

**APROVECHAMIENTO ENERGÉTICO DEL LACTOSUERO MEDIANTE
DIGESTIÓN ANAEROBIA**

**LAURA XIMENA VELASQUEZ TAMAYO
DEISY YOHANA VILLAMIZAR JAIMES**

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

2014

**APROVECHAMIENTO ENERGÉTICO DEL LACTOSUERO MEDIANTE
DIGESTIÓN ANAEROBIA**

**LAURA XIMENA VELASQUEZ TAMAYO
DEISY YOHANA VILLAMIZAR JAIMES**

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

Director

**HUMBERTO ESCALANTE HERNÁNDEZ
Ingeniero Químico, Ph. D.**

Codirectora

**LILIANA DEL PILAR CASTRO
Ingeniera Química, Ph. D.**

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

2014

*"Nuestra recompensa se encuentra en el esfuerzo y no en el resultado. Un
esfuerzo total es una victoria completa".*

Mahatma Gandhi

AGRADECIMIENTOS

Primero a Dios y a la madre naturaleza por ser el apoyo incondicional para el desarrollo del proyecto.

Al profesor Humberto Escalante y a la profesora Liliana Castro por sus orientaciones.

A Tatiana, Luis y Gustavo, por ser los mejores maestros.

A Sindy por creer en nosotras.

A todos los maestros de este claustro, por ser parte de nuestra formación.

A los infaltables colaboradores, Guillermo Acero, Natalia Bedoya, Metamínino Anaerobío, Eduardo Carreño , don Wilson ,doña Luz ,don Rosendo, a la empresa Villa Aurora y otros tantos...

DEDICATORIA

Al gran amor y pasión de mi vida, al mejor ingeniero. Fuente de toda sabiduría, mi fortaleza, mi paz, mi lugar seguro, a quien todo debo. Aunque mi carne y mi corazón desfallezcan la roca de mi corazón y mi porción es Dios para siempre. Es por eso que de Él, por Él y para Él soy eternamente.

A mi papá por entregar sus días por mí, quien ha sido mi mayor ejemplo en entrega, amor y verdad.

A mi mamá por enseñarme a enfrentar la vida, por sus sabios consejos, por animarme, por escucharme.

A mis tres hermanitas Angie, Daniela y Alejandra, por quienes vale la pena seguir luchando y a quienes sueño por siempre ser ejemplo.

A mi compañera de sueño y gran amiga Deisy gracias por perseverar a mi lado, lo logramos. A quienes siempre llevaré en el corazón, mis amigas Laly y Nidis, gracias por cada momento feliz, NDL². Y a tantas personas valiosas que conocí en este camino.

A mi mejor amiga, hermana y compañera de batallas, metas e ilusiones Shirley Navas, poco sería decir eternamente agradecida.

A mis amigos del alma, no hace falta decir sus nombres, los que saben sacar sonrisas, que están siempre a mi lado, con quienes amo hacer equipo, hacer familia. Los amo.

A mi ICC-Shamma gracias por enseñarme la Vida.

Laura Ximena Velásquez Tamayo.

DEDICATORIA

A aquella que nunca me abandona, que me susurra con su viento mágicas ideas ,que se refleja en su bondad , me alimenta ,me oxigena, me abraza, la que me da aliento de seguir ,la madre naturaleza.

A mi gran amigo, mi guía espiritual, mi protección, el que me da fortaleza, me impulsa a creer en lo que soy, en lo que debo soñar y hacer, Dios.

A aquellos que me dieron la vida, y son mi razón de ser. La mujer berraca y ejemplar, la que siempre me apoya en los andares de la vida, en todos los planes y utopías...A mi padre, hombre con corazón noble.

A mis dos parceros del alma, que son los pulmones de mi vida, hermanitos cuanto es mi amor por uds, los amo de aquí hasta donde no hay fin.

A mi gran amiga, Laura, por acompañarme en esta fantástica locura en el camino. Y a los francos e incondicionales amigos,Laly , Nidis, PeliRed,Criss,Fajardis..

A mi hijo algodón orejón, Helio Caramelo, retoñito de amor.

A la Colectiva Amapolas Incidentes por ser un congregación femenina de transformación social.

Y a ud, si a ud, el o la que está leyendo, porque se ha interesado en tan bonito e interesante proyecto.

Deisy Yohana Villamizar Jaimés

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	17
1. CO-DIGESTIÓN ANAEROBIA (CODA)	21
1.1. BIOQUÍMICA Y MICROBIOLOGÍA DE LA DA Y LA CODA	21
1.1.1. Hidrólisis	22
1.1.2. Acidogénesis	22
1.1.3. Acetogénesis	22
1.1.4. Metanogénesis	22
1.2. VARIABLES DE LA CODA Y LA DA	23
2. METODOLOGÍA	27
2.1 CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE INÓCULOS, SUSTRATO Y CO SUSTRATOS	28
2.1.1 Sustrato	28
2.1.2 Inóculos	29
2.1.3 Co sustrato	29
2.2 SELECCIÓN DEL INÓCULO MEDIANTE ENSAYOS DE BIODEGRADABILIDAD ANAEROBIA DEL LS	29
2.3 DESARROLLO DE LAS ALTERNATIVAS: CODA CON GJ Y DA CON INOCULO ACLIMATADO DEL LS	31
2.4 MONITOREO DE LAS VARIABLES RESPUESTA PARA LA ALTERNATIVA SELECCIONADA	32
3. RESULTADOS Y ANÁLISIS	34
3.1. CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE INÓCULOS, SUSTRATO Y CO SUSTRATO	34
3.2 SELECCIÓN DEL INÓCULO MEDIANTE ENSAYOS DE BIODEGRADABILIDAD ANAEROBIA DEL LS	35
3.3 DESARROLLO DE LAS ALTERNATIVAS: CODA DEL LS-GJ Y DA DEL LS CON EBA COMO INÓCULO.	37
3.4 MONITOREO DE LAS VARIABLES RESPUESTA PARA LA ALTERNATIVA SELECCIONADA	39
4. CONCLUSIONES	45
5. RECOMENDACIONES	46
BIBLIOGRAFÍA	47
ANEXOS	51

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Microbiología y bioquímica en los procesos de DA y CoDA	21
Figura 2. Metodología experimental para la DA y la CoDA del LS	27
Figura 3. Ensayo de biodegradabilidad (m^3CH_4/kg SV) de las RISV 70/30, 50/50 Y 30/70 usando como inóculos LPTAR y EB.	36
Figura 4. Análisis Estadístico para determinación de diferencia significativas.	38
Figura 5. Consumo de ART para DA del LS con EBA y su control	39
Figura 6. Variación del pH para DA del LS con EBA y su control	40
Figura 7. Variación en la concentración de AGV para DA del LS con EBA y su control	41
Figura 8. Relación AGV/AT para DA del LS con EBA y su control	42
Figura 9. Producción de metano y consumo de SV en el proceso de DA del LS usando EBA y su control	43
Figura 10. Rendimientos energéticos del contro (DA) y la DA con EBA en kWh/kg del LS	44

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Rendimientos obtenidos en estudios para la DA del LS usando diferentes inóculos.....	19
Tabla 2. Condiciones de operación para la DA del LS a diferentes RISV.	30
Tabla 3. Porcentaje inóculo, sustrato y co sustrato utilizados en la CoDA del LS	31
Tabla 4. Variables a monitorear, periodicidad de la medición y método analítico.	32
Tabla 5. Caracterización fisicoquímica y composición elemental de los inóculos, sustrato y co sustrato.....	34

LISTA DE ANEXOS

Anexo A. Protocolo para la recolección de lactosuero.....	51
Anexo B. Protocolo para la recolección de inóculo.....	52
Anexo C. Protocolo para la recolección de muestras de gallinaza de jaula.....	53
Anexo D. Determinación de la concentración de azúcares reductores totales (ART)	54
Anexo E. Determinación de la concentración de ácidos grasos volátiles (AGV) y alcalinidad total (AT).....	56
Anexo F. Determinación de sólidos totales fijos y volátiles en muestras sólidas y semisólidas.	58
Anexo G. Método de desplazamiento alcalino.....	60
Anexo H. Registro fotográfico.....	62

NOMENCLATURA

AGV: Ácidos grasos volátiles (mg/L).

ART: Azúcares reductores totales (mg/mL).

AT: Alcalinidad Total (mg CaCO₃/L).

CoDA: Co digestión anaerobia.

CH₄: metano

DA: Digestión anaerobia.

DNS: Dinitrosalisílico.

EB: Estiércol Bovino.

EBA: Estiércol Bovino aclimatado.

GJ: Gallinaza de Jaula.

LS: Lactosuero o suero de leche.

LPTAR: Lodo de planta de agua residuales.

RISV: Relación volumétrica inóculo – sustrato.

SV: Sólidos volátiles (g/L).

RESUMEN

TÍTULO: APROVECHAMIENTO ENERGÉTICO DEL LACTOSUERO MEDIANTE DIGESTIÓN ANAEROBIA*

AUTORES: LAURA XIMENA VELÁSQUEZ TAMAYO, DEISY YOHANA VILLAMIZAR JAIMES**

PALABRAS CLAVE: CODIGESTION ANAEROBIA, ACLIMATACIÓN, LACTOSUERO, GALLINAZA DE JAULA, BIODEGRADABILIDAD, CAPACIDAD BUFFER.

El lactosuero es el residuo más representativo de la fabricación de quesos y constituye entre el 85-90 % del volumen de la leche, su mala disposición genera problemas de contaminación en suelos, aguas y efectos subletales en organismos; por lo que es necesario implementar alternativas para su tratamiento. La Digestión anaerobia (DA) se presente como una alternativa viable debido a la presencia de compuestos altamente biodegradables; es importante seleccionar un buen inóculo que incremente la carga microbiana y una relación volumétrica inóculo/sustrato (RISV) adecuada para el bioproceso. La rápida acidificación del sistema no puede ser contrarrestada con su capacidad buffer ocasionando inhibición en el proceso.

Por lo tanto en este estudio se evaluaron como alternativas para el aprovechamiento energético del lactosuero la co digestion anaerobia (CoDA) con gallinaza de jaula (GJ) y la digestión anaerobia (DA) utilizando como inóculo estiércol bovino aclimatado (EBA). Los experimentos se realizaron en biodigestores de 50 mL con un volumen de operación de 35 mL a una temperatura de 39°C con agitación manual e intermitente.

Durante la experimentación se monitorio el consumo de azúcares reductores totales, ácidos grasos volátiles, pH, estabilidad del proceso. Para la digestión anaerobia (DA) con estiércol bovino aclimatado (EBA) a una RISV 70/30 se aumentó el rendimiento de 0,42 m³CH₄/KgSV hasta 0,58 m³CH₄/KgSV adicionados, con un aprovechamiento energético de 0,069 kWh/kg LS y se observó una mayor estabilidad en el proceso.

*Trabajo de grado

** Facultad de ingenierías Físico-Químicas. Escuela ingeniería Química. Director Humberto Escalante Ing. Químico Ph.D. Codirectora Liliana Castro Ing. Química Ph.

ABSTRACT

TITLE: ENERGY USE WHEY BY ANAEROBIC DIGESTION*

AUTHOR: LAURA XIMENA VELÁSQUEZ TAMAYO, DEISY YOHANA VILLAMIZAR JAIMES**

KEYWORDS: ANAEROBIC CODIGESTION, INOCULUM ACCLIMATIZATION, CHEESE WHEY, POULTRY MANURE, BIODEGRADABILITY, BUFFER CAPACITY.

Cheese Whey is the most representative residue from manufacture of cheese and this constitutes between 85-90% of the volume of milk, their arrangement creates pollution problems in soil, water and sublethal effects on organisms, so it is necessary to implement alternatives for treatment. Anaerobic Digestion (DA) is presented as a viable alternative because of the presence of highly biodegradable compounds, it is important to select a good inoculum to increase the microbial mass and an appropriate volumetric ratio / substrate (RISV) to the bioprocess. Although the quick acidification of the system cannot be countered with buffer capacity resulting in the inhibition process.

