

RESUMEN

Se presenta en este artículo el estudio de la hidrólisis enzimática para la fracción orgánica contenida en los residuos sólidos urbanos (FO-RSU), del área metropolitana de Bucaramanga (Santander) mediante el arranque y operación de un biorreactor batch cíclico en condiciones anaerobias. Para efectuar la hidrólisis enzimática de la FO-RSU se utilizó como inóculo una mezcla de lodos nativos provenientes tanto de una planta para el tratamiento de aguas residuales como de excretas porcinas. La investigación se llevó a cabo siguiendo un diseño de experimentos factorial (2^2), tomando como factores el tiempo de retención hidráulico TRH (15 y 10 días) y la temperatura (35 °C y 55 °C), obteniéndose como resultado una producción específica de ácidos grasos volátiles (AGV) de 409,09 g de Acido Acético/kg de sustrato, y un índice de hidrólisis del 60% bajo condiciones de operación de TRH de 15 días y una temperatura de 35 °C; dejando clara evidencia tanto de la especificidad hidrolítica alcanzada por la biota como de la factibilidad del lodo microbiano para solubilizar la FO-RSU en sustancias de menor tamaño molecular tales como ésteres, alcoholes y ácidos carboxílicos de cadena corta.

De otro lado, durante la operación del biorreactor hidrolítico bajo condiciones de TRH de 15 días y temperatura de 55 °C se obtuvo un índice de hidrólisis alrededor del 70%, como consecuencia del incremento en la temperatura del biodigestor, la cual favorece la reacción de hidrólisis-acidogénesis, sin embargo, la producción específica de (AGV's) evaluada a estas condiciones es mínima comparada con la operación realizada a un TRH de 15 días y temperatura de 35 °C. Finalmente se demuestra en este trabajo, que el índice de hidrólisis depende de una manera significativa del TRH, ya que existe una limitante en el tiempo de contacto entre el sustrato y el consorcio de grupos tróficos.

Palabras Claves: Hidrólisis, enzimática, AGV, TRH, inóculo, RSU.

ABSTRACT

The study of enzymatic hydrolysis on the organic fraction (OF-USW) contained in urban solid waste of the metropolitan area of Bucaramanga (Santander) is presented in this paper, by means of the starting and operation of a batch cyclical bioreactor under anaerobic conditions. In order to carry out enzymatic hydrolysis of the FO-RSU it was used as inoculum a mixture of native sludges obtained from a municipal waste water treatment plant and a pig excrete digester.

The investigation was carried out following a factorial experiment design (2^2), taking as factors hydraulic retention time HRT (15 and 10 days) and temperature (35 °C and 55 °C). Results obtained showed a volatile fatty acid (VFA) specific production of 409,09 g Acetic Acid/kg substrate, and a hydrolysis index of 60% at 15 days HRT and 35°C temperature; leaving clear evidence on the hydrolytic specificity reached by the biota as well as the feasibility of the microbial sludge to dissolve the OF-USW in substances of low molecular weight such as esters, alcohols and short chain carboxylic acids.

On the other hand, during the operation of the hydrolytic bioreactor at 15 days HRT and 55°C temperature a hydrolysis index around 70% was obtained, as a result of the increase in temperature of the biodigester, which favors hydrolysis-acidogenesis reactions, nevertheless the VFAs specific production evaluated at these conditions was minimum as compared with the operation conducted at 15 days HRT and 35°C temperature. Finally it is demonstrated in this paper, that hydrolysis index depends in a significant way on HRT, since there exists a limiting in time of contact between the substrate and the partnership of trophic groups.

Key Words: Hydrolysis, enzymatic, VFA, TRH, inoculum, USW.

**ESTUDIO DE LA HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA EN LA FRACCIÓN ORGÁNICA DE
RESIDUOS SÓLIDOS URBANOS MEDIANTE LA DIGESTIÓN ANAEROBIA.**

**JAIRO YESID CASTILLO ARGÜELLES
ALDEMAR MARTÍNEZ GONZÁLEZ**

Director

Ing, Msc, Ph.D EDGAR FERNANDO CASTILLO MONROY

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE INGENIERIAS FISICOQUÍMICAS
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
BUCARAMANGA**

2005

**ESTUDIO DE LA HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA EN LA FRACCIÓN ORGÁNICA DE
RESIDUOS SÓLIDOS URBANOS MEDIANTE LA DIGESTIÓN ANAEROBIA.**

**JAIRO YESID CASTILLO ARGÜELLES
ALDEMAR MARTÍNEZ GONZÁLEZ**

**Trabajo de grado para optar
al título de Ingeniero Químico**

Director

Ing, Msc, Ph.D EDGAR FERNANDO CASTILLO MONROY

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE INGENIERIAS FISICOQUÍMICAS
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
BUCARAMANGA**

2005

*A mis padres,
un hombre y una mujer
Que con sus manos me mostraron
El camino a seguir, A mi hijo,
hermanos y amigos.*

Jairo Castillo

*A la memoria de mi padre,
Quien siempre esperó este momento,
A mi madre, hermano y demás compañeros.*

Aldemar Martínez G.

AGRADECIMIENTOS

Los autores de este trabajo se permiten agradecer a:

Doctor Edgar Fernando Castillo M, director de este proyecto, por su confianza, apoyo y dedicación incondicional.

Ingeniero Químico, Msc , Físico. Diego Edison Cristancho Blanco, por su aporte intelectual y apoyo humano.

Centro de Estudios E investigaciones Ambientales , CEIAM – UIS, y su personal por su apoyo institucional y financiero a lo largo del proyecto.

Compañeros e investigadores del CEIAM, que con su colaboración facilitaron el desarrollo de este trabajo.

Escuela de Ingeniería Química por su colaboración con equipos requeridos para la evaluación de datos.

A todas las personas que de alguna forma estuvieron vinculadas con este proyecto.

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÒN	1
1. MARCO TEORICO	4
1.1 Generalidades	4
1.1.1 Ventajas y Desventajas	7
1.2 Digestión Anaerobia	8
1.2.1 Etapas de la Digestión Anaerobia	8
1.2.2 Hidrólisis	9
1.2.3 Acidogénesis	9
1.2.4 Acetogénesis y Homoacetogénesis	9
1.2.5 Metanogénesis	9
1.3 Factores Físicos y Químicos que Influyen en la Hidrólisis Enzimática	10
1.3.1 Temperatura	10
1.3.2 Potencial de Hidrógeno	10
1.3.3 Alcalinidad	10
1.3.4 Ácidos Grasos Volátiles	11
1.3.5 Nutrientes	11
1.3.6 Inhibidores	11
1.3.7 Otros Factores	12
1.4 Disposición del Material Sólido	13
1.5 Bioquímica de la Hidrólisis Enzimática	14
1.5.1 Enzimas	14
1.5.2 Biodegradación de la Materia Orgánica	15
1.5.3 Hidrólisis Enzimática de la Fracción Orgánica de los Residuos Sólidos Urbanos por Vía Anaerobia	16
1.5.4 Hidrólisis Enzimática de Polisacáridos	17

1.5.5 Hidrólisis Enzimática de lípidos	18
1.5.6 Hidrólisis enzimática de proteínas	19
1.6 Cinética del Proceso de Hidrolítico	20
2. ETAPAS METODOLOGICAS PARA EL DESARROLLO EXPERIMENTAL	22
2.1 Selección del Sustrato	23
2.2 Recolección y Adecuación del Sustrato Seleccionado	25
2.3 Adecuación del Sistema de Reacción y Biodigestores	27
2.4 Diseño de Experimentos	30
2.5 Inoculación y Arranque del Sistema Anaerobio Para la Hidrólisis Enzimática	31
2.6 Operación y evaluación del Sistema de Hidrólisis Enzimática por vía anaerobia	32
2.7 Análisis y Resultados	34
2.7.1 Cálculo del Índice Porcentual de Hidrólisis	35
3. RESULTADOS Y ANÁLISIS	36
3.1 Resultados Obtenidos Operativos para TRH de 15 días y Temperatura de 35°C	36
3.2 Resultados Obtenidos Operativos Para TRH de 15 días y Temperatura de 55°	41
3.3 Resultados Obtenidos Operativos Para TRH de 10 días y Temperatura de 35°C	47
3.4 Resultados Obtenidos Operativos Para TRH de 10 días y Temperatura de 55°C	52
4. CONCLUSIONES	61
5. RECOMENDACIONES	62
6. BIBLIOGRAFÍA	63
7. ANEXOS	

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Producción de Residuos Urbanos por Departamentos	5
Tabla 2. Municipios que Utilizan EL Relleno Sanitario “El Carrasco”	6
Tabla 3. Concentración Límite Inhibidora en la Hidrólisis	12
Tabla 4. Composición física de los RSU que ingresan al relleno sanitario “El Carrasco”	23
Tabla 5. Composición general del sustrato.	24
Tabla 6. Composición del sustrato según su naturaleza biodegradable.	25
Tabla 7. Composición del sustrato según su naturaleza.	25
Tabla 8. Caracterización fisicoquímica del sustrato.	26
Tabla 9. Características del Reactor Anaerobio Hidrolítico.	29
Tabla 10. Diseño de experimentos para la fase de licuefacción.	30
Tabla 11. Variables Monitoreadas Durante la Operación de la Digestión Anaerobia en un Reactor Hidrolítico.	33
Tabla 12. Principales Compuestos Identificados en el Efluente Un Reactor Hidrolítico.	48
Tabla 13. Parámetros físico-químicos promedio para cada experimento	59
Tabla 14. Conteo de microorganismos en un reactor hidrolítico.	61
Tabla 15. Conteo de microorganismos en un lodo procedente de un reactor hidrolítico	62

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Lodo Procedente de la Hidrólisis.	13
Figura 2. Etapas de la Digestión Anaerobia y Grupos Bacterianos	16
Figura 3. Principales Vías Metabólicas en la Digestión de Polisacáridos.	18
Figura 4. Vías Metabólicas en la Digestión de Proteínas.	19
Figura 5. Esquema Metodológico	22
Figura 6. Vista interna Reactor	28
Figura 7. Reactor sin Acondicionar	28
Figura 8. Digestor Hidrolítico Acondicionado	28
Figura 9. Cámara de Anaerobiosis	34

LISTA DE GRAFICAS

	Pág.
Gráfica 1. Resultados operativos para el Reactor Hidrolítico, TRH=15 días y T=35°C	38
Gráfica 2. Variables físicas del Reactor Hidrolítico. TRH=15 días y T=35°C	40
Gráfica 3. Composición de Biogás para el Reactor Hidrolítico. TRH=15 días y T=35°C	41
Gráfica 4. Índice Porcentual de Hidrólisis TRH=15 días y T=35°C	42
Gráfica 5. Resultados Operativos del Reactor Hidrolítico TRH=15 días y T=55°C	44
Gráfica 6. Variables físicas de Operación para el Reactor Hidrolítico. TRH=15 días y T=55°C	45
Gráfica 7. Composición de Biogás para el Reactor Hidrolítico. TRH=15 días y T=55°C	46
Gráfica 8. Índice Porcentual de Hidrólisis TRH=15 días y T=55°C	47
Gráfica 9. Resultados operativos para el Reactor Hidrolítico, TRH=10 días y T=35°C	50
Gráfica 10. Variables físicas del Reactor Hidrolítico. TRH=10 días y T=35°C	52
Gráfica 11. Composición de Biogás para el Reactor Hidrolítico. TRH=10 días y T=35°C	52
Gráfica 12. Índice Porcentual de Hidrólisis para el Reactor Hidrolítico. TRH=10 días y T=35°C.	53
Gráfica 13. Resultados operativos para el Reactor Hidrolítico, TRH=10 días y T=55°C	56
Gráfica 14. Variables físicas para el Reactor Hidrolítico. 10 días y T=55°C	56
Gráfica 15. Composición de Biogás para el Reactor Hidrolítico. TRH=10 días y T=55°C	57
Gráfica 16 Índice Porcentual de Hidrólisis para el Reactor Hidrolítico. TRH=10 días y T=55°C.	58

LISTA DE ANEXOS

Anexo A . Demanda Química de Oxígeno (DQO)

Anexo B . Ácidos Grasos Volátiles

Anexo C . Descripción del Análisis de Cromatografía de Gases

INTRODUCCIÓN

El manejo de los Residuos Sólidos Urbanos (RSU) en Colombia es complejo y se ha venido agudizando con el crecimiento y desarrollo económico de la sociedad; provocando a su vez una serie de inconvenientes sanitarios, tales como, la generación de focos de infección y vectores contaminantes de fuentes hídricas y recursos naturales. Para el tratamiento de los desechos urbanos no es suficiente conocer los aspectos generales, como por ejemplo: recolección, reciclaje y disposición final; sino también el aplicar nuevos conceptos y tecnologías sostenibles, en donde los residuos, especialmente los orgánicos se direccionen hacia procesos, en los cuales no solo se reduzca la cantidad, sino también se pueda obtener un producto o subproducto(s) que generen un valor agregado.

Existen cifras de generación de RSU que son función directa del crecimiento de la población, la calidad de vida y el incremento en la actividad productiva; luego es de esperarse un aumento con el desarrollo social y el transcurrir del tiempo. Actualmente en Colombia y el mundo se están produciendo 1600 millones de ton/año de RSU de los cuales, el 43% son generados en Asia y Oceanía, el 28% en Norte-América y La Unión Europea (Valdez-Vazquez *et-al*, 2004).

En América Latina la producción de RSU asciende a 118 millones ton/año y particularmente en Colombia se presenta una generación per-cápita equivalente a 0,74 kg/día (Acurio *et-al*, 1997). Además, el contenido orgánico se encuentra alrededor del 50 y 60% (Acurio *et-al*, 1997). Específicamente en la ciudad de Bucaramanga el contenido de la fracción Orgánica (FO) de los RSU es del 62,9%, y contiene un porcentaje de humedad del 80% (Cogán, A. M. y Rodríguez, 2000), estas características hacen que la fracción orgánica de los

RSU locales sea adecuada en el desarrollo de procesos biológicos para su disposición final.

El surgimiento y desarrollo de opciones tecnológicas que permiten nuevos tratamientos de los RSU se han venido estudiando a nivel mundial hace varias décadas (Waste Options Modelling Technical Report For The London Plan, 2004) y propenden llevar a cabo la evacuación de los RSU e intensificar la búsqueda de diversos beneficios tanto de carácter ambiental, como económico y social.

La Pirolisis, el Compostaje, la Gasificación, el Reciclaje, la Incineración, el Relleno Sanitario y la Digestión Anaerobia en baja y alta concentración de sólidos son tecnologías que se presentan hoy día como alternativas para la gestión de los (RSU).^[29,30] Cada una de ellas posee sus ventajas y desventajas como una solución general y sostenible para el tratamiento de los (RSU). Sin embargo, dentro de los procesos de bioconversión de materia orgánica fácilmente biodegradable, aparece la digestión anaerobia como una opción tecnológica adecuada, por cuanto además de generar energía a través de la fijación del carbono como metano, permite también la producción de un efluente semisólido con características aceptables para ser utilizado como acondicionador de suelos.^[28] .

El proceso de digestión anaerobia para el tratamiento de (RSU) en una fase ha demostrado tener buenos resultados al remover la totalidad del carbono fácilmente biodegradable, para un sustrato procedente de la FO de los RSU.^[9] Investigaciones recientes muestran también que la separación de las fases en la digestión anaerobia favorece el desempeño global del proceso, obteniéndose un mayor porcentaje de metano en el biogás generado y un biosólido más estable comparado con el proceso en una fase. Sin embargo uno de los factores que más influye en el tratamiento anaerobio en una y dos fases es el desarrollo de la hidrólisis enzimática, siendo ésta la etapa inicial del proceso en la cual se obtiene

la degradación de la FO de los RSU hasta ácidos orgánicos, alcoholes, aminoácidos y carbohidratos. [10]

El efecto de la hidrólisis en el proceso global es muy significativo, dado que en la medida en que aumente la concentración de sustancias solubles o hidrolizados de menor tamaño molecular como productos generados en ésta fase y su posterior destino como sustrato para las siguientes etapas del proceso, es de esperarse un mayor rendimiento de la fase metanogénica y por ende un incremento en la eficiencia global del proceso anaerobio. De ésta manera la fase hidrolítica constituye la etapa limitante del proceso en general^[10], por lo tanto su estudio es de gran relevancia para poder establecer las condiciones de operación más favorables (temperatura, pH y tiempo de retención hidráulico) para un Biodigestor anaerobio especializado en esta fase, en donde los niveles de producción de ácidos grasos volátiles por kilogramo de sustrato alimentado y el índice de hidrólisis sean los más adecuados. Por tanto, este trabajo se centra en el estudio de la etapa hidrolítica del proceso de digestión anaerobia.

El presente trabajo se encuentra dividido en cuatro capítulos. El primero contiene una descripción de la situación actual de los residuos sólidos y varios métodos de tratamiento en distintas regiones del mundo y los conceptos básicos relacionados con la digestión anaerobia haciendo énfasis en la etapa hidrolítica. En el siguiente capítulo se hace una descripción de la metodología experimental usada en este trabajo; en el tercer capítulo se muestran los resultados que se obtuvieron y su respectivo análisis. El trabajo finaliza con las conclusiones, recomendaciones y algunas sugerencias para la continuidad de la investigación en este tema.

1. MARCO TEÓRICO

1.1 GENERALIDADES

Los residuos sólidos comprenden todos los desechos que provienen de actividades animales y humanas, que normalmente son denominadas como inútiles o superfluas; y comprenden toda la masa heterogénea de los desechos de una comunidad. ^[11] Algunos fenómenos ecológicos tales como la contaminación de aire, suelo y agua han sido atribuidos a la gestión y a la carencia de políticas apropiadas para el tratamiento de los (RSU). El tratamiento de los (RSU) se puede direccionar hacia la recuperación y aprovechamiento de los contenidos energéticos y el uso de biosólidos generados como acondicionadores de suelos; aunque el campesino en tiempos pasados intentó darle un uso a estos recursos de una manera primitiva pero muy sensata como combustible y fertilizante.^[11]

De otro lado hay diferencias entre los residuos sólidos municipales generados en países desarrollados con respecto a los generados en países en vía de desarrollo, tanto en composición como en cantidad (la tasa de generación de residuos sólidos es dos a cuatro veces mayor en países desarrollados que en Latinoamérica). En Latinoamérica hace 30 años la generación de residuos per-capita era de 500 g/día, mientras que en 1995 se estimó en unos 1000 g/día per-capita (275.000 ton/día). De los cuales se considera que solo el 70% es recolectado y de ello solo el 30% se dispone en rellenos sanitarios; predominando los botaderos a cielo abierto con quema indiscriminada de desechos y sin tratamiento de lixiviados.

La producción de residuos en Colombia según el Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial se encuentra cercana a las 23.700 toneladas diarias de los cuales el 40% tiene un manejo ambiental adecuado. Otro 10% es recuperado por los recicladores y un 50% termina en zonas verdes y corrientes de agua. La producción de residuos por departamentos se puede observar en la Tabla 1.

Tabla 1. Producción de Residuos Urbanos por Departamentos

DEPARTAMENTOS	PORCENTAJE (%)
Cundinamarca	60
Antioquia	
Valle del Cauca	
Santander	15
Atlántico	
Resto de Dptos	25

Fuente: Ministerio del Medio Ambiente Colombia.1996

En cuanto a la disposición final de los residuos sólidos urbanos RSU, actualmente el 32% de la producción total se dispone en rellenos sanitarios, el 3% es enterrada, el 15% se arroja a corrientes superficiales de agua y el 50% se vierte en botaderos a cielo abierto.^[13] Estas cifras muestran que de los 1.098 municipios de Colombia, por lo menos 700 disponen de sus residuos sin las especificaciones técnicas correspondientes para su disposición final .

En Colombia existen varios rellenos sanitarios que deben buscar alternativas que eviten posibles emergencias sanitarias en un período menor a dos años debido a que cuentan con un bajo periodo de vida útil. Entre esos rellenos se encuentran los de Bucaramanga, Cali, Santa Marta, Armenia, en los cuales ya no es posible continuar acumulando residuos. Los rellenos de otras ciudades como son los de

Barranquilla y Bogotá tienen un tiempo de vida útil más prolongado aproximadamente hasta el año 2008.

