijos y volátiles en muestras sólidas y semisólidas

Este método se aplica a la determinación de sólidos totales y fracciones volátiles en muestras sólidas y semisólidas como lodos aislados en procesos de tratamientos de aguas limpias y residuales entre otros.

Instrumentos:

- Placas de evaporación
- Horno de mufla para operar a $550\pm 50^{\circ}\text{C}$
- Desecador provisto de un descante que contiene un indicador colorimétrico de concentración de humedad
- Horno de secado operaciones $103-105^{\circ}\text{C}$
- Balanza de análisis

PROCEDIMIENTO:

Sólidos Volátiles

Incinérese una placa de evaporación limpia en un horno de mufla a $550\pm 50^{\circ}\text{C}$ durante una hora.

Análisis de la muestra

Transfiérase la muestra hasta un horno frío y caliéntese hasta $550\pm 50^{\circ}\text{C}$ e incinérese durante una hora, enfríese en desecador para equilibrar la temperatura y pése.

Sólidos Totales

Caliéntese la placa en un horno a $103-105^{\circ}\text{C}$ durante una hora.

Enfríese en el desecador, pése y consérvese en el desecador hasta que haya de usarse.

Análisis de la muestra

Muestra líquida: agítese para homogeneizarla, a continuación colóquese de 20 a 50 g en una placa de evaporación y pésese, evapórese hasta desecación al baño maría, séquese a 103-105°C, durante una hora enfríese para equilibrar la temperatura en un desecador individual con desecante activo y pésese.

Cálculos:

$$\% \text{ de sólidos totales} = \frac{(A - B) \times 100}{C - B}$$

$$\% \text{ sólidos volátiles} = \frac{(A - D) \times 100}{A - B}$$

A= peso del residuo seco + placa, mg

B= peso de la placa

C= peso de la muestra húmeda + placa, mg

D= peso del residuo + placa después de ignición, mg

Anexo. F Evaluación de la actividad metanogénica.

Objetivo: Comprobar la presencia de metano de las muestras obtenidas del trabajo de campo por medio del test de AME.

La actividad metanogénica, debe ser evaluada por medio de pruebas sencillas, en las cuales se mide la producción de metano y así comprobar la producción de metano (CH₄) de los consorcios pertenecientes a las muestras obtenidas en el trabajo de campo.

Una de las metodologías para la evaluación de la actividad metanogénica, es el test de actividad metanogénica específica (AME), el cual mide de una manera indirecta la producción del metano generado de una manera constante y por largos periodos de tiempo.

Con el test de AME se determina la capacidad de la biomasa para convertir sustratos en CH₄ y CO₂ donde el CH₄ burbujea, desplazando el NaOH y el CO₂ se disuelve en el NaOH.

Materiales y Reactivos

- NaOH al 10%
- Muestra
- Mangueras estériles
- Nitrógeno gaseoso o dióxido de carbono
- Medio de cultivo para teste de AME
- Recipientes de suero estériles
- Tapones de caucho estériles
- Agujas hipodérmicas estériles
- Sheaker termostato

- Agua destilada anóxica
- Fenolftaleína

Procedimiento

1. Preparar el medio de cultivo Balch
2. En una botella de vidrio agregar aproximadamente 250 mL de medio de cultivo
3. Homogenizar el contenido de la botella, gasear con nitrógeno, tapar con tapón de caucho y grafar
4. Esterilizar durante 15 min., 2,05 bares, 15 lb. De presión
5. Dentro de la cámara de atmosfera de nitrógeno, inocular la botella con la cantidad de inóculo que se vaya a evaluar (1,5g SSV)
6. En otro recipiente de vidrio agregar 500 mL de NaOH al 10%, y fenolftaleína como indicar. Tapar con tapón de caucho y grafar. Insertar dos agujas hipodérmicas estériles acopladas cada una a una manguera de 5mm de diámetro y comunicar una de ellas a la botella reactiva y la otra a la botella recolectora de NaOH. (ver figura).
7. Invertir la botella que contiene el NaOH.
8. Realizar medición del NaOH que es desplazado por la producción de gas.
9. Conservar durante 30 días la botella en reacción, cambiando cada vez que sea necesario la botella de NaOH.

Anexo. G Medio de cultivo - actividad hidrolítica

Preparar en caliente para evitar precipitaciones. Para 1000 ml:

- Sln mineral de Balch sin sulfuros	50 ml
- Sln oligoelementos sin sulfuros	10 ml
- K ₂ HPO ₄	0,3 g
- Sln de resazurina (0.1 %)	1,0 ml
- Extracto de Levadura	0,1 g
- Peptona Tripticasa	0,1 g

Se completa el volumen a 1 L se ajusta el pH a 7.0 con NaOH 1N, agregar 10% en volumen de agua destilada adicional, hervir hasta llegar al volumen de 1 L y enfriar bajo atmósfera de N₂.