Therefore in this study were evaluated as alternatives to the energy use of whey anaerobic co digestion (A-CoD) with poultry manure (PM) and anaerobic digestion (AD) using as inoculum acclimated bovine manure (BM). Experiments were performed in 50 mL biodigestores an operating volume of 35 mL at a temperature of 39 ° C with intermittent shaking manually.

During the experiment were monitored the consumption of total reductors sugars, volatile fatty acids, pH, stability of the process. For anaerobic digestion (AD) with acclimated bovine manure to RISV 70/30 performance increase from 0,42 m³CH₄/KgSV to 0,58 m³CH₄/KgSV added, with energy use of 0,069 kWh/kg LS and well better behaviour in the stability of the process was observed .

* Thesis

** Faculty of Engineering physic-chemical. School of Chemical Engineering. Director Humberto Escalante Chemical Engineer Ph.D. Co-directora Liliana Castro Chemical Engineer Ph.D.

INTRODUCCIÓN

En Colombia, la cadena láctea contribuye con productos indispensables para la alimentación humana y representa el 10,2% del producto interno agropecuario del país (Bohórquez, 2012). Actualmente, la producción de leche a nivel nacional se encuentra alrededor de 4550 millones de litros anuales (USP-MADR, 2012) y en Santander es de 239 millones de litros de leche anuales (DANE, 2011).

La industria láctea del país está constituida por una serie de sub-eslabones, resultados de los diferentes procesos a la que es sometida la leche en la consecución de una gama de derivados agroindustriales (Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, 2005); de acuerdo a la Asociación Colombiana de Procesadores de Leche, se estima que un 43% de la leche disponible se ha orientado a la preparación de derivados lácteos y particularmente a la producción de queso (Duque, 2007).

El proceso de fabricación de quesos implica el consumo de agua, energía eléctrica e insumos derivados de recursos naturales renovables y no renovables; así como la generación de aguas residuales, residuos sólidos ordinarios y residuos peligrosos. Las aguas residuales comprenden: aguas de lavado con presencia de agentes surfactantes, aguas de dilución de la leche y residuos de productos lácteos, entre ellos el lactosuero (LS) (Viceministerio de Ambiente, 2007).

El LS que se obtiene de la producción de queso, constituye aproximadamente el 85-95 % del volumen de la leche (Guerrero *et al.*, 2012); es un líquido claro de color amarillo verdoso que contiene una cantidad significativa de hidratos de carbono (principalmente la lactosa), proteínas, grasas, ácido láctico y sales (Gelegenis *et al.*, 2007). En términos generales, la caracterización de LS depende de parámetros como la composición, la calidad de leche, las técnicas de producción de queso, la

cantidad de levadura o ácido que utiliza la coagulación, el período de la coagulación y la temperatura (Kavacik *et al.*, 2010).

En Colombia se generan aproximadamente 412 millones de litros de LS al año, por lo tanto es necesario buscar alternativas para la estabilización de este residuo, debido a que la continua descarga de LS en los suelos puede dañar su estructura física y química, reducir la producción de cultivos e incluso puede provocar serios problemas de contaminación en aguas subterráneas y superficiales, aumentando los costos de purificación y los posibles efectos subletales de las toxinas en organismos, por su alta carga orgánica (Guerrero *et al.*, 2012; Kavacik *et al.*, 2010; Carvalho *et al.*, 2013). El decreto que establece la normatividad de la disposición de estos residuos líquidos es el decreto 1594 de 1984 (Ministerio de Agricultura, 1984), aunque actualmente en algunas empresas no hay cumplimiento y por tanto están en investigación.

Prazeres *et al* (2012) estudiaron posibles tratamientos para el LS, dentro de los que se encuentran: los biológicos (digestión anaerobia, hidrólisis de la lactosa, fermentación a etanol, fermentación a hidrógeno, fermentación a ácido láctico, la producción directa de electricidad a través de células de combustible microbianas); los fisicoquímicos (precipitación térmica y precipitación con coagulantes); la separación con membranas y la aplicación directa a la tierra.

Debido a la presencia de compuestos altamente biodegradables en el LS (los carbohidratos), la digestión anaerobia (DA) se presenta como una excelente alternativa de estabilización y valorización energética de este residuo (Kavacik *et al.*, 2010). La DA es un proceso biológico en ausencia de oxígeno, donde un consorcio microbiano descompone la materia orgánica, produciendo un compuesto denominado biogás que contiene principalmente CH₄ y CO₂. El proceso no solo reduce la contaminación orgánica sino que también proporciona una fuente de energía. Como subproducto de la fermentación anaerobia se genera un lodo

efluente debido al sustrato no degradado y a la muerte o lisis de los microorganismos involucrados en el bioproceso (Chen *et al.*, 2008; Donoso *et al.*, 2009; Zeng *et al.*, 2010). En la Tabla 1 se presenta los rendimientos obtenidos en estudios de la DA del LS, usando diferentes inóculos.

En la Tabla 1 se presenta los rendimientos obtenidos en estudios de la DA del LS, usando diferentes inóculos.

Tabla 1. Rendimientos obtenidos en estudios para la DA del LS usando diferentes inóculos.

Inóculo	Rendimiento	Referencia
EB	0,340 m ³ CH ₄ /kg SV	(Comino <i>et al.</i> , 2012)
LPTAR	0,290 m ³ CH ₄ /kg DQO	(Yang <i>et al.</i> , 2003)
LPTAR	0,315 m ³ CH ₄ /kg DQO	(Shilton <i>et al.</i> , 2013)

El bajo rendimiento de la DA del LS, se atribuye a las altas concentraciones de fracciones fácilmente degradables que alcanzan rápida acidificación y que no puede ser contrarrestada con la capacidad *buffer* del sistema, ocasionando inhibición en el proceso y también por la difícil degradación de la caseína, proteína presente en el LS de difícil degradación en condiciones anaerobias (Mockaitis *et al.*, 2006).

Para mejorar el rendimiento del proceso de DA a partir del LS se han estudiado recientemente las siguientes alternativas: Co digestión anaerobia (CoDA) y la DA con aclimatación del inóculo. El término CoDA se emplea para expresar la DA conjunta de dos o más sustratos de diferente origen; la principal ventaja de esta

técnica radica en el aprovechamiento de la sinergia de las mezclas, compensando las carencias de cada uno de los sustratos por separado (Campos., 2011). Por otra parte la DA con aclimatación de inóculo corresponde a la adaptación del inóculo al consumo de compuestos complejos, en este caso compuestos presentes en el LS, con el fin de favorecer su degradación ya que aumenta la velocidad de hidrólisis de caseína según lo especificado por Perle *et al.* (1995); Vidal *et al.* (2000) y Pavlostathis *et al.* (1991).

De acuerdo a lo anterior, el objetivo de este trabajo de investigación fue evaluar la CoDA del LS usando como co sustrato gallinaza de jaula (GJ) y la DA del LS con inóculo aclimatado.

Al mezclar diferentes tipos de sustratos se corre el riesgo de introducir sustancias tóxicas o inhibidoras para el proceso anaerobio, por lo que es necesario seleccionar una excelente proporción entre las mezclas de sustratos con el fin de favorecer el sinergismo entre el balance de nutrientes y humedad, y los microorganismos presentes en el sistema (Campos, 2001, Mata *et al.*, 2010).

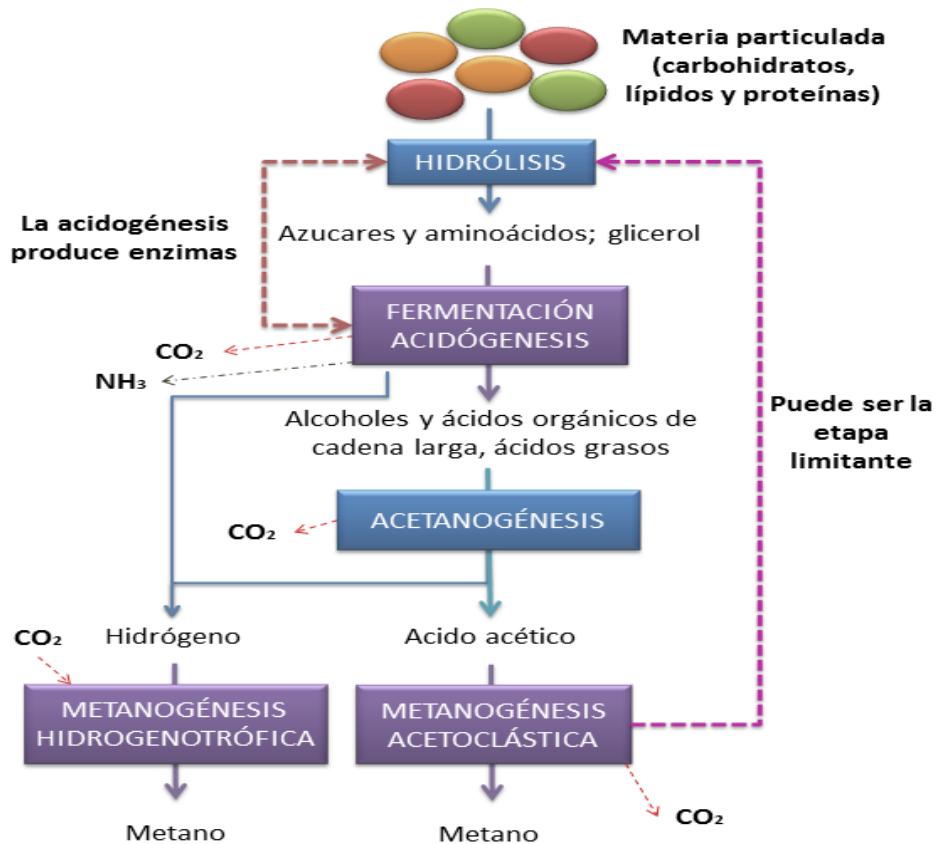
1. CO-DIGESTIÓN ANAEROBIA (CODA)

La CoDA consiste en la DA de una mezcla de dos o más sustratos con características complementarias, garantizando las mejores condiciones para el desarrollo de las matrices microbianas, mejorando los rendimientos del sustrato (Mata *et al.*, 2010).

1.1. Bioquímica y microbiología de la DA y la CoDA

Las reacciones bioquímicas y microbiológicas que se llevan a cabo en la CoDA son similares a las presentadas en el proceso de DA. En la Figura 1 se presentan las diferentes etapas en dichos procesos.

Figura 1. Microbiología y bioquímica en los procesos de DA y CoDA.



Fuente: (Angelidaki *et al.*, 2011).

1.1.1. Hidrólisis

La hidrólisis consiste en la transformación enzimática de macromoléculas complejas y de mayor peso molecular como polisacáridos, lípidos, proteínas y grasas en compuestos simples y solubles, tales como aminoácidos, azúcares, ácidos grasos de cadena larga y glicerina, por la acción de bacteroides, clostridium y bacterias facultativas como estreptococos (Yadvika *et al.* 2004), capaces de generar enzimas ; siendo esta etapa el paso limitante de la velocidad de degradación de la materia orgánica (Angelidaki *et al.*, 2011).

1.1.2. Acidogénesis

En la acidogénesis la materia orgánica disuelta durante la hidrólisis es biodegradada a ácidos grasos volátiles (ácido acético, propiónico, butírico), hidrógeno, dióxido de carbono, y alcoholes por bacterias acidogénicas (Pandey *et al.*, 2011).

1.1.3. Acetogénesis

Durante la acetogénesis los ácidos grasos volátiles junto con el etanol se convierten en acetato, hidrógeno y dióxido de carbono por acción de un grupo denominado organismos acetogénicos productores de hidrógeno (Poh y Chong, 2009).