Por ejemplo el relleno sanitario “El Carrasco” ubicado en las cercanías del municipio de Girón (Santander) se arrojan en promedio 700 toneladas diarias de desechos aportados por los municipios que se muestran en la tabla 2.

Tabla 2. Municipios que Utilizan EL Relleno Sanitario “El Carrasco”

Área Metropolitana	Fuera del Área Metropolitana
Bucaramanga	Rionegro
Floridablanca	Barbosa
Girón	Lebrija
-	Charta
-	Cáchira
-	Suratá

Fuente: Ministerio del Medio Ambiente Colombia. 1996

En la actualidad la búsqueda de soluciones adecuadas, para la gestión integral de residuos sólidos urbanos, desde el punto de vista ambiental, técnico y económico ha hecho necesario el desarrollo de diversas alternativas que presenten características de sostenibilidad. Una de estas alternativas es la biotecnología; un área de investigación que ha presentado diferentes soluciones para el tratamiento de RSU, utilizando procesos tecnológicos de biodegradación que intentan de una manera u otra aliviar los problemas de convivencia entre el ser humano y el medio ambiente.

Los métodos y técnicas convenientes para el tratamiento y recuperación de los desechos puede ser clasificado en métodos físico-mecánicos (floculación,

centrifugación, filtración, secado); métodos físico-químicos (absorción, intercambio iónico, incineración, gasificación, adsorción) y métodos biológicos (digestión anaerobia, sistemas aerobios).^[11]

1.1.1 Ventajas y Desventajas de los Tratamientos Anaerobios.

En muchos países se han empezado a aplicar los tratamientos anaerobios a los desechos industriales. Como cualquier método nuevo, los cuales tienen competencia con los ya establecidos, el proceso anaerobio es un concepto que aún no es aceptado por los grupos que han instituido los tratamientos aerobios.

Comparando los métodos convencionales aerobios con los tratamientos anaerobios se observa que son mayores las ventajas que las desventajas. El avance que lo hace más atractivo es la remoción y la reutilización de contaminantes orgánicos.^[25] . Estas son las ventajas:

- Los tratamientos anaerobios generalmente consumen poca energía. Si en algún punto se requiere energía para elevar la temperatura ésta puede ser obtenida desde los efluentes por intercambio calorífico.
- La degradación anaerobia es un sistema productor de energía debido a sus componentes orgánicos producen CH₄.
- La cantidad de lodos producidos por los tratamientos anaerobios es más baja que la generada por los métodos aerobios. Recientemente se ha encontrado que el crecimiento de la masa anaerobia puede ser reducida al mezclarse con desechos que contengan fósforo. Las características de los lodos anaerobios son superiores a la de los lodos aerobios. En cuanto sus propiedades como soporte de suelos.
- Los sistemas anaerobios modernos pueden manejar grandes cantidades de carga.

Las desventajas encontradas en los tratamientos anaerobios son:

- Alta sensibilidad de las bacterias metanogénicas a un gran número de componentes químicos. Sin embargo en ocasiones se puede hacer una medición de tal forma que el componente se presente en concentraciones tóxico/inhedorias.
- El arranque de los sistemas anaerobios requiere tiempos prolongados (6-1 semanas) debido a la baja eficiencia en el crecimiento de las bacterias.
- Durante el proceso se pueden tratar residuos con azufre y proteínas dando origen a olores desagradables por la formación de H_2S y NH_3 .

1.2 DIGESTIÓN ANAEROBIA

La digestión anaerobia es uno de los tratamientos biológicos más antiguos, siendo usado por primera vez hace mas de un siglo^[10]. Este tipo de fermentación anaerobia con producción de metano, no es más que una fermentación catalizada por bacterias específicas de la cual se tiene antecedentes desde 1776 cuando Alessandro Volta descubrió la formación de un gas combustible sobre pantanos, lagos y aguas estancadas y lo relacionó con la cantidad de materia orgánica depositada en el fondo^[29].

1.2.1. Etapas del Proceso de Digestión Anaerobia. Durante el desarrollo del proceso de digestión anaerobia se produce la fermentación de la fracción orgánica de los (RSU) de acuerdo con la concentración de sólidos totales presentes en el sustrato^[11]. La materia orgánica constituye el sustrato fundamental para el desarrollo de este proceso; el material de fermentación puede ser de origen animal tales como estiércol de ganado vacuno, cerdos, ovejas, caballos, aves y otros de origen vegetal, tales como; pulpa de café, conchas de papa, cascarilla de arroz, material biodegradable de residuos sólidos urbanos y aguas residuales de letrina y

cocina sin contenido de jabón. El proceso de digestión anaerobia consta de cuatro etapas fundamentales que ocurren secuencialmente.

1.2.2. Hidrólisis. La hidrólisis es un proceso físico, químico o biológico que consiste en generar un rompimiento a las macromoléculas formadas principalmente por carbohidratos, proteínas y grasas que contienen una estructura compleja; este rompimiento es llevado a cabo con fines específicos según el tipo de proceso seleccionado para el caso de la digestión anaerobia es considerada como la etapa limitante por la complejidad de las moléculas.^[28]

1.2.3. Acidogénesis. Esta etapa se efectúa por la acción de microorganismos acidificadores, quienes toman los productos obtenidos en la etapa hidrolítica para poder realizar su metabolismo, generando una gama de ácidos orgánicos carboxílicos de diferentes números de carbono entre estos están (fórmico, valérico, acético, propiónico, butírico).

1.2.4. Acetogénesis y Homoacetogénesis. Los productos provenientes de la etapa anterior son transformados en ácido acético, hidrógeno y dióxido de carbono por un grupo de bacterias que aportan aproximadamente el 54% de hidrógeno que se utilizará en la formación de metano. En la homoacetogénesis ocurre igualmente la formación de ácido acético pero autotróficamente; es decir a partir de hidrógeno y dióxido de carbono. La función que desempeñan éstos microorganismos dentro de los sistemas anaerobios no se encuentra bien definida, sin embargo su presencia evita la pérdida de hidrógeno y dióxido de carbono durante el crecimiento sobre compuestos multicarbonados lo que implica eficiencia termodinámica.

1.2.5. Metanogénesis. En esta etapa ocurre la degradación de ácido acético y de algunos alcoholes producidos por la fermentación de azúcares, obteniéndose como compuestos finales del proceso metabólico metano y dióxido de carbono.

De otro lado también se obtiene un efluente semisólido mucho menos agresivo en cuanto a poblaciones bacterianas, que el afluente, el cual puede ser usado como acondicionador de suelos.^[31]

1.3 FACTORES FISICOS Y QUIMICOS QUE INFLUYEN EN LA HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA POR VÍA ANAEROBIA.

Cada una de las fases que componen el proceso de digestión anaerobia es desarrollada por un grupo distinto de microorganismos que deben permanecer en un equilibrio dinámico, y para que este equilibrio se pueda llevar a cabo se deben tener en cuenta los siguientes parámetros^[9].

1.3.1. Temperatura. Los procesos biológicos de este tipo operan a temperaturas entre los 25°C y los 60°C. Dependiendo de la temperatura actuarán diferentes tipos de bacterias en cada una de las etapas para la producción final de biogás. Los microorganismos predominantes con temperaturas cercanas a los 30°C. se denominan mesófilos, las cuales son más resistentes a las variaciones de temperatura y pH; existe otro grupo de bacterias que operan a temperaturas que están alrededor de los 50°C llamadas termófilos cuya actividad metanogénica es mayor pero no toleran cambios severos en la temperatura y el pH.

1.3.2. Potencial de Hidrógeno (pH). Las bacterias metanogénicas se desarrollan mejor bajo condiciones de pH neutro y ligeramente alcalino (7 – 8,5). Si el sustrato posee un alto contenido de ácidos grasos volátiles, el pH podría disminuir convirtiéndose esto en un factor tóxico para las bacterias con pH inferiores a 6,2. También cuando disminuye el pH se produce la precipitación de grasa y proteínas y como consecuencia se ve afectada la actividad metanogénica.

1.3.3. Alcalinidad. 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^-). Un valor típico de alcalinidad para estos procesos está entre 1.500 y 7.500mg CaCO_3/l .

1.3.4. Ácidos Grasos Volátiles (AGV). Estos ácidos son el resultado de la fase de acidogénesis de la digestión anaerobia y del sustrato de la etapa metanogénica. Se han reportado valores de AGV que van desde 200 hasta 1.000 mg de Ácido Acético/l para sistemas que operan a temperaturas termofílicas y con alto contenido de sólidos en el sustrato. Cualquier tipo de dificultades que se presentan en la proliferación de bacterias metanogénicas o incrementos en la carga orgánica pueden generar que los niveles de los AGV's se eleven, provocando un efecto de inhibición en la biota.

1.3.5. Nutrientes. Los microorganismos requieren tanto del nitrógeno como del carbono para desarrollar su metabolismo. Diversos experimentos muestran que la actividad metabólica de los metanógenos es mayor con relaciones de C/N entre 8-20. Esto depende de la especie de bacteria y del sustrato. Otros elementos de gran importancia son el fósforo que interviene en la síntesis de ácidos nucleicos, y el potasio que incrementa la permeabilidad de la pared celular, lo que ayuda al intercambio de nutrientes; un micronutriente de gran importancia es el molibdeno ya que su presencia ayuda a inhibir el desarrollo de las bacterias sulfatoreductoras, responsables de la producción de H_2S . Según estudios realizados ^[14] se reportan algunos rangos de nutrientes con los cuales un sistema de digestión anaerobia funciona con alta fijación de carbono en metano.

1.3.6. Inhibidores. La presencia de metales pesados, antibióticos y detergentes que se pueden encontrar en diferentes tipos de sustratos, pueden tener un efecto de inhibición en el proceso de biometanización. Algunas de estas concentraciones límites son mostradas en la tabla 3.

Tabla 3. Concentración Límite Inhibidora en la Hidrólisis

Sustancia	mg/l
Cobre	10 – 250
Calcio	8.000
Sodio	8.000
Magnesio	3.000
Sulfatos	200
Níquel	100 – 1.000
Zinc	350 – 1.000

Fuente: www.gtz.de 2002

1.3.7. Otros Factores. La agitación es un parámetro importante en los sistemas de agitación anaerobia ya que con ella se consigue la remoción del gas, la mezcla homogénea del nuevo sustrato y la población bacteriana, evita la formación de costras en la superficie y la sedimentación. También son eliminados los gradientes de temperatura y concentración de sustancias en el reactor, previene además la formación de espacios muertos en el digestor y mantiene uniforme la densidad poblacional de microorganismos en el mismo.

Se puede utilizar agitación mecánica con agitadores para altos sólidos preferiblemente a bajas revoluciones y con períodos de agitación discontinuos. Otro factor importante es el tamaño de partícula de tal manera que se pueda generar suficiente área superficial para el contacto con los microorganismos y de esta manera puedan atacar con mayor eficiencia dicho sustrato; de otro lado, la reducción de tamaño del sustrato permite una mejor operación de descarga y alimentación a través de válvulas y bombas evitando obstrucciones y taponamientos.

1.4. DISPOSICIÓN DEL MATERIAL DIGERIDO (Biosólido).

El efluente o producto final semisólido del reactor de digestión anaerobia es un biosólido que puede llevar una serie de contaminantes dependiendo del sustrato y de las condiciones de operación del proceso. Entre los contaminantes están algunos metales pesados y microorganismos patógenos. Anteriormente era común la práctica del vertido de los biosólidos al mar. Pero fue prohibida a partir del año de 1987 mediante el acuerdo de Helsinki. La normatividad más amplia que regula la calidad de los lodos finales es la de la WEF (1993), que basados en criterios de reducción de patógenos, clasifica el lodo en clase A o clase B; permitiendo su utilización. En la figura 1 se observa una aplicación de lodo según su categoría.

Figura 1. Lodo Procedente de la Hidrólisis.



Fuente: Los Autores.

El tratamiento del biosólido se puede desarrollar en dos etapas:

- La primera etapa consiste en reducir el volumen del lodo mediante la disminución del contenido de agua, con lo cual se reduce el potencial Z de las partículas del mismo, incrementándose a su vez la eficiencia del proceso de espesado y deshidratación. Posteriormente se lleva a cabo la estabilización del mismo a través de la eliminación de patógenos por medio de tratamientos químicos, térmicos o biológicos.
- La segunda etapa se refiere a tratamientos posteriores en lo que se encuentran tecnologías como la digestión anaerobia, compostaje, lodos activados, secado térmico, incineración, pirólisis, gasificación, oxidación en aire húmedo, fusión de lodos, entre otros.

1.5. BIOQUIMICA DE LA DIGESTIÓN ANAEROBIA

Todos los organismos crecen a expensas de energía almacenada en moléculas orgánicas, inorgánicas o presentes en la energía radiante, como la luz solar. A fin de obtener energía los organismos transforman los productos químicos por medio de reacciones de oxidación-reducción, en donde una parte de la energía se invierte en la propia reproducción. Sin embargo, estas reacciones no tendrían éxito sin la presencia de enzimas.

1.5.1. Enzimas. Las enzimas son catalizadores orgánicos producidos por microorganismos y utilizadas por ellos para acelerar la velocidad de miles de reacciones de producción de energía y formación de células. Las enzimas comprenden el mayor y más especializado grupo de moléculas de proteínas del interior de la célula, mientras que las Proteínas son una mezcla de 20 o más unidades diferentes de aminoácidos, son macromoléculas con pesos moleculares entre 10.000 y un millón gramos por mol.

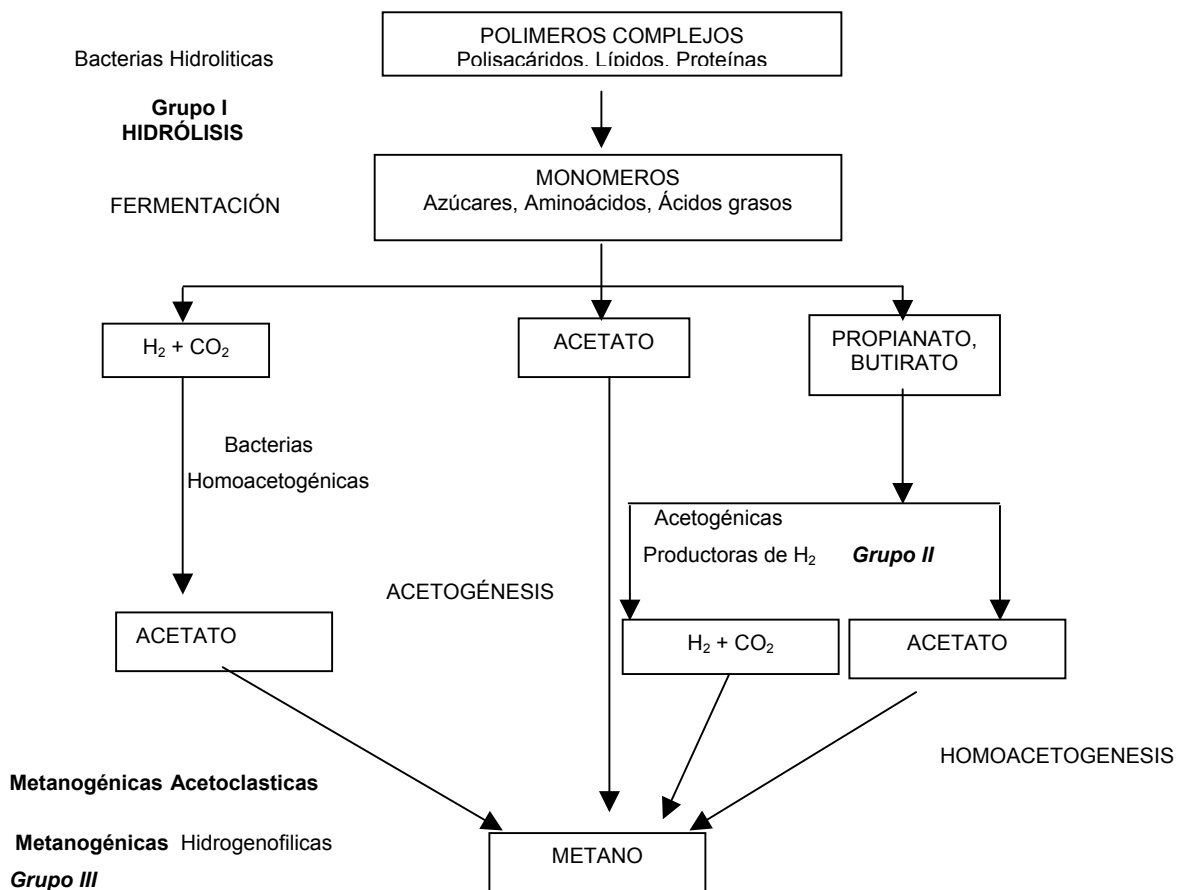
Las enzimas tienen una estructura primaria que está definida por la secuencia de la cadena de aminoácidos adjuntos, también tienen una estructura secundaria que se forma cuando la cadena de aminoácidos se desdobra en una configuración tridimensional, mantenida por enlaces de hidrógeno entre aminoácidos y enlaces azufre-azufre, que son comunes en algunos aminoácidos. Muchas proteínas además tienen una estructura terciaria en la que la proteína se pliega sobre ella misma y se mantiene de nuevo por enlaces de hidrógeno. Esta estructura terciaria se rompe fácilmente por el calor y productos químicos, ocasionando la desnaturalización o desactivación de las enzimas.

La estructura de las enzimas es bastante vulnerable a cambios en el entorno especialmente a la temperatura y el pH, así como a muchos productos químicos que pueden unirse a la proteína cambiando su estructura secundaria o terciaria. Las dos características más importantes de una enzima son su especificidad y la tasa de la reacción que cataliza. La especificidad significa que una enzima conduce la transformación de un producto químico a lo largo de una trayectoria deseada; mientras que la tasa se refiere a la velocidad a la que ocurre la reacción en presencia de la enzima; además de éstas características se estima que una molécula de enzima puede efectuar entre 1.000 y 100.000 transformaciones moleculares por segundo.

Las enzimas no son consumidas en la reacción, al igual que no incrementan la cantidad de energía liberada en determinada reacción; sin embargo, reducen la división de recursos (electrones, energía y elementos) en trayectorias no productivas; algo muy importante de algunas enzimas es que su desempeño está altamente influenciado por la configuración de su estructura. En los casos en que la porción no proteínica es un ión metálico, se le denomina Cofactor, mientras que si la porción no proteínica es orgánica, se le denomina coenzima o grupo prostético.^[32]

1.5.2. Biodegradación de la Materia Orgánica en la Digestión Anaerobia. En el proceso de digestión anaerobia de la materia orgánica intervienen diversos grupos tróficos anaerobios facultativos y anaerobios estrictos, los cuales utilizan en forma secuencial los productos metabólicos generados por cada grupo, en la figura 2 se muestran los diferentes grupos y su participación en cada una de las etapas.