Cuando esté a temperatura ambiente agregar:

- NaHCO ₃	2,0 g
- Cisteína	0,5 g

Dosificar bajo corriente de nitrógeno. Se gasea el frasco donde se va a servir con N₂ y se agrega el medio. Servir 250 mL en botellas de 500 mL, agregar una concentración de Celulosa de 10 g/L, hacer el intercambio gaseoso de fase N₂/CO₂ (80% - 20%) por 1 minuto, se debe retirar primero la aguja con la cual se está gaseando para que no haya una sobre expresión y luego la aguja de desalojo, llevar a autoclave durante 15 minutos a 121°C y 15 psi, antes de utilizarlo agregar:

- Na ₂ S (2,0%)	6 mL
- Sln diluida de vitaminas de Balch	6 mL

Anexo. H. Medio de cultivo actividad metanogénica

Preparar en caliente para evitar precipitaciones. Para 1000 ml:

- Sln mineral de Balch sin sulfuros	50 mL
- Sln oligoelementos sin sulfuros	10 mL
- K ₂ HPO ₄	0,3 g
- Sln de resarzurina (0.1 %)	1,0 mL
- Extracto de Levadura	0,1 g
- Peptona Trypticase	0,1 g

Se completa el volumen a 1 L se ajusta el pH a 7,0 con NaOH 1N, agregar 10% en volumen de agua destilada adicional, hervir hasta llegar al volumen de 1 L y enfriar bajo atmósfera de N₂.

Cuando esté a temperatura ambiente agregar:

- NaHCO ₃	2,0 g
- Cisteína	0,5 g

Dosificar bajo corriente de nitrógeno. Se gasea el frasco donde se va a servir con N₂ y se agrega el medio. Servir 250 mL en botellas de 500 mL, hacer el intercambio gaseoso de fase N₂/CO₂ (80% - 20%) por 1 minuto, se debe retirar primero la aguja con la cual se está gaseando para que no haya una sobre expresión y luego la aguja de desalojo, llevar a autoclave durante 15 minutos a 121°C y 15 psi, antes de utilizarlo agregar:

- Na ₂ S (2.0%)	6 mL
- Sln diluida de vitaminas de Balch	6 mL
- Solución de Acido Acético 100g/L	18 MI

- **Solución mineral de Balch**

Para 1000 ml.

	Con Sulfatos	Sin sulfatos*
KH ₂ PO ₄	6,0 g	6,0 g
(NH ₂) ₂ SO ₄	6,0 g	
NH ₄ Cl		5,0 g
MgCl ₂ . 6H ₂ O		2,1 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	2,6 g	
CaCl . 2 H ₂ O	0,16 g	0,16 g
NaCl	12,0 g	12,0 g

* Para evitar la inhibición por la presencia de bacterias Sulfato – Reductoras.

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

- **Solución de oligoelementos**

Para 1000 mL.

	Con Sulfatos	Sin sulfatos*
AcidoNitrilotriacético**	1,5 g	1,5 g
MgSO ₄ . 7H ₂ O	3, 0 g	
MgCl ₂ . 6H ₂ O		2,5 g
MnSO ₄ . H ₂ O	0, 5 g	
MnCl ₂ . 4H ₂ O		0, 6 g
NaCl	1, 0 g	1, 0 g
FeSO ₄ .7H ₂ O	0, 1 g	
FeCl ₂ .4H ₂ O		0,1 g
CoCl ₂ . 6H ₂ O		0,1 g

CoSO ₄ . 6H ₂ O	0,1 g	
CaCl ₂ . 2H ₂ O	0,1 g	0,1 g
ZnCl ₂		0,1 g
ZnSO ₄	0,1 g	
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,01 g	
CuCl ₂ . 2H ₂ O		0,01 g
ALK(SO ₄) ₂	0,01 g	
ALCl ₂		0,01 g
H ₃ BO ₃	0,01 g	0,01 g
NaMoO ₂ .2 H ₂ O	0,01 g	0,01 g

* Para evitar la inhibición por la presencia de bacterias Sulfato – Reductoras.

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

La solución se prepara en aerobiosis. Después de adicionar todo, ajustar el pH a 7,0 con KOH 1N, almacenar en el refrigerador a 4°C.