1.1.4. Metanogénesis

El metano es el único producto de reacción que no es un reactante en todo el proceso y puede, por tanto, ser considerado como un producto final. Existen dos consorcios de bacterias metanogénicas. Las bacterias hidrogenofílicas que producen metano a partir de la utilización de H₂ y CO₂. Y las bacterias acetoclásticas (responsables de la mayoría de metano producido e influyen apreciablemente en el pH) que aprovechan el acetato como sustrato para la producción de CH₄ y CO₂ (Mata, 2000).

1.2. Variables de la CoDA y la DA

La DA y la CoDA son procesos susceptibles a los cambios de ciertos parámetros como el inóculo empleado, la aclimatación del inóculo, los co sustratos, sólidos volátiles(SV), azúcares reductores totales(ART), ácidos grasos volátiles(AGV), alcalinidad total(AT), temperatura, pH, relación inóculo/sustrato (RIS) y relación sustrato-co sustrato.

Inoculo

El inóculo aporta los consorcios microbianos capaces de degradar la materia orgánica, por tal motivo es de gran importancia encontrar el inóculo apropiado para el proceso de biodegradación (Angelidaki *et al.*, 2004).

Aclimatación del inóculo

La aclimatación del inóculo corresponde a su adaptación al consumo de un sustrato complejo, con el fin de favorecer su degradación. La aclimatación de los microorganismos antes de la DA para contrarrestar sustancias inhibidoras y tóxicas, pueden mejorar significativamente la eficiencia del proceso de DA (Chen *et al.*, 2007).

Co sustratos

Un análisis de los artículos publicados sobre CoDA revela la distribución de los principales sustratos utilizados : lodos de depuradora (27%), abonos (25%), la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos (21%), residuos industriales (13%), cultivos (5%), residuos agrícolas (4%), de los animales y desechos de la industria de la carne (4%) (Mata *et al.*, 2010).

En el mismo sentido, la co digestión de mezclas de estiércol con desechos de frutas y verduras, desperdicios de grasa, residuos de mataderos o de cocina han sido eficaz para la optimización de la producción de biogás (Garfi *et al*, 2001). Lo anterior se debe a que el uso del estiércol como co-sustrato proporciona una fuente de nutrientes y vitaminas y otros compuestos necesarios para el crecimiento

microbiano, además presenta una capacidad *buffer* que favorece el control de pH (Fang *et al.*, 2011).

En el caso particular del LS, el co sustrato debe aumentar la relación C/N responsable de la baja producción de metano. Así mismo, debe aumentar la capacidad de amortiguación, que permita respaldar la caída de pH durante la hidrólisis (Comino *et al.*, 2012; Chenxi *et al.*, 2011).

Con respecto a la CoDA de LS, las investigaciones muestran que las vinazas, los residuos de huevo y de pasta, los estiércoles y las aguas residuales son los co sustratos más utilizados en la degradación anaerobia de este residuo, alcanzando incrementos en la producción de biogás hasta del 151% (Shilton *et al.*, 2013) .

Sólidos Volátiles (SV)

El contenido de sólidos volátiles describe el contenido de materia orgánica en el residuo, y está definido como la pérdida de una cantidad de materia en una muestra seca después de 1 h a una temperatura de aproximadamente 550°C. El método se basa en el hecho de que la mayoría de los materiales orgánicos se encienden y se queman a esta temperatura (Angelidaki *et al.*, 2004).

Relación Carbono – Nitrógeno (C/N)

La relación carbono-nitrógeno (C/N) es un indicador importante para el control de sistemas de tratamiento biológico .Si es demasiado baja, los microorganismos no podrán metabolizar la materia orgánica, y si es demasiado alta, hay un exceso de nitrógeno que se acumula en forma amoniacal e inhibe el proceso. Para una degradación óptima la relación debe estar entre 25/1 y 30/1 (Wang *et al.*, 2012).

Relación sustrato –co sustrato

En la CoDA es muy importante elegir las mejores relaciones sustrato-co sustrato para así favorecer las interacciones positivas (las sinergias, equilibrio de los nutrientes y la humedad), evitar la inhibición y optimizar la producción de CH₄ (Mata *et al.*, 2010).

Recientemente Shilton *et al.* (2013) evaluaron la relación volumétrica 1/0.8/0.2 de LPTAR-LS-EB, respectivamente, encontrando que la producción de biogás aumentó en 268% con relación al rendimiento de biogás durante la digestión del LPTAR sin adición de co sustrato.

Relación inóculo-sustrato (RIS)

La RIS expresa la relación del contenido de SV del inóculo entre SV del sustrato. Un valor óptimo de RIS en el proceso de DA asegura la presencia de los grupos de bacterias necesarios para la biodegradación de la materia orgánica (Eskicioglu y Ghorbani, 2011).

En la investigación de DA con LS realizada por Gelegenis *et al.* (2007) emplearon RISV de 15/85; 25/75; 65/35 y 50/50 encontrando que el mejor rendimiento corresponde a la RISV 65/35. Se sugiere no emplear relaciones volumétricas menores a 50/50, dado que altas concentraciones de LS pueden acidificar el sistema con lo cual se puede afectar el volumen de CH₄ obtenido al final de la DA (Gutiérrez *et al.*, 1991).

Temperatura

La temperatura afecta directamente la velocidad de las reacciones biológicas, influenciando la actividad metabólica de los microorganismos que intervienen. Hay diferentes rangos de temperatura en el que la fermentación anaerobia se puede llevar a cabo: psicrófila (< 30°C), mesófila (30°C -40°C) y termófilas (50°C - 60°C). Sin embargo, los anaerobios son más activos en el intervalo de temperaturas mesófilas y termófilas (Appels *et al.*, 2008; Yadvika *et al.*, 2004).

pH

Se ha demostrado que el intervalo óptimo de pH para obtener máxima producción de biogás en la digestión anaerobia es 6,5 a 8; valores de pH inferiores a 4 y superiores a 9,5 pueden llevar un desequilibrio en el proceso (Poh *et al.*, 2009, Yadvika *et al.*, 2004).

Azúcares reductores totales (ART)

El rendimiento de la etapa hidrolítica de la DA puede ser expresado en el 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 (Madigan, 2006).

Ácidos grasos volátiles (AGV)

La concentración de AGV es el resultado de la fase de acidogénesis y es un parámetro importante para monitorear y garantizar el rendimiento del reactor (Yadvika *et al.*, 2004). La inhibición de microorganismos metanogénicos se presenta por cambios en los factores ambientales o en los nutrientes, provocando la acumulación de AGV; ocasionando una disminución en los valores de pH (Mshandete *et al.*, 2004; Vavilin *et al.*, 2008).

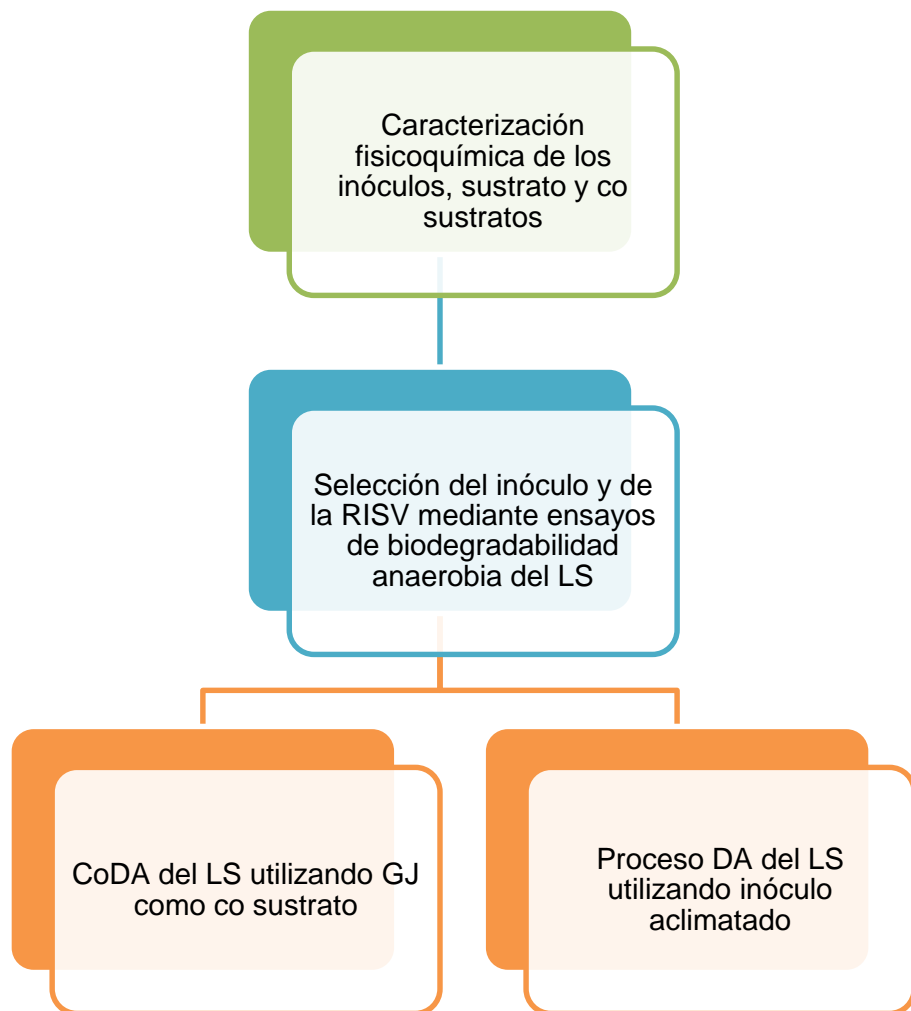
Alcalinidad total (AT)

La AT es una medida de la capacidad del sistema para soportar y amortiguar la presencia de ácidos sin disminuir su pH (campos *et al.*, 2011). Esta capacidad tampón puede ser proporcionada por la presencia de iones hidroxilo (OH^-), carbonato ($\text{CO}_3^{=}$) y bicarbonato (H_2CO_3^-). Los valores típicos de alcalinidad para estos procesos están entre 1500 y 7500 mg CaCO_3/L (Castillo *et al.*, 2007; Charles *et al.*, 2009).

2. METODOLOGÍA

La estrategia metodológica desarrollada, se estableció en etapas orientadas a evaluar los rendimientos de producción de biogás a partir de LS. Un diagrama general de la metodología seguida, se expone en la figura 2.

Figura 2. Metodología experimental para la DA y la CoDA del LS.



En la primera etapa se caracterizaron los inóculos (EB y LPTAR), el co sustrato (GJ) y el sustrato (LS) con el fin de conocer sus correspondientes propiedades fisicoquímicas. En la segunda etapa, se evaluó la viabilidad de la DA para dos inóculos, EB y LPTAR a distintas RISV, con el fin de determinar rendimientos y seleccionar el inóculo más adecuado para la DA del LS y su correspondiente RISV. En la tercera etapa se evaluaron las dos alternativas anteriormente mencionadas, la CoDA utilizando como co sustrato GJ y la DA del LS con el inóculo seleccionado en la primera etapa previamente aclimatado (se realiza la correspondiente caracterización del inóculo aclimatado), para establecer cuál de ellos representaba un aumento significativo en el rendimiento con respecto a la DA. Finalmente se monitorearon las variables de respuestas características para la alternativa que reportó mejores rendimientos, con el objetivo de determinar la estabilidad del proceso.

2.1 Caracterización fisicoquímica de inóculos, sustrato y co sustratos

2.1.1 Sustrato

El LS usado como sustrato se recolectó en la microempresa Villa Aurora, el protocolo ejecutado para el muestreo se presenta en el anexo A. Posteriormente se realizó una caracterización fisicoquímica al LS, evaluando: pH, densidad, humedad, concentración de sólidos volátiles (SV), alcalinidad (AT), carbono orgánico oxidable, oxígeno, nitrógeno, hidrógeno, relación de carbono/nitrógeno (C/N), cantidad de proteína, carbohidratos y grasas según protocolos requeridos de la *APHA* (1998), los ocho últimos determinados en los laboratorios de Consultas Industriales UIS.