Figura 2. Etapas de la Digestión Anaerobia y Grupos Bacterianos



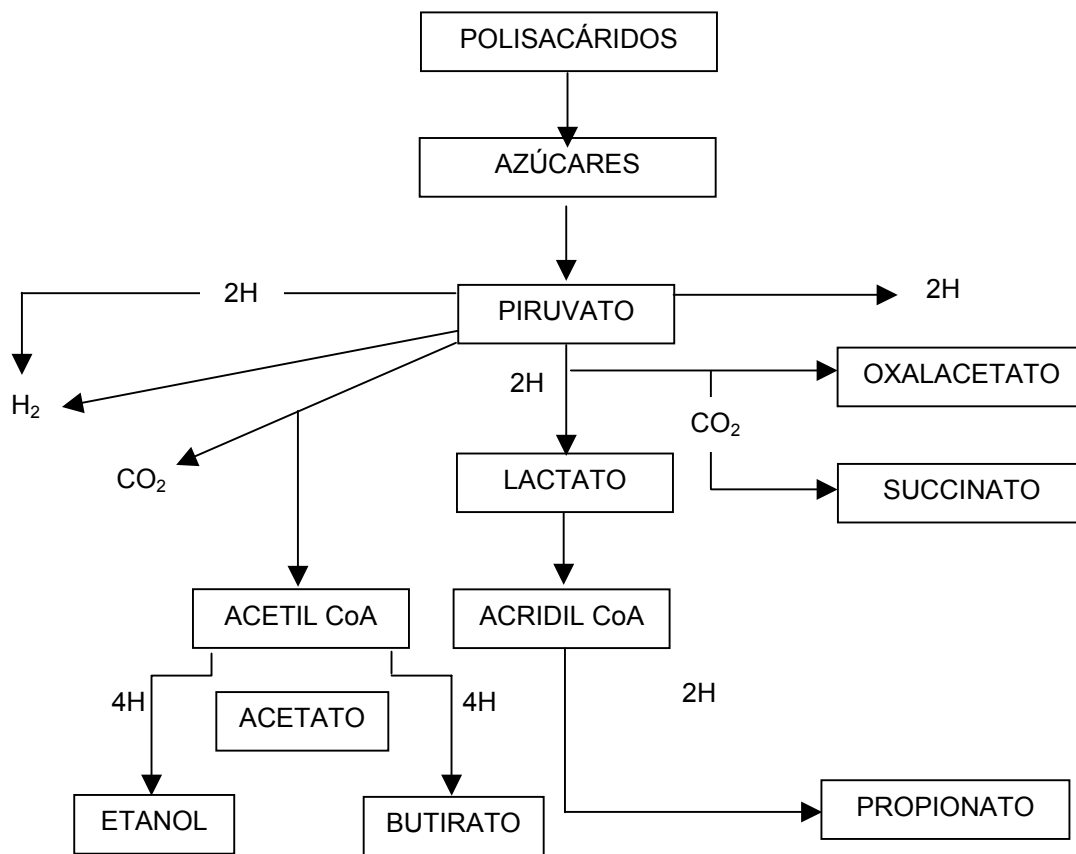
Fuente : Digestión Anaerobia una Aproximación Tecnológica (D.B. Consuelo, E.V. Sandra, M.P. Francisco, Universidad Nacional de Colombia, Instituto de Biotecnología , Bogotá 2002 , pág. 44.)

1.5.3. Hidrólisis Enzimática de la Fracción Orgánica de los RSU por Medio del Proceso de Digestión Anaerobia. La materia orgánica polimérica no puede ser utilizada directamente por los microorganismos a menos que se hidrolice en compuestos solubles, que puedan pasar a través de la membrana celular. La hidrólisis es, por tanto, el primer paso necesario para la degradación anaerobia de sustratos orgánicos complejos. La etapa hidrolítica puede ser la fase limitante de la velocidad del proceso global, sobre todo tratando residuos con alto contenido en sólidos. Incluso en donde las fases acidogénicas o metanogénicas son consideradas como pasos limitantes, la hidrólisis puede afectar el conjunto del proceso.^[10, 28] Cualquier sustrato orgánico se compone de tres tipos básicos de macromoléculas: Carbohidratos, Proteínas y Lípidos. La hidrólisis de cada tipo de compuesto se realiza por la acción enzimática de bacterias anaerobias facultativas y cuyos géneros más frecuentes que llevan a cabo éstas reacciones son los miembros de la familia *Enterobacteriaceae*, además de los géneros: *Bacillus*, *Peptostreptococcus*, *propionibacterium*, *Bacteroides*, *Microccus*, y *Clostridium*.^[24]

1.5.4. Hidrólisis Enzimática Anaerobia Polisacáridos. Entre los polisacáridos más comunes se encuentra la celulosa, la hemicelulosa, el almidón y la pectina; normalmente están presentes en materiales como el papel, la madera o la paja, los cereales, y tubérculos comestibles. Los polisacáridos son carbohidratos de alto peso molecular constituidos por un gran número de unidades monoméricas unidas una a otra por enlaces covalentes conocidos como enlaces glucosídicos. Estos enlaces pueden tener orientación (α o β), por lo que algunos polisacáridos de las mismas unidades monoméricas (por ejemplo la glucosa), tienen propiedades funcionales diferentes debido a las diferentes configuraciones (α y β) de los enlaces glucosídicos. Es común encontrar dos tipos importantes de polisacáridos: aquellos como la celulosa y la hemicelulosa con enlaces α -1-4. En la figura 3 se presentan las principales vías metabólicas utilizadas en la degradación de los polisacáridos. El rompimiento de los enlaces β -1-4, presentes en la celulosa se lleva a cabo mediante la acción de enzimas extracelulares las cuales rompen el

enlace introduciendo una molécula de agua. Las enzimas involucradas en la hidrólisis de la celulosa se conocen como celulasas. El rompimiento de los enlaces α -1-4, comunes en el almidón y la pectina son hidrolizados por la acción de amilasas y pectinasas las cuales son enzimas constitutivas de la gran mayoría de los microorganismos.^[24]

Figura 3. Principales Vías Metabólicas en la Digestión de Polisacáridos.

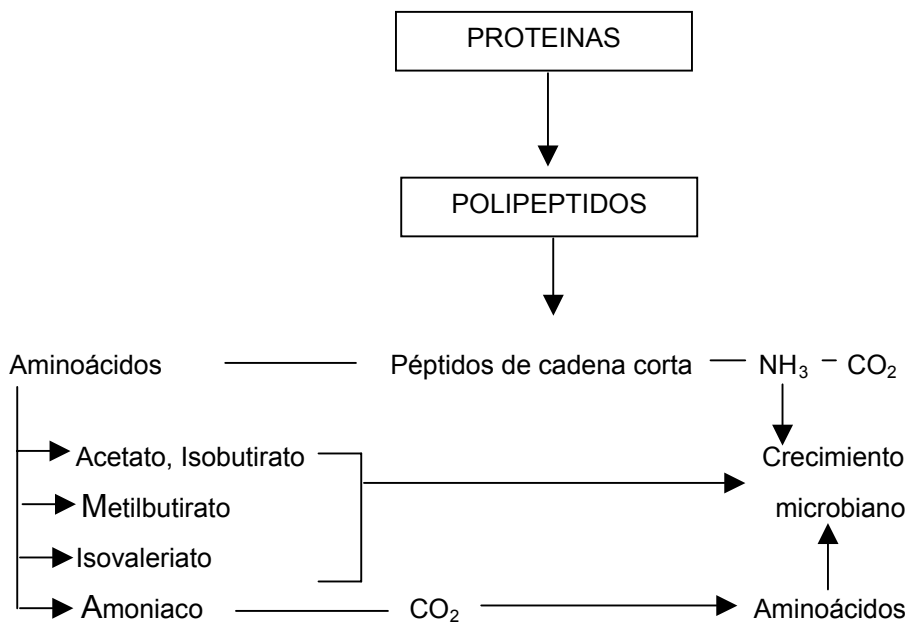


Fuente: Digestión Anaerobia una Aproximación Tecnológica (D.B. Consuelo, E.V. Sandra, M.P. Francisco, Universidad Nacional de Colombia, Instituto de Biotecnología, Bogotá 2002, pág. 46.)

1.5.5. Hidrólisis Enzimática Anaerobia de Proteínas. Las proteínas están constituidas por aminoácidos unidos mediante enlaces peptídicos, son solubles en agua y su hidrólisis se lleva a cabo por la acción de proteasas; los productos son generalmente péptidos de cadena corta y aminoácidos. Estos productos son

rápida y fermentados a ácidos grasos, amonio y dióxido de carbono. Las bacterias con actividad proteolítica son en su mayoría especies de los géneros *Clostridium*, *Peptococcus*, *Bifidobacterium* y *Staphylococcus*^[24]. Las vías metabólicas utilizadas en la degradación de proteínas se presentan en la siguiente figura 4.

Figura 4. Vías Metabólicas en la Digestión de Proteínas.



Fuente: Digestión Anaerobia una Aproximación Tecnológica (D.B. Consuelo, E.V. Sandra, M.P. Francisco, Universidad Nacional de Colombia, Instituto de Biotecnología, Bogotá 2002, pág. 46.)

1.5.6. Hidrólisis Enzimática Anaerobia de Lípidos. Estas moléculas están constituidas por ácidos grasos unidos por un enlace éster a una molécula de glicerol, y se denominan triglicéridos cuando tres ácidos grasos se unen al glicerol. La hidrólisis dependerá de la solubilidad del ácido, la cual a su vez es función del pH. Por tanto a altos valores de pH la solubilidad aumenta y a bajos valores disminuye, por lo tanto la hidrólisis tendrá un comportamiento o tendencia similar.

En ambientes anaerobios, los ésteres del glicerol son hidrolizados liberando los ácidos grasos. El glicerol, la galactosa, la colina y otros componentes también son liberados durante la hidrólisis y posteriormente fermentados a ácidos grasos volátiles por la acción de las bacterias fermentativas. Sin embargo, los ácidos grasos libres no son fermentados por las bacterias fermentativas, y solamente en algunos casos los ácidos grasos insaturados pueden ser hidrogenados. En los biodigestores anaerobios y sedimentos acuáticos, donde el tiempo de retención es suficientemente largo, los ácidos grasos (de cadena larga y corta) son oxidados por bacterias sintróficas productoras de H₂ a acetato mediante la vía de la β -oxidación.

Bacterias como la *Anaerovibrio lipolytica* con actividad lipolítica han sido aisladas del rumen; esta bacteria fermenta el glicerol, la ribosa y la fructosa a acetato, propianato y succinato; sin embargo, no puede hidrolizar galacto-lípidos a menos que los residuos de galactosa sean removidos. Igualmente, la *Butyrovibrio fibrisolvens* hidroliza fosfo-lípidos cuando crece con azúcares fermentables como fuente del carbono^[24].

1.6. CINÉTICA DEL PROCESO HIDROLÍTICO

La tasa de hidrólisis, en general, aumenta con la temperatura^[10], independientemente del sustrato que se trate. Hills y Nakano (1984) demostraron que la tasa de hidrólisis depende, también, del tamaño de las partículas, debido fundamentalmente a la disponibilidad de superficie para la adsorción de las enzimas hidrolíticas. Los pretratamientos físico-químicos, cuyo principal efecto es la reducción del tamaño de las partículas, producen un aumento en la tasa de hidrólisis, y si esta fase es la limitante del proceso anaerobio, supone un beneficio para el proceso general, produciendo menores tiempos de retención hidráulico y tamaños de reactores menores. En la bibliografía se encuentran numerosas experiencias positivas en este sentido: pretratamiento con ultrasonidos de los

lodos de depuradora (Tiehm et); pretratamiento mecánico de diferentes tipos de sustratos; hay pretratamientos que combinan ultrasonidos y ataque alcalino; pretratamientos térmicos; o termoquímicos^[1]. La dependencia del tamaño de partícula ha motivado el desarrollo de diversos modelos que se basan en este parámetro para simular la velocidad del proceso hidrolítico.

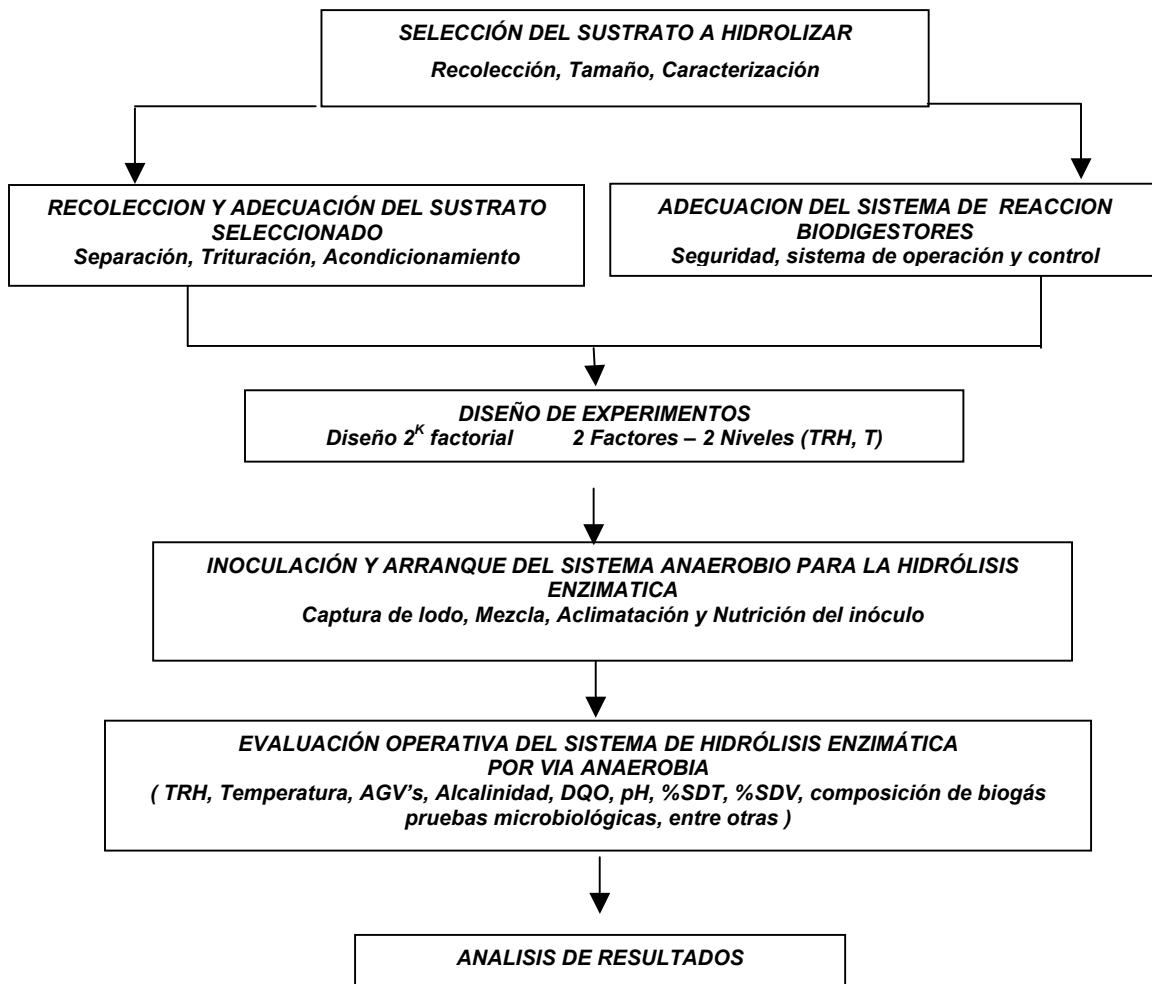
Algunos autores tienen en cuenta la fase de hidrólisis y acidificación en sus modelos^[15]. La mayoría de estos modelos utilizan la cinética de primer orden para simular la fase de hidrólisis; la utilización de este tipo de cinética proporciona diferentes valores de la constante de hidrólisis en función del tipo de sustrato^[24], o del pretratamiento aplicado, lo que hace que haya grandes discrepancias en los valores de dicho parámetro en la bibliografía^[10].

Otros modelos, como el de Angelidaki et al. (1999), consideran la cinética de primer orden pero para cada uno de los tres grandes grupos de macromoléculas, siendo por ello, más extrapolable a diferentes tipos de sustratos. El contenido de lignina en la fracción de carbohidratos de un sustrato puede hacer variar sustancialmente la biodegradabilidad de la fracción lignocelulósica, situación que Angelidaki et al. (1999) simula mediante la utilización de diferentes coeficientes estequiométricos en función del tipo de sustrato. De otro lado se encuentran modelos en donde se considera la tasa de hidrólisis dependiente, no solo de la concentración de sustrato a hidrolizar sino también de la concentración de biomasa responsable de la producción de enzimas hidrolíticas.

2. ETAPAS METODOLOGICAS PARA EL DESARROLLO EXPERIMENTAL

Para el estudio de la hidrólisis enzimática de la fracción orgánica contenida en los residuos sólidos urbanos por vía anaerobia, es necesario plantear etapas metodológicas esquematizadas tal y como se muestra en la figura 5. A lo largo del presente capítulo se describen cada una de las fases que comprende el desarrollo metodológico y sus respectivas actividades o acciones que se requieren para alcanzar los objetivos propuestos.

Figura 5. Esquema Metodológico



2.1 SELECCIÓN DEL SUSTRATO A HIDROLIZAR

Para hacer la selección del sustrato a hidrolizar se consideraron una serie de parámetros que permitieran garantizar cierto grado de selectividad, incrementando la tasa de crecimiento y desempeño de los microorganismos. Dentro de los parámetros más importantes de selección, se tuvieron en cuenta el contenido de la materia orgánica fácilmente biodegradable y el carbono orgánico total disponible, ya que estos factores son primordiales en el desarrollo de los microorganismos ayudando a su respectivo metabolismo. La selección del sustrato toma como referencia la caracterización física de los residuos sólidos urbanos que actualmente están ingresando al relleno sanitario de Bucaramanga “El Carrasco”, en donde la materia orgánica representa el (62,9%) de los RSU, tal y, como se observa en la Tabla 4.

Tabla 4. Composición física de los RSU que ingresan al relleno sanitario “El Carrasco”

Material	Porcentaje (en peso)
Orgánico	62,9
Plástico	14,9
Celulósico	7,2
Sanitario	4,4
Vidrio	3,5
Textil	2,7
Cuero	2,0
Metal	1,7
Residuos de construcción	0,5
Residuos hospitalarios	0,2

Fuente: Cogán, A.M. y Rodríguez, I. 2000

Es necesario aclarar que el mayor componente de la fracción orgánica de los RSU, está representado en un (80%) por residuos procedentes de plazas de mercado del área metropolitana de Bucaramanga, los cuales poseen una composición relativamente constante, producto de la escasa variabilidad en las costumbres gastronómicas de la región. De esta manera el sustrato seleccionado corresponde a residuos orgánicos originarios de la Plaza de mercado ubicada en el barrio San Francisco, los cuales se sometieron a una caracterización fisico-química realizada en el laboratorio de (CICELPA-UIS), bajo ciertas normas técnicas para su respectiva evaluación. Los resultados arrojados por dicha caracterización permiten identificar un contenido equivalente al 81,2% de materia orgánica fácilmente biodegradable y un 48% de Carbono Orgánico Total (COT). De igual manera se encontró un alto contenido de sustancias solubles y extraíbles en agua caliente (46,89%), contrario a lo observado en el porcentaje de extraíbles cuando se usa como solvente el etanol. En las tablas 5 y 6 se puede apreciar la composición general del sustrato y algunas características referentes a la solubilidad del mismo.

Tabla 5. Composición general del sustrato.

COMPONENTE	%p/p en Sustrato Seco
Material Fácilmente Biodegradable	81,2
Celulosa	6,1
Hemicelulosa	2,73
Lignina	4,95
Cenizas	5,02

Fuente: CICELPA-UIS, 2003

Tabla 6. Composición del sustrato según su naturaleza biodegradable.

Extraíbles totales				Solubles		Composición del material		
Alcohol + Benceno	Alcohol etílico	Agua caliente	Total extraíbles	Solubles en agua caliente	Solubles en NaOH 1%	Extraíbles totales	Lignina + holocelulosa	Cenizas
0,851	5,53	46,89	53,25	42,64	81,87	53,25	46,75	5,07

Fuente: CICELPA-UIS, 2003

Es importante resaltar que el sustrato seleccionado se caracterizó en porcentajes másicos, con el fin de garantizar en todo momento de la investigación una continuidad de los componentes y homogeneidad en el sustrato alimentado al sistema hidrolítico como se muestra en la tabla 7.

Tabla 7. Composición del sustrato según su naturaleza.