Anexo. I. Determinación de la concentración de ácidos grasos volátiles (AGV), alcalinidad total (AT)

Objetivos: Determinación de ácidos grasos volátiles (AGV) y alcalinidad en los inóculos.

Los ácidos grasos volátiles constituyen el principal producto de la fermentación de biomasa llevada a cabo por microorganismos, estos AGV son denominados como sus iones disociados entre los principales están: Acetato, propionato y butirato.

Materiales

- Vaso precipitado
- Probeta
- Centrifuga
- Peachimetro
- Agitador magnético
- Balón de digestión
- Condensador
- Plancha de calentamiento
- Buretas
- Soportes con pinza
- Solución de NaOH al 0,1 N
- Solución de HCl al 0,1 N

La determinación de los ácidos grasos volátiles se realizó por medio de una titulación, es un método a través del cual se determina el bicarbonato y los ácidos grasos volátiles en soluciones acuosas. La muestra es centrifugada o filtrada y se lleva a un pH de 3,0 con ácido clorhídrico (HCL) 0,1N; a este pH. El bicarbonato será convertido en dióxido de carbono y los ácidos grasos volátiles estarán presentes en solución en la forma no ionizada. Después la muestra es sometida a calentamiento hasta ebullición con un sistema de condensación para remover el CO₂

2, la solución restante se titula con hidróxido de sodio (NaOH) 0,1N hasta alcanzar un pH de 6,5. Los ácidos grasos volátiles (y quizás otros ácidos) serán convertidos ahora a su forma disociada.

Los equivalentes de bicarbonato y AGV se pueden calcular a partir de los volúmenes de ácido y base utilizados en la titulación.

Las relaciones utilizadas son las siguientes.

$$\text{Alcalinidad} = (B * N_{HCl} * 50,000)/V$$

En donde:

B= volumen de HCl usado para disminuir el pH en m L.

V= volumen de muestra tomada para el análisis en mL.

N_{HCl} = concentración de ácido clorhídrico (Normalidad).

Las unidades de alcalinidad son (mg de $CaCO_3$ /litro).

$$\text{ÁCIDOS GRASOS VOLÁTILES} = D * N_{NaOH} * 60,000/V$$

En donde

D= volumen de NaOH en mL requerido para elevar el pH después de haber usado HCL.

V= volumen de muestra tomada para el análisis en mL.

N_{NaOH} =concentración de hidróxido de sodio (normalidad).

Las unidades de Ácidos Grasos Volátiles son (mg de Ac. Acético/Litro).

Para la preparación de HCL y NaOH se utilizan los siguientes reactivos.

- Biftalato de potasio
- NaOH
- HCL
- Fenolftal

Anexo. J. Caracterización elemental de la gallinaza.

Parámetro	Resultado
pH (unidades de pH)	7,86
Humedad (%)	77,7
Cenizas (%)	7,28
Fósforo (%P)	0,45
Sodio (g Na)	0,098
Potasio (g K ₂ O)	1,21
Calcio (g CaO)	4,94
Magnesio (g MgO)	0,20
Hierro (g Fe)	0,028
Cobre (mg Cu)	0,001
Cinc (g Zn)	0,010
Manganeso (g Mn)	0,002
Azufre (%S)	0,092
Pérdidas por volatilización (%)	14,6
Boro (%B)	<L.D

Anexo. K. Caracterización elemental del estiércol bovino.

Parámetro	Resultado
pH (unidades de pH)	8,45
Humedad (%)	86,20
Cenizas (%)	2,68
Carbono orgánico oxidable total (%C)	13,83
Nitrógeno (%N)	0,24
Fósforo (%P)	0,11
Sodio (g Na)	87,52
Potasio (g K ₂ O)	87,42
Calcio (g CaO)	32,26
Magnesio (g MgO)	19,06
Hierro (g Fe)	5,60
Cobre (mg Cu)	49,05
Cinc (g Zn)	6,69
Manganeso (g Mn)	1,69
Azufre (%S)	3,23
Pérdidas por volatilización (%)	5,35
Sólidos suspendidos volátiles (mg/kg)	3339

Anexo. L. Registro fotográfico



Muestreo gallinaza



Toma de muestras estiércol de cerdo



Toma de muestra lodo PTAR



Reactor utilizado para potencializar el inóculo



Incubación de los experimentos



Medición de metano por desplazamiento alcalino, bioreactores de 300 mL



Preparación de medios



montaje para pruebas de AH - AME



Muestras para medición de DNS



Muestras para Medición de AGV y alcalinidad



Medición de metano, bioreactores de 500 mL