2.1.2 Inóculos

Teniendo en cuenta la disponibilidad de la fuente de inóculos en la región de Santander se probaron como inóculos el lodo de plantas de tratamientos de aguas residuales (LPTAR) y el Estiércol Bovino (EB).

El EB fue recolectado del frigorífico Vijagual, Rionegro – Santander. Con el fin de contar con una fuente de inóculo, una carga de 18 litros de EB se introdujo en un bioreactor de 23 litros con agitación intermitente cada 30 minutos, a temperatura ambiente con el objetivo de homogenizar y potencializar el EB.

El LPTAR se obtuvo de la planta de aguas residuales Río Frío y también se mantuvo en condiciones homogéneas. El protocolo de toma de muestra de los inóculos se presenta en el anexo B.

Cada inóculo fue sometido a caracterización según los protocolos descritos en el *Standard Methods* (APHA, 1998), evaluando: pH, SV, alcalinidad (AT), y densidad.

2.1.3 Co sustrato

La gallinaza de jaula (GJ) se recolectó en la granja avícola Bellavista Horizontes, ubicada en el municipio de Los Santos -Santander. El protocolo ejecutado para el muestreo se presenta en el anexo C. Se realizó una caracterización fisicoquímica a la GJ, evaluando: pH, concentración de sólidos volátiles (SV), alcalinidad (AT) y densidad, según protocolos de la *APHA* (1998), el último determinados en los laboratorios de Consultas Industriales UIS.

2.2 Selección del inóculo mediante ensayos de biodegradabilidad anaerobia del LS

Debido a que el suero de leche tenía un pH entre 4.5-5.0 se preparó una solución de NaOH al 8N y se adicionó hasta ajustar el pH a 7.0 previamente a todos los montajes.

Para seleccionar el mejor inóculo para la DA del LS se dispuso de un montaje experimental para DA en discontinuo utilizando como biodigestores botellas de vidrio de 50 mL, gaseadas con N₂ para garantizar condiciones de anaerobiosis. Los ensayos de biodegradabilidad anaerobia se realizaron durante 12 días, bajo las condiciones de operación mencionadas en la Tabla 2. Cada biodigestor se selló con tapón de butilo y agrafe de aluminio. El rango de RISV seleccionado respondió a trabajos de investigación en DA, que sugerían intervalos similares para una evaluación que abarcara los niveles de experimentación bajo, medio y alto (Gelegenis *et al.*, 2007; Comino *et al.*, 2012).

Tabla 2. Condiciones de operación para la DA del LS a diferentes RISV.

Parámetro	RISV 30/70	RISV 50/50	RISV 70/30
Volumen de inóculo (EB o LPTAR) (mL)	10.5	17.5	24.5
Temperatura (°C)	39 ± 2		
Volumen de reactor (mL)	50		
Volumen de operación (mL)	35		
Agitación	Manual e intermitente		

La experimentación se realizó por triplicado. Adicionalmente, en cada caso se realizó un blanco, en el cual el sustrato fue reemplazado por agua destilada.

La variable respuesta que se tuvo en cuenta fue la el rendimiento expresado en m³ CH₄/ kg de SV adicionados, que corresponde a la división del volumen acumulado de metano a condiciones estándar al final del proceso de la mezcla, menos el volumen acumulado de metano en el blanco, entre la cantidad de sólidos volátiles adicionados del LS.

2.3 Desarrollo de las alternativas: CoDA con GJ y DA con inóculo aclimatado del LS

De acuerdo a la selección del inóculo en la etapa anterior, una cantidad de este se somete al proceso de aclimatación, es decir adaptándose al consumo de LS (con el pH corregido hasta 7 con NaOH al 8 N). En este caso, la aclimatación de 2 litros de inóculo tuvo lugar por un periodo de 30 días en un reactor de 3 litros, bajo condiciones anaerobias a temperatura ambiente con agitación intermitente cada 30 minutos, adicionando LS al inóculo en una concentración del 10%, teniendo en cuenta que la degradación de la caseína en el LS es un compuesto de difícil degradación que puede afectar la disponibilidad del sustrato en el proceso de DA, según lo especificado por Perle *et al.* (1995). Posteriormente se realizó la caracterización fisicoquímica al inóculo aclimatado, la cual se adjuntó a las previas caracterizaciones.

Se dispuso un montaje para la alternativa DA del LS con inóculo aclimatado, los ensayos se realizaron bajo las anteriores condiciones mencionadas y con la RISV previamente seleccionada en la etapa preliminar por un periodo de 30 días. Adicionalmente, se realizó un blanco por triplicado, en el cual el sustrato fue reemplazado por agua.

Para la alternativa de CoDA del LS con GJ. El montaje experimental siguió el mismo patrón que para la DA, utilizando la RISV seleccionada en la etapa anterior a las condiciones de operación ya especificadas. Los experimentos de CoDA del LS se desarrollaron durante 30 días, manteniendo la cantidad de inóculo constante en un 70% v/v y variando el porcentaje de sustrato—co sustrato como se presenta en la Tabla 3.

Tabla 3. Relación sustrato,cosustrato y porcentaje de inóculo en la CoDA del LS

Relación volumétrica Sustrato/Co sustrato	Inóculo(%V)
--	-------------

97/3	70
95/5	70

Adicionalmente, en cada caso se realizó un blanco, en el cual la cantidad sustrato-co sustrato fue reemplazado por agua destilada.

También se realizó un control que correspondía a la DA del LS con la RISV seleccionada como punto de referencia, con el fin de de comparar los rendimientos para cada alternativa.

Para las dos alternativas la experimentación se realizó por triplicado teniendo como variable respuesta el rendimiento ($\text{m}^3 \text{CH}_4/\text{kg}$ de SV adicionados). Teniendo en cuenta que para el proceso de CoDA los sólidos volátiles adicionados corresponden tanto al sustrato (LS) como al co sustrato (GJ).

2.4 Monitoreo de las variables respuesta para la alternativa seleccionada

Se selecciona una alternativa (CoDA con GJ o DA con inoculo aclimatado), y se realiza un montaje experimental a 30 días con su respectivo control (DA del LS) y blancos. Las condiciones de operación fueron las mismas que en las etapas anteriores. Durante el tiempo de operación, se monitorearon las variables de respuesta características de este tipo de biodegradación (Angelidaki *et al.*, 2011): ART, AGV, AGV/AT, pH, volumen acumulado de CH_4 neto (mezcla menos su respectivo blanco) y SV.

La Tabla 4 presenta las variables respuesta del proceso, la periodicidad de medición y el método usado.

Tabla 4. Variables a monitorear, periodicidad de la medición y método analítico.

Variables a monitorear	Unidad	Periodicidad	Método
------------------------	--------	--------------	--------

Concentración de ART	g/L	Cada 5 días	Colorimétrico usando ácido 3-5 dinitrosalicílico(DNS) (Anexo D)
Concentración de AGV	mg/L	Cada 5 días	Titulación (Anexo E)
Concentración de AT	mgCaCO ₃ /L	Cada 5 días	Titulación (Anexo E)
Concentración de SV	g/L	Cada 5 días	Gravimétrico (Anexo F)
pH	-	Cada 5 días	Potenciométrico/NTC 5167
Volumen de metano	mL	Diario	Desplazamiento alcalino (Anexo G)

3. RESULTADOS Y ANÁLISIS

3.1. Caracterización fisicoquímica de inóculos, sustrato y co sustrato

En la Tabla 5 se presenta la caracterización fisicoquímica de los inóculos, sustrato y co sustrato.

Tabla 5. Caracterización fisicoquímica y composición elemental de los inóculos, sustrato y co sustrato

Parámetro	LS	EB	LPTAR	EBA	GJ
pH	4,75±0,35	7,63	7,95	7,40	7,86
Densidad a 20°C (g/mL)	1,03	1,04	0,98	1,03	1,03
Humedad(g/L)	957,80	-	-	-	-
Sólidos volátiles(g/L)	62,82	58,24	45,46	57,25	132,89
Alcalinidad total(mgCaCO ₃ /L)	0	6500	5100	6800	4050
C orgánico oxidable(g/L)	26,10	-	-	-	-
Relación C/N	11,4	-	-	-	-
N total(g/L)	2,30	-	-	-	-
Hidrógeno(g/L)	3,50	-	-	-	-
Oxígeno(g/L)	25,30	-	-	-	-
Proteína (g/L)	12,50	-	-	-	-
Grasas(Lípidos) (g/L)	2,50	-	-	-	-
Carbohidratos (g/L)	43,30	-	-	-	-

Tanto la materia orgánica disponible para la degradación, que se presenta en altas concentraciones de SV, como el porcentaje de carbono orgánico oxidable total,

permiten identificar en el LS una fuente de carbono atractiva para la DA. Asimismo, los altos porcentajes de humedad constituyen un medio fluido apropiado para el desarrollo microbiano (Kumar *et al.*, 2008). La baja relación C/N, el bajo pH, la nulidad en la alcalinidad (Wang *et al.*, 2012), la alta cantidad de proteína y grasas (difícil degradación) son desfavorables para la DA; por tal motivo el uso de un inóculo apropiado y la adición de otra fuente de carbono pueden amortiguar el efecto inhibitorio.

De acuerdo a la caracterización elemental propuesta por Angelidaki *et al.* (2011) el rendimiento teórico del sustrato (LS) fue $0,76\text{m}^3\text{-CH}_4/\text{kg-SV}$ adicionados.

Tanto para el EB, LPTAR y el EBA, el pH se encuentra dentro del rango de operación para el desarrollo de DA reportado en la literatura (Raposo *et al.*, 2006).

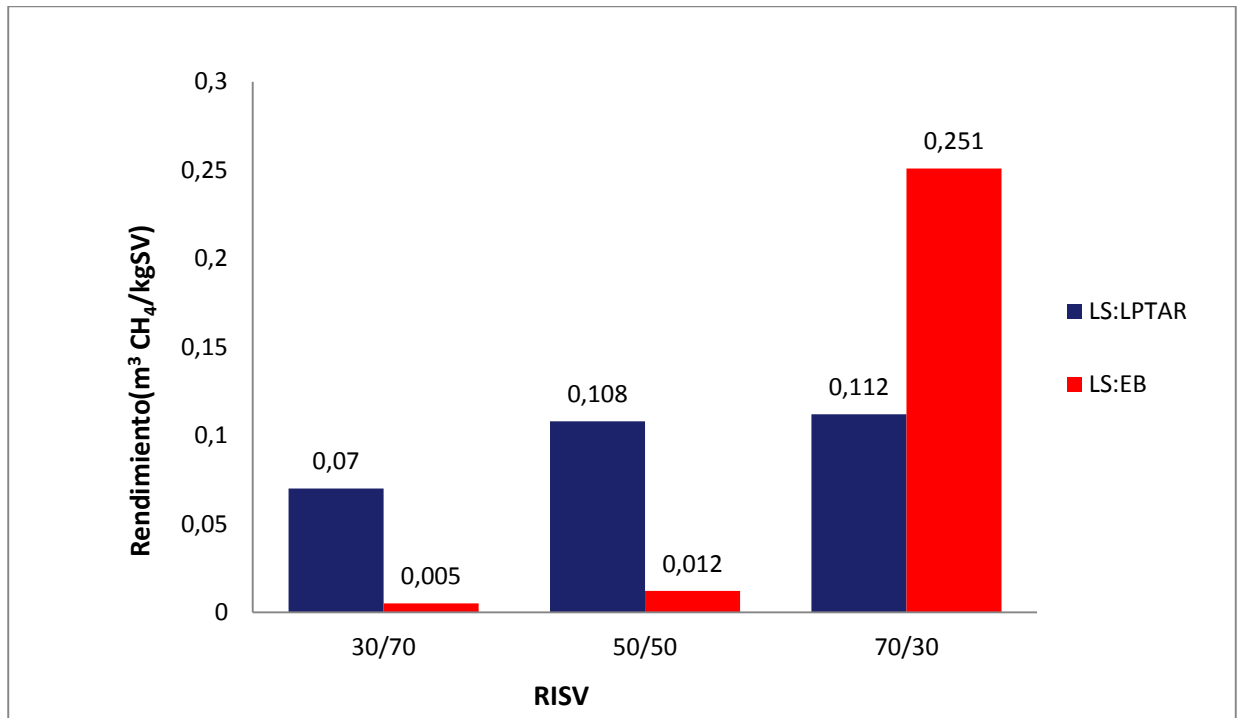
La baja concentración de SV del LPTAR indica que es un inóculo agotado (baja concentración de materia orgánica), propicio para el arranque de digestores anaerobios comparado con el EB y el EBA que presentan concentraciones de materia orgánica disponible para ser degradada y que podría competir con el sustrato (LS) disminuyendo los rendimientos de CH_4 . Sin embargo la elevada alcalinidad reportada para el EB y el EBA favorece la capacidad de amortiguar los descensos bruscos de pH en el sistema ocasionados por el carácter ácido del LS (Campos, 2001).