COMPONENTE	TAMAÑO NATURAL (cm)	TAMAÑO ACONDICIONADO (mm)	% p/p
Cáscaras de papa	5-6	2-4	24,1
Cáscaras de plátano	1-14	2-4	16,36
Cáscaras de yuca	7-9	2-4	29,51
Hortalizas (Varias)	10	2-4	30,01

Fuente: Autores

2.2 RECOLECCION Y ADECUACIÓN DEL SUSTRATO SELECCIONADO.

Con el objetivo de asegurar el sustrato seleccionado como alimento en el sistema de tratamiento anaerobio, se estableció una rutina de recolección en la Plaza de Mercado “San Francisco” (Bucaramanga) de tal manera que se pudiera satisfacer

la necesidad de mantener un sistema de alimentación continuo por ciclos. Una vez recolectado el sustrato seleccionado se sometió a un pretratamiento físico, mediante una operación de molienda realizada dos veces por semana a través de una licuadora industrial de cuchillas. Durante la operación de molienda se adicionaron 300 ml de agua por cada 4 kg de sustrato molido, con el fin de facilitar el proceso de molienda, alcanzándose una reducción de tamaño significativo, tal como se puede observar en la Tabla 6. Finalizada esta etapa, el sustrato es almacenado por periodos de 8 días a temperaturas que se encuentran entre 2°C y 4°C en un tanque de refrigeración que ha sido acondicionado para tal propósito. Teniendo en cuenta la homogeneidad del sustrato después de haber sido sometido a un pretratamiento físico de reducción de tamaño, se realizó una caracterización físico-química en el laboratorio del Centro de Estudios e Investigaciones Ambientales (CEIAM-UIS) junto con las técnicas mostradas con el objetivo de establecer parámetros representativos de dicho sustrato, como se observa en la tabla 8.

Tabla 8. Caracterización fisicoquímica del sustrato.

Parámetro	Unidades	Valor	Técnica
Tamaño de partícula	mm	2-4	Medida Directa
Densidad real	kg/m ³	1100	Medida Directa
Densidad aparente	kg/m ³	904,2	Medida Directa
Sólidos totales	kg/m ³ %(p/p)	168,3 16,0-18,0	Gravimétrica 2540 E
Sólidos volátiles	kg/m ³ %(p/p) % ST	158,8 15,1 94,4	Gravimétrica 2540 E
Carbono Orgánico Total	%(p/p)	39,0-48,0	Combustión Infrarroja 5310 B
Nitrógeno Total	%(p/p)	0,35-1,19	Macro Kjeldalh 4500-N _{org} B
Potasio	%(p/p)	2,46	Absorción Atómica 3500-K B
Fósforo	%(p/p)	0,22	Acido Vanadomolibdofosfórico 4500-P C
Relación C/N		32,77	

Fuente: Los Autores

2.3 ADECUACION DEL SISTEMA DE REACCION Y LOS BIODIGESTORES.

Para la realización de la etapa hidrolítica de la FORSU se utilizó un biodigestor anaerobio de mezcla completa con un volumen total de 30 L, y un volumen útil de 24 L. Fabricado en acero inoxidable, dotado con un sistema de agitación compuesto por un agitador como el que se muestra en la figura 7, el cual tiene un barredor central que impide la acumulación de material en el fondo del reactor y además cuenta con un sistema helicoidal doble que permite una agitación más homogénea generando un régimen de flujo de ascenso-descenso durante la operación; dicha agitación es controlada por medio de un temporizador que permite regular los ciclos de agitación, los cuales se distribuyeron en períodos equivalentes a 3 horas de agitación y 2 horas de reposo. El sistema también cuenta con un lazo de control compuesto por una termocupla tipo J, un relevador de estado sólido, un controlador digital y una resistencia como elemento final de control, con el fin de garantizar una temperatura constante en el biorreactor durante el desarrollo de la experimentación.

En un proceso de digestión anaerobia se deben garantizar condiciones de hermeticidad, de tal manera que se pueda generar un medio libre de oxígeno en el sistema de reacción. Por este motivo, el reactor es sometido a pruebas hidráulicas y aire presurizado, a una presión de 40 psia con el objetivo de detectar y eliminar posibles fugas. Para lograr un sistema de alimentación eficiente, en el que se minimice el ingreso de oxígeno al sistema en el instante de realizar la carga del reactor, se diseñó un sistema pistón en PVC con un diámetro de 3 pulgadas, junto con una válvula de globo del mismo material, como se muestra en la figura 7.

Figura 6. Vista interna Reactor

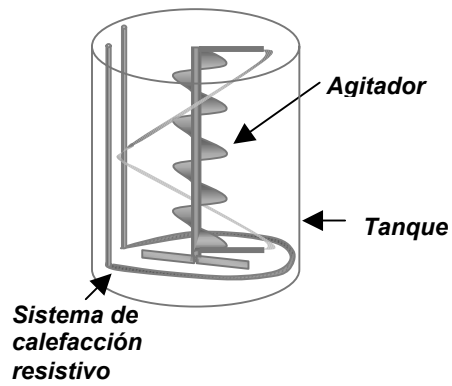


Figura 7. Reactor sin Acondicionar

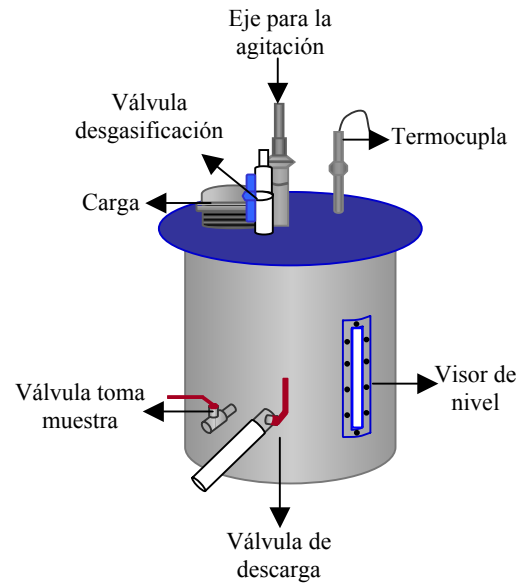


Figura 8. Digestor Hidrolítico Acondicionado



En la tabla 9 se pueden observar otras características que describen físicamente el sistema donde se lleva a cabo la reacción de hidrólisis por vía anaerobia.

Tabla 9. Características del Reactor Anaerobio Hidrolítico.

Características	Descripción
Capacidad Total	30L
Volumen de operación	24L
Material	Acero Inoxidable Calibre 18
Sistema de Poleas	Este arreglo de poleas permite disminuir las rpm, de 3600 rpm hasta 40 rpm
Agitación	Agitador concéntrico Helicoidal con barredor inferior.
Control de Temperatura y Agitación	Controlador digital de temperatura TZ4ST (AUTONIC), Timer digital.
Medidor de Temperatura	Termocupla tipo J.
RPM	40
Motor	0.5 Hp, 220 V, Trifásico.
Calentamiento	Resistencia sumergida de Ferro-Niquel, 800 W.

Fuente: Los Autores.

Los procesos por vía anaerobia cuentan con muchas variables importantes para el desempeño del mismo, y precisamente una de ellas es el tiempo de retención hidráulico (TRH), que para el caso del biorreactor especializado como hidrolítico-acidogénico el TRH corresponde a un proceso batch cíclico, en donde la operación del biodigestor se desarrolla de manera semicontinua.

2.4 DISEÑO DE EXPERIMENTOS

En el diseño de experimentos para la evaluación de la hidrólisis enzimática de la FO-RSU se aplicó un diseño factorial 2^2 , en el cual se tienen dos niveles y dos factores que dan origen a cuatro experimentos desarrollados en un mismo reactor para diferentes condiciones de operación.

En la tabla 10 se muestran las variables que fueron seleccionadas por su gran importancia a la hora de establecer las condiciones de operación favorables para el desempeño de la hidrólisis enzimática en un biodigestor hidrolítico. Para el diseño de experimentos se escogieron variables de operación que agrupan rangos de temperatura mesófilos y termófilos, en donde los diferentes grupos tróficos realizan sus actividades metabólicas, actuando directamente en la biodegradación de la materia orgánica; además se propuso la variable “tiempo de retención hidráulico”, como otro parámetro de estudio, evaluado a diferente temperaturas y manteniendo otras variables de proceso controladas como es el caso del pH, ciclos de agitación, tamaño de partícula, volumen de reacción, composición del sustrato. Todas las variables mencionadas anteriormente fueron seleccionadas teniendo en cuenta investigaciones realizadas y relacionadas con el proceso de digestión anaerobia durante tres años (Castillo, Cristancho et al 2003), a través de los cuales se ha logrado identificar las variables del proceso de digestión anaerobia que permiten tener un conocimiento de su comportamiento.

Tabla 10. Diseño de experimentos para la fase de licuefacción.

TEMPERATURA (°C)	TRH (Días)
35	15
	10
55	15
	10

Fuente : Los Autores.

2.5 INOCULACIÓN Y ARRANQUE DEL SISTEMA ANAEROBIO PARA LA HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA.

Teniendo en cuenta estudios realizados en investigaciones pasadas (CEIAM-UIS) (Castillo, Arellano et al 2003), en los que se evaluó el comportamiento de biotas nativas, provenientes tanto de la planta de tratamiento de aguas residuales (PTAR) de Río Frío Girón (Santander), como de lodos procedentes de un biodigestor para excretas porcícolas ubicado en la Mesa de los Santos (Santander). Los parámetros de selección del inóculo se fundamenta en la alta disponibilidad en la región y bajo costo del mismo, sin embargo la biota estudiada ha mostrado un buen desempeño en este tipo de operaciones (digestión anaerobia en una y dos fases), presentando cantidades significativas en cuanto a la producción específica de metano y el porcentaje de éste en el biogás. Como resultado de investigaciones previas se llegó a la conclusión que el inóculo de mayor rendimiento fue el correspondiente al lodo mixto en proporción 1:1.

Para el desarrollo de fase hidrolítica, se tomó la decisión de continuar con el lodo combinado y seleccionado en estudios anteriores, con la variante de ser aclimatado y especializado como medio de cultivo para el desarrollo de la hidrólisis enzimática. De esta manera se procedió a inocular el biorreactor hidrolítico, con un volumen de lodo mixto (4 L) equivalente al 16,7% del volumen efectivo de operación del reactor (24 L). En el desarrollo de la etapa de arranque del biodigestor se aseguran condiciones nutricionales para los microorganismos con una solución de melaza del (1% p/v) de tal manera que la biomasa activa inicie su etapa de aclimatación en un medio isotérmico hasta alcanzar una estabilidad en el potencial de hidrógeno y una producción constante de ácidos grasos volátiles (AGV's), de tal forma que la biota adecuada pueda soportar el impacto generado por la alimentación del sistema con el sustrato seleccionado (FO-RSU).

Después de haber realizado la respectiva inoculación, adición de nutrientes (aclimatación) y sustrato real al sistema biológico se establecen las variables de operación a evaluar que determinan el inicio del estudio de la hidrólisis enzimática de la fracción orgánica y su respectivo desempeño.

2.6 OPERACIÓN Y EVALUACIÓN DEL SISTEMA DE HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA POR VÍA ANAEROBIA

El biorreactor hidrolítico se evalúa de acuerdo con lo planteado en el diseño de experimentos, para lo cual se estableció un orden de experimentación en dos etapas. La primera etapa corresponde a los experimentos de TRH equivalentes a 15 días y temperaturas de 35°C y 55°C respectivamente, dejando un período de ocho días de transición entre cada experimento, tiempo en el cual y por medio de cambios lentos se ajusta la nueva temperatura y se suspende la alimentación de sustrato al biodigestor (situación que provoca un ligero incremento del pH). Posteriormente se desarrolla la segunda fase de experimentación, para lo cual se repone biomasa activa en el biorreactor y se ajustan las nuevas condiciones de experimentación correspondientes al TRH de 10 días y temperaturas de 35°C y 55°C. Se toma como parámetro fundamental en el seguimiento del biodigestor hidrolítico, la producción específica de AGV's, asumiendo a estos como el producto primario de la etapa hidrolítica de la (FO-RSU) en la ruta de biodegradación anaerobia.

La evaluación de los sistemas hidrolíticos debe incluir un seguimiento o monitoreo de las principales variables de operación que afectan directa o indirectamente el desarrollo de dicha fase, de tal forma que en cualquier instante se puedan tomar decisiones o acciones preventivas y correctivas en busca de garantizar un conocimiento y un mejor desempeño del sistema hidrolítico. Las variables monitoreadas y su periodicidad de evaluación se pueden observar en la tabla 11.

Tabla 11. Variables Monitoreadas Durante la Operación de la Digestión Anaerobia en un Reactor Hidrolítico.

VARIABLE	PERIODICIDAD	TECNICA
AGVs	3 veces por semana	Volumétrica
pH	Diariamente	Instrumental
Alcalinidad	3 veces por semana	Volumétrica (2320 B)
Composición de Biogás	Diariamente	Instrumental (Analizador de Gases)
Sólidos Disueltos Totales	3 veces por semana	Gravimétrica (2540E)
Sólidos Disueltos Volátiles	3 veces por semana	Gravimétrica (2540E)
DQO del Efluente Centrifugado (Libre de Sólidos Suspendidos)	3 veces por semana	Reflujo Cerrado
Cromatografía de Gases	1 Experimental	HRGC-MSD
Conteo Microbiológico	1 Experimental	9221 B (NMP) 9215 B (UFC)

Fuente: Los Autores.

Además de la medición de estas variables se realizó una caracterización microbiológica del efluente centrifugado y del lodo sedimentado. Para hacer esta caracterización microbiológica fue necesario reconstruir una cámara de anaerobiosis ver figura 9, a la cual se le adaptó un par de guantes fijados herméticamente y una atmósfera de gases controlada, con 85% de N₂, 10% de H₂, y 5% de CO₂. Adicionalmente se le instaló una precámara, válvulas de intercambio de gases y una lámpara de luz ultravioleta, tal y como se aprecia en la figura 8. De otro lado durante la operación del sistema hidrolítico se examinó una muestra del efluente del biorreactor operado a condiciones de TRH de 15 días y temperatura de 55°C, con el fin de evaluar la composición química de la fracción volátil de este, empleando la técnica de microextracción en fase sólida (SPME) y cromatografía de gases de alta resolución con detector selectivo de masas (HRGC/MSD).

Figura 9. Cámara de Anaerobiosis.



Fuente: Los Autores.

2.7 ANÁLISIS DE RESULTADOS

En esta etapa del desarrollo metodológico, se interpretan las diferentes gráficas y se analizan cada uno de los resultados obtenidos en la fase experimental de la investigación. Una vez realizada esta tarea se establecen las condiciones más favorables de tiempo de retención hidráulico y temperatura para la operación de un biorreactor escala piloto, en el cual se llevó a cabo la hidrólisis enzimática de la fracción orgánica contenida en los residuos sólidos urbanos por vía anaerobia.

De otro lado, una vez culminada la investigación con respecto a los cuatro experimentos planteados y para la escogencia de las condiciones de operación más favorables, se tomaron como criterios de selección el índice de hidrólisis adecuado y el máximo nivel de producción específico de g AGV's/kg de sustrato alimentado como parámetros cualitativos y cuantitativos respectivamente, del desempeño del biodigestor hidrolítico.

2.7.1 Cálculo del Índice Porcentual de Hidrólisis. Para realizar el cálculo del índice porcentual de hidrólisis se tuvo en cuenta la demanda química de oxígeno DQO en el sustrato antes de ingresar al proceso de digestión anaerobia, y la DQO en el efluente soluble procedente del reactor después de haber sido sometido a el proceso hidrolítico. Para poder evaluar la DQO del sustrato, se le realizó una molienda hasta lograr obtener una muestra con características adecuadas que permitan la aplicación de la técnica mostrada en el anexo A, mientras que para la determinación de la DQO del efluente soluble se tomó una muestra cruda o total procedente del reactor, posteriormente se sometió a una separación de sólidos por centrifugación, y de esta manera se obtuvo un licor soluble y libre de sólidos suspendidos, al cual se le determinó la DQO tal y como se especifica en la técnica mostrada en el anexo A. De otro lado es importante resaltar, que para determinar la carga orgánica DQO del efluente procedente del digestor hidrolítico, se diluyeron en una proporción de 2ml de muestra aforando hasta 250ml con agua destilada. Después de haber realizado el procedimiento anterior se utilizó la siguiente ecuación (Grietje Zieeman and Gatze Lettinga *et al.*, 1997) para el cálculo del índice porcentual de hidrólisis en el proceso realizado por vía anaerobia.

$$\text{Índice Porcentual de Hidrólisis} = \frac{(\text{DQO})_{\text{ES}}}{(\text{DQO})_{\text{SA}}} * 100$$

Donde:

DQO_{ES} = Demanda química de oxígeno para el efluente soluble (g O₂/l)

DQO_{SA} = Demanda química de oxígeno para el sustrato alimentado (g O₂/l)

La Demanda Química de Oxígeno para la fracción orgánica de los RSU después de haber realizado la evaluación de tres muestras semanales durante un periodo de 3 meses, se observa que se mantiene un valor promedio alrededor de 120.000 mg O₂/l, confirmando que las costumbres gastronómicas de la región varían muy poco.

3. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

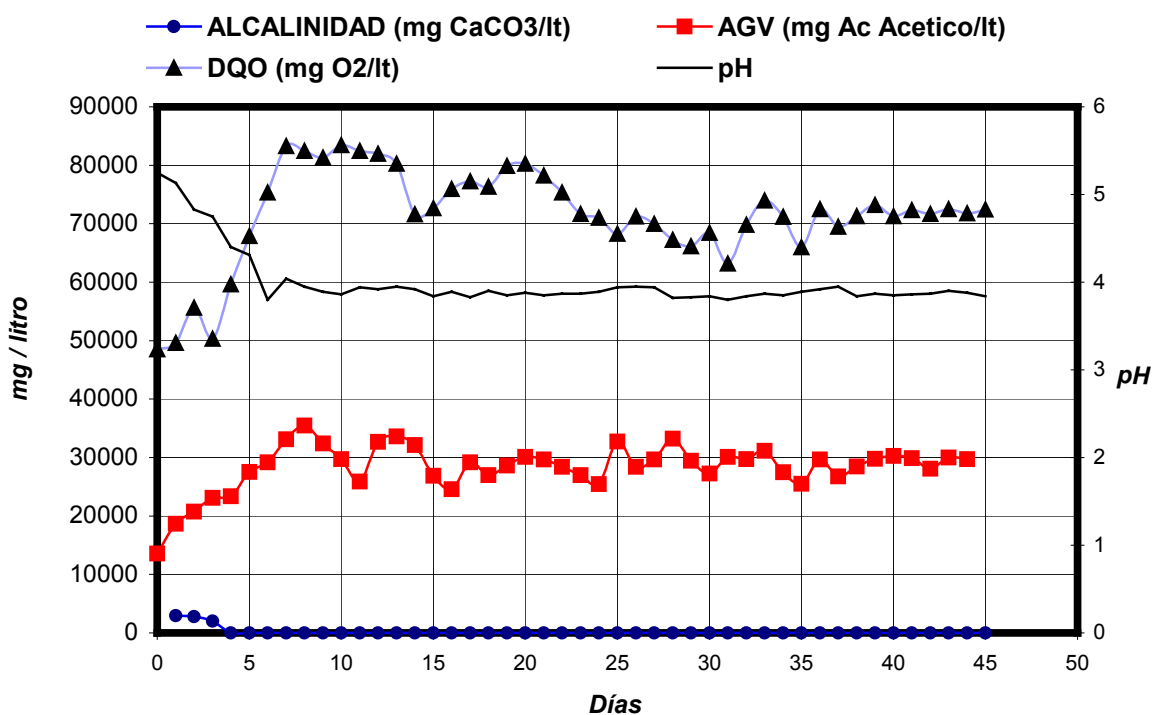
En el presente capítulo se describen los experimentos realizados y el análisis de cada una de las variables de operación evaluadas en un biodigestor anaerobio especializado para la fase hidrolítica de la (FO-RSU). En las gráficas (1 a 16) se observa el comportamiento de las variables físico-químicas monitoreadas para cada uno de los experimentos después de la aclimatación del sistema; esta aclimatación se alcanza una vez que el sistema presenta una producción constante de ácidos grasos volátiles y una significativa estabilidad en el potencial de hidrógeno. De igual manera al final del capítulo se presenta algunos conteos de unidades formadoras de colonia (aerobios y anaerobios totales, mohos y levaduras) presentes en el efluente soluble y en el efluente particulado o biosólido procedentes del biorreactor hidrolítico.