La alcalinidad de la GJ es baja lo cual no es favorable para la CoDA pero esto puede ser contrarrestado por la elevada cantidad de los SV que pueden mejorar la estabilidad del proceso.

3.2 Selección del inóculo mediante ensayos de biodegradabilidad anaerobia del LS

Los resultados de biodegradabilidad anaerobia de LS para diferentes relaciones volumétricas se presentan en la Figura 3.

Figura 3. Ensayo de biodegradabilidad ($\text{m}^3\text{CH}_4/\text{kg SV}$) de las RISV 70/30, 50/50 Y 30/70 usando como inóculos LPTAR y EB.



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

Se observa que para la RISV de 30/70 y 50/50, el mejor inóculo es el LPTAR, esto se debe a su baja cantidad de SV, lo que facilita el arranque del proceso y un mayor aprovechamiento del LS; por el contrario la alta cantidad de materia orgánica presente en el EB compite directamente con el LS disminuyendo los rendimientos de CH_4 .

Sin embargo para la RISV 70/30 el mayor rendimiento se obtuvo para la mezcla EB-LS esto obedece a que su elevada alcalinidad favorece la estabilidad del proceso ya que amortigua los cambios bruscos de pH.

Se observa que el máximo rendimiento es de $0,25\text{m}^3 \text{CH}_4/\text{Kg SV}$ adicionados utilizando como inóculo EB y una RISV de 70/30. De acuerdo a los resultados obtenidos en esta etapa, el inóculo seleccionado fue EB.

3.3 Desarrollo de las alternativas: CoDA del LS-GJ y DA del LS con EBA como inóculo.

En la Tabla 6 se presentan los rendimientos obtenidos para: la Co DA del LS utilizando como co sustrato GJ, la DA del LS con inóculo aclimatado (como el EB es el mejor inóculo se aclimata éste, denominándose Estiércol Bovino Aclimatado, EBA) y la DA del LS con EB como inóculo a una RISV 70/30 que fue tomado como control para ambas alternativas.

Tabla 6. Rendimiento de los procesos: CoDA de LS-GJ, DA del LS con EBA como inóculo y control.

Proceso	Rendimiento ($\text{m}^3\text{CH}_4/\text{kg SV}$ adicionado)
CODA del LS con GJ 97/3	0,46
CODA del LS con GJ 95/5	0,41
DA con EBA	0,58
Control	0,42

De acuerdo con los resultados obtenidos, se demuestra que al utilizar GJ como co sustrato, el máximo rendimiento ($0,46 \text{ m}^3\text{CH}_4/\text{kg SV}$ adicionado) se alcanza con la relación 97/3 LS-GJ (Tabla 6). Los resultados indican el efecto positivo sinérgico logrado en el sistema, debido a que la gallinaza de jaula es un tipo de estiércol que aporta principalmente nitrógeno libre al reactor mientras que el nitrógeno presente en el LS es netamente orgánico producto de las deficiencias en la coagulación de las proteínas durante el proceso de fabricación del queso (Gelegenis *et al.*, 2007; Perle *et al.*, 1995).

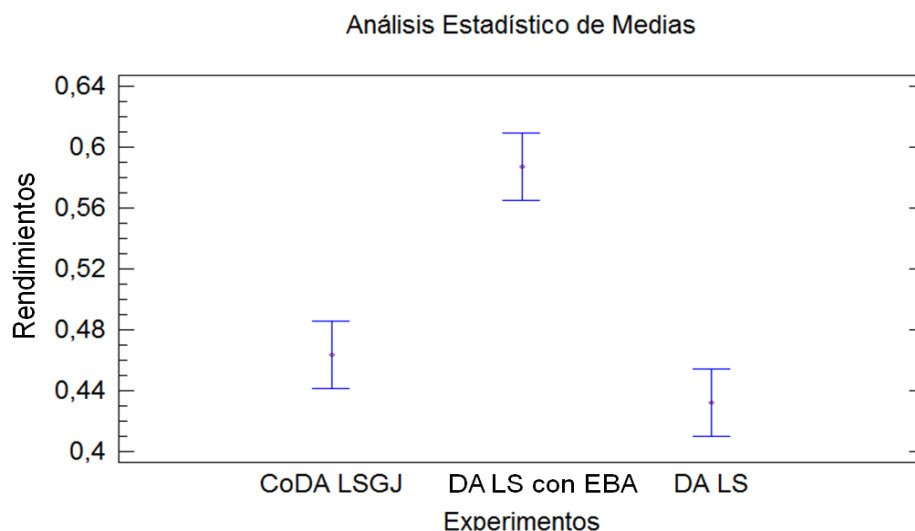
Sin embargo, al aumentar la concentración de GJ en el sistema (proporción 95/5 LS-GJ), se observa el decaimiento en la tasa de producción, lo que indica que las

condiciones del medio de crecimiento y desarrollo de los microorganismos se vieron afectadas por la presencia de GJ. Se puede inferir que esta inhibición es posiblemente causada por los iones amonio presentes en la GJ (Fang *et al.*, 2010).

Durante la DA del LS con EBA, se logró un rendimiento de 0,58 m³CH₄/kg SV adicionado lo cual indica que el tratamiento de aclimatación del EB fue efectivo para el proceso de DA porque favorece la degradación de la materia orgánica de difícil degradación, proteínas y grasas y en consecuencia hay un mayor aprovechamiento que se traduce en el aumento del biogás producido (Vidal *et al.*, 2000). Comino *et al.* (2012), reportaron un aumento del rendimiento en un 104%, al emplear un proceso de aclimatación en *batch* al LS durante 62 días y empleando una RISV 65/35.

En la Figura 4 se presenta el análisis estadístico con el fin de determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. Para el caso de la CoDA se tomó el rendimiento más alto, que corresponde a la relación 97/3 ; ya que para la relación 95/5 el rendimiento estuvo por debajo del control.

Figura 4. Análisis Estadístico para determinación de diferencia significativas.



Los resultados experimentales fueron analizados con el *software StatGraphics plus 5.1*, StatPoint Inc. (Virginia, EE.UU). El test de *Fisher's* fue usado para verificar diferencias estadísticas entre los resultados.

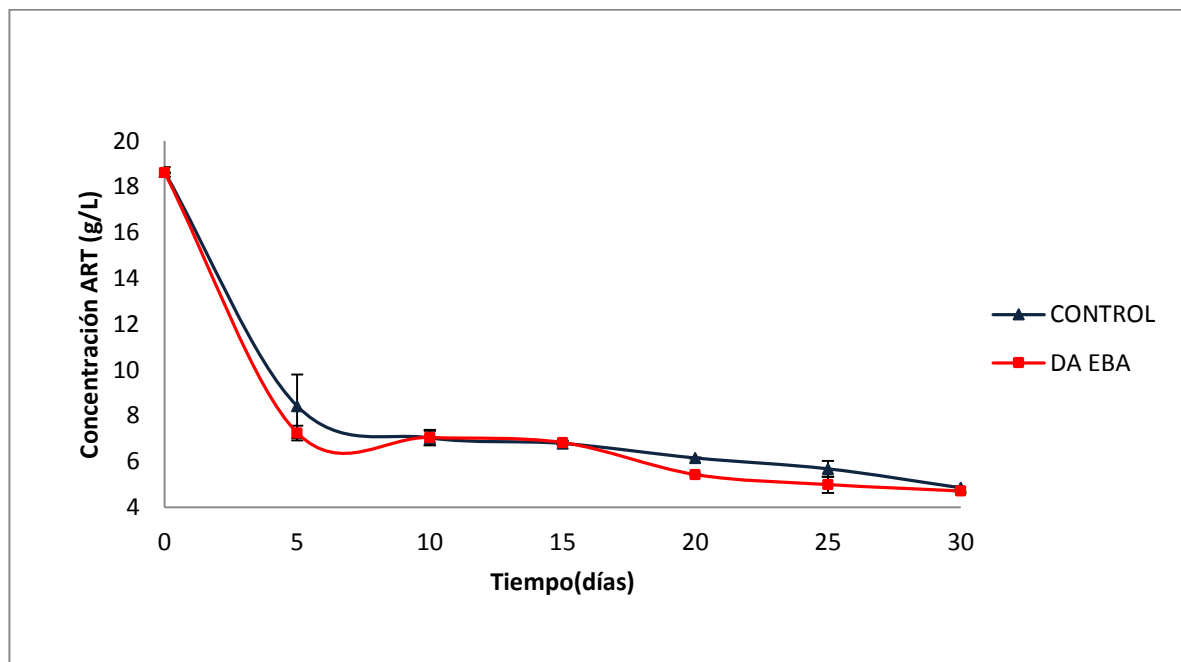
Se puede apreciar que no existen diferencia estadísticamente significativas entre la CoDA LS-GJ y el control (DA del LS), por el contrario la DA del LS con EBA y el control (DA del LS) muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95% de confianza.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos para cada uno de las alternativas evaluadas se puede afirmar que el sistema DA del LS con EBA es el más adecuado para desarrollar el tratamiento del LS.

3.4 Monitoreo de las variables respuesta para la alternativa seleccionada

El rendimiento de la etapa de hidrolisis para la DA del LS con EBA y su respectivo control se presenta en función de los ART en la Figura 5.

Figura 5. Consumo de ART para DA del LS con EBA y su control.



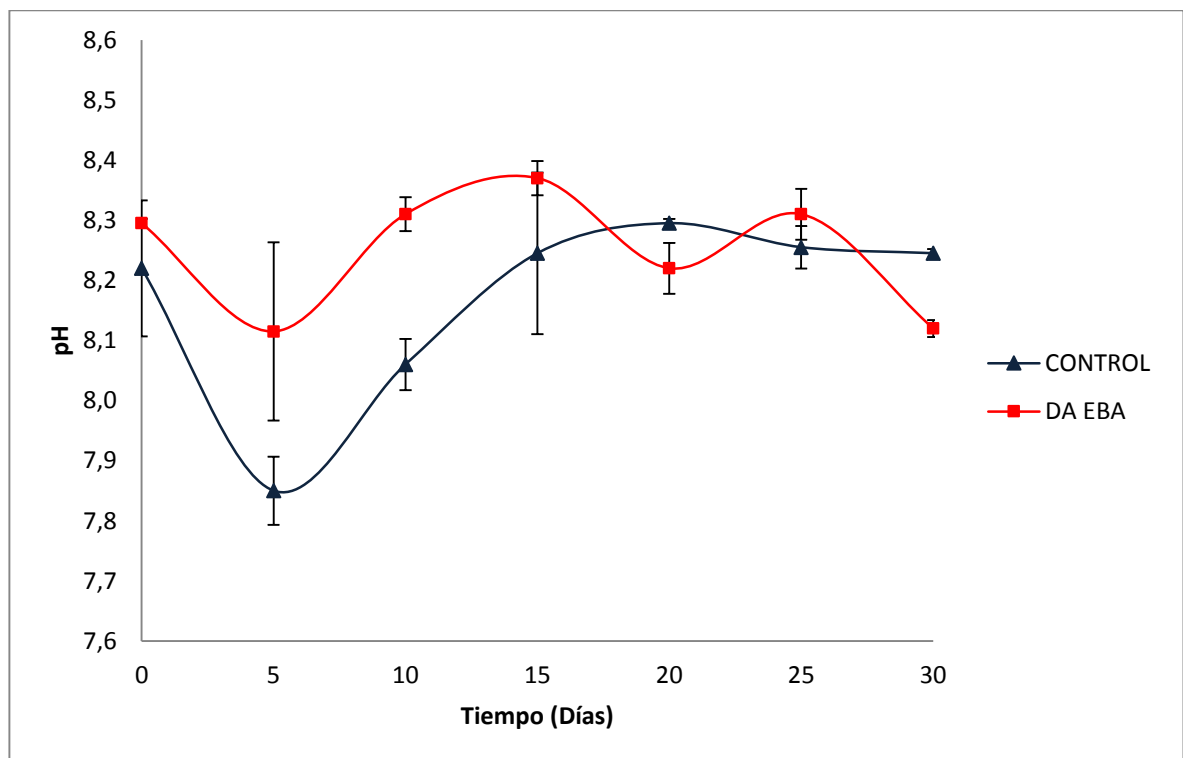
El consumo de ART a través del tiempo indica un arranque y evolución adecuados propios de los procesos anaerobios, este comportamiento es similar para los sistemas DA del LS con EBA y su control DA, como se observa no se presentan cambios significativos en el proceso.

Para los dos experimentos se observa que hay una alta concentración de azúcares, con un mayor consumo durante los cinco primeros días lo que evidencia una rápida hidrólisis de la materia orgánica por parte de las bacterias facultivas encargadas de llevar a cabo las etapas de hidrólisis (Angelidaki *et al.*, 2011) Y, estabilidad de la etapa hidrolítica del proceso favoreciendo así la las posteriores etapas de digestión.

A partir del día 30, la concentración de ART se mantuvo constante lo que significa que se alcanza el estado estacionario dentro del biorreactor.

Las variaciones del pH durante el proceso se muestran en la Figura 6.

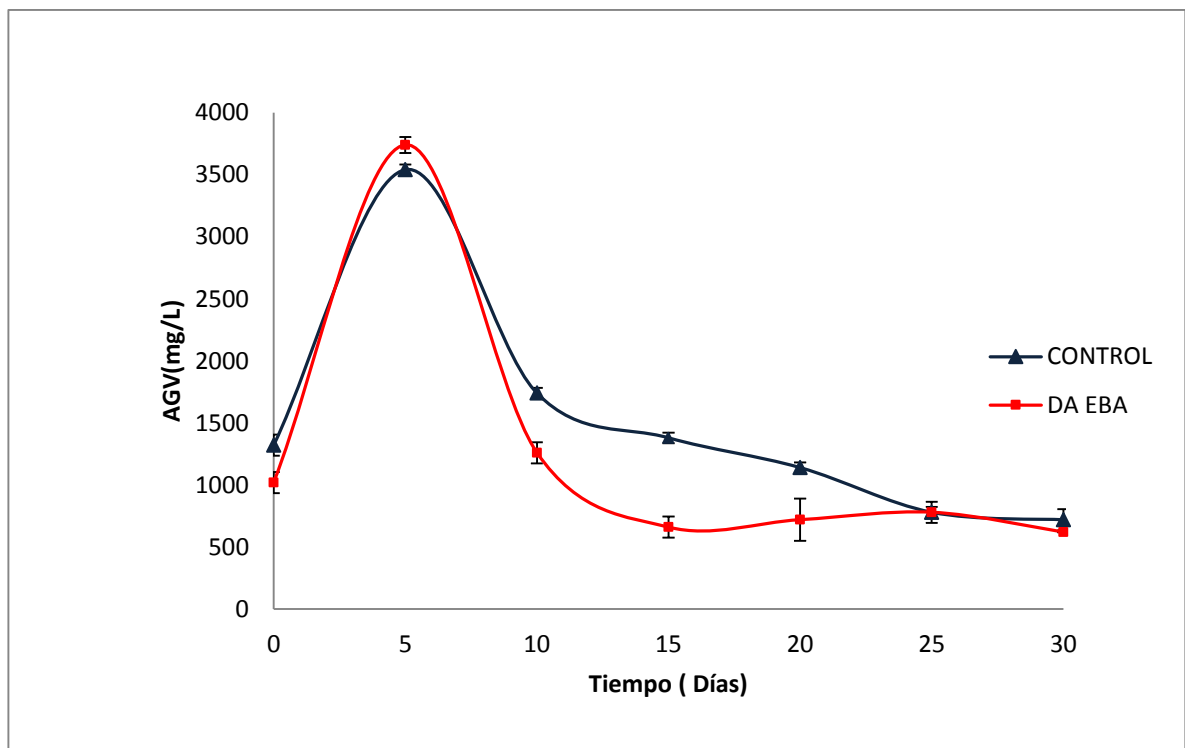
Figura 6. Variación del pH para DA del LS con EBA y su control.



Los valores de pH para los sistemas evaluados fueron similares y se mantuvieron en un rango de 7,8 a 8,4; rango aceptable para el crecimiento de bacterias anaerobias y el desarrollo del proceso (Raposo *et al.*, 2011) En el día 5 se observa una disminución del pH, lo que concuerda con los días de mayor producción de AGV. Sin embargo el comportamiento de la DA con EBA es oscilatorio, lo que demuestra mayor capacidad de amortiguación a las caídas del pH.

Las variaciones en la concentración de AGV se muestran en la Figura 7.

Figura 7. Variación en la concentración de AGV para DA del LS con EBA y su control.



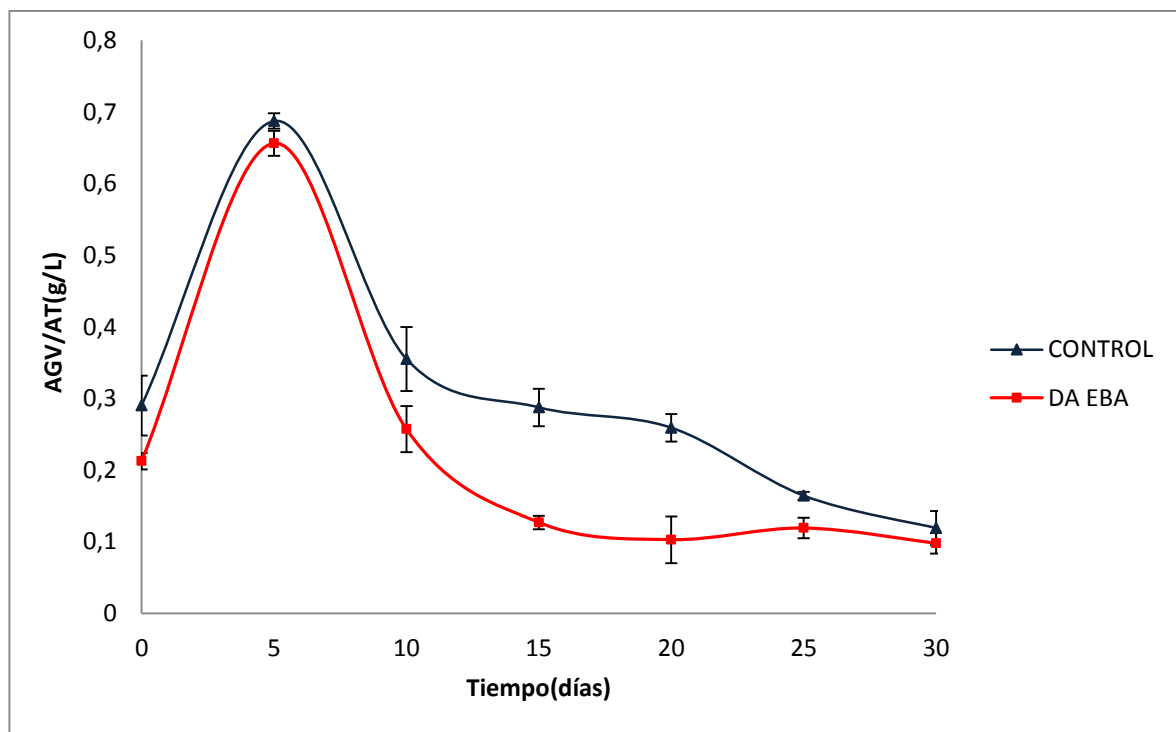
Se observa que la DA del LS con EBA supera al control en la producción de AGV en los primeros 5 días en 200 mg/L indicando una mayor eficiencia en la etapa acidogénica, lo cual es consecuencia de la aclimatación del inóculo; así mismo en los días posteriores se evidencia el mayor y más rápido consumo de AGV con respecto al Control, demostrando una mayor actividad por parte de los consorcios

microbianos que se encargan de convertir los AGV producidos en CH₄ en la etapa metanogénica. Esto concuerda con los resultados obtenidos de pH ya que no se evidenciaron cambios bruscos a pesar de la alta producción de AGV, de lo cual se infiere que existe una alta amortiguación para este sistema.

En el sistema de DA EBA, al igual que su control no presentó inhibición por concentración de AGV, manteniéndose siempre por debajo de 6000mg/L (Apples *et al.*, 2008). Finalmente los sistemas alcanza la estabilidad.

Las variaciones de la relación AGV/AT se presentan en la Figura 8.

Figura 8. Relación AGV/AT para DA del LS con EBA y su control.

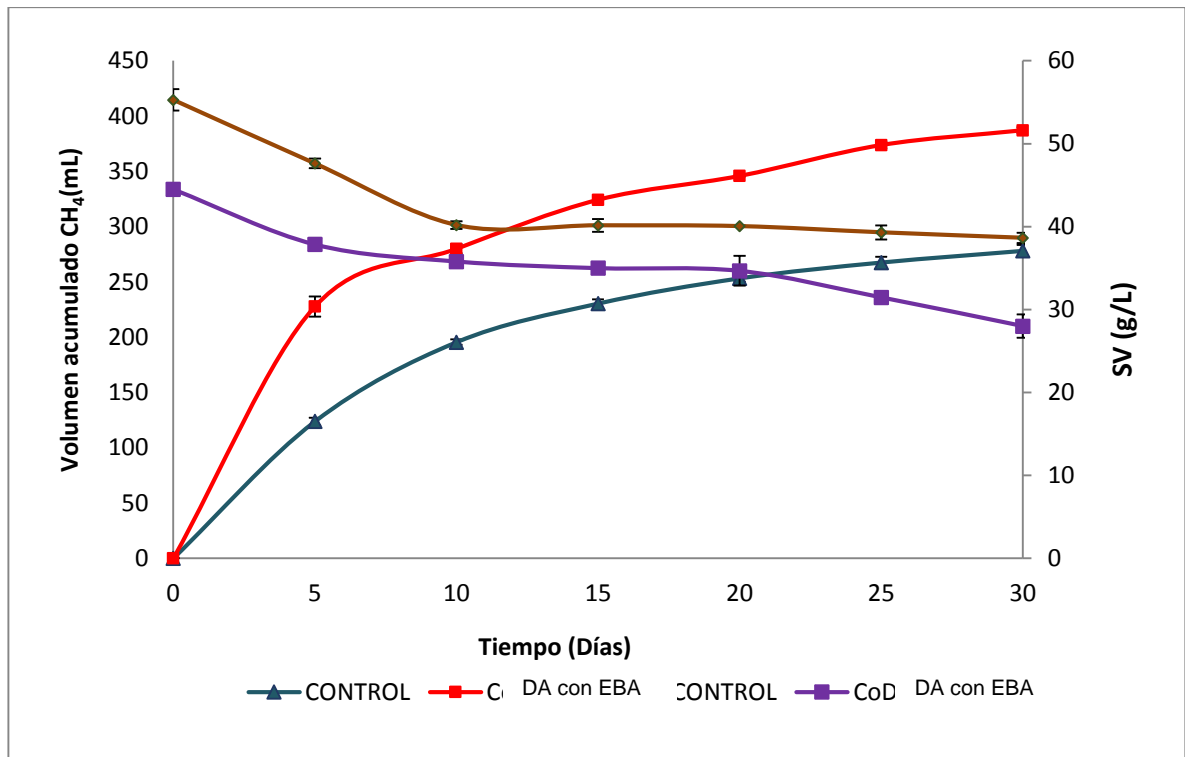


Tanto para la DA del LS con EBA como su control se observan rangos apropiados de AGV/AT; del día 0 al día 10 se mantiene en un rango de 0,1 a 0,7 y a partir de este se mantiene en un rango 0,1 y 0,35. Sin embargo para la DA del LS con EBA la relación AGV/AT es menor respecto al control, indicando una mayor capacidad

de soportar las altas producciones de AGV, es decir hay menor riesgo de acidificación (Raposo *et al.*, 2006).