3.1 RESULTADOS OPERATIVOS OBTENIDOS PARA T= 35 °C y TRH=15 DÍAS

Para el desarrollo del primer experimento se fijaron condiciones iniciales de operación a partir del tiempo de retención hidráulico 15 días y el volumen efectivo de reacción 24 litros, obteniéndose de esta manera un flujo volumétrico de alimentación equivalente a 1,6 l/día de fracción orgánica de residuo sólido urbano (FO-RSU), con una densidad absoluta de sustrato promedio de 1100 kg/m³ y un tamaño de partícula alrededor de 2-4 mm. Después de haber definido los parámetros iniciales de operación se empezó la alimentación del sistema hidrolítico y posteriormente se realizó el respectivo seguimiento a cada una de las variables que intervienen (pH, Demanda Química de Oxígeno, Alcalinidad, y Ácidos Grasos Volátiles) en el desarrollo de la hidrólisis enzimática de la (FO-RSU) por medio del análisis del efluente soluble generado en el biorreactor hidrolítico, tal y como se muestra en la gráfica 1. En este gráfico se puede

apreciar que el sistema antes de alimentarse con la (FO-RSU) contaba con un pH de 5,3 y una vez alimentado con el sustrato selecto se inicia un descenso en el mismo, alcanzando un valor promedio de 3,9 en el décimo día de experimentación. Sin embargo, a partir del décimo día, el pH permanece constante durante todo el desarrollo la etapa de hidrólisis, dejando clara evidencia de la capacidad del sistema para mantener el potencial de hidrógeno en niveles estables, que permiten a su vez asegurar la especificidad de la biota.

Gráfica 1. Resultados Operativos para el Reactor Hidrolítico, TRH=15 días y T=35°C



Fuente: Los Autores.

De otro lado, se puede observar también en la gráfica 1, que la concentración de ácidos grasos volátiles en el efluente soluble del biodigestor al cabo de 40 días de

operación, alcanzó un valor promedio de 30 g de Acido Acético/l, mientras que la Demanda Química de Oxígeno (DQO) en el efluente soluble (libre de sólidos suspendidos) logra valores en promedio de 72 g de O₂/lt.

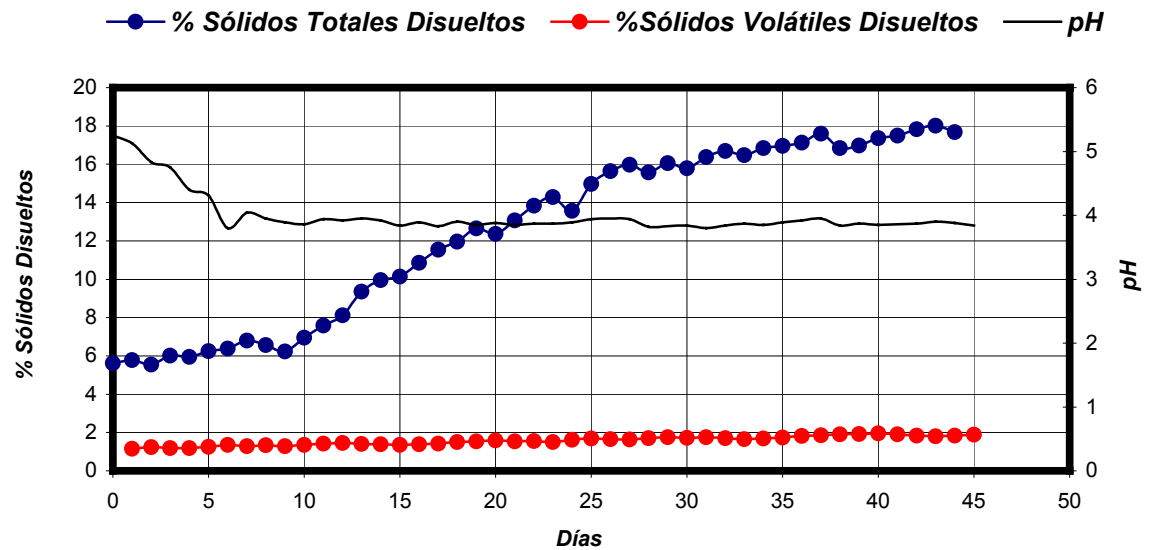
Otro efecto que se puede apreciar en el mismo gráfico, es el correspondiente a la alcalinidad del sistema reportada como mg de CaCO₃/lt, en donde el decrecimiento de esta variable con el tiempo es evidente, alcanzando un valor nulo. Este comportamiento en la alcalinidad, permite reafirmar la débil capacidad del sistema para amortiguar el exceso de ácidos presentes. Sin embargo, este parámetro nos permite corroborar el efecto hidrolítico-acidogénico del biodigestor.

En la gráfica 2 se muestra el comportamiento de los sólidos totales y volátiles disueltos para el efluente o licor centrifugado procedente del biodigestor hidrolítico. Los sólidos totales disueltos permanecen constantes alrededor del 6% en peso durante los primeros 10 días de operación, pero a partir del décimo día sufren un incremento súbito hasta el día 20, alcanzándose un valor de 14% en peso; posteriormente y hasta el final del experimento el sistema logra un porcentaje final de sólidos totales disueltos alrededor del 18% en peso. Por otra parte los sólidos volátiles disueltos mantienen una mejor regularidad durante el desarrollo del experimento, permaneciendo en valores muy cercanos que oscilan entre el 1,5% y 2,5% en peso.

En la gráfica 3 se muestra la composición del biogás generado en el biorreactor hidrolítico, en donde el CO₂ presenta un comportamiento bastante irregular, dado que en los primeros 15 días alcanza un valor promedio de 85% en volumen y en base seca, pero a partir del día 15 y hasta el día 20 se presenta una caída del porcentaje de CO₂ hasta un valor del 52% aproximadamente, mientras que la composición de CH₄ y O₂ desde un comienzo tienden a disminuir, dado que el pH de operación no es el adecuado para la actividad metabólica de los microorganismos metanogénicos. Este efecto es un elemento de juicio adicional

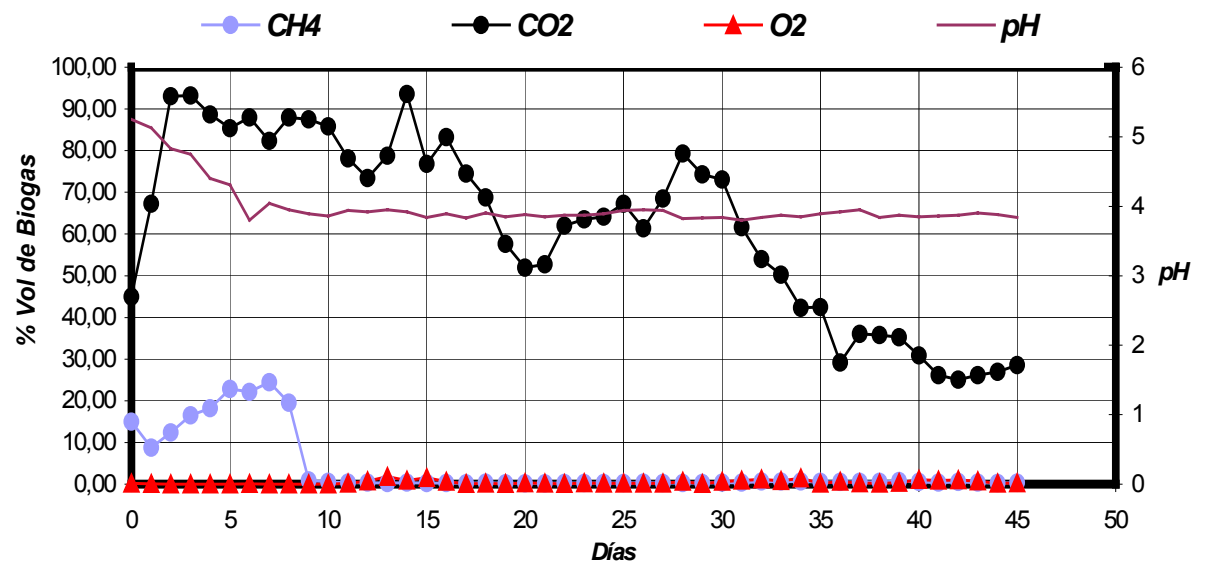
para corroborar a su vez la especificidad de la biomasa como hidrolítica-acidogénica.

Gráfica 2. Variables físicas del Reactor Hidrolítico. TRH=15 días y T=35°C



Fuente: Los Autores.

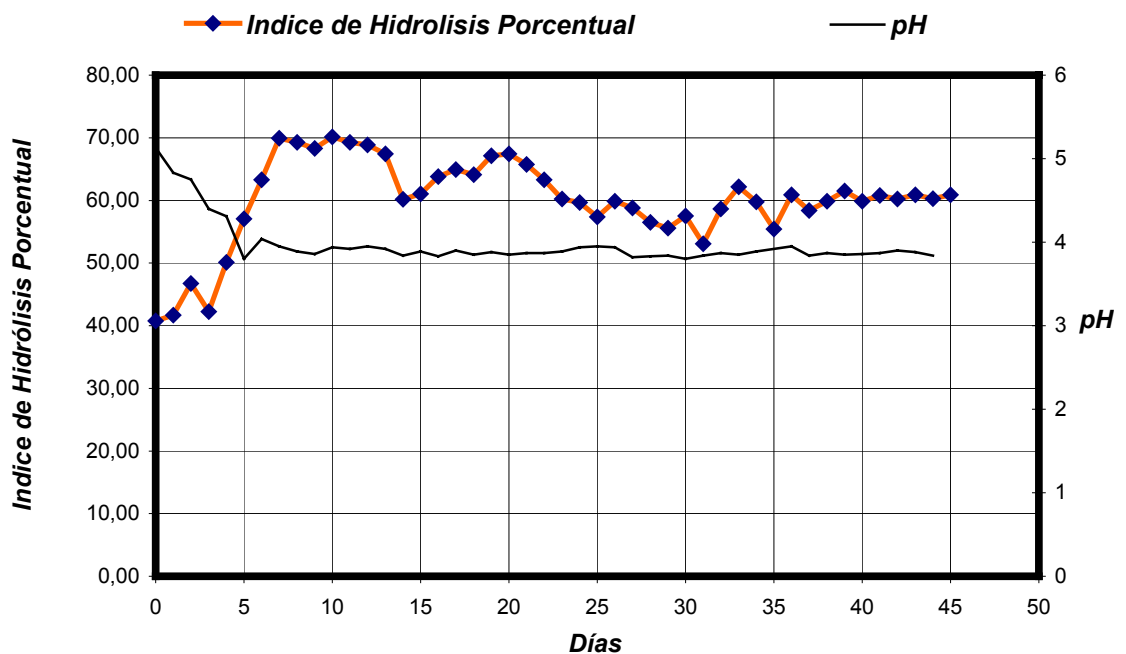
Gráfica 3. Composición de Biogás en un Reactor Hidrolítico. TRH=15 días y T=35°C



Fuente: Los Autores.

En la gráfica 4 se muestra el comportamiento del índice de hidrólisis porcentual a través del tiempo de experimentación. Inicialmente se observa que dicho índice presenta un incremento que va desde el 40% hasta el 70% durante los primeros siete días de experimentación, periodo en el cual también se registra una caída súbita del potencial de hidrógeno en el sistema, favoreciendo de esta manera la tasa de crecimiento de los microorganismos hidrolíticos-acidogénicos y por ende un aumento en el desempeño de la hidrólisis. Sin embargo, al final de la experimentación se alcanzó un índice de hidrólisis porcentual promedio equivalente al 60%.

Gráfica 4. Índice Porcentual de Hidrólisis TRH=15 días y T=35°C



Fuente: Los Autores.

3.2 RESULTADOS OPERATIVOS OBTENIDOS PARA T=55 °C y TRH=15 DÍAS

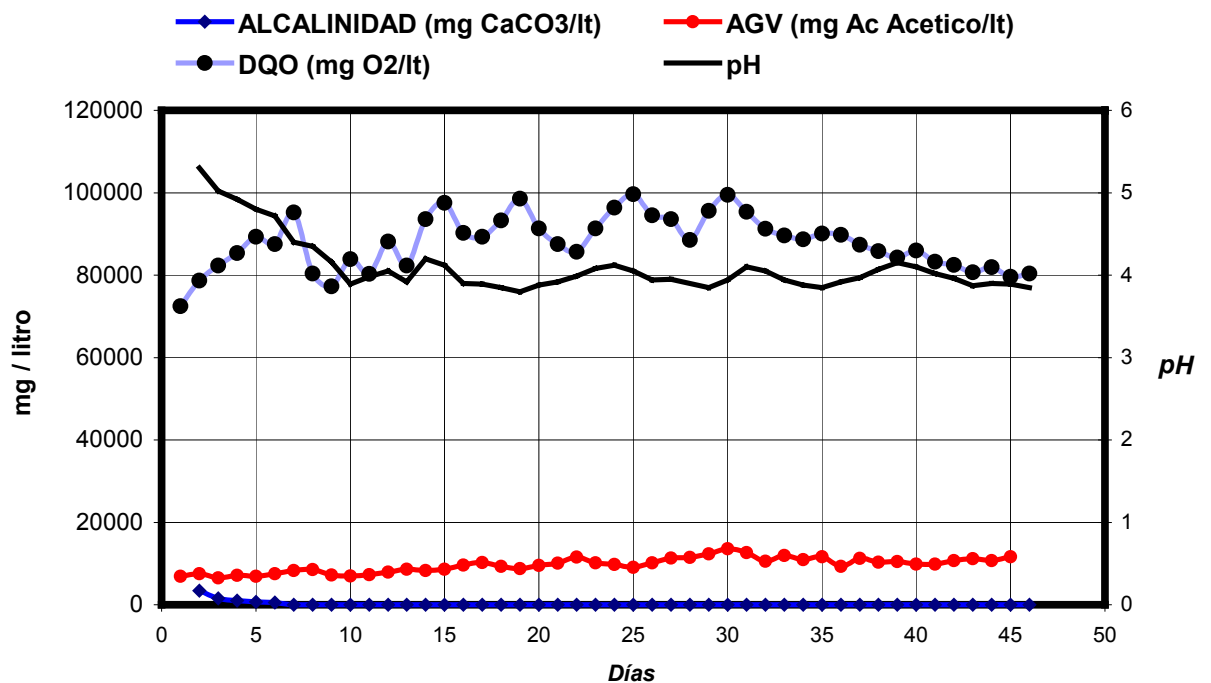
En las gráficas (5 a 8) se observa el comportamiento de las variables físico-químicas que fueron monitoreadas durante el segundo experimento correspondiente a un tiempo de retención hidráulico de 15 días y una temperatura de 55 °C. Para el desarrollo de este experimento se fijaron las mismas condiciones iniciales de operación comparadas con las establecidas en el diseño del primer experimento, en donde a partir del tiempo de retención hidráulico 15 días y el volumen efectivo de reacción 24 litros, se obtuvo el flujo volumétrico de alimentación equivalente a 1,6 litros / día de fracción orgánica de residuo sólido urbano (FO-RSU), con una densidad absoluta promedio de (1100 kg/m³), un tamaño de partícula alrededor de (2-4 mm) y un porcentaje de 18% sólidos totales. Sin embargo, se introdujo un cambio en el nuevo experimento que fue el incremento de la temperatura hasta un rango termofílico 55 °C.

Después de haber redefinido los parámetros iniciales de operación, los cuales cambiaron muy poco con los establecidos en el primer experimento, se dio inicio nuevamente a la alimentación del sistema hidrolítico, para posteriormente realizar el respectivo seguimiento a cada una de las variables que intervienen (pH, Demanda Química de Oxígeno, Alcalinidad, y Ácidos Grasos Volátiles) en el desarrollo de la hidrólisis enzimática de la (FO-RSU) por medio del análisis del efluente generado en el biorreactor hidrolítico, tal y como se muestra en la gráfica 5. En este gráfico se puede apreciar que el sistema inicialmente presenta un leve descenso en el potencial de hidrógeno una vez que se alimenta con la (FO-RSU), obteniéndose un pH que va desde 5,2 hasta un valor muy cercano a 4,0 durante los primeros diez días de experimentación. Pero a partir del día 15 el pH permanece constante durante todo el desarrollo la etapa hidrolítica.

De otro lado, se puede observar también en la gráfica 5, que la concentración de ácidos grasos volátiles en el efluente del biodigestor al cabo de 45 días de

operación, alcanzó un valor promedio de 10 g de Acido Acético/l, mientras que para la Demanda Química de Oxígeno DQO en el efluente centrifugado (libre de sólidos suspendidos) se lograron valores en promedio de 80 g de O₂/l. Otro parámetro que se puede apreciar en el mismo gráfico, es la alcalinidad del sistema la cual al cabo de tres días alcanza un valor nulo.

Gráfica 5. Resultados Operativos del Reactor Hidrolítico TRH=15 días y T=55°C



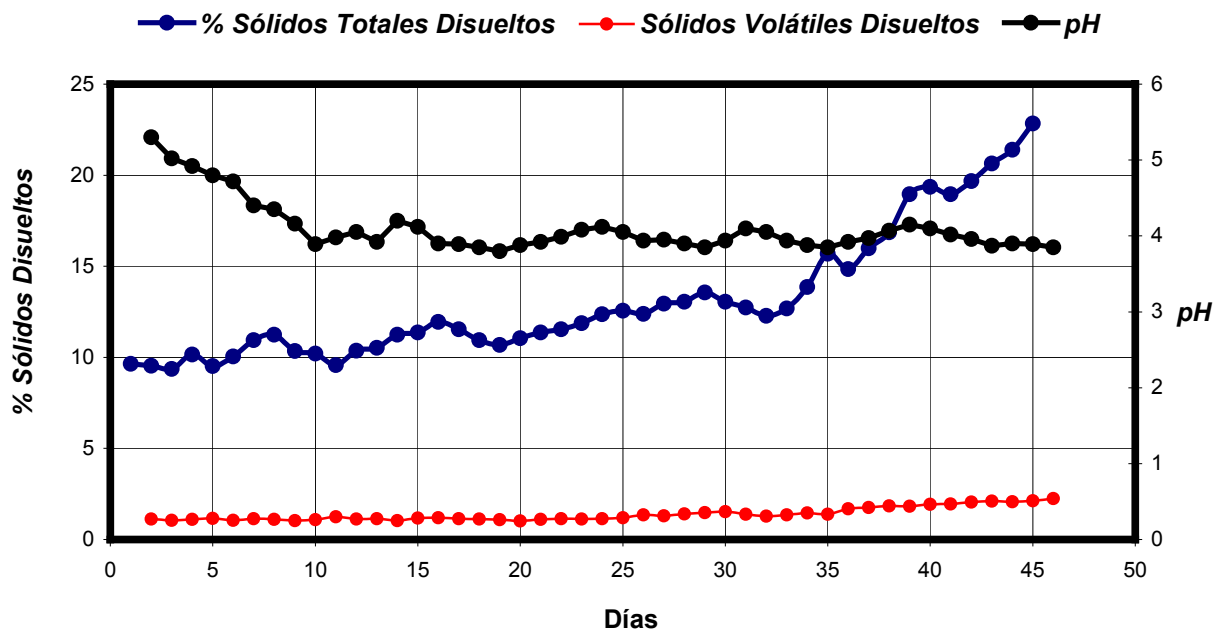
Fuente: Los Autores

En la gráfica 6 se puede observar el comportamiento de los sólidos totales y los sólidos volátiles disueltos para el efluente o licor centrifugado procedente del biodigestor hidrolítico. Con respecto a los sólidos totales disueltos se puede apreciar que permanecen constantes alrededor del 10% y 12% en peso durante los primeros 20 días de operación, pero a partir del día (20) se genera un incremento lento hasta el día 33 lográndose un valor del 14% en peso, hasta que

finalmente el sistema hidrolítico a partir del día 35 experimenta un aumento significativo obteniéndose valores por encima del 22% en peso. De otro lado, los sólidos volátiles disueltos mantienen cierta regularidad durante el desarrollo del experimento, permaneciendo estables con valores que oscilan entre el 1,0% y 3,0% en peso.

En la gráfica 7 se observa la composición del biogás generado en el biorreactor hidrolítico, en donde el dióxido de carbono (CO₂) alcanza un nivel máximo del 50% en volumen durante los primeros 15 días de operación y se mantiene estable en composición de CO₂ hasta el día 30. Finalmente a partir de este día disminuye lentamente hasta alcanzar un valor del 40% en volumen.

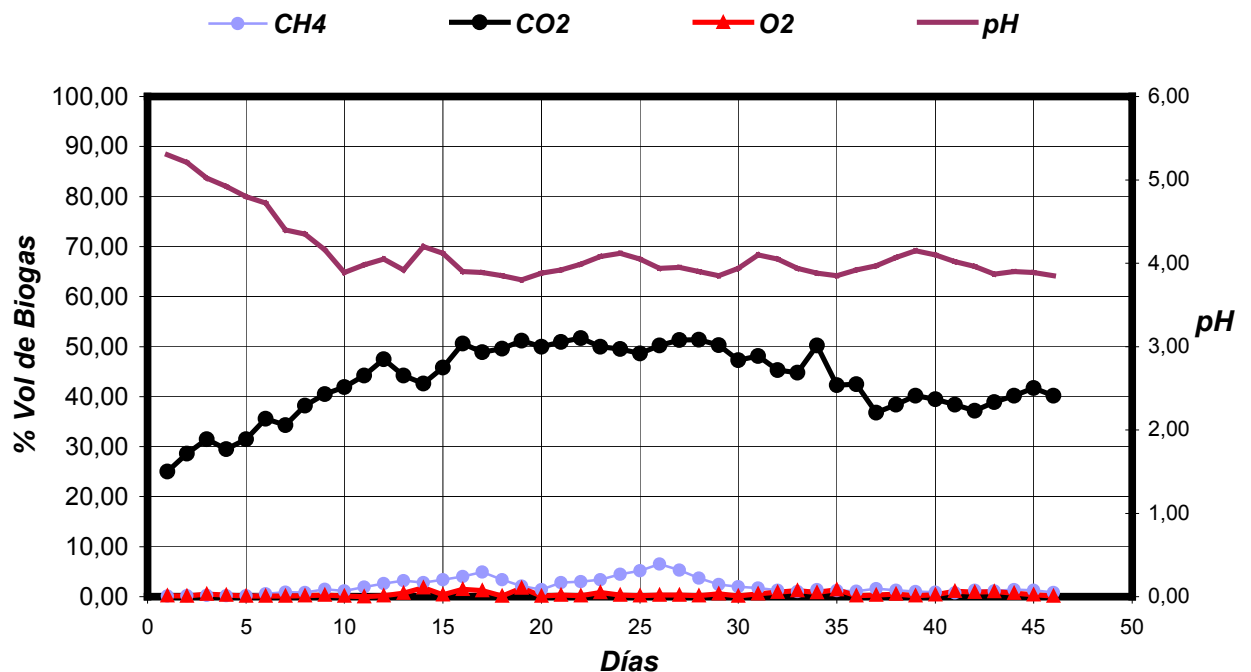
Gráfica 6. Variables físicas de Operación para el Reactor Hidrolítico. TRH=15 días y T=55°C



Fuente: Los Autores

Con respecto a la composición de metano y oxígeno se puede observar que desde un comienzo tienden a disminuir rápidamente a valores nulos, dado que el pH de operación favorece las condiciones de actividad metabólica para los microorganismos hidrolíticos-acidogénicos e inhibe la actividad metanogénica. La composición de O₂ mostrada en la gráfica 7, nos permite asegurar que el biorreactor operó bajo condiciones anaerobias durante todo el desarrollo del experimento.

Gráfica 7. Composición de Biogás para el Reactor Hidrolítico. TRH=15 días y T=55°C

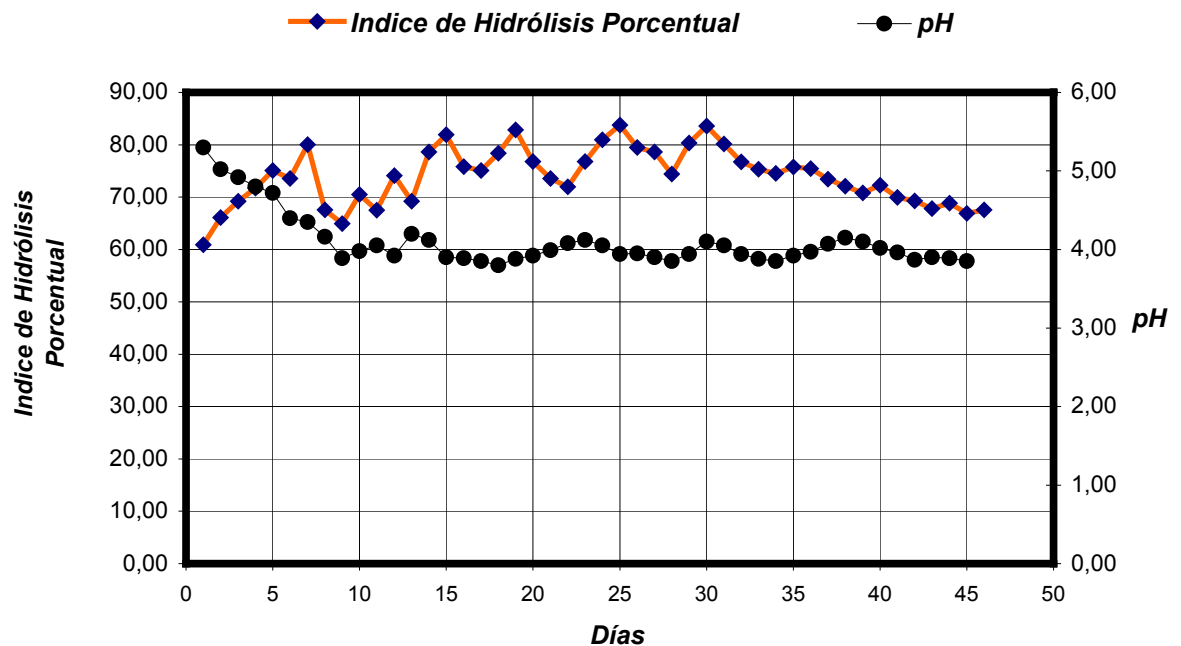


Fuente: Los Autores

En la gráfica 8 se observa el comportamiento del índice de hidrólisis porcentual a través del tiempo, en donde se puede apreciar un incremento del índice del 60% hasta del 80% durante los primeros 7 días, periodo en el cual también se registra

una caída significativa del potencial del hidrógeno; sin embargo, a partir de este día se presenta una estabilidad del pH, mientras que el índice porcentual de hidrólisis genera una serie de fluctuaciones alcanzándose un valor promedio de 70% al cabo del día 45 cuando finaliza la experimentación.

Gráfica 8. Índice Porcentual de Hidrólisis. TRH=15 días y T=55°C



Fuente: Los Autores

Una vez finalizado el experimento correspondiente a un TRH de 15 días y Temperatura de 55°C se analizó una muestra de efluente soluble proveniente del reactor hidrolítico operado a las condiciones mencionadas anteriormente, con el objetivo de identificar los componentes presentes por medio de una cromatografía de gases de alta resolución. En la tabla 13 se reporta la composición química de la fracción volátil en el efluente soluble o hidrolizado.

Tabla 12. Principales Compuestos Identificados en el Efluente Un Reactor Hidrolítico.

Compuesto	Cantidad Relativa (%)
Hexanoato de hexilo	20,1
Ácido hexanoico	14,3
Hexanoato de pentilo	13,2
Hexanoato de butilo + Butanoato de hexilo	9,4
Hexanoato de heptilo + Heptanoato de butilo	6,6
Butanoato de butilo	4,5
1 - Hexanol	4,3
Hexanoato de octilo + Octanoato de butilo	3,7
Heptanoato de etilo	3,3
Isopropanol	3,3
Ácido pentanoico	2,9
Ácido butanoico	2,6
Pentanol	1,9
Hexanoato de etilo	1,4
Butanol	1,2
Ácido acético	1,2
Ácido heptanoico	1,2
Pentanoato de etilo	0,8
Octanoato de etilo	0,8
Heptanol	0,7
Octanoato de pentilo	0,5
1-Octanol	0,4
Hexanoato de isopropilo	0,2
Hexanoato de heptilo	0,2
Ácidos >C ₈	0,2
Palmitato de etilo	0,1

Fuente: Laboratorio cromatografía-UIS 2005

Los principales compuestos identificados en la fase vapor del efluente analizado corresponden en su gran mayoría a compuestos oxigenados como ésteres ($\approx 62\%$), ácidos ($\approx 22,6\%$) y alcoholes ($\approx 7,5\%$). Estos porcentajes nos indican que existe un alto contenido de sustancias de bajo peso molecular, permitiéndonos corroborar que las sustancias detectadas en la cromatografía realizada sobre la

fracción volátil del efluente soluble del biodigestor anaerobio dejan clara evidencia del buen desempeño alcanzado por el proceso de hidrólisis enzimática.

3.3 RESULTADOS OPERATIVOS OBTENIDOS PARA T=35 °C y TRH=10 DÍAS

A continuación se observa en las gráficas (9 a 1) el comportamiento de las variables físico-químicas que fueron monitoreadas durante el tercer experimento correspondiente a un tiempo de retención hidráulico de 10 días y una temperatura de 35 °C.

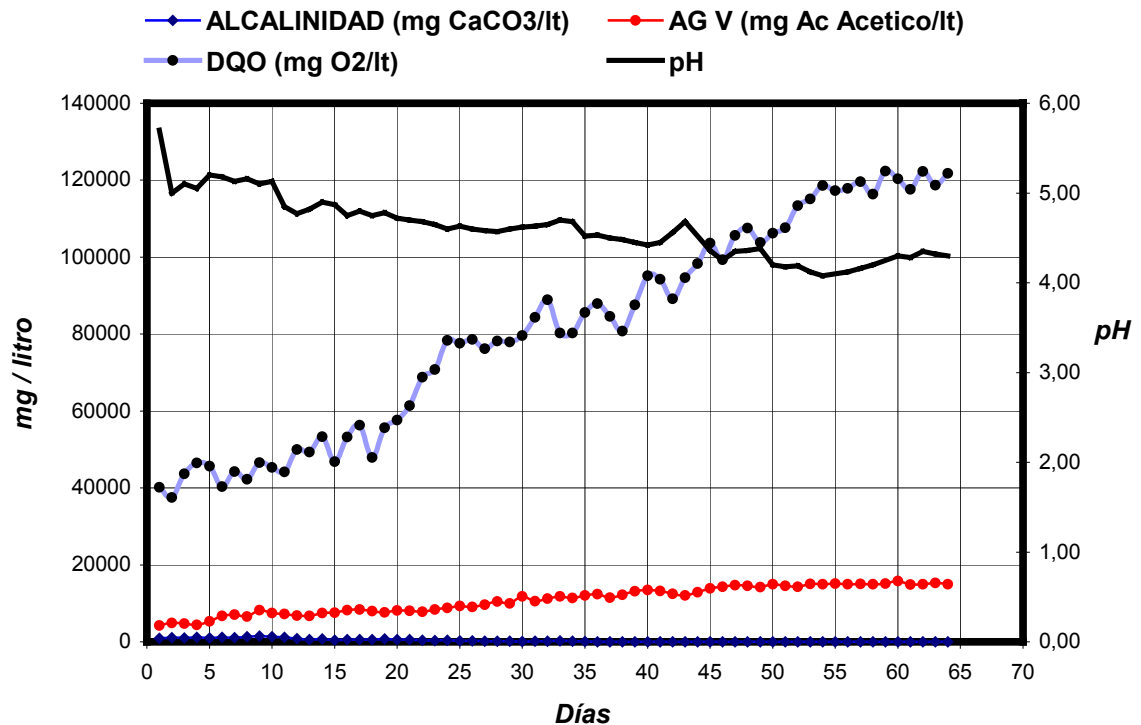
Para el desarrollo de este experimento se fijaron nuevas condiciones iniciales de operación comparadas con las establecidas en los anteriores experimentos, en donde a partir del tiempo de retención hidráulico 10 días y el volumen efectivo de reacción 24 litros, se obtuvo el flujo volumétrico de alimentación equivalente a 2,4 litros/día de fracción orgánica de residuo sólido urbano (FO-RSU), con una densidad absoluta promedio de 1.100 Kg/m³, un tamaño de partícula alrededor de 2- 4 mm y un 18% en peso de sólidos totales. También se introdujo un cambio en el presente experimento que fue la disminución de la temperatura hasta 35 °C nuevamente con cambios escalonados a lo largo de un periodo de ocho días.

Después de haber redefinido los parámetros iniciales de operación, los cuales cambiaron completamente con los establecidos en el primer y segundo experimento, se empezó la alimentación del sistema hidrolítico. Algo muy importante que se debe mencionar es que en este experimento el efluente presentaba un aspecto semisólido, en donde el licor centrifugado soluble era mínimo, razón por la cual la demanda química de oxígeno DQO alcanzó un valor alrededor de 120 g de O₂/l tal y como se muestra en la gráfica 9, indicándonos esto que el sistema se saturó en sólidos por efecto del sustrato no hidrolizado.

En este gráfico se puede apreciar también que el sistema inicialmente presenta un ligero descenso en el potencial de hidrógeno una vez que se alimenta con la (FO-RSU), obteniéndose al final de la experimentación un pH que va desde 5,6 hasta un valor muy cercano a 4,2. Sin embargo, el sistema presenta una baja tasa de acidificación producto del incremento en la carga o sustrato alimentado, dado que el flujo volumétrico de alimentación al biorreactor aumentó en un 50%.

De otro lado, se puede observar también en la grafica 9, que la concentración de ácidos grasos volátiles en el efluente del biodigestor y al cabo de 60 días de operación, alcanzó un valor promedio de 18 g de Acido Acético/l. Otro parámetro que se puede apreciar en el mismo gráfico, es la alcalinidad, la cual desde el comienzo de la experimentación y al igual que en los dos anteriores ensayos tiende a tomar valores nulos.

Gráfica 9. Resultados operativos para el Reactor Hidrolítico, TRH=10 días y T=35°C



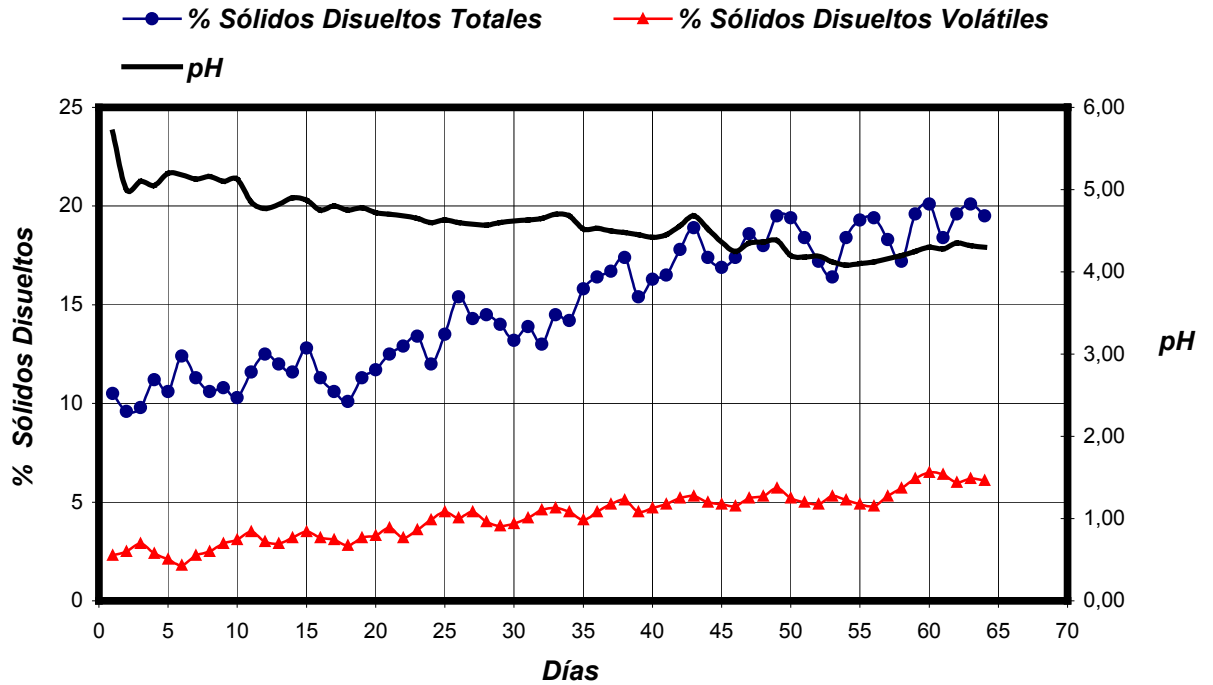
Fuente: Los Autores

En la gráfica 10 se puede observar el comportamiento de los sólidos disueltos totales y volátiles para el efluente o licor centrifugado procedente del biodigestor hidrolítico. Con respecto a los sólidos totales disueltos, se puede apreciar que el sistema hidrolítico presentó un incremento durante el período de experimentación obteniéndose valores que van desde el 10% hasta el 20% en peso aproximadamente.

De otro lado, los sólidos volátiles disueltos presentan un incremento menos pronunciado que los sólidos disueltos totales, lográndose valores que oscilan en un rango comprendido entre el 2,5% y el 6,2% en peso. Este comportamiento es típico en biorreactores hidrolíticos cuando se les incrementa la carga de alimentación, dado que el sistema inicia una etapa de saturación por parte del sustrato acumulado sin hidrolizar, afectando de alguna manera la actividad metabólica de los microorganismos.

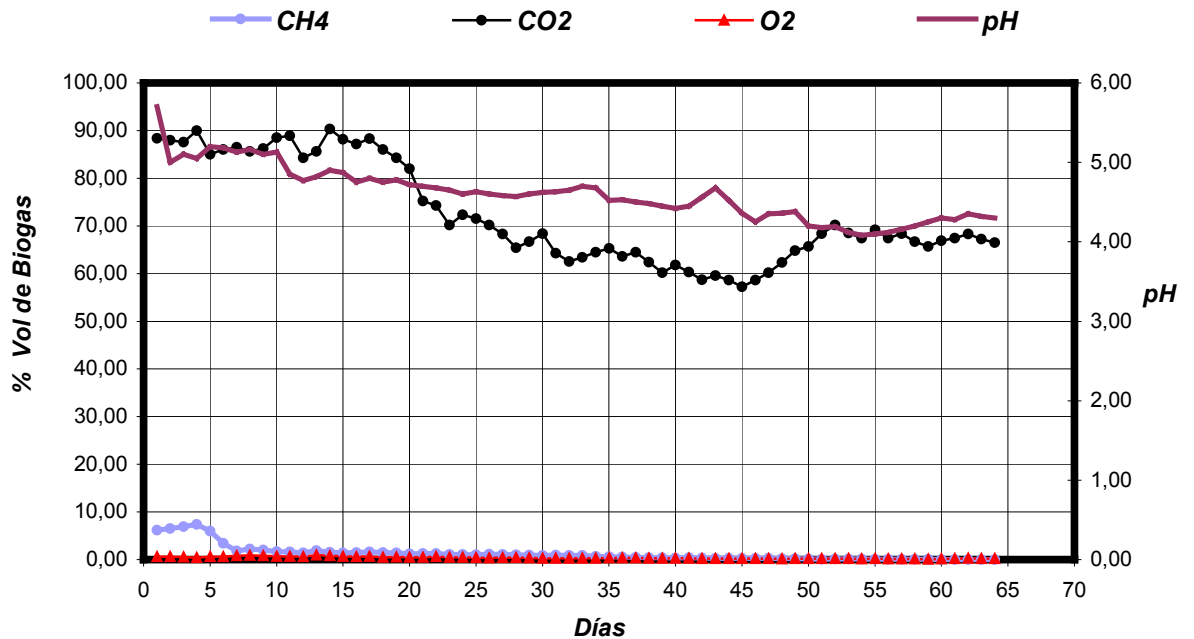
En la gráfica 11 se puede observar la composición del biogás generado en el biodigestor hidrolítico, en donde el CO_2 presenta un porcentaje máximo equivalente al 90% en volumen durante los primeros 15 días de operación, sin embargo a partir de este día el CO_2 desciende hasta alcanzar un valor de 70% en volumen al final de la experimentación. Entre tanto el O_2 junto con el CH_4 presentan porcentajes bajos de composición con tendencia a valores nulos, que confirman de una manera la selectividad de la biota hidrolítica-acidogénica (alta concentración de CO_2) y el buen desempeño del biorreactor hidrolítico con respecto a las condiciones anaerobias operación (bajos porcentajes de O_2).

Gráfica 10. Variables físicas del Reactor Hidrolítico. TRH=10 días y T=35°C



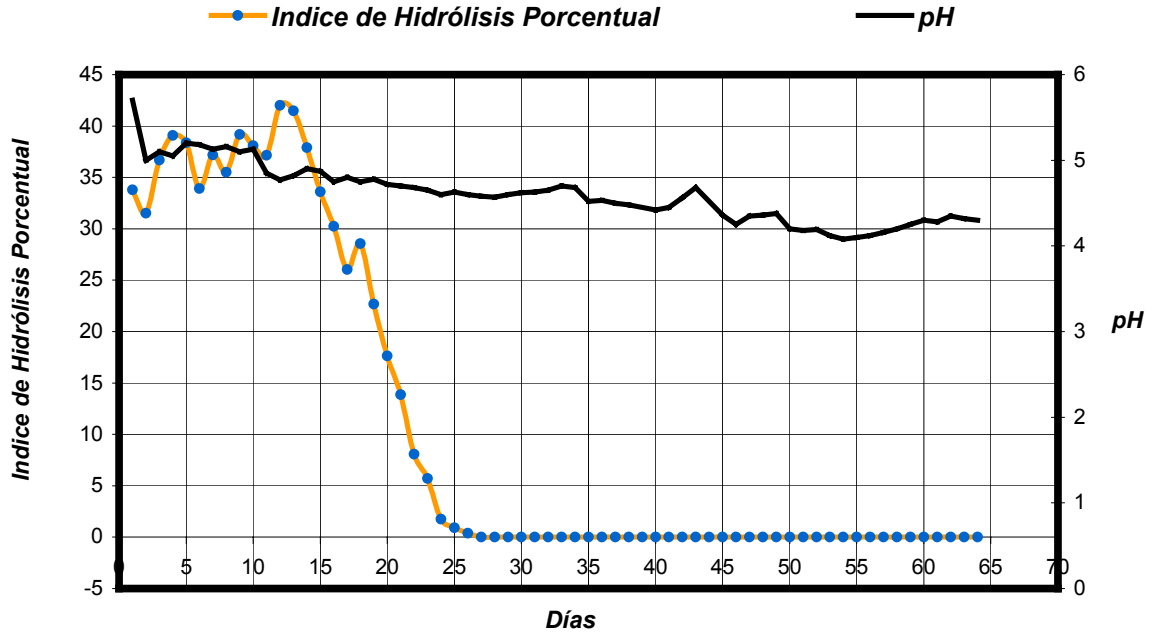
Fuente: Los Autores

Gráfica 11. Composición de Biogás para el Reactor Hidrolítico. TRH=10 días y T=35°C



Fuente: Los Autores

Gráfica 12. Índice Porcentual de Hidrólisis para el Reactor Hidrolítico. TRH=10 días y T=35°C



Fuente: Los Autores

en la figura 12 se observa el comportamiento del índice de hidrólisis, el cual durante los primeros 12 días alcanzó un valor máximo de 43%, pero a partir de esta fecha se inicia un descenso súbito hasta obtener un valor nulo el día 25, después de este día el sistema presenta un índice de hidrólisis constante y con un valor de 0% hasta concluir la experimentación; dado que no se produjo un efluente soluble o hidrolizado en el biorreactor debido a la saturación del sistema por sólidos y baja capacidad simbiótica de los microorganismos para asimilar la cantidad de sustrato adicionado. Como consecuencia de esto no se logró hacer una evaluación de la demanda química de oxígeno en el efluente soluble procedente del proceso hidrolítico anaerobio y por lo tanto se le asignó el valor de cero.

Al asignar el valor de cero el biorreactor se comporta como un sistema el cual sufre un lavado de cada una de las macromoléculas que se encuentran en el proceso hidrolítico.

3.4 RESULTADOS OPERATIVOS OBTENIDOS PARA T=55°C Y TRH=10 DÍAS

En el desarrollo de este experimento, se evaluó el tiempo de retención hidráulico TRH de 10 días y una temperatura de 55 °C. Bajo estas condiciones iniciales se calculó el caudal de alimentación 2.4 litros/día para un volumen de efectivo de operación correspondiente a 24 litros. Al igual que en los anteriores ensayos algunos otros parámetros que también influyen en el desempeño de la hidrólisis enzimática de la (FO-RSU) se mantuvieron constantes, tales como el tamaño de partícula, períodos de agitación y porcentaje de sólidos totales en el afluente o sustrato alimento.

En la gráfica 13 se muestra el comportamiento de las variables más representativas del proceso de hidrólisis enzimática; se puede apreciar que una vez alimentado el sistema con el sustrato selecto se registra una caída en el potencial de hidrógeno desde 5,4 hasta un valor de 4,1 durante los primeros 15 días de operación, posteriormente el biodigestor presenta una ligera estabilidad en cuanto al pH, permaneciendo alrededor de 4,1 hasta el final de la experimentación.

Por otro lado la DQO en el efluente del biorreactor hidrolítico, toma valores que van desde 40 g de O₂/l al inicio del experimento, hasta valores de 120 g de O₂/l al cabo del día 21 de operación. Sin embargo, se puede apreciar que a partir de esta fecha el sistema se mantiene estable en DQO y por ende es factible presumir que el biorreactor se haya saturado en sólidos; dado que en este experimento al igual

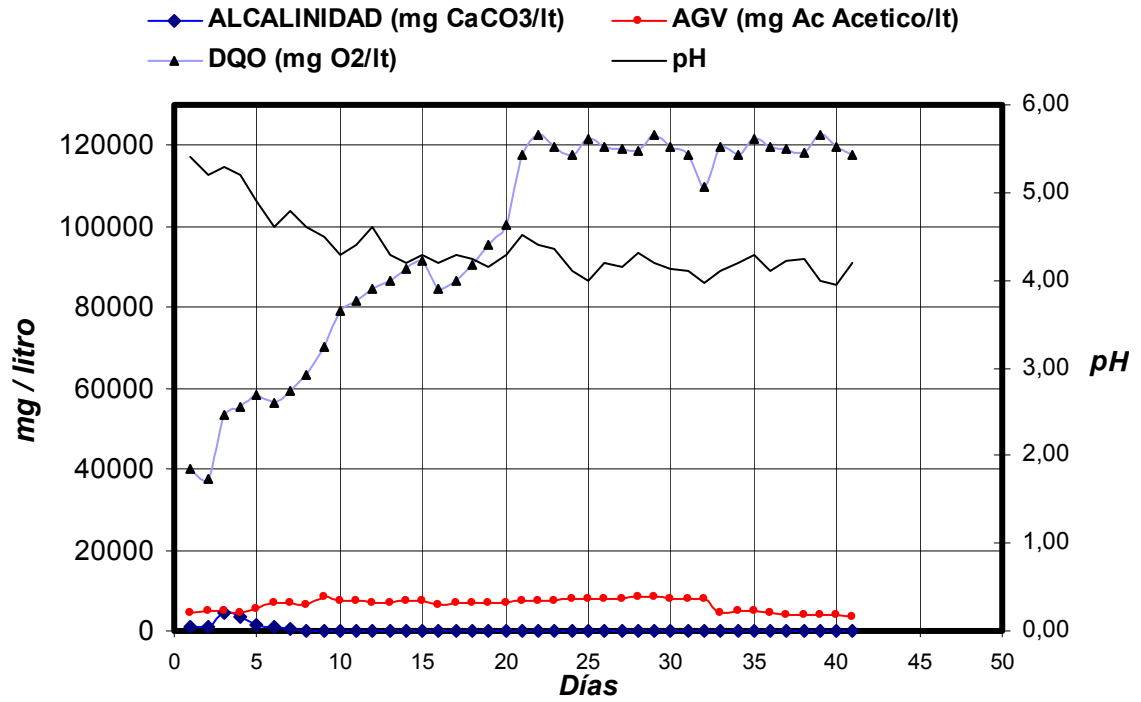
que el anterior, se generó un efluente semisólido con mínimas cantidades de licor o centrifugado.

En cuanto a la concentración promedio de AGV's en el sistema es equivalente a 7 g de Acido Acético/lit, se puede concluir que no es muy significativa comparada con los anteriores experimentos, entre tanto la alcalinidad presenta un comportamiento típico de biorreactores hidrolíticos-acidogénicos, tomando valores nulos, evidenciando el carácter ácido y baja capacidad de amortiguamiento de estos sistemas.

En la gráfica 14 se muestra el porcentaje de sólidos disueltos totales SDT y sólidos disueltos volátiles SDV. En cuanto a los sólidos disueltos totales, se puede apreciar un incremento súbito desde el inicio de la experimentación con un valor del 10% hasta alcanzar un valor alrededor del 20% al cabo de los primeros 15 días de operación. A partir de este momento los SDT se mantienen fluctuando alrededor del 20%, lo que nos indica que el efluente presenta características muy similares al sustrato.

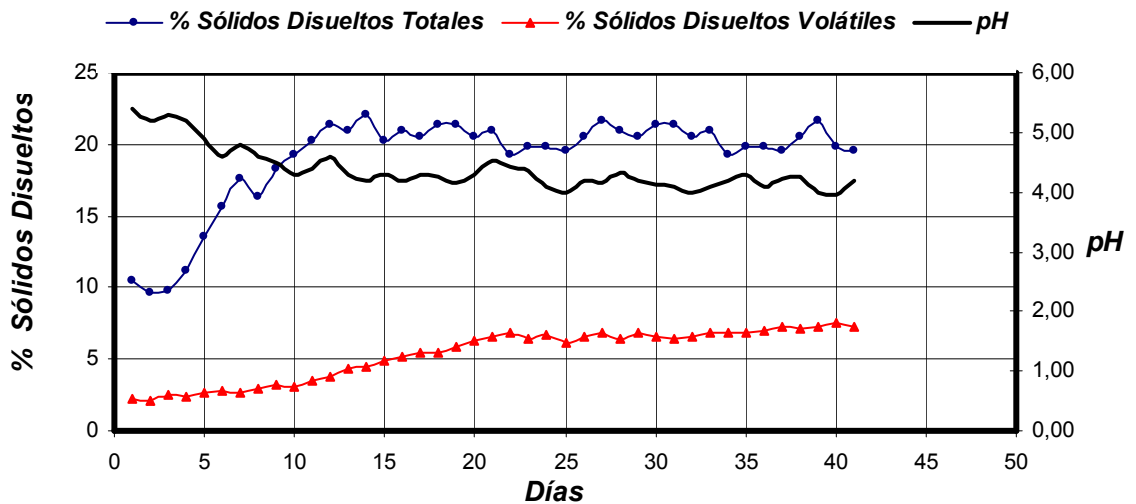
De otro lado los SDV presentan un comportamiento más uniforme que los SDT, tomando valores al inicio de la experimentación alrededor del 2,5% y obteniéndose al final de la operación un valor promedio de 7,1% en peso.

Gráfica 13. Resultados operativos para el Reactor Hidrolítico, TRH=10 días y T=55°C



Fuente: Los Autores

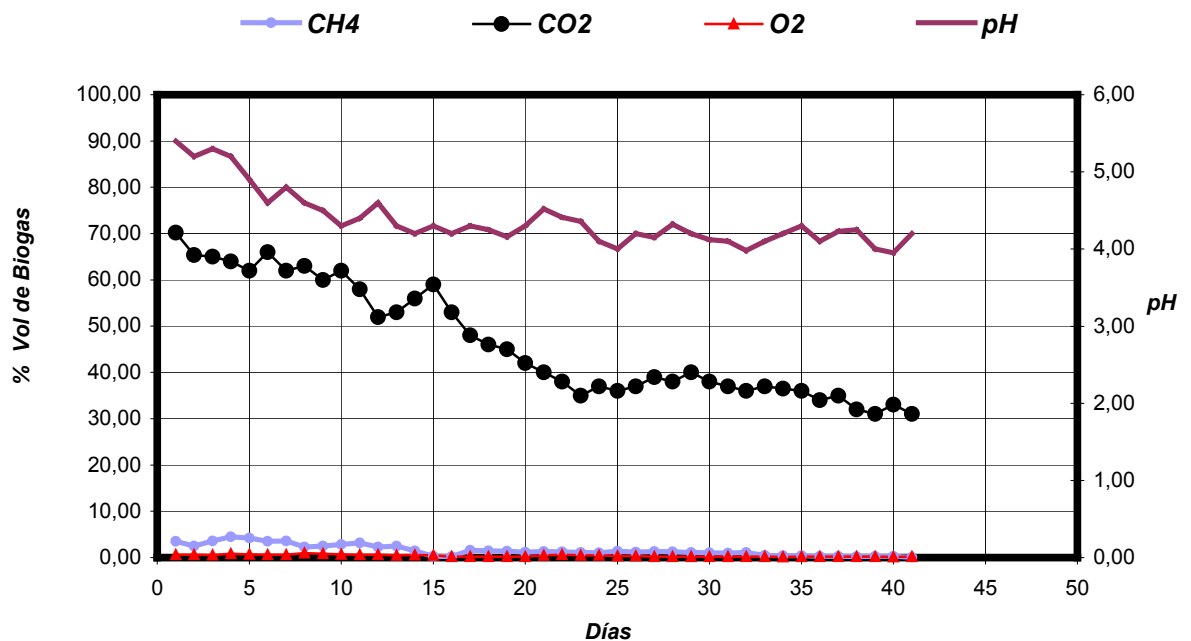
Gráfica 14. Variables físicas para el Reactor Hidrolítico. 10 días y T=55°C



Fuente: Los Autores.

En la gráfica 15 se muestra la composición de biogás generado en el biorreactor hidrolítico. La composición de CO_2 toma valores de 70% en volumen al inicio y posteriormente desciende rápidamente hasta alcanzar un valor promedio de 35%, lo que nos indica que el sistema bajo estas condiciones de operación presenta un buen desempeño al inicio de la experimentación, pero a partir del día 15 el sistema decae como producto de la saturación en SDT del sistema, alterando la actividad hidrolítica-acidogénica y por ende la generación de CO_2 . En cuanto a la composición de O_2 y CH_4 se puede apreciar que tiende a (0%) lo que nos permite inferir un buen desempeño del biorreactor hidrolítico con respecto a las condiciones anaerobias de operación.

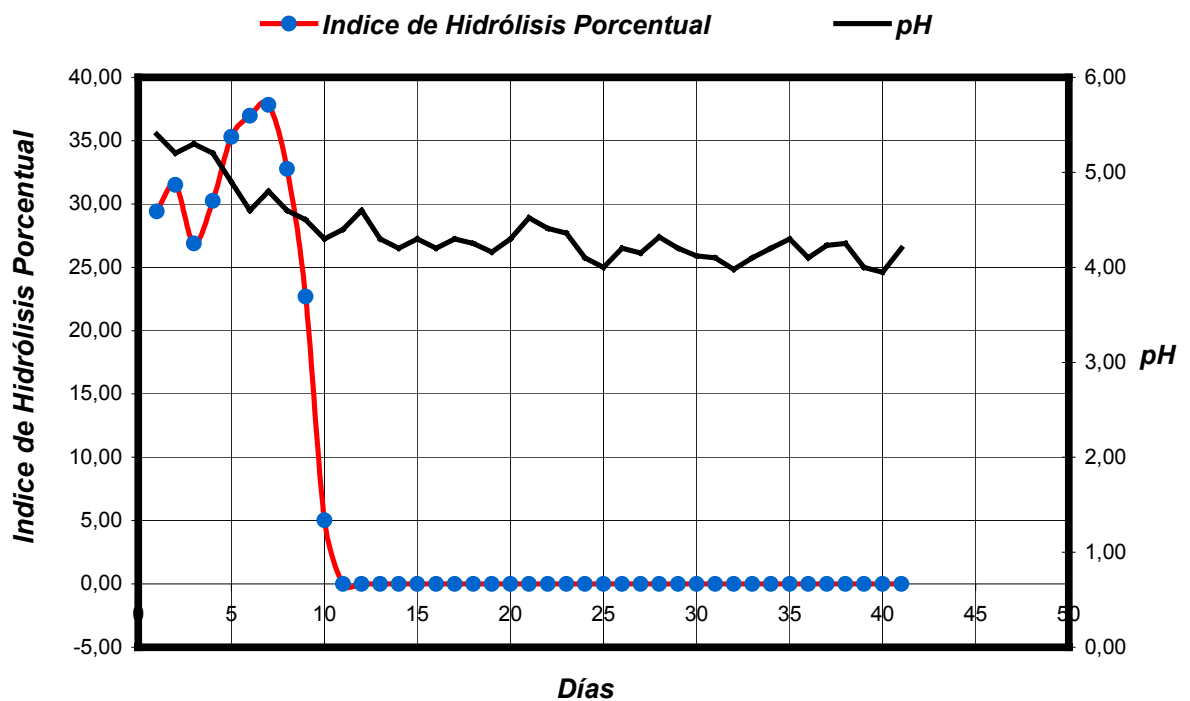
Gráfica 15. Composición de Biogás para el Reactor Hidrolítico. TRH=10 días y $T=55^\circ\text{C}$



Fuente: Los Autores.

En la gráfica 16 se muestra el comportamiento del índice de hidrólisis porcentual con respecto al tiempo de experimentación. Para un TRH=10 días y temperatura de 55°C. Es evidente el crecimiento de éste parámetro hasta el día octavo. Pero a partir de éste momento el índice decae rápidamente y a partir del día once toma valores de cero (0%) hasta el final de la experimentación, por cuanto no se presenta la formación de efluentes solubles o hidrolizados, que permitan la evaluación de la carga orgánica del mismo e indiquen un buen desempeño de la fase hidrolítica.

Gráfica 16 Índice Porcentual de Hidrólisis para el Reactor Hidrolítico. TRH=10 días y T=55°C



Fuente: Los Autores.

En la tabla 13 se resume los valores promedio de las principales variables físico-químicas evaluadas para cada uno de los experimentos desarrollados en un biorreactor anaerobio, en el cual se llevó a cabo la hidrólisis enzimática de la fracción orgánica contenida en los residuos sólidos urbanos (FO-RSU).

Tabla 13. Resumen de los Parámetros Físico-Químicos Promedio para cada Experimento.

PARAMETRO	TRH (Días)	T (°C)	TRH (Días)	T (°C)	TRH (Días)	T(°C)	TRH (Días)	T (°C)
	15	35	15	55	10	35	10	55
pH	3,9		4,0		4,2		4,1	
DQO (g O ₂ / lt)	72		80		10		10	
Alcalinidad (g CaCO ₃)	0		0		0		0	
Sólidos Disueltos Totales (%)	18,0		23,0		20,0		22,0	
Sólidos Disueltos Volátiles (%)	1,5		3,0		4,5		7,5	
AGV (g Ácido Acético/ lt)	30		10		18		7	
Flujo de Alimento kg/día	1,76		1,76		2,64		2,64	
Producción (g AGV/ kg de Sustrato)	409,09		136,36		163,64		63,64	
Índice de Hidrólisis (%)	60		70		0		0	

Fuente: Los Autores

De acuerdo con la tabla 13 se puede observar que el pH de operación para cada experimento permaneció en un intervalo constante alcanzando valores promedios entre 3,9 y 4,2, dejando clara evidencia del carácter hidrolítico-acidogénico del sistema; por otra parte, es importante señalar que el sistema alcanzó niveles de estabilidad con respecto al potencial de hidrógeno de manera natural y autónoma sin la adición de agentes o sustancias acidificantes.

Por otra parte la alcalinidad, que es una variable muy importante en el propósito de identificar la capacidad de un sistema para amortiguar los ácidos generados sin cambios en el pH, presentó valores nulos para cada uno de los experimentos confirmando la especificidad de la biota como hidrolítica-acidogénica.

En cuanto al índice de hidrólisis porcentual, se debe precisar de antemano que este parámetro representa una medida cualitativa del desempeño de la hidrólisis enzimática, ya que para cuantificar la hidrólisis como tal, se requiere de un seguimiento del rompimiento de las macromoléculas hasta sus respectivas unidades monoméricas, utilizando de manera continua cromatografías de gases de alta resolución con detectores selectivos de masa, permitiendo de esta manera identificar el espectro de sustancias solubles y establecer valores exactos de hidrólisis. Estas limitantes de carácter operativo e instrumental conllevaron a calcular el índice de hidrólisis utilizando técnicas alternativas propuestas en investigaciones anteriores y afines con el tema del presente trabajo, que conllevan hacia un menor costo y una rápida aplicabilidad.

Es así como, partiendo del principio que el desempeño de la etapa hidrolítica conlleva al desarrollo de la separación de fases en el efluente (un licor con carga orgánica soluble y un biosólido que contiene la fracción orgánica no solubilizada), puede utilizarse la determinación del índice global de hidrólisis a partir de las DQO's de las fases nombradas como una buena aproximación inicial, ya que en definitiva este análisis para este caso en particular, revela la concentración de compuestos orgánicos que están disponibles para la evolución de los procesos metanogénicos propiamente dichos.

Con respecto a la concentración de (AGV's), se puede observar que el experimento con mayor producción (30 g Acido Acético/lit) corresponde al ensayo evaluado bajo condiciones de (TRH) de 15 días y temperatura de 35 °C. Es importante resaltar que este experimento muestra un avance en la hidrólisis respecto a los demás experimentos para el mismo TRH de 15 días, presenta

también la buena producción de g AGV's / kg de sustrato alimentado (409,09 g AGV's/kg sustrato) convirtiéndolo así en el experimento de mayor rendimiento. Al establecer las condiciones de operación más favorables para el biorreactor hidrolítico-acidogénico de la (FO-RSU), en ésta fase del proceso global de digestión anaerobia se espera obtener la mayor cantidad posible de (g AGV's/kg sustrato) con el fin de tener una mayor proporción de materia orgánica hidrolizada o soluble para la posterior fase de metanogénesis, ya que de esta forma el porcentaje de fijación de carbono como metano y por ende se mejora la eficiencia del proceso en general.

Por otra parte, En la tabla 14 se muestra una caracterización microbiológica realizada para el reactor hidrolítico en diferentes etapas de la experimentación. Se resalta la importancia que tiene el conteo de los microorganismos pues es fundamental tener conocimiento de la distribución de estos en el reactor.

Tabla 14. Conteo de microorganismos en un reactor hidrolítico.

Anaerobios Totales (u.f.c / ml)	Aerobios Totales (Facultativos) (u.f.c / ml)	Mohos y Hongos (u.f.c / ml)
$72 \cdot 10^3$	$23 \cdot 10^6$	$20 \cdot 10^6$
$1 \cdot 10^5$	$16 \cdot 10^7$	< 1000
$11 \cdot 10^6$	$43 \cdot 10^7$	$10 \cdot 10^5$
$84 \cdot 10^5$	$25 \cdot 10^8$	$16 \cdot 10^7$
$18 \cdot 10^5$	$20 \cdot 10^3$	$20 \cdot 10^2$
$75 \cdot 10^5$	$16 \cdot 10^6$	-

Fuente: Laboratorio de microbiología CEIAM-UIS. 2005

En la tabla 15 se puede observar una caracterización microbiológica del lodo procedente del biorreactor hidrolítico el cual es sometido a un secado durante de 15 minutos después de ser extraído del biodigestor, para posteriormente ser utilizado como un lodo estabilizador de suelos; aunque de acuerdo a cantidad de aerobios totales, mohos y levaduras presentes en el lodo residual o efluente no hidrolizado, es muy factible la posibilidad de destinarse este biosólido como inóculo de biomasa activa para el arranque y desarrollo del proceso de compostaje.

Tabla 15. Conteo de microorganismos en el lodo procedente de un reactor hidrolítico, TRH de 15 días y T de 35°C

Coliformes Totales (NMP)	Coliformes Fecales (NMP)	Aerobios Totales (u.f.c / ml)	Mohos y Hongos (u.f.c / ml)
$24 \cdot 10^5$	$40 \cdot 10^4$	$68 \cdot 10^7$	$38 \cdot 10^6$

Fuente: Laboratorio de microbiología CEIAM-UIS. 2005

4. CONCLUSIONES

Es factible la operación y el desarrollo de la etapa hidrolítica para la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos con una biota nativa. Sin embargo, los resultados experimentales comprueban que la acidogénesis ocurre simultáneamente debido a la simbiosis de los microorganismos. Este resultado es de vital importancia como alternativa estratégica para el tratamiento de los residuos sólidos urbanos.

La selección del inóculo para el desarrollo de la fase hidrolítica se puede realizar con lodos provenientes de la planta de tratamientos de aguas residuales de río frío (PTAR) y de lodo proveniente de porcícolas ubicadas en la mesa de los santos, sin que exista la necesidad de acondicionar el pH.

El índice de hidrólisis depende de una manera significativa del tiempo de retención hidráulico y de la temperatura del biorreactor, ya que se demostró que existe una limitante muy fuerte en el tiempo de contacto entre el sustrato y la biota para que se pueda llevar a cabo el proceso metabólico. Teniendo presente esto, se puede llevar a cabo un seguimiento de la etapa experimental de un reactor hidrolítico teniendo en cuenta variables del efluente y afluente tales como la temperatura, tiempo de retención hidráulico, sólidos totales disueltos y tamaño de partícula.

Se presenta la generación de olores por causa del efluente biosólido procedente del proceso hidrolítico, lo que implicaría una etapa adicional para el tratamiento de olores por causa de su degradación continua posterior al proceso, logrando de esta manera una estabilización del lodo.

5. RECOMENDACIONES

Para futuras investigaciones o para la continuidad de la presente se recomienda establecer y adecuar un reactor especializado en la formación y procreación de microorganismos de tal manera que se pueda recuperar el grupo de microorganismos que abandonan el sistema en el momento de la alimentación.

Después de haber encontrado unas condiciones específicas para la hidrólisis enzimática se recomienda que se ejecute una combinación entre la etapa hidrolítica y la etapa metanogénica para observar el resultado de estos procesos en función de la producción específica y la calidad del biogás generado.

BIBLIOGRAFÍA

- 1) **Adrie, Veeken; Sergey, Kalyuzhnyi; Heijo, Scharff and Bert, Hamelers.** Effect of pH and Hydrolysis of Organic Solid Waste. En: Journal of Environmental Engineering, pp 1076-1081 2000.
- 2) **Shawn, D, Mansfield; Caitriona, Money ; AND Jhon, N.** Hydrolysis. En: Biotechnology Prog. pp. 804-816 ,1999.).
- 3) **Adrie, Veeken; Bert, Hamelers;** Effect of pH on Hydrolysis Rates of Selected Biowaste Components. En: Biresource Technology, Vol. 69, 1998 pp 249-254).
- 4) **L, Masse; D,I, Masse; K,J, Kennedy.** Effect of Hydrolysis Pretreatment on Fat Degradation During Anaerobic Digestión of Slaughterhouse wastewater. En: Process Biochemistry, Vol. 38, 2003, pp. 1365-1372 .
- 5) **S,J,Lim; D,W, Choi; W,G, Lee; S, Kwon; H,N, Chang.** Volatil Fatty Acids Production from Food Waste and its Aplication to Biological Nutrient Removal. En: Bioprocess Engineering, Vol. 22, 2000, pp. 543-545.
- 6) **Grietje, Zeeman; Wendy, T, M, Sanders; Kaijun, Y,Wang; Y Gatze Lettinga.** Anaerobic Treatment of Complex WasteWater and Activated Sludge-Aplication of an Upflow Anaerobic Solid Removal (UASR) Reactor for the Removal and Pre-Hydrolysis of Suspended COD. En: Water Science and Technology, Vol. 35,1997, pp 11-18.

- 7) **W,T,M, Sanders; M,Geerink; G,Zeeman; Y G, Lettinga.** Anaerobic Hydrolysis Kinetics of Particulate Substrates. En: Water Science and Technology, Vol. 41, 2000, pp 17-24.
- 8) **John ,A, Eastman;John F, Ferguson.** Solubilization of Particulate Organic Carbon During the Acid Phase of Anaerobic Digestion. En: Journal WPCF, Vol. 53 1981, pp 352-366.
- 9) **Castillo, Edgar, Arellano Víctor.** Estudio de las condiciones de operación de la digestión anaerobia de RSU. Universidad Industrial de Santander. Escuela de Ingeniería Química. Tesis de Grado. 2003.
- 10)**Pavlostatis , S.G. and Giraldo-Gomez, E.** Kinetics of Anaerobic Treatment. En: Wat. Sci. Tech. Vol. 24, No. 8. (1991); pp. 35-59.
- 11)**Tchobanoglouss, G.; Theisen, H y Virgil, S.** Gestión Integral de Residuos Sólidos. Madrid: Mc Graw – Hill, 1994. pp. 58, 160, 407, 408.
- 12)**Raynal, J; Delgenes, P; Moletta, R.** Two phases anaerobic digestion of solid wastes by a multiple liquefaction reactors process. En: Bioresource Technology 65, (1998) 97-103.
- 13)**Colombia. Ministerio de Salud Y Ministerio del Medio Ambiente.** Análisis Sectorial de Residuos Sólidos en Colombia: Plan Regional de Inversiones en Ambiente y Salud. En: Series Análisis Sectoriales No.8. 1996.
- 14)**Kayhanian M. and Rich D.** Pilot-scale high solids thermophilic anaerobic digestion of municipal solid waste with an emphasis on nutrient

requirements. En: Biomass and Bioenergy. Vol. 8, No 6. (1995); pp. 433 – 444.

15)Angelidaki I. and Ahring B.K. Establishment and characterization of an anaerobic thermophilic (55°C) enrichment culture degrading long-chain fatty acids. En: Applied and Environmental microbiology, June 1995, pp. 2442-2445.

16)Cecchi F., Battistoni P., Pavan P., Fava G. and Mata-Alvarez J. Anaerobic digestion of OFMSW (Organic Fraction of Municipal Solid Waste) and BNR (Biological Nutrient Removal) processes: a possible integration- preliminary results. En: Wat. Sci. Tech. Vol. 3 N° 8, pp. 65-72, 1994.

17)D'addario E., Pappa R., Pietrangeli B. and Valdiserri M. The acidogenic digestion of the organic fraction of municipal solid waste for the production of liquid fuels. En: Wat. Sci. Tech. Vol. 27 N° 2, pp. 183-192, 1993.

18)Raynal, J; Delgenes, P; Moletta, R. Two phases anaerobic digestion of solid wastes by a multiple liquefaction reactors process. En: Bioresource Technology 65, (1998) 97-103.

19)Universidad de Antioquia-Universidad del Valle. Optimización de la etapa de arranque de reactores anaerobios mediante el mejoramiento de la calidad de diferentes semillas en condiciones dinámicas de operación. Informe técnico final, proyecto de investigación COLCIENCIAS: 1106-1-031, 2001.

- 20) Eaton, A.D.** ed. Standard Methods for examination of Water and Wastewater. 19 ed 1995: pp. 2-51 - 2-57.
- 21) Griffin, M.E., McMahon K.D., Mackie R.I. and Raskin L.** Methanogenic population dynamics during start-up of anaerobic digesters treating municipal solid waste and biosolids. En: Biotechnology and Bioengineering. Vol. 57. (1998); pp. 342 – 354.
- 22) Angelidakil., Ellegaard L. and Ahring B.K.** A comprehensive model of anaerobic bioconversion of complex substrates to biogas. En: Biotechnology and Bioengineering, Vol. 63, N° 3, may 5, 1999.
- 23) Bruce, E, Rittman; Perry, L , Mc Carty.** Biotecnología del Medio Ambiente Principios y Aplicaciones Madrid: Mc Graw – Hill, 2001. pp 40,181.
- 24) Sandra, E, Espitia; Maria, C, Diaz; Francisco, P, Molina.** Digestión Anaerobia una Aproximación a la Tecnología, Universidad Nacional, Instituto de Biotecnología, Bogotá 2002. pp 47,48,49,121.
- 25) G, Lettinga; L, W, Hulshoff; G, Zeeman.** Biological wastewater Anaerobic Treatment, Sub-department of Environmental Technology PART I, 1.4, 1.5.
- 26) W, T, M, Sanders; G, ZEEMAN; AND G, Lettinga.** Hydrolysis Kinetics of Dissolved Polymer Substrates. En : Water Science and Technology, Vol. 45 2002, pp 99 – 104.
- 27) Noch, Y, Park; A, Michinaka; and N, Okuda.** Enzymatic Hydrolysis of Waste Office Paper Using Viscosity as Operating Parameter. En : Biotechnology, Vol. 17, 2001, pp 379 – 382.

- 28) Yehuda, M ; G, Zeeman ; Jules , B ; and G, Lettinga.** The Role of Sludge Retention Time in the Hydrolysis and Acidificación of Lipids, Carbohydrates, and Proteins During Digestion of Primary Sludge in CSTR Systems. En: Elsevier science, Vol 34, 2000, pp 1705 – 1713.
- 29) Flotats, X., Campos, E. y Bonmati, A.** Aprovechamiento energético de residuos ganaderos. En: Curs d'Enginyeria Ambiental: Aprofitament enegètic de residus orgànics (3º: 1997: Lleida). Memorias, 1997. pp. 1-21.
- 30) Scenna, N.J. y col.** Modelado, Simulación y Optimización de Procesos Químicos, capítulo XVIII, pp. 697-739, 1999.
- 31) Themelis N.J.** Anaerobic Digestion of Biodegradable Organics in Municipal Solid Waste. Columbia University, 2002.
- 32) Rittmann, B.; McCarty, P.** Biotecnología del medio ambiente - principios y aplicaciones, McGraw Hill, 2001.
- 33) Hill D.T. and Barth, C.L.** A fundamental approach to anaerobic lagoon analysis. In: Processing and management of agricultural waste. En: Cornell Agricultural Waste Management Conference Proceedings (1974).

ANEXO A

PARÁMETRO:

DEMANDA QUÍMICA DE OXIGENO (DQO)

REFLUJO CERRADO

UNIDADES: **mg O₂/l**

FUNDAMENTO

La Demanda Química de Oxígeno, DQO, mide, expresada en oxígeno, la porción de materia orgánica, MO, biodegradable o no, de una muestra que es susceptible de oxidación por un fuerte oxidante químico (dicromato potásico - Cr₂O₇K₂ - en nuestro caso). La mayor parte de la materia orgánica resulta oxidada por una mezcla a ebullición de los ácidos crómico y sulfúrico. Se somete a reflujo una muestra en una solución ácida fuerte con un exceso de dicromato potásico. Después de la digestión, el dicromato no reducido que quede, se determina con sulfato ferroso amónico, sal de Mohr: (SO₄)₂Fe(NH₄)₂, para determinar la cantidad de dicromato consumido y calcular la M.O. oxidable en términos de equivalente de oxígeno.



Para la valoración utilizamos un indicador, 1-10 fenantrolina o ferroína, que a su vez reacciona con el exceso de Fe²⁺ que a su vez no ha reaccionado con el dicromato, dando lugar a un complejo de color marrón/rojizo que nos indica el punto final de la valoración.

MATERIAL

- Tubos de digestión
- Calentador de bloques, a 150° C
- Bureta
- Pipetas
- Dosificador de agua destilada
- Agitador magnético para mezclar completamente.

Colóquense los tubos en el digestor de bloques a 150°C durante dos horas. Enfríense a T ambiente, quítense los tapones y añádanse dos gotas ferroína. Agítense rápidamente en un agitador magnético mientras se titula con sal de Mohr 0,01N. De la misma forma sométanse a reflujos y titúlense dos blancos que contengan los reactivos y un volumen de agua destilada igual al de la muestra.

$$\text{DQO (mg O}_2\text{ / l)} = ((A-B) \cdot N \cdot 8000 \cdot F) / \text{Volumen muestra (ml)}$$

REACTIVOS

- Solución de digestión de dicromato potásico 0,1N: Añadir a 500 ml de agua destilada 4,913 g de dicromato previamente desecado, 167 ml de sulfúrico concentrado y 33,3g de sulfato de mercurio. Disuélvase, enfríese a temperatura ambiente y dilúyase hasta 1.000 ml.
- Reactivo ácido sulfúrico: Añádase sulfato de plata sobre ácido sulfúrico concentrado, en la relación de 5,3 g de sulfato de plata en 500 ml de SO₄H₂.
- Solución indicadora de ferroína: Disuélvanse 1,485 g de 1,10 - Fenantrolina monohidrato y 695 mg de sulfato ferroso heptahidrato en agua destilada y dilúyase hasta 100ml.

- Solución de sulfato ferroso amónico para titulación 0,01N: Disuélvanse 3,9 g de sulfato ferroso amónico hexahidratado en agua destilada. Añádanse 2 ml de sulfúrico concentrado.

Enfríese y dilúyase hasta 1.000 ml.

Estandarícese la solución a diario frente a la solución de digestión

PROCEDIMIENTO

Toma de Muestra y Almacenamiento

Recoger las muestras en frascos de cristal. Si es inevitable el retraso antes del análisis,

consérvese la muestra por acidificación a un pH menor a 2 utilizando ácido sulfúrico concentrado.

A= ml de valorante gastados para el blanco

B= ml de valorante gastados para la muestra

N= Normalidad del valorante

F= factor de dilución de la muestra

$$\mathbf{N = [Vol. de dicromato(ml) * 0.1] / Vol. sal gastado en la titulación}$$

Añádanse los reactivos de acuerdo con la tabla a un tubo de digestión que contenga el volumen correcto de agua destilada que sustituye a la muestra. Enfríese a la temperatura ambiente, añádanse dos gotas de ferroína y titúlese con la solución valorante.

ANEXO B

Ácidos Grasos Volátiles

La determinación de los ácidos grasos volátiles se realiza 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, 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 algunos 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 (Rojas 1988).

Las relaciones utilizadas son las siguientes.

$$ALCALINIDAD = (B \cdot N_{HCL} \cdot 50.000) / V.$$

En donde: B = Volumen de HCL usado para disminuir el pH en ml.

V = Volumen de muestra tomada para el análisis en ml.

N_{HCL} = Concentración de ácido clorhídrico (Normalidad).

Las unidades de alcalinidad son (**mg de CaCO₃/litro**).

$$\text{ÁCIDOS GRASOS VOLÁTILES} = (D \cdot N_{NaOH} \cdot 60.000) / V.$$

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 Ácido 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.
- Fenolftaleina.
- Balanza Analítica.

ANEXO C

CROMATOGRAFÍA DE GASES

DESCRIPCIÓN DEL ANÁLISIS

La extracción- concentración de los compuestos de la fracción volátil, se llevó a cabo usando la técnica de microextracción en fase sólida (SPME)(1), monitoreo en fase vapor (*headspace*). La separación y la identificación de las sustancias aisladas se realizaron por cromatografía de gases de alta resolución con detector selectivo de masas (HRGC-MSD), operando en el modo de barrido completo de radiofrecuencia (*fullscan*).

REACTIVOS Y MATERIALES

- *Setpum* de silicona blanca recubierto con teflón blanco para viales de 15mm x 45mm (*supelco*, Cat. N°. 27369-U);
- Viales ámbar estándar para HS-SPME de 4ml (*supelco*, Cat. N°. 270006);
- Fibra de sílice fundida recubierta con poli(acrilato)(PA) de 85 micrómetros de espesor (*supelco*);
- Dispositivo para SPME (*supelco*);
- Plancha de agitación-calentamiento *tremolina Nuova II* (*supelco*);
- Barra magnética pequeña (*fisher scientific* , 10 x 1 mm).

MICROEXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA EN EL MODO HEADSPACE

La muestra de efluente líquido (2ml) se transfirió a un vial ámbar estándar de 4ml para SPME, el cual se contenía una barra magnética pequeña. El vial se selló herméticamente con el *setpum* blanco de silicona recubierto con teflón blanco. Posteriormente, el recipiente se colocó en un baño de agua a 60 °C, con agitación. Una fibra de sílice fundida recubierta con poli(acrilato) de 85µm de espesor se expuso a los vapores de la muestra durante 60 minutos.