La producción de metano y degradación de sólidos volátiles para el control y DA EBA-LS se muestra en la Figura 9.

Figura 9. Producción de metano y consumo de SV en el proceso de DA del LS usando EBA y su control.



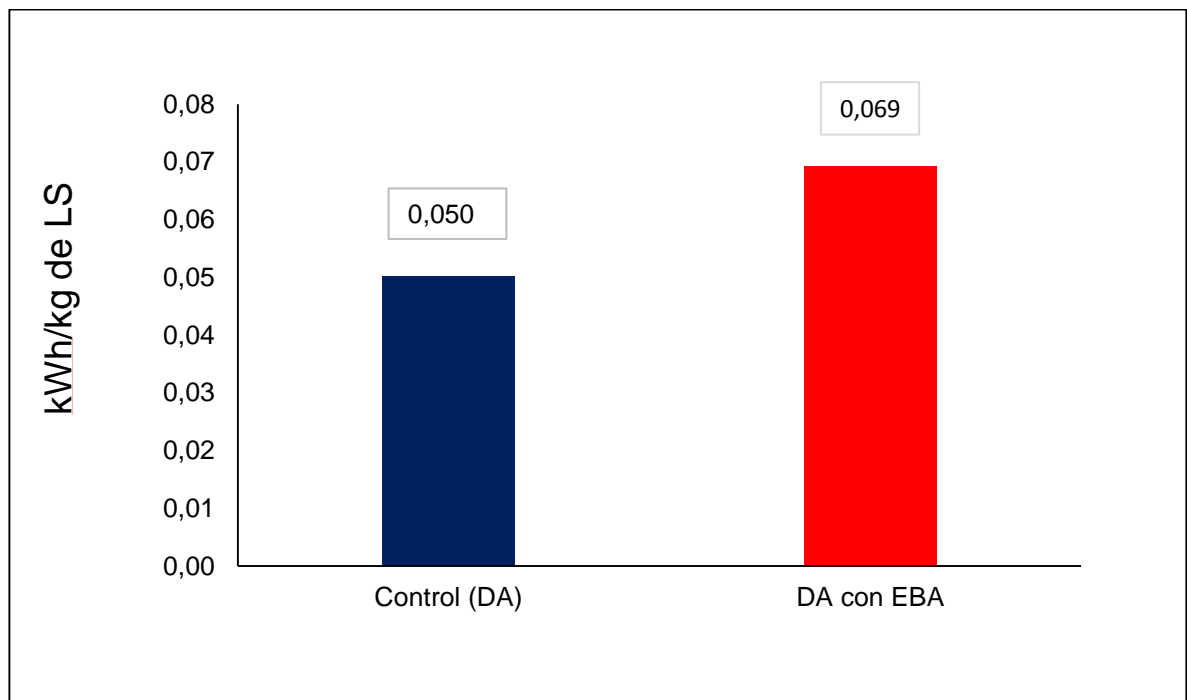
En la Figura 9 se observa la remoción de sólidos en color marrón para el control y en color morado la DA con EBA y la producción acumulada de metano, en color verde el control y en color rojo la DA con EBA.

A medida que disminuye la concentración de SV aumenta la producción de CH₄. La máxima producción de CH₄ fue alcanzada por la DA EBA, por ende obtuvo la mayor remoción de materia orgánica representada en remoción de SV en un 37%; el porcentaje de remoción de SV para el control fue del 30%.

Los porcentajes de remoción de sólidos volátiles son menores a los reportados en el estudio sobre la producción de metano a partir de LS y EB, con 49,4% de remoción de Sólidos Volátiles (Kavacik *et al.*, 2010). Sin embargo en este estudio se alcanzó altos rendimientos en la producción de metano para la DA EBA.

En cuanto el aprovechamiento energético el control aporta 0,05 kWh/kg LS y por otra parte la DA con EBA 0,069 kWh/kg LS, se puede observar en la Figura 10.

Figura 10. Rendimientos energéticos del control (DA) y la DA con EBA en kWh/kg del LS.



4. CONCLUSIONES

- ✓ Se muestra que el EB presentó una mayor afinidad con el LS, ya que presentó un mayor rendimiento utilizando una RISV 70/30 en comparación con el LPTAR, debido a su alta capacidad buffer que le aportó al sistema.
- ✓ La DA del EBA presentó el mayor rendimiento del proceso de estabilización del LS $0.58\text{m}^3 \text{CH}_4/\text{kg-SV}$ adicionados, motivo por el cual se seleccionó como la mejor alternativa evaluada comparado con el proceso de CoDA empleando GJ como co sustrato. Lo anterior, indica que el tratamiento de aclimatación del estiércol bovino fue efectivo para el proceso de DA porque favorece la degradación de la materia orgánica de difícil degradación.
- ✓ Se evaluó la estabilidad del sistema de DA con EBA, la degradación del 75% de los ART, la remoción del 37% de los SV y la relación AGV/AT inferior a 0.4 después del día 10 de digestión, demuestran que el sistema tuvo un arranque y desempeño del proceso favorable durante el tiempo de operación.
- ✓ Se evidencia que la materia orgánica presente en LS se puede aprovechar energéticamente mediante DA obteniendo un rendimiento de $0,069 \text{ kWh/kg}$ de LS utilizando EBA como inóculo y $0,050 \text{ kWh/kg}$ de LS utilizando EB como inóculo.

5. RECOMENDACIONES

Evaluar la DA del LS con EBA en operación continua, a temperatura ambiente y con agitación, como alternativa industrial para la estabilización y valorización energética del LS.

BIBLIOGRAFÍA

- ANGELIDAKI I., KARAKASHEV D., BATSTONE J., PLUGGE C., STAMS A., *Biomethanation and Its Potential*. Elsevier Applied Science, 494, 2011, 328-347.
- ANGELIDAKI I., SANDERS W.,). *Assessment of the anaerobic biodegradability of macropollutants*. Reviews in Environmental Science and Bio/Technology, 3, 2004, 129.
- APHA-AWWA-WPCF. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 20th ed. American Public Health Association, Washington, DC. 2001.
- APPELS L., BAEYENS J., DEGREVE J., DEWIL R. *Principles and potential of the digestion of waste activated sludge*. Progress in energy and combustion science, 34, 2008, 755-781.
- BOHÓRQUEZ N., BUITRAGO A., JOYA M., MONTAÑA X., RIVERA H., *Análisis estructural de sectores estratégicos: sector productos lácteos*. Bogotá. Universidad del Rosario, 2012, 135.
- CAMPOS A., *Optimización de la digestión anaerobia de purines de cerdo mediante codigestión con residuos orgánicos de la industria agroalimentaria*. Tesis doctoral en ingeniería agrónoma, Lleida: Universidad de Lleida, 2001, 47-50.
- 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.
- CATERING. Informe: lácteos, derivados y huevos. Bogotá, Colombia, Duque J., Año 5, 22.
- COMINO E., RIGGIO V., ROSSO M., *Biogas production by anaerobic co-digestion of cattle slurry and cheese whey*. Bioresource Technology, 114, 2012, 46–53.
- CHARLES, W. WALKER, L. CORD-RUWISCH, R. *Effect of pre-aeration and inoculum on the start-up of batch thermophilic anaerobic digestion of municipal solid waste*. Bioresource Technology, 100, 2009, 2329–2335.
- CHEN Y., CHENG J., CREAMER K. *Inhibition of anaerobic digestion process: A review*. Bioresource Technology, 99, 2008, 4044–4064.

CHENXI L., CHAMPAGNE P., ANDERSON B., *Evaluating and modeling biogas production from municipal fat, oil, and grease and synthetic kitchen waste in anaerobic co-digestions*. *Bioresource Technology*, 102,2011, 9471–9480.

DANE. Resultados encuesta nacional Agropecuaria (ENA).2011.Disponible en: www.dane.gov.co.

DONOSO-BRAVO A., RETAMAL C. , CARBALLA M., RUIZ-FILIPPI G., CHAMY R. *Influence of temperature on the hydrolysis, acidogenesis and methanogenesis in mesophilic anaerobic digestion: parameter identification and modeling application*. *Water Science and technology*, 60, 2009, 9–17.

ESKICIOGLU C., GHORBANI M. *Effect of inoculum/substrate ratio on mesophilic anaerobic digestion of bioethanol plant whole stillage in batch mode*. *Process Biochemistry*, 46, 2011, 1682–1687.

FANG C., BOE K., ANGELIDAKI I. *Anaerobic co-digestion of desugared molasses with cow manure; focusing on sodium and potassium inhibition*. *Bioresource Technology*, 102, 2011, 1005–1011.

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

GUERRERO W., CASTILLA H.,CÁRDENAS K., GÓMEZ C.,CASTRO J., *Degradación anaerobia de 2 tipos de lactosuero en reactores UASB*. *Tecnología Química*,32,2012,99-106.

GUTIERREZ J., GARCIA E., POLANCO F., *Anaerobic treatment of cheese whey in a two-phase UASB reactor*. *Environmental Technology*, 12,1991, 355-362.

KUMAR S. *Anaerobic Biotechnology for Bioenergy Production. Principles and Applications*. Editorial Blackwell Publishing, Estados Unidos, 2008, 1-25.

KAVACIK B., TOPALOGLU B., *Biogas production form co-digestion of chesse whey and dairy manure*.*Biomass an Bioenergy*,34,2010,1321-1329.

- MADIGAN M., MARTINKO J., PARKER J., BROCK. *Biología de los microorganismos*. Pearson Prentice Hall, 10, 2006, p. 151-168.
- GARFI M., MARTÍ F., BORT I., RIPOLL X., MARTÍ I., *Codigestion of cow and guinea pig manure in low-cost tubular digesters at high altitude*. *Ecological Engineering* , 37,2001,2066-2070.
- MATA-ALVAREZ J. *Biomethanization of the Organic Fraction of Municipal Solid Wastes*. Editorial IWA, España, 2003, 1-30.
- MATA-ALVAREZ J., DOSTA J., MACÉ S., ASTALS S. *Codigestion of solid wastes: A review of its uses and perspectives including modeling*. *Critical Reviews in Biotechnology*, 2011, 1–13.
- 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.
- MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL.2005.Disponible en: www.agronet.gov.co
- MOCKAITIS G., RATUSZNEI S., RODRIGUEZ J., ZAIAT M., FORESTI , E., *Anaerobic whey treatment by a stirred sequencing batch reactor (ASBR): effects of organic loading and supplemented alkalinity*. *Environmental Management*, 79,2006,198-206.
- MSHANDETE A., BJÖRNSSON L., KIVAISIA A., RUBINDAMAYUGIA S., MATTIASSON B., *Enhancement of anaerobic batch digestion of sisal pulp waste by mesophilic aerobic pre-treatment*. *Water Resource*, 39 ,2005, 1569-1575.
- PANDEY P., NDEGWA P., SOUPIR M., ALLDREDGE R., PITTS M. *Efficacies of inocula on the startup of anaerobic reactors treating dairy manure under stirred and unstirred conditions*. *Biomass and bioenergy*, 35, 2011, 2705- 2720.
- PERLE M., KIMCHIE S., SHELEF G., *Some biochemical aspects of the anaerobic degradation of dairy wastewater*.*Water Research*,29, 1995,1549-1554.
- POH.P, CHONG. M. *Development of anaerobic digestion methods for palm oil*. *Bioresource Technology*, 100, 2009, 1–9.

- PRAZERES R., CARVALHO F., RIVAS J., PATANITA M.,DORES J., *Pretreated cheese whey wastewater management by agricultural reuse: Chemical characterization and response of tomato plants *Lycopersicon esculentum* Mill. under salinity conditions.* Science of the Total Environment, 463,2013, 943-951.
- RAPOSO F., DE LA RUBIA M.,FERNÁNDEZ V., BORJA.,*Anaerobic digestion of solid organic substrates in batch mode: An overview relating to methane yields and experimental procedures.* Renewable and Sustainable Energy Reviews ,16,2011, 861-877.
- RAPOSO F., BANKS C., SIEGERT I., HEAVEN S., BORJA R. *Influence of inoculum to substrate ratio on the biochemical methane potential of maize in batch tests.* Process Biochemistry, 41, 2006, 1444–1450.
- SHILTON A., POWEL N., BROUGHTON A., PRATT C., *Enhanced biogas production using cow manure to stabilize co-digestion of whey and primary sludge.* Environmental Technology,34,2013, 1-6.
- USP-MADR. Boletín Mensual: Unidad De Seguimiento De Precios De La Leche.. Bogotá. *Boletín No. 1,2012.*
- VICEMINISTERIO DE AMBIENTE. 2007.*Disponible en: www.minambiente.gov.co*
- VIDAL G., CARVALHO A., MÉNDEZ R.,LEMA J., *Influence of the content in fats and proteins on the anaerobic biodegradability of dairy wastewaters.* Bioresource Technology, 74,2000, 231-239.
- YADVIKA., SANTOSH., SREEKRISHNAN T., KOHLI S., RANA V. *Enhancement of biogas production from solid substrates using different techniques -a review.* Bioresource Technology, 95, 2004, 1–10.
- YANG K., YU Y., HWANG S., *Selective optimization in thermophilic acidogenesis of cheese-whey wastewater to acetic and butyric acids: partial acidification and methanation.* Water Research 37,2003, 2467–2477.
- ZENG S., YUANA X., SHIA X., QIUA Y. *Effect of inoculum/substrate ratio on methane yield and orthophosphate release from anaerobic digestion of *Microcystis* spp.* Journal of Hazardous Materials, 178, 2010, 89–93.

ANEXOS

Anexo A. Protocolo para la recolección de lactosuero

Materiales:

- Cinta de enmascarar.
- Recipientes plásticos de dos litros.
- Guantes de látex.
- Marcadores permanentes.
- Nevera de Icopor.
- Tiras de pH.

Procedimiento

Para la toma de muestras de lactosuero se deben realizar pronto ocurre el desuerado del queso, para que así no se acidifique.

1. Se mezcla el tanque del lactosuero, se toma una muestra y se mira su pH.
2. Rotular los recipientes con las muestras con lugar y fecha de la toma de muestra.
3. Trasladar las muestras hasta el laboratorio en las cavas.
4. En el laboratorio se refrigeran los recipientes.

Anexo B. Protocolo para la recolección de inóculo

Materiales:

- Cinta de enmascarar.
- Toma –muestras.
- Recipientes plásticos.
- Guantes de látex.
- Marcadores permanentes.
- Tapa bocas.

Procedimiento

1. Se ingresa un toma- muestra al tanque de inóculo.
2. Rotular las muestras con lugar y fecha de la toma de muestra.
3. Trasladar las muestras hasta el laboratorio.

Anexo C. Protocolo para la recolección de muestras de gallinaza de jaula

Materiales:

- Bolsa plástica con cierre hermético.
- Cinta de enmascarar.
- Espátula.
- Recipientes plásticos de dos litros.
- Guantes de látex.
- Marcadores permanentes.
- Nevera de Icopor.
- Tapa bocas.

Procedimiento

Para la toma de muestras de gallinaza se deben realizar antes de ser llevada a la planta de abonos; preferiblemente en la jornada de la mañana.

1. Con la espátula tomar las muestras de gallinaza hasta llenar la totalidad de las bolsas y cerrar inmediatamente.
2. Rotular las bolsas con las muestras con lugar y fecha de la toma de muestra.
3. Trasladar las muestras hasta el laboratorio en las cavas.
4. En el laboratorio envasar las muestras en recipientes plásticos y refrigerar.

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.

Materiales y Reactivos:

- Agua destilada.
- DNS.
- Hielo.
- Micropipeta.
- Tubos de ensayo.
- Espectrofotómetro.

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

1. Tomar una muestra aproximadamente de 10 mL en tubos falcon de 15 mL.
2. Centrifugar las muestras por 15 minutos a 10000 rpm.
3. Llevar el sobrenadante a otro falcon.

4. Medir 4 ml del sobrenadante y llevarlo a un tubo de ensayo.
5. Agregar 2 mL de agua destilada al sobrenadante y luego 4 mL de DNS.
6. Dejar en baño con agua en ebullición durante 5 minutos.
7. Detener la reacción en un baño de hielo.
8. Agregar 4 mL de agua destilada, y dejar reposando durante 15 minutos.
9. Calibrar el equipo usado un blanco obtenido en el procedimiento anterior pero agregando agua destilada en lugar de muestra.
10. Leer la densidad óptica a 540 nm de la muestra. Usando la curva estándar de glucosa hallar las concentraciones de ART.

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 la concentración de ácidos grasos volátiles (AGV) y alcalinidad total (AT)

Materiales:

- Vaso de precipitado de 100 ml.
- Probeta de 25 ml.
- Centrífuga.
- pH-metro.
- Agitador magnético.
- Plancha de agitación magnética.
- 2 Balones esmerilados de fondo redondo o plano.
- Condensador.
- Plancha de calentamiento.
- 2 Buretas.
- Soporte de plancha.
- Soporte universal.
- Pinzas con nuez.
- Solución de NaOH al 0,1 N.
- Solución de HCl al 0,1 N.

Procedimiento

1. Tomar una muestra aproximadamente de 40 mL en tubos falcon de 50 mL.
2. Centrifugar las muestras por 30 minutos a 5000 rpm.
3. Llevar el sobrenadante a frascos plásticos, medir pH y registrar el valor.
4. Medir 5 ml del sobrenadante y llevarlo a un vaso de precipitado de 100 ml.

5. Medir en una probeta 25 ml de agua destilada y agregarla a los 5 ml de sobrenadante.
6. Titular con una solución previamente preparada de HCl 0,1 N hasta alcanzar un pH de 3 y registrar volumen (V1), manteniendo agitación continua.
7. Llevar la muestra a un balón esmerilado, adaptarlo al condensador.
8. Calentar hasta ebullición y mantener por 2 minutos.
9. Titular con una solución previamente preparada de NaOH 0,1 N hasta alcanzar un pH de 6,5, registrar el volumen (V2).

Cálculos

$$\text{Alcalinidad} = \frac{V1 * N_{\text{HCl}} * 50000}{5} \left[\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right]$$

$$\text{AGV} = \frac{V2 * N_{\text{NaOH}} * 60000}{5} \left[\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right]$$

Anexo F. 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.

Materiales:

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

Procedimiento:

1. Pesar un crisol (P1), previamente secado (1 día en el horno de secado).
2. Tomar una muestra de 40 mL en el crisol.
3. Trasladar la muestra al horno de secado por 24 horas. Después durante 10 minutos dejarla muestra en el desecador para equilibrar la temperatura y pesar (P2).
4. Incinerar la muestra en un horno de mufla a 550°C durante una hora.
5. Dejar en el desecador por 10 minutos y pesar (P3)

Cálculos:

$$\% \text{ de sólidos totales} = \frac{(P2-P1)*100}{V}$$

$$\% \text{ de sólidos volátiles} = \frac{(P3-P1)*100}{V}$$

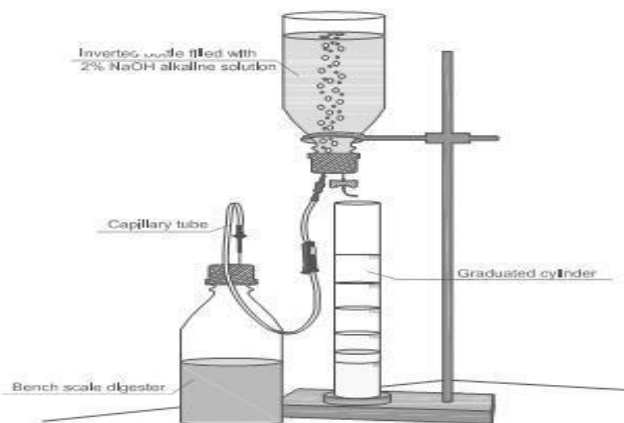
Anexo G. Método de desplazamiento alcalino

Materiales:

- Biodigestor anaerobio.
- Solución 0,1 N NaOH.
- Fenolftaleína.
- Mangueras y agujas.
- Recipiente colector de 1L.

Procedimiento:

Cada reactor se conecta con la botella de desplazamiento alcalino por medio de una red de mangueras de plástico y agujas como se muestra en el esquema. El biogás producido en el reactor se burbujea en la solución alcalina con fenolftaleína como indicador y pH mayor que 12, en la cual el CO₂ es absorbido y el volumen de gas metano desplaza un volumen igual de la solución alcalina. El volumen de la solución desplazada fuera de la botella en el recipiente colector es equivalente al volumen de metano y otros gases en menor proporción generados por el sistema.



Calculo del volumen de biogás a condiciones normalizadas (VNTP).

Para poder comparar las producciones de biogás y por lo tanto el redimiendo, es necesario llevar el volumen de biogás a condiciones normalizadas.

$$VNTP = V \frac{(P_{atm} - P_v) * T_0}{P_0 * T}$$

V= Volumen del gas generado

P atm = Presión atmosférica

To= Temperatura estándar 273.15 (K)

Po = Presión estándar 1013.25 (mbar)

Pv = Presión de vapor del agua.

$$P_v = 10 * e^{\left(16.573 - \frac{3988.842}{T(K) - 3947}\right)}$$

T = Temperatura al momento de medir (K)

Anexo H. Registro fotográfico



Recolección del LS



Recolección de la GJ



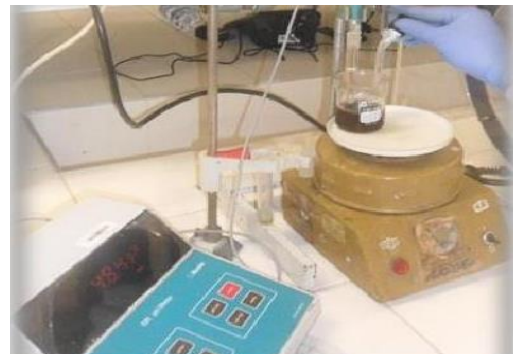
Incubación de los bioreactores



Medición de metano



Medición de ART



Medición de pH,AGV y